

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) LARVALARININ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞININ SİNDİRİM SİSTEMİNDEKİ BAKTERİ KOMPOZİSYONU VE
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Hidayet SAYRAMOĞLU

EKİM 2023
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) LARVALARININ GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞININ SİNDİRİM SİSTEMİNDEKİ BAKTERİ KOMPOZİSYONU VE
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hidayet SAYRAMOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
"DOKTOR (BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20 / 09 / 2023

Tezin Savunma Tarihi : 17 / 10 / 2023

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İlhan ALTINOK

Trabzon 2023

ÖNSÖZ

“*Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvalarının gökkuşağı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu ve bağışıklık sistemi üzerine etkisi” adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı’nda “Doktora Tezi” olarak hazırlanmıştır. Çalışma giderleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen FDK-2021-9799 No’lu, “*Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvalarının gökkuşağı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu ve bağışıklık sistemi üzerine etkisi” başlıklı projeden karşılanmış ve çalışma KTÜ, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve birikimlerini paylaşarak destek olan, akademik gelişimim için çaba sarf eden, maddi ve manevi her yönden yardımlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. İlhan ALTINOK’a teşekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince beni motive eden ve her türlü desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ’a, Tez izleme komitesinde yer alıp deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Şevki KAYIŞ’a, Doç. Dr. İlhan YANDI’ya ve Dr. Öğretim Üyesi Rafet Çağrı ÖZTÜRK’e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Destek ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Erol ÇAPKIN’a, Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU’na, Dr. Öğr. Üyesi Yahya TERZİ’ye, Arş. Gör. Dilek USTAOĞLU’na ve Su ürünleri Yüksek Mühendisi Melike ALEMDAĞ’a teşekkür ederim.

Tez çalışma dönemi başta olmak üzere benim için her türlü fedakarlığı yaparak, gücüme güç katan, bana destek veren eşime, kızıma ve oğluma, bugünlere gelebilmemi sağlayan, bana her daim inanan ve her türlü desteğini esirgemeyen üzerimde hak ve emeği olan sevgili anneme, babama sonsuz şükranlarımı sunarım.

Doktora tezi olarak hazırlanan bu çalışmanın bilime ve bilim dünyasına yararlı olmasını dilerim.

Hidayet SAYRAMOĞLU

Trabzon 2023

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “*Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvalarının gökkuşuğı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu ve bağışıklık sistemi üzerine etkisi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanın Prof. Dr. İlhan ALTINOK’un sorumluluğu altında tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdığımı, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 17/10/2023

Hidayet SAYRAMOğLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Gökkuşığı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Hakkında Genel Bilgiler.....	3
1.2.1. Bilimsel Sınıflandırması	3
1.2.2. Yayılımı	4
1.2.3. Biyolojik Özellikleri	5
1.2.4. Yetiştiricilik Koşulları.....	6
1.3. Kara Asker Sineği (KAS) (<i>Hermetia illucens</i>) Hakkında Genel Bilgiler	7
1.3.1. Bilimsel Sınıflandırması	8
1.3.2. Kara Asker Sineğinin Biyolojik Özellikleri.....	9
1.3.3. Kara Asker Sineğinin Beslenmesi.....	10
1.3.4. Kara Asker Sineğinin Antimikrobiyal Özellikleri	11
1.3.5. Kara Asker Sineğinin Üretim Avantajları.....	11
1.4. <i>Lactococcus</i>	12
1.5. <i>Lactococcus petauri</i>	13
1.6. Önceki Çalışmalar	14
1.6.1. Şifalı Bitki ve Maddelerin Balıklar Üzerine Etkileri Hakkında Yapılan Çalışmalardan Bazıları	14
1.6.2. Kara Asker Sineği Larva Ununun Balıklar Üzerine Etkileri Hakkında Yapılan Çalışmalardan Bazıları.....	16
1.7. Çalışmanın Amacı	22
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	25
2.1. Besleme Çalışmaları.....	25

2.1.1.	KAS Larvalarının Elde Edilmesi	25
2.1.2.	Balık Diyetlerinin Hazırlanması	27
2.1.3.	Deney Düzeneklerinin Hazırlanması.....	29
2.1.4.	Balıkların Beslenmesi ve Bakımı.....	30
2.2.	Bağırsak Mikrobiyotası Metagenom Çalışmaları.....	30
2.2.1.	Bağırsak, Ön Böbrek ve Su Örneklerinin Alınması.....	30
2.2.2.	DNA'nın Saflaştırılması	31
2.2.3.	16S rRNA Geni V3-V4 Bölgesinin Çoğaltılması	32
2.2.4.	Çoğaltılan Örneklerin Dizilenmesi	33
2.2.5.	Biyoinformatik Analiz	33
2.3.	Hastalık Direnci Testi ve Bağışıklık Genlerinin Ekspresyonu.....	34
2.3.1.	Bakterinin Hazırlanması ve Balıklara Enjekte Edilmesi.....	34
2.3.2.	Enfeksiyon Sonrası Hastalık Takibi.....	34
2.3.3.	Ön Böbrek Örneklerinin Alınması	34
2.3.4.	RNA İzolasyonu.....	35
2.3.5.	cDNA Sentezi	35
2.3.6.	Gerçek Zamanlı qPCR Testi.....	36
2.3.7.	İstatistiksel Analizler.....	38
3.	BULGULAR.....	39
3.1.	Bağırsak Mikrobiyotası	39
3.2.	Hastalık Direnci Testi.....	44
3.3.	Gen Ekspresyonu.....	47
4.	TARTIŞMA	55
4.1.	Bağırsak Mikrobiyotası	55
4.2.	Hastalık Direnci ve Gen Ekspresyonu.....	58
5.	SONUÇLAR.....	62
6.	ÖNERİLER.....	63
7.	KAYNAKLAR	65
8.	EKLER.....	80
ÖZGEÇMİŞ		

Doktora Tezi

ÖZET

Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) LARVALARININ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ SİNDİRİM SİSTEMİNDEKİ BAKTERİ KOMPOZİSYONU VE BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hidayet SAYRAMOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. İlhan ALTINOK
2023, 64 Sayfa, 5 Sayfa Ek

Uygun maliyetli balık yemi üretimi uygun fiyatlı balık üretmenin temelidir. Kara asker sineği (KAS), *Hermetia illucens*, larva unu balık yeminin hayvansal protein kaynaklarına umut verici bir alternatiftir. Çalışmamızda, balık diyetlerindeki balık unu yerine 0%, %25, %50, %75, %100 oranlarında KAS larva unu ikame edilmiştir ve B0, B25, B50, B75, B100 olarak adlandırılmıştır. Bu diyetlerle 90 gün beslenen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın, bağırsak mikrobiyotası, *Lactococcus petauri* 'ye karşı direnci ve bağışıklık ile ilgili genlerin ekspresyonu incelenmiştir. KAS içeren diyetlerle beslenen gökkuşağı alabalığının sindirim sistemlerinin daha yüksek bir bakteri çeşitliliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. *Firmicutes*, *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* bolluğu, balık ununun KAS unu ile değiştirilme oranına paralel olarak artmıştır. B75 ile beslenen balıkların *L. petauri* 'ye karşı en dirençli grup olduğu, bunu B100, B50 ve B25 ile beslenen grupların takip ettiği görülmüştür. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, KAS içeren diyetlerle beslenen tüm balık gruplarında sitokinlerin (*Tgf*, *Il-10*, *Il-1β*, *Tnf-α* ve *Il-8*) ve bağışıklık ile ilgili genlerin (*IgM*, *IgT*, *Mhc-II* ve *Tlr-5*) ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır ($p < 0.05$). Bağışıklığı güçlendirmesi amacıyla, gökkuşağı alabalığı, KAS larvaların kitini çıkarılmadan veya KAS ununa ön işlem uygulanmadan, %50 KAS unu ikameli bir diyetle beslenebilir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, Kara asker sineği, *Lactococcus petauri*, Bağırsak mikrobiyotası, Gen ekspresyonu

PhD. Thesis

SUMMARY

EFFECT OF LARVAS OF *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) ON RAINBOW TROUT'S BACTERIA COMPOSITION IN THE DIGESTIVE SYSTEM AND IMMUNE SYSTEM

Hidayet SAYRAMOĞLU

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fisheries Technology Engineering Graduate Program
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İlhan ALTINOK
2023, 64 Pages, 5 Pages Appendix

Cost-effective fish feed production is the basis for producing affordable fish. Black soldier fly (BSF), *Hermetia illucens*, larval meal is a promising alternative to animal protein sources of fish feed. In our study, fish meal in fish diets was substituted with BSF larval meal at 0%, 25%, 50%, 50%, 75%, 100% and named as B0, B25, B50, B75, B100. Gut microbiota, resistance to *Lactococcus petauri* and expression of immune-related genes were investigated in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with these diets for 90 days. It was found that the gastrointestinal tract of rainbow trout fed with BSF containing diets had a higher bacterial diversity. The abundance of *Firmicutes*, *Actinobacteria* and *Proteobacteria* increased in parallel with the rate of replacement of fish meal with BSF meal. Fish fed with B75 were the most resistant to *L. petauri*, followed by the groups fed with B100, B50 and B25. Compared to the control group, the expression of cytokines (*Tgf*, *Il-10*, *Il-1β*, *Tnf-α* and *Il-8*) and immune-related genes (*IgM*, *IgT*, *Mhc-II* and *Tlr-5*) were significantly increased ($p < 0.05$) in all fish groups fed BSF-containing diets. Due to the immune boost, rainbow trout can be fed with a diet containing 50% fish meal substitution with BSF meal without removing the larvae chitin or pretreating the BSF meal.

Key Words: Rainbow trout, Black soldier fly, *Lactococcus petauri*, Gut microbiota, Gene Expression

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Gökkuşuğu alabalığının dünyadaki yayılımı	5
Şekil 2. Gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	5
Şekil 3. Kara asker sineği (<i>Hermetia illucens</i>)	8
Şekil 4. Kara asker sineğinin hayat döngüsü	9
Şekil 5. Kara asker sineği larva unu üretimi	26
Şekil 6. Balık yemlerinin hazırlanması	28
Şekil 7. Çalışmalar için kurulan deney düzeneği	29
Şekil 8. Böbrek ve sindirim sistemi örneklemeleri	31
Şekil 9. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların filum seviyesinde dağılımı	40
Şekil 10. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların familya seviyesinde dağılımı	41
Şekil 11. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların cins seviyesinde dağılımı	41
Şekil 12. Gruplar arası farklılık ve ortak otu'ların venn şeması	42
Şekil 13. Gruplara göre bakterilerin head tree (ısı ağacı) grafiği	43
Şekil 14. Farklı diyetler ile beslenen grupların <i>L. petauri</i> ile enfeksiyonu sonrası deneme süresi boyunca gözlenen kümülatif hayatta kalma oranları	44
Şekil 15. Kontrol grubuna göre farklı oranlarda KAS unu içeren diyetler ile beslenen balıkların karşılaştırmalı hayatta kalma oranları	45
Şekil 16. <i>Lactococcus</i> hastalığı sonucu gözlenen karında şişkinlik	46
Şekil 17. <i>Lactococcus</i> hastalığı sonucu gözlerde oluşan hemoraj ve eksoptalmia	46
Şekil 18. <i>Lactococcus</i> hastalığını takip eden süreçte gözlerde mantarlaşıma	46
Şekil 19. Sitokinlerin rölatif gen ekspresyon seviyeleri	48
Şekil 20. Bağışıklıkla ilgili genlerin rölatif gen ekspresyonunun grafiği	50
Şekil 21. 0.gün PCA analiz grafiği	51
Şekil 22. 3. gün PCA analiz grafiği	52
Şekil 23. 7. gün PCA analiz grafiği	53
Şekil 24. 14. gün PCA analiz grafiği	54
Şekil 25. 21. gün PCA analiz grafiği	54

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Gökkuşuğı alabalığının sistematiğı.....	4
Tablo 2. Kara asker sineğinin sistematiğı	8
Tablo 3. Deneyssel diyet gruplarının yem formülleri.....	27
Tablo 4. Amplikasyon için kullanılan malzemeler ve miktarları.....	32
Tablo 5. PCR amplifikasyon koşulları	33
Tablo 6. cDNA sentezi için kullanılan solüsyonlar ve miktarları.....	35
Tablo 7. Ters transkripsiyon için uygulanan termal sıcaklık döngüsü	36
Tablo 8. Gen ekspresyonu için kullanılan primer çiftler	36
Tablo 9. RT-qPCR işleminde kullanılan solüsyonr ve miktarları.....	37
Tablo 10. qPCR termal döngü ayarları	37
Tablo 11. Dizileme sonrası elde edilen ham okuma verileri.....	39
Tablo 12. Good's coverage, alfa çeşitlilik indeksi ve OTU sayıları	40

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMP	: Antimikrobiyal peptitler
BSF	: Black Soldier Fly
°C	: Santigrat derece
cDNA	: komplementer DNA
cm	: santimetre
dk	: dakika
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
g	: gram
h	: saat
<i>IgM</i>	: immünoglobulin M
<i>IgT</i>	: immünoglobulin tau ağır zinciri
<i>Il-1β</i>	: interlökin 1 Beta
<i>Il-8</i>	: interlökin 8
<i>Il-10</i>	: interlökin 10
KAS	: Kara asker sineği
kg	: kilogram
L	: litre
m	: metre
mg	: miligram
<i>Mhc-II</i>	: major histokompatibilite kompleksi II
ml	: mililitre
μ l	: mikrolitre
μ M	: mikromol
RNA	: Ribonükleik asit
sn	: saniye
<i>Tgf-β</i>	: transforme edici büyüme faktörü beta
<i>Tlr-5</i>	: Toll benzeri reseptör 5
<i>Tnf-α</i>	: tümör nekroz faktörü- α

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Birleşmiş Milletler Nüfus Fonu (UNFPA)'nın yayımladığı rapora göre, 15 Kasım 2022 itibari ile sekiz milyar kişiye ulaşmış olan küresel nüfusun, 2030'da 8,5 milyar, 2050'de 9,7 milyar, 2100'de 10,4 milyar olacağı uzmanlar tarafından tahmin edilmektedir (UNFPA, 2023). Toplumlar bir yandan iklim değişikliği ve çevre kirliliği gibi meseleleri ele alırken, diğer yandan 10 milyarı aşması öngörülen küresel nüfusa gıda ve geçim kaynağı sağlamak gibi muazzam bir zorlukla karşı karşıya kalmaktadır (FAO, 2018).

İnsanların yaşamı için zorunlu olan kalori, besin ve protein ihtiyaçları çoğunlukla karasal alanlarda yapılan bitkisel ve hayvansal üretimden karşılanmaktadır (FAO, 2017). Ülkeler küresel nüfusun artışı beraberinde meydana gelecek olan gıda arzını karşılayabilmek ve olası açlık tehlikesini önleyebilmek için, karasal alanlardaki besin üretimini arttırmanın yollarını aramaktadır. Entansif işletmelerin kurulması, geliştirilmesi ve bu sayede birim alandan daha fazla ürünün elde edilmesi bir çözüm önerisi olarak görülmektedir (Akbulut ve Keten, 2001). Ancak dünya nüfusunun hızlı artışı, plansız kentleşme, çevre kirliliği, iklim değişikliği ve doğa olayları gibi çeşitli faktörler karasal üretim alanlarının sınırlı kalmasına hatta daralmasına sebebiyet vermektedir (Gamsız ve Korkut, 2021). Karasal ve sucul kaynakların etkin ve verimli kullanılması gittikçe zorunlu hal almaktadır. Dünyanın yaklaşık %75'ni oluşturan sucul ekosistemlerden yapılan balık ve diğer su canlıları üretimi insanların en önemli gıda kaynaklarından biri olarak görülmektedir (Gün ve Kızak, 2019).

Geçmişten beri insanlar çoğu zaman su kütlelerine yakın alanları yerleşim yeri olarak tercih etmekte (Revenga vd., 2005) ve suda yaşayan balık ve diğer birçok canlı topluluklarından besin kaynağı olarak yararlanmaktadır (Tekelioğlu vd., 2007). Günümüze bakıldığında çeşitli su ürünleri temel gıda ihtiyacı olmanın yanı sıra sağlık, kozmetik gibi diğer alanlarda da önemli hammadde olarak değerlendirilmekte ve farklı endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Tarım ve Orman Şurası, 2019). Balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği dünyanın en eski kültürel, sosyal ve ekonomik faaliyetlerden biridir ve aynı zamanda doğal su kaynaklarının aşırı kullanımının azaltılması ve gıda güvenliğinin arttırılması açısından önemli imkanlar sağlamakla beraber getirdiği istihdam ve ekonomik katkılarıyla toplumun gelişmesine yardımcı olmaktadır (FAO, 2018).

Sucul alanlardan yapılan üretim genel olarak doğal kaynaklardan denizlerde ve iç sulardan yapılan avcılık ile insan kontrolü altında yapılan yetiştiricilik olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır (Şahin, 2002). Geçmişteki üretimin büyük çoğunluğu avcılık yoluyla elde edilirken, günümüzde ise yarıya yakın kısmı yetiştiricilikten elde edilmektedir. Bunun en önemli nedenleri olarak su ve çevre kirliliğinden kaynaklanan doğal yaşam alanlarının bozulması, kıyısız bölgelerdeki kentleşmenin artması, iklim değişikliği, aşırı av baskısı dolayısıyla okyanus ve denizlerdeki ekolojik dengenin bozulması, doğal balık stoklarının azalması, bazı türlerin neslinin tükenmiş olması ve tüm bunlara karşın yükselen hayat standartlarında insanların su ürünlerine olan sürekli talep artışı şeklinde yorumlamamız mümkündür (Akmermer ve Ayyıldız, 2021; Gün ve Kızak, 2019).

Yıllar itibariyle avcılık yoluyla elde edilen üretimin toplam üretimindeki payı giderek azalırken, yetiştiricilikten elde edilen miktarda sürekli artış meydana gelmektedir. 1980'li yıllardan beri avcılık üretiminde yatay seyir devam ederken, su ürünleri yetiştiriciliği, insan tüketimine yönelik su ürünleri tedariki açısından, sürekli ve istikrarlı bir büyüme göstermektedir (FAO, 2018). Avcılık yoluyla yapılan üretimde bir artış olmayacağı, maksimum avlanabilir stok miktarına ulaşıldığı bilim insanları tarafından dile getirilmekte ve su ürünlerine yönelik artacak tüketim ihtiyaçlarının ancak yetiştiricilik yoluyla karşılanabileceği değerlendirilmektedir (TÜBA, 2019).

Balık yetiştiriciliğinin büyüebilmesi büyük ölçüde yem ham maddesi olan balık unu ve balık yağının durumuna bağlıdır. Doğal stoklardaki balıklara bağlı olan balık unu ve yağının senelik üretim miktarı oldukça sınırlıdır (Pettersson, 2010). Bu durumda, balık yetiştiriciliğinin gelişmeye devam edebilmesi için alternatif kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır (Bell vd., 2001). Sürdürülebilirliğin sağlanması için balık unu ve yağına uygun alternatifler bulmak için araştırmalar devam etmektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde birçok nedenden dolayı büyük üretim kayıpları yaşanmaktadır. Bu nedenlerin arasında balık hastalıkları, çiftçilerin geçim kaynaklarına zarar veren, iş kaybına, gelirlerin azalmasına ve gıda güvensizliğine neden olan en ciddi kısıtlamadır. Yapılan çalışmalar, gelişmekte olan ülkelerde balık üretimlerinde yaşanan kayıpların neredeyse %50'e yakın kısmının hastalıklardan kaynaklandığını ve getirdiği yıllık ekonomik zararın 6 milyar dolara ulaşmış olduğunu göstermektedir (Assefa ve Abunna, 2018). Son yıllarda, su ürünleri yetiştiriciliğinde bulaşıcı hastalıklardan kaynaklanan kayıpların üstesinden gelmek için, erken ve doğru teşhis, zamanında müdahale gibi yerel uygulanabilir yöntemlerin yanı sıra çeşitli aşı çalışmaları son hızla devam edilmektedir.

(Peeler ve Taylor, 2011). Bağışıklık uyarıcılar da balık sağlığını korumada bir alternatif yöntem olarak sunulabilmektedir (Bilen vd., 2016). Bunlarla beraber hastalık direnci yüksek, genetiği iyileştirilmiş bireylerin geliştirilmesi ve doğal yöntemlerle balıklara bağışıklık kazandırılması da çok büyük önem arz etmektedir.

1.2. Gökkuşaağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Hakkında Genel Bilgiler

Dünyanın birçok ülkesinde geniş çevresel koşullarda yetiştiriciliği yapılmakta olan alabalıklar *Salmonidae* familyasında yer almaktadır. Kuzey yarıküreye özgü bir balık türü olan alabalıklar habitat açısından temiz, serin, berrak ve oksijen yönünden zengin sularda yaşamayı tercih ederler. Suları soğuk olan nehirler, göller, denizler ve yüksekliği 3000 metreye kadar uzanan dağların akarsuları alabalığın doğal yaşam alanlarıdır. Yağ yüzgeci alabalığın en belirgin morfolojik özelliklerinden biridir. Doğal suların balıklandırılması ve ekonomik yetiştiricilik için büyük önem arz eden alabalıklar *Salmo*, *Salvelinus* ve *Oncorhynchus* olmak üzere 3 cine ait türleridir.

Dünyadaki en çok tanınan alabalık türleri ise Atlantik somunu (*Salmo salar*), kahverengi alabalık (*Salmo trutta*), gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*), Alp alabalığı (*Salvelinus alpinus*) ve göl alabalığı (*Salvelinus namaycush*) türleridir.

Yetiştiricilikte en yoğun ilgi gören ve yaygın olarak üretimi yapılan alabalık türü ise Kuzey Amerika kökenli gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) türüdür. Günümüzde bir endüstri haline gelen gökkuşaağı alabalığı yetiştiriciliğinin hızlı bir artış göstermesinin ana nedeni kültür koşullarına uyum sağlayabilmeleridir.

1.2.1. Bilimsel Sınıflandırması

Gökkuşaağı alabalığı, Johann Julius Walbaum tarafından 1792 yılında Kamchatka (Rusya)'da toplanan örneklerle göre literatüre geçirilmiştir (Awad vd., 2012). Yıllar boyunca bilimsel adı *Salmo gairdneri* olarak adlandırılan gökkuşaağı alabalığı, 1988 yılında Amerika Balıkçılık Derneği Balık İsimlendirme Komitesince *Oncorhynchus mykiss* olarak değiştirilmiştir. Yapılan düzeltmelerde, Pasifik Okyanusundaki bütün alabalık ve salmon türleri için *Oncorhynchus*'un cins ismi olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Böylece Pasifik Okyanusu'ndaki alabalık ve somon türleri, Atlantik Okyanusu'ndaki alabalık ve

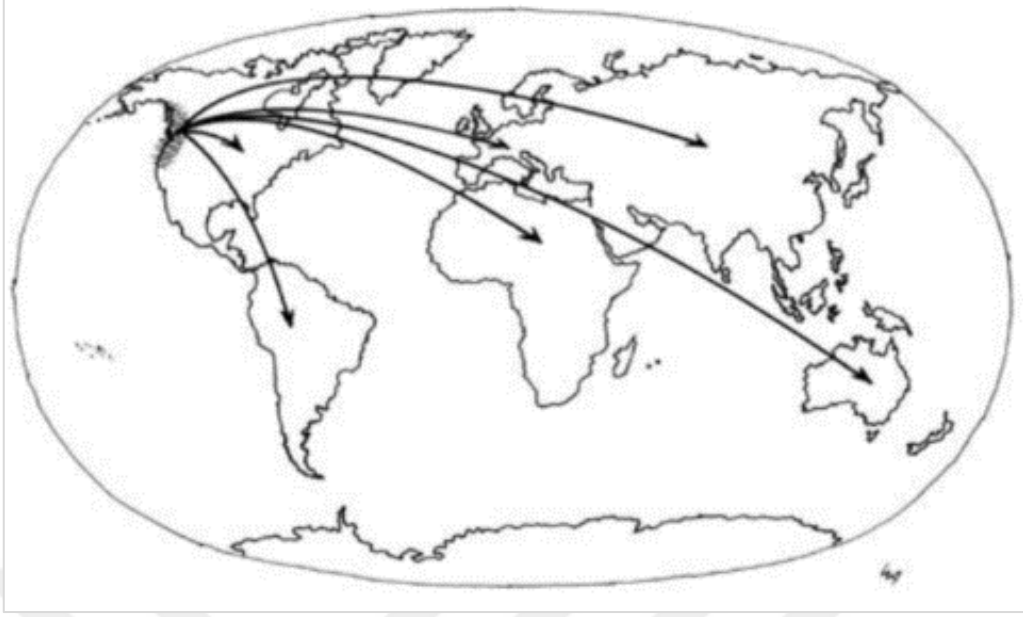
somon türlerinden ayırt edilmiştir. Yapılan isim değişikliği uluslararası düzeyde kamuoyu tarafından kabul görülmüştür (Bruno ve Poppe, 1996; Çelikkale, 1994; Smith ve Stearly, 1989). Gökkuşığı alabalığının güncel sistematik sınıflandırması Tablo 1’de (URL-1, 2023) verilmiştir.

Tablo 1. Gökkuşığı alabalığının sistematigi

Türkçe	Latince
Alem	: <i>Animalia</i> (Hayvanlar)
Şube	: <i>Chordata</i> (Kordalılar)
Sınıf	: <i>Actinopterygii</i> (Işınsal yüzgeçliler)
Takım	: <i>Salmoniformes</i> (Somongiller)
Aile	: <i>Salmonidae</i> (Alabalıkçiller)
Cins	: <i>Onchorhynchus</i> (Pasifik sombalığı)
Tür	: <i>Onchorhynchus mykiss</i> (Walbaum 1792) (Gökkuşığı alabalığı)

1.2.2. Yayılımı

Gökkuşığı alabalığının esas anavatanı Kuzey Amerika’nın Kaliforniya Eyaletinin dağlık nehirlerinden biri olan Mc-Coud-River’dir. Gökkuşığı alabalığı ilk defa Mr. S. Green tarafından 1874 yılında yaşadığı nehirden alınarak Kaledonya (New York)’daki özel kuluçkahanesine taşınmıştır. Kuzey Amerika dışına ilk defa 1877 yılında Mr. J. B. Cempbell tarafından Tokyo’ya getirilmiştir. 1885 senesinde İngiltere Buckinghamshire’deki Iver yakınlarındaki Delaford kuluçkahanesine ve İskoçya Stirling yakınlarındaki Howietown Kuluçkahanesine getirilmiştir (Gall ve Crandel, 1992). 1912 yılında Norveç’te ilk olarak deniz kültürüne alınmıştır. Ülkemize 1969 yılında getirilen gökkuşığı alabalığı önce iç su havuzlarında, 1980’li yılların başında kafeslerde, 1990’lı yıllarda denizlerdeki kafeslerde yetiştiriciliğine başlanmıştır (Çelikkale, 1991). Gözlü yumurta naklinin kolaylığı nedeniyle ve yüksek adaptasyon kabiliyetiyle günümüzde gökkuşığı alabalığı 80’den fazla ülkeye yayılmış durumdadır ve yetiştiricilikte en çok tercih edilen türlerden biri haline gelmiştir. Gökkuşığı alabalığının dünyadaki yayılımı Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Gökkuşığı alabalığının dünyadaki yayılımı (FAO, 2011)

1.2.3. Biyolojik Özellikleri

Parlayan renkleri ile soğuk suların vaz geçilmezlerinden biri olan gökkuşığı alabalığı, girdikleri suların renklerini alır ve kolayca korunurlar. Nehirlerde iken tatlı suyun renginde, denize geçtiklerinde çelik mavisi rengini alırlar. Çok dinamik balıklar olup, fazla hareket ettiklerinden yağlı değildir (Alpbaz, 2005; Özdemir, 1996). Gökkuşığı alabalığının temsili fotoğrafı Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (URL-2, 2023)

Morfolojik olarak gökkuşaağı alabalığı diğerk alabalıklar gibi uzay mekiğı şeklindeki, iki yandan basık, tıknaz vücut yapısına sahiptir. Sırt kısmında bir yağ yüzgeci bulunmaktadır ve sırt yüzgecinde 10- 12 adet, anal yüzgecinde 8- 12 adet yumuşak ışıın vardır. Çok sayıda beneklere ve gökkuşaağı rengindeki yanall çizgiye sahiptir. Bu da onun familyanın diğerk türlerinden kolaylıkla ayırt edilebilmesini sağlamaktadır. Gelişmiş vücutları sikloid pullarla kaplıdır. Karınlarının alt tarafı gümüşü beyaz rengindedir ve parlaktır. Koyu yeşilden kahve rengine kadar değışen sırt rengi vardır. Çatallı yapıdaki kuyruk yüzgeci ve yağ yüzgeci üzerinde çok sayıda siyah noktalar bulunmaktadır (Çelikkale vd., 1999). Gözlerinin arka kısmına kadar uzanan bir ağız yarığına sahiptir. Erkek bireylerin alt çeneleri yumurtlama döneminde uzamaktadır ve çengelimsi bir şekle dönüşmektedir (Behnke, 2002; Çelikkale, 2002).

Erkek ve dişi balıklar 2 ile 3 yaş arasında cinsi olgunluğına ulaşmaktadır. Üreme dönemi genelde Mayıs- Aralık ayları arasında olur fakat bulundukları ortamın su sıcaklığı ve iklim şartlarına göre Eylül- Mart arasında da gerçekleşebilir. Yumurtlama döneminde dişi bireyler vücut ağırlığının kilogram başına 1500-2000 adet yumurta verebilirler (Alpbaz, 2005; Özdemir, 1996). Bulunduğı ortamın besin zenginliğı ve su sıcaklığı gökkuşaağı alabalığın büyüme oranlarını etkilemektedir. Beslenme özellikleri ve şekli yaşına ve büyüklüğüne göre değışkenlik göstermektedir. Gökkuşaağı alabalığı saldırgan ve açgözlüdür. Besin maddelerinin büyüklüğüne ve yaşam alanındaki dağılımına göre beslenirler. Karnivordur ve doğadaki yumuşakça, sucul böceklerin larvaları, zooplanktonlar ve küçük balıklarla beslenirler (FAO, 2011; Yaseen vd., 2016)

1.2.4. Yetiştiricilik Koşulları

Dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliğı en yaygın olarak yapılan alabalık türü gökkuşaağı alabalığıdır. Ticari değeri yüksektir ve lezzetli olmasından dolayı çok sevilen bir balık türüdür (Sarıeyyüpoğlu vd., 2017). Yüksek oranda çözülmüş oksijene sahip olan soğuk ve berrak sularda yaşamaktadır. Çevre koşullarının değışimine karşı adaptasyon sağlayabilme özelliğıne sahip bir türdür. Yüksek adaptasyon kabiliyeti, nispeten yüksek su sıcaklıklarına tolerans gösterebilmesi, hastalıklara karşı dirençli olması, suni yemlerle beslenebilmesi ve yemden yararlanma yeteneğinin yüksekliğı, yumurta elde edilmesinin kolaylığı ve yapay yöntemlerle gerçekleştirilebilmesi, kuluçka süresinin kısa olması gibi nedenlerden dolayı

yetiştiricilikte en çok tercih edilen türlerden birisidir (Akbulut ve Keten, 2001; Edwards, 1978).

Gökkuşığı alabalığı, 6-20°C arasındaki su sıcaklıklarında büyümeyi sürdürebilmektedir. 18°C civarındaki su sıcaklıkları optimum büyümeyi gerçekleştirmesi için en ideal sıcaklıklardır. Raporlara göre 1°C'den düşük olan ve 25°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda balık ölümleri meydana gelebilmektedir. Gökkuşığı alabalığının üreme dönemindeki ve normal büyüme dönemindeki sıcaklık ihtiyaçları farklılık göstermektedir. Literatürlere göre, suyun pH'nın 6-8,5 değerleri arasında ve sudaki çözünmüş oksijen miktarının 6 mg/L'den daha yüksek olması gerekmektedir (Pennell ve Barton, 1996).

1.3. Kara Asker Sineği (KAS) (*Hermetia illucens*) Hakkında Genel Bilgiler

Hayvanlar aleminin Eklem bacaklılar (*Arthropoda*) şubesine ait ve tür çeşitliliği bakımından en zengin sınıf olan böcekler (*Insecta*), o kadar yaygın ve çoktur ki günümüze kadar literatüre geçen hayvanların dörtte üçü böceklerden oluşmaktadır. Böceklerin yayılış alanı çok geniştir. Yeryüzünde okyanus derinlikleri hariç, kutuplardan ekvatora, yüksek dağlardan denizlere kadar uzanan her yerde bulunabilmektedir. Yüksek adaptasyon kabiliyetleri sayesinde çeşitli iklim koşuluna uyum sağlamışlardır. Neredeyse dünyanın her yerine yayılmış olan böcekler hatta bir buğday ya da mısır tanesi içinde bile hayat evrelerini tamamlayabilmektedirler (Demirsoy, 2014).

Böcekler, kanatlılar ve balıkların ve severek tükettiği doğal bir yemdir. Doğada yaşayan kuşlar ve balıkların besin zincirinde önemli bir yere sahiptir (Özek, 2016). Böcekler, yüksek oranda protein, amino asit, yağ ve mineraller içermektedir. Son yıllarda böceklerin hem insan besini hem de hayvan yemi olarak değerlendirilmesi hakkında çok sayıda araştırma yapılmaktadır (Canhilal vd., 2020).

Hayvan beslemede kullanılabilecek alternatif protein kaynakları arayışları içerisinde özellikle besin içeriğinin zenginliği, yetiştirme tekniğinin pratik olması, farklı birçok besin maddesi ile beslenebiliyor olmaları, beslenme artığının organik gübre olarak kullanılabileme potansiyeli taşıması gibi ana nedenlerden dolayı kara asker sineği (*Hermetia illucens*) en dikkat çekici türlerden birisidir (Veldkamp vd., 2012). Organik atıkların faydalı bir protein-yag içeriğine sahip bir gıdaya dönüştürdüğü için kara asker sinekleri hem çevre kirliliğinin azaltılması hem de sürdürülebilir gıda üretimi açısından çok önemli bir kaynak olarak gösterilmektedir (Caruso vd., 2013).

Kara asker sineği (*Hermetia illucens*) (L. 1758), *Diptera* takımı, *Stratiomyidae* ailesine mensup, ısırmayan ve hastalık bulaştırma riski taşımayan zararsız bir sinek türüdür (Diener vd., 2009; Oliveira vd., 2015).

KAS'ın esas ana vatanı Amerika kıtasındaki tropikal ve subtropikal bölgelerdir. 1950'lerden sonrası tüm dünyaya yayılan bir sinek türüdür. Günümüzde coğrafik olarak güney (40°) ve kuzey (45°) enlemleri arasındaki alanlarda ve aynı zamanda Türkiye'de de doğal şekilde bulunduğu ifade edilmektedir (Üstüner vd., 2003). KAS'ın temsili bir fotoğrafına Şekil 3'de yer verilmiştir.



Şekil 3. Kara asker sineği (*Hermetia illucens*)(Skrobonja, 2020)

1.3.1. Bilimsel Sınıflandırması

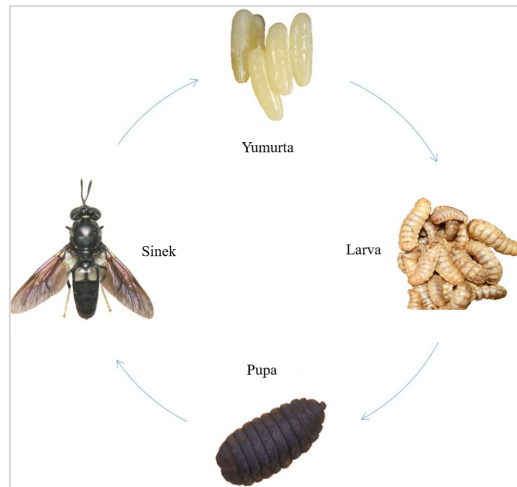
Kara asker sineğinin sistematik sınıflandırması Tablo 2'de verilmiştir (URL-5, 2023).

Tablo 2. Kara asker sineğinin sistematigi

Türkçe	Latince
Alem	: <i>Animalia</i>
Şube	: <i>Arthropoda</i>
Sınıf	: <i>Insecta</i>
Takım	: <i>Diptera</i>
Aile	: <i>Stratiomyidae</i>
Cins	: <i>Hermetia</i>
Tür	: <i>Hermetia illucens</i> (Linnaeus, 1758)

1.3.2. Kara Asker Sineğinin Biyolojik Özellikleri

Kara asker sineğinin biyolojik yaşam döngüsünün karakteristiği, popülasyon türünün yabani veya evcil olmasına, sıcaklık, nem, ışık yoğunluğu, mevcut besin kalitesi ve miktarı gibi ortam koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebilir. KAS'ın yaşam döngüsü genel olarak dört evreden oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla yumurta dönemi, larva dönemi, pupa dönemi ve erginlik dönemidir. Kara asker sineği yaygın olarak larva ve pupa dönemlerinde yem olarak değerlendirilmektedir. Ergin birey dönemi 2-9 gün arası sürer ve bireyler bu dönemde 15-20 mm boy uzunluğuna ulaşır. Erkekler dişilerden daha küçüktür. Dişi ve erkek bireylerin çiftleşmesinden 2 gün sonra dişiler yumurta bırakırlar. Dişiler, yumurtaların su kaybını önlemek için nemli bir ortamdaki kuru bir yüzey üzerine, 320-1000 adet arasında yumurta bırakırlar. Dişi bireyler yumurtlamadan sonra ölürler. Yaklaşık 1 mm uzunluğunda olan yumurtalar genelde oval bir şekle sahiptir. Yumurtaların açılma süresi ortam sıcaklığına bağlıdır ve genelde 27-30°C arasında yaklaşık 3,5- 4 gün sürmektedir. Yumurta evresini larval dönem (sıcaklığa göre 4 haftadan 20 haftaya kadar uzayabilir), pupa dönemi (1 hafta) ve erginleşme dönemi (2 gün) takip etmektedir. Larvaların vücut uzunlukları larval dönemin başladığı günlerde 0,6 mm iken, larval dönemin 4. haftasına gelindiğinde vücut ortalama uzunlukları 20 milimetreye, vücut çapı ise 6 milimetreye ve bireysel ağırlıkları 220 miligrama ulaşabilmektedir. Uygun beslenme koşulları altında 5-6 hafta da tamamlanabilen yaşam döngüleri ortam koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Caruso vd., 2013; Kar vd., 2018; Singh ve Kumari, 2019). Kara asker sineğinin (*Hermetia illucens*) hayat döngüsü Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Kara asker sineğinin hayat döngüsü (URL-3, 2023)

1.3.3. Kara Asker Sineğinin Beslenmesi

Kara asker sineği larvaları seçici değildir ve hayvansal ya da bitkisel birçok organik materyal üzerinde beslenebilme yeteneğine sahiptir. KAS larvaları meyvelerden ve sebzelere hatta hayvan gübresi kalıntılarına kadar çeşitli organik maddeleri tüketebilmektedir (May, 1961). KAS larvaları kaprofajik (dışkı yiyen) ve saprotrof (çürükçül)'tur. Az oranda mikrobiyal üreme gerçekleşmiş organik materyaller besin olarak daha uygun olsa da, taze veya çürümeye yüz tutmuş her çeşit atığı da gayet iyi değerlendirebilmektedirler (Myers vd., 2008; Nguyen vd., 2015; Žáková ve Borkovcová, 2013).

Yumurtadan çıkan KAS larvaları çevresinde bulabildikleri her çeşit organik substrat üzerinde büyüebilmektedir. Larval dönem tahminen 20 ile 25 gün sürmektedir. KAS larvaları kanibalistik olmadıklarından birbirlerini yemezler ve birbirlerine zarar vermezler. KAS larvaları polifajik yani aşırı iştahlıdır. Larval dönem içerisinde larvalar doymak nedir bilmezler ve sürekli beslenirler. KAS Larvalarının bu dönemde 25-500 mg/birey yaş besin tükettikleri ve bu besinleri kuru ağırlık olarak %50 oranında biyokütleyle çevirebildikleri bilinmektedir. KAS larvalarının polifajik yeteneği güçlü ağız organelleri, çok etkili tükürük ve sindirim sistemlerindeki enzimleri sayesinde (Caruso vd., 2013; Kar vd., 2018).

Kara asker sinekleri larval döneminde sindirim sistemini boşalttığına bazı antibakteriyel maddeler salgılamaktadır. Prepupal döneminden sonra bireyler beslenmeyi bırakmakta ve bulunduğu nemli besin ortamından uzaklaşma eğilimi göstermektedir. Böylece inaktif pupa dönemi başlamış olur (Cammack ve Tomberlin, 2017; Nyakeri vd., 2019).

KAS ergin dönemde, dışarıdan besin almamaktadır. Sadece vücutlarındaki rezervleri kullanarak hayatlarını devam ettirmektedir. Yetişkin KAS bireylerinin fonksiyonel bir ağız yapısı bulunmadığından sindirim sistemleri de yoktur. İğne benzeri saldırı mekanizması da yoktur. Dolayısıyla diğer canlıları ısırılmazlar ve hastalık bulaştırmazlar. Bu yüzden KAS zararsız böcek olarak nitelendirilmektedir (Diener vd., 2009; Oliveira vd., 2015; Park, 2016). KAS bu özelliği sayesinde, organik atıkları protein oranı yüksek olan kaliteli besine dönüştürebilen diğer böcek türlerine nazaran en dikkat çekici türlerden birisidir.

1.3.4. Kara Asker Sineğinin Antimikrobiyal Özellikleri

Kara asker sineğinin olumsuz ortamlarda yaşayabilmesi, virüslere, mantarlara ve bakterilere karşı koruma sağlayan peptitler (Choi vd., 2018) gibi farklı bileşikler üretebilen doğuştan gelen bir bağışıklık sistemine sahip olduğunu göstermektedir (Elhag vd., 2017; Feng vd., 2020; Lalander vd., 2015). KAS larvaları doğal bir antibakteriyel ajan olarak işlev gören laurik asit (yağ asidi) bakımından (Kim ve Rhee, 2016) ve hayvanların bağışıklık tepkisini artırmada rol oynayan kitin (polisakkarit) bakımından da oldukça zengindir (Bovera vd., 2016). Yakın geçmişte yürütülen araştırmalarda, KAS larvalarının bağışıklık sisteminin çeşitli organlarında defensin (küçük, sistein yönünden zengin katyonik proteinler) benzeri bir peptit 4 (DLP4) tanımlanmıştır. DLP4'ün etkisini ve önemini araştırmak için yapılan bir deneyde, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ile enfekte edilen fareler DLP4 ile tedavi edildikten sonra hayatta kalmayı başarmışlardır (Li vd., 2017).

KAS bakterisidal antimikrobiyal peptitler (AMP) içerir (Park vd., 2014) KAS AMP'leri onlarca yıldır kapsamlı araştırmalara konu olmuştur ve bakterilerin antibiyotiklere dirençli genlerinin gelişimini ve yayılmasını önleyerek kümes hayvanları yemlerinde antibiyotiklerin yerini alabilmeleri beklenmektedir (Chung ve Khanum, 2017).

KAS larvalarının ekstraktları mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir (Harlystiarini vd., 2019). KAS'nin antimikrobiyal özelliği hayvanların sindirim sistemlerinin sağlığı ve besin emilimi için büyük önem taşımaktadır.

1.3.5. Kara Asker Sineğinin Üretim Avantajları

1990'lardan itibaren dünyanın birçok bölgesinde KAS larvaları yetiştiriciliği yapılmaktadır. Günümüzde de KAS larvalarına yönelik artan talebi karşılayabilmek için çeşitli üretim istasyonları ve yem fabrikaları kurulmaya devam etmektedir (Diener vd., 2011; Nguyen vd., 2015; Van Huis vd., 2013). KAS larvalarının üretimindeki kolaylıklar ve avantajlar şu şekilde sıralanabilir:

- i) Üretim esnasında büyük alana gerek yoktur. Girdi maliyetleri (enerji, elektrik, su) düşüktür. Yüksek maliyetli özel ekipmanlara ve iş gücüne ihtiyaç yoktur.
- ii) İnsanlar ve diğer canlılar tarafından değerlendirilemeyen ve atık ve çöğ niteliğindeki, hatta ve hatta çevre kirliliğine sebebiyet veren organik maddeleri gayet iyi biçimde tüketebilirler.

- iii) Etkili beslenme ve hızlı üreme potansiyeline sahiptirler.
- iv) Beslenme esnasında oldukça düşük düzeylerde karbondioksit salınımlar, metan ve sera gazı gibi zehirli gazları salgılamamaları önemli bir avantajdır.

KAS larvalarının amino asit profilleri balık yeminin amino asit profiline oldukça benzer bir yapıdadır (Elwert vd., 2010; Tschirner ve Simon, 2015). Bu özelliği sayesinde, KAS larvaları, omnivor balıkların yemlerindeki pahalı bileşim olan balık ununun ideal bir alternatifi olarak değerlendirilmektedir. Son birkaç yılda, KAS larvalarının alternatif protein kaynağı olarak incelenmesine ve endüstriyel çaptaki üretimine yönelik çalışmalar yoğunlaşmaktadır (Wang ve Shelomi, 2017).

1.4. *Lactococcosis*

Bakteriyel balık hastalıklarından *Lactococcosis*'in etkenleri olan *Lactococcus garvieae* ve *Lactococcus petauri* özellikle yaz aylarında su sıcaklıklarının 16°C'a ulaşmasıyla ortaya çıkan, gökkuşağı alabalığı başta olmak üzere, kültürü yapılmakta olan birçok deniz ve tatlı su balık türünün yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik kayıpların meydana gelmesine neden olan bir mikroorganizmadır (Altınok vd., 2022; Bark ve McGregor, 2001; Carson vd., 1993; Çağırğan, 2004; Diler vd., 2002; Ghittino ve Prearo, 1992).

Lactococcosis, streptokoklar sınıfında yer almaktadır. Hastalık ilk olarak 1950'lerin sonlarında Japonya'da rapor edilmiştir (Hoshina vd., 1958). Taksonomi ve genotipik sınıflandırmalarında yapılan değişiklikler ile cins adı *Lactococcus* olarak belirlenmiştir (Çağırğan, 2004). Etken, 1974 yılında Japonya'da sarıkuyruk (*Seriola dumerili*) balığında salgınlara yol açarak yüksek ölüm oranlarına neden olmuştur. *L. garvieae*'nin ayrıca Avustralya, İspanya, İngiltere, İtalya, Fransa, Portekiz, Güney Afrika ve Asya ülkelerinde gökkuşağı alabalığında görüldüğü rapor edilmiştir (Kubilay vd., 2005). Türkiye'de rastlanan ilk vaka 2001 yılında Ege Bölgesi'nde kurulan bir gökkuşağı alabalığı çiftliğinden rapor edilerek kayıtlara geçmiştir (Diler vd., 2002).

L. garvieae gram pozitif fakültatif anaerobik, hareketsiz, sporsuz, oksidaz ve katalaz negatif olup, pH 4,5-9,6 ve 4-45°C'de %0-6,5 sodyum klorür içeren uygun besi ortamında üreyebilen, 2-10 adetlik kokoid formda görülen bakteridir (Cheng ve Chen, 1999; Türe vd., 2012). Bazı suşlar 45°C'de zayıf ve yavaş bir şekilde üreyebilmektedir. Üreme çiftler halinde veya kısa zincir halinde gerçekleşir (Boomker vd., 1979). Hastalığın gelişimi çevre ortamındaki su sıcaklığı ve suyun mikrobiyal kalitesi ile yakından ilişkilidir. *Lactococcosis*

uygun su sıcaklığında her büyüklükteki alabalıkta ortaya çıkabilmektedir. Hastalık hemorajik sepsisemiyle karakterize edilmektedir. Hasta balıklarda letarji, melanozis, iştahsızlık görülmektedir. Hasta balıklar genellikle yavaş hareket ederler, renkleri koyulaşır, gözlerde çift taraflı olarak belirgin ekzoftalmus ve göz çevre dokularında kanama (hemoraji) görülmektedir. Otopside asit hepato- dalak- megali ve bağırsak kanaması görülmektedir (Afonso vd., 2003; Aizpurúa ve Esnault, 1999; Austin ve Austin, 1999; Pereira vd., 2004). Ayrıca enfeksiyon geçiren balıklarda hemorajik enteritis ve peritonda hemorajiler görülmektedir. Böbrek, dalak, karaciğer ve beyinde tıkanıklık meydana gelmektedir. Bunlar hariç karın bölgesinde şişlik ve anüste sarkma meydana gelmesi de hastalığın önemli belirtilerindendir (Eldar vd., 1999; Muzquiz vd., 1999; Vendrell vd., 2006).

Lactococcosis inaktif bir aşılama ile önlenabilir veya antibiyotiklerle tedavi edilebilir. Ancak balıkları *Lactococcosis*'e karşı aşılama, özellikle yaz aylarında su sıcaklığı 15 °C'yi aştığında, uzun süreli koruma sağlamayabilir. Bakteriler, *Lactococcosis* hastalığını tedavi etmek için kullanılan antimikrobiyallere karşı direnç kazanabilmektedir (Ture vd., 2018). Aşılanmanın zahmeti, iş yükü, insan gücü gereksinimi, aşı ve antibiyotiklerin maliyeti üretim giderlerinin artmasına neden olmaktadır. Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak ve balıkları *Lactococcosis*'e karşı korumak için, KAS unu gibi potansiyel antimikrobiyal ve bağışıklık sistemini uyarıcı yem katkı maddeleri kullanılabilir.

1.5. *Lactococcus petauri*

Lactococcus garvieae'nin neden olduğu ve hemorajik sepsisemi olarak karakterize edilen *Lactococcosis*, çok çeşitli balık türlerini etkilemekte ve ciddi ekonomik zararlara neden olmaktadır (Öztürk ve Altınok, 2014; Toranzo vd., 2005). *Lactococcosis*'in etiyolojik ajanlarının taksonomisi son birkaç yılda birçok kez değişmiş ve etiyolojik ajanlar ilk olarak *Streptococcus* cinsine atanmıştır (Vendrell vd., 2006). Yeni teşhis araçlarının geliştirilmesi yeniden sınıflandırmayı mümkün kılmıştır. *L. garvieae* geleneksel olarak *Lactococcosis*'in tek sorumlusu olarak görülmüştür, ancak son zamanlarda *Lactococcus petauri* Avrupa ve Kuzey Amerika'daki *Lactococcosis* salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir.

L. petauri, genom dizisi, morfolojik özellikleri ve biyokimyasal profili bakımından *L. garvieae* ile yüksek benzerlik göstermekte ve bu da tanıyı son derece zorlaştırmaktadır. Uzun süredir 16SrRNA gen dizisinin incelenmesi ve biyokimyasal karakterizasyona dayanarak

yanlışlıkla *L. garvieae* olarak tanımlanıp gelmektedir. Goodman vd., (2017) *Lactococcus petauri* 'yi *Lactococcus* cinsinin yeni bir türü olarak tanımlanmıştır.

Lactococcus'un yeni üyesi olan, *Lactococcus petauri* sp. nov. 159469 suşu, ilk olarak uçan kuskusun (*Petaurus breviceps*) çenesindeki yaradan izole edilmiş ve yeni bir tür olarak literatüre geçirilmiştir. Filogenetik ve genotipleme analiz sonuçlarına bakıldığında *L. petauri* 'nın genomu *L. garvieae* ile çok büyük benzerlik göstermektedir (URL-4, 2023).

Altınok vd., (2022) yaptığı çalışmada, laboratuvarımızda bulunan, tez çalışmamızın hastalık denemelerinde kullandığımız ve *L. garvieae* olarak bildiğimiz Lg-Per suşunun tüm genom analizini yaparak aslen *L. petauri* olduğunu tespit etmiştir.

1.6. Önceki Çalışmalar

Günümüze kadar birçok araştırmacı doğal yöntemlerle balıklara bağışıklık kazandırmanın yollarını aramıştır. Araştırmacılar şifalı bitkilerden sineklere kadar çeşitli madde ve canlıların balık yemine ikame edilmesinin, balığın büyüme performansına, sindirim sistemine ve bağışıklığına olan etkilerini araştırmak için çeşitli denemeler yapmıştır. Yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda verilmektedir.

1.6.1. Şifalı Bitki ve Maddelerin Balıklar Üzerine Etkileri Hakkında Yapılan Çalışmalardan Bazıları

Çörekotu (*Nigella sativa*) yağı gökkuşağı alabalığının yemine ilave ederek, enjekte ederek ve yanal çizgisine sürülerek tatbik edildiğinde sürme yöntemi uygulanan balıklarda hematokrit, eritrosit, lökosit, NBT seviyelerinin en yüksek seviyelere ulaştığı, çörekotu yağının çok az miktarda yeme karıştırılırsa bile bu gruptaki balıkların protein seviyelerini bariz bir şekilde etkilediği belirlenmiştir (Altınterim, 2010).

Ekinezya (*Echinacea angustifolia*), yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ve adaçayının (*Salvia officinalis*)'lerin gökkuşağı alabalığının büyüme performansına ve hastalıklara karşı direnci üzerine olan etkisini araştırmak için yapılan çalışmada ortalama ağırlıkları 15-20g olan gökkuşağı alabalığı %0,1 ve %1 oranında bitki ilave edilmiş yemle 45 gün boyunca beslenmiştir. Deneme sonunda tıbbi bitkilerin bakteriyel hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığını belirlemek için balıklar *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiştir. Bitki ihtiva edilen yemle beslenen gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hematolojik ve büyüme parametrelerinde önemli artış

gözlemlenmiş ayrıca bu bitkilerin immunostimulant olarak kullanılabileceği ve balıkların *vibriosis* hastalığına karşı direnç sağladığı belirlenmiştir (Terzioğlu, 2012).

Artemisia vulgaris bitki özütü gökkuşağı alabalığında büyüme parametreleri ve antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır (Atabay, 2015). Ayrıca yarı yarıya karıştırılan soya yağı ve keten tohumu yağının balık yağı yerine ikamesinin balıklara olumsuz bir etki göstermediği belirlenmiştir (Özel, 2015)

Arı sütünün zebra balığı (*Danio rerio*) diyetlerine farklı oranlarda ilave edilmesinin bazı bağışıklık sistemi ($TGF-\beta$) ve büyüme ($GH-I$ ve $IGF-I$) hormonları üzerine transkriptomik seviyede etkilerini araştırmak için yürütülen 8 haftalık besleme çalışması sonucunda arı sütünün büyüme hormonlarına ait genleri önemli ölçüde artırdığı ve büyümeyi engelleyen $TGF-\beta$ 'nın miktarını azaltarak transkriptomik seviyede olumlu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Vural, 2015).

Farklı dozlarda (%1 %2 ve %3) damarlıca bitkisi (*Plantago lanceolata*) özütü gökkuşağı alabalığının diyetlerine ilave etmiş ve 90 gün boyunca balıkları besleyerek, balıkların bağışıklık sisteminde, antioksidan enzim aktivitesinde, kan parametreleri ve büyüme performansında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Gökkuşağı alabalığının yemine damarlıca ilavesinin antioksidan özelliği desteklediği ve bağışıklığı uyarmada destek verdiği belirlenmiştir (Elbeshti, 2018).

Akçakesme (*Phillyrea latifolia*) bitkisinin sulu metanolik özütü gökkuşağı alabalığı diyetlerinde yem katkı maddesi olarak kullanılabilir olduğu belirlenmiştir (Barka, 2019). Diğer taraftan ceviz yaprağı etanolik ekstraktı gökkuşağı alabalığı yemlerindeki furunkuloz hastalığının etkeni *Aeromonas salmonicida*'yı kontrol etmek için kullanılabilir olduğu ifade edilmiştir (Bayizit, 2021).

Anason (*Pimpinella anisum*) bitkisi %0,1 ve %1,5 oranında gökkuşağı alabalığının diyetlerine ilave edildiğinde büyümeyi desteklediği, %1,5 oranında 28 gün süre ile kullanıldığında bağışıklığı desteklediği, daha yüksek dozların ise negatif etki ettiği belirlenmiştir (Çelik, 2021). Ayrıca çemen otu (*Trigonella foenum-graecum*) tohumunun metanolik özütü 1g/kg ve 5g/kg oranlarında balık yemlerine ilave edilmesinin bağışıklığı artırdığı belirlenmiştir (Karga, 2022).

Keten tohumu (*Linum usitatissimum*) ve Akhardal (*Sinapis alba*) bitkilerinin yağları gökkuşağı alabalığının diyetlerinde büyümeyi teşvik edici, bağışıklık sistemini uyarıcı ve stres giderici olarak kullanılabilir olduğunu belirlemiştir (Salem, 2022).

1.6.2. Kara Asker Sineği Larva Ununun Balıklar Üzerine Etkileri Hakkında Yapılan Çalışmalardan Bazıları

Bilimsel araştırmalar, balık yemlerindeki balık ununun alternatif protein kaynaklarıyla değiştirilmesinin olasılıklarını arama yönünde ilerlemektedir. Literatür, böceklerin çevre dostu, besin açısından zengin olma özelliğiyle balık ununun iyi bir alternatifi olduğunu göstermektedir. Kara asker sineği, çeşitli organik atıkları verimli bir şekilde parçalayabilmesi ve değerli hayvansal proteine ve organik gübreye dönüştürebilmesi gibi çifte rolü sayesinde, sürdürülebilir atık yönetimi ve alternatif protein üretimi için oldukça umut verici bir araç olarak nitelendirilmektedir ve ilgileri üzerine toplamaktadır (Nyakeri vd., 2019).

Kara asker sineği larvalarının ticari tarımsal ürün atıkları ile yetiştirilmesi ve protein kaynağı olarak balık yemlerine dahil edilmesi mümkündür, ancak besleyici değerleri düşük ve sınırlı kalmaktadır. Eğer KAS larvalarının yerel sera atıkları ile üretildiği düşünüldüğünde, balık ununun kısmi ikamesi olarak KAS larva unu uygun bir alternatif protein kaynağı olabilir. Besin maddesi kullanımını artırmak için KAS larva ununun işlenmesi konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Kroeckel vd., 2012).

Yapılan bir çalışmada, balık unu (%15, %30, %45) yerine (%6,5 %13 ve %19,5) oranlarında KAS pre-pupa dönemi larva unu ikame edilen diyetlerle, Avrupa levrekleri 62 gün boyunca beslenmiştir. Çalışmanın sonucunda, toplam diyet proteininin %22,5'ine karşılık gelen %19,5'e kadar KAS larva ununun, balıkların büyüme performansı, yem kullanımı veya sindirilebilirlik üzerinde olumsuz etkiler olmaksızın yavru Avrupa levreği diyetlerinde balık ununun yerini başarıyla alabileceği ortaya konulmuştur (Magalhães vd., 2017). Yapılan diğer bir besleme çalışması sonucunda, Jian sazanı (*Cyprinus carpio var. Jian*) diyetlerindeki balık unu (%0, %25, %50, %75, %100) yerine yağı alınmış kara asker sineği larva unu kademeli olarak (%0, %2,6, %5,3, %7,9 ve %10,6) ikame edildiğinde, Jian sazanının büyümesinin diyetle alınan yağı alınmış KAS larva unundan etkilenmediği, daha yüksek CAT aktivitesi ile Jian sazanının antioksidan durumunu artırdığı, ikame seviyeleri %75'i aştığında diyet stresi ve bağırsak histopatolojik hasarı gözlemlendiği belirlenmiş ve diyetteki balık unu proteininin %50'sine kadarının yağı alınmış kara asker sineği larva unu ile değiştirilmesi tavsiye edilmiştir (Li vd., 2017).

Bruni vd. (2018) yapmış olduğu bir çalışmada, (%0, %25, %50) üç farklı oranda KAS larva ununu balık diyetine dahil etmiştir. Balıkların organosomatik parametreleri, fileto verimini ve bağırsak bakteri topluluklarını analiz ederek balık diyetine KAS larva ununu

dahil etmenin etkilerini araştırmayı hedeflemiştir. Çalışmanın sonunda, KAS'ın kısmen yağsız larva ununun geçerli bir alternatif protein kaynağı olduğunu söylemiştir. KAS larva ununun balık diyetindeki balık unu miktarının %50'sine kadar ikamesinin, balıkların organosomatik indeksleri ve fileto verimini bozmadığını ortaya koymuştur. Mikrobiyolojik analizlerinde ise, bağırsak bakteri topluluklarının diyet değişikliklerine duyarlı olduğunu, mikrobiyal topluluk yapısının değiştiğini ve KAS ile beslenen gruptaki balık bağırsaklarında biyoçeşitliliğin arttığını ortaya koymuştur.

Devic vd. (2018) yapmış olduğu bir çalışmada, ortalama ağırlıkları $5,7 \pm 0,5$ g olan Nil tilapalarını (*Oreochromis niloticus*), ticari çiftlik uygulamalarına benzer koşullar altındaki bir göl içi kafes sisteminde 4 farklı oranda (0, 30, 50 ve 80 g/kg) KAS larva unu içeren diyet ile 32 gün boyunca beslemiştir. Balığın büyüme performansında (nihai ağırlık; kilo alımı ve SGR), yem kullanım verimliliği endekslerinde (FCR ve PER) ve yem alımında anlamlı olarak bir farklılığın olmadığını, vücut kompozisyonunun bu diyetten herhangi bir şekilde etkilenmediğini ortaya koymuştur.

Elia vd. (2018) yapmış olduğu bir çalışmada, balık ununun kısmi ikamesi olarak kara asker sineği larva unu içeren üç izoproteik, izolipidik ve izoenerjetik diyet formülü düzenlemiştir: %0 (KAS0, kontrol diyeti), %25 (KAS25) ve %50 (KAS50) oranlarında KAS'ın %0, %20 ve %40 diyetle dahil edilme seviyelerine karşılık geldiğini söylemiştir. Balıklar 78 gün boyunca deneysel diyet yemleriyle beslenmiştir. Besleme çalışmalarının sonunda histolojik ve histokimyasal değerlendirmeler yapılmıştır. Karaciğer, dalak ve bağırsağın histopatolojik incelemesi, artan böcek unu seviyelerini takiben herhangi bir olumsuz etki ortaya çıkmamıştır. KAS tüketimi, asidik münlerden daha yüksek nötral üretimi uyarmıştır. Çeşitli antioksidan biyobelirteçlerin değişen değerleri, beslenme koşullarıyla bağlantılı olarak karaciğer ve özellikle böbrekte oksidatif homeostaz dengesizliğine işaret etmiştir. Sonuç olarak her iki gruptaki böcek unu ekleme seviyesinin hayvanları olumsuz etkilememiş olsa da Balıklarda histolojik özellikler, oksidatif stres biyobelirteçlerindeki değişiklikler, KAS unun diyetlere %20'den daha düşük bir oranda eklenmesi tavsiyesinde bulunmuştur.

Belghit vd. (2019) %0, %33, %66 ve %100 oranında KAS larva unu eklenen diyetlerle beslenen Atlantik somonunun büyüme performansını, besin kullanımını, karaciğer sağlığını ve fileto duyusal parametrelerini test etmek için 16 haftalık bir beslenme denemesi yapmıştır. Atlantik somonunun diyetlerinde balık ununun KAS larva unu ile tamamen değiştirilmesinin, balığın büyüme performansı, yem kullanımı, besin sindirilebilirlik,

karaciğer özellikleri veya filetonun duyuşal nitelikleri üzerinde olumsuz etkileri olmadan mümkün olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca KAS larvalarından elde edilen protein unu ve böcek yağı, Atlantik somonu için bir besin kaynağı olarak büyük bir potansiyele sahip olduğı belirlenmiştir (Belghit vd., 2018). Balık diyetindeki balık ununun KAS larvası unu ile tamamen değıştirilmesi, çiftlikte yetiştirilen Atlantik somonunun fiziksel veya kimyasal bileşimini tamamen değıştirmemektedir (Bruni vd., 2019). Atlantik somonu diyetlerine 200g/kg KAS larva ununun dahil edilmesi, düşük oranlı balık unu ve yüksek oranlı bitkisel protein diyetlerinde tamamlayıcı bir protein kaynağı olarak kullanılabileceğı hususunda umut vaat etmektedir (Fisher vd., 2020).

Huyben vd. (2019) yapmış olduğı bir çalışmada, beş haftalık bir deney tasarlamıştır. Yavru gökkuşuğı alabalığı balık unu bazlı yemle ya da %30 oranında KAS ön pupa unu, larva unu veya yağı alınmış larva unu eklenmiş üç farklı diyetle beslenmiştir. Böcek bazlı diyetlerle beslemenin, balık bağırsağındaki bakterilerin alfa çeşitliliğini ve laktik asit bakterilerinin bolluğunu artırdığını bunun muhtemelen diyete kitin eklenmesinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Balık unu bazlı besleme ile karşılaştırıldığında, böcek bazlı beslemede *Firmicutes* ve *Actinobacteria* filumlarında daha yüksek bolluk, *Proteobacteria* filumunda ise daha düşük bolluk tespit edilmiştir. Sonuç olarak KAS bazlı beslenmenin gökkuşuğı alabalığının bağırsaktaki bakteri çeşitliliğini artırdığını ve gökkuşuğı alabalığının bağırsak bakterilerinin bileşimini değıştirdiğini, bunların da kara asker sineğı yaşam döngüsü evresi ve böcek yeminin lipid içeriğinden etkilendiğini tespit ettiğini söylemiştir.

Wang vd. (2019) yapmış olduğı bir çalışmada, balık ununun kısmi olarak yağı alınmış KAS larva unu ile değıştirilmesinin Japon levreğı yavrularının büyüme performansı, tüm vücut kompozisyonu, kan metabolitleri, sindirim enzim aktiviteleri, hepatik ve intestinal histomorfoloji ve lipid metabolizması ile ilgili gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini değıerlendirmek için 56 günlük bir besleme çalışması gerçekleştirmiştir. Çalışmanın sonunda, diyetlerdeki balık unu yerine %64'e kadar yağı alınmış KAS larva unu ikame edilmesinin Japon levreklerinin büyüme performansını, hepatik ve bağırsak histomorfolojisini değıştirmediğini kaydetmiştir. Yem alımının artması, kan lipidinin azalması ve hepatik lipid birikiminin engellenmesi gibi özelliklerinden dolayı, yağı alınmış kara asker sineğı ununun Japon levreğı diyetlerinde balık unu yerine arzu edilen alternatif bir protein kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur.

Abdel-Tawwab vd. (2020) yapmış olduğu bir çalışmada, balık unu proteini yerine %25, %35 ve %50 oranlarında kurutulmuş KAS larva unu ikame edilen bir bazal diyet hazırlamıştır. Balıklar (12.1 ± 0.21 g), hazırlanan diyetlerden biri ile günde üç kez doygunluğa ulaşana kadar toplamda 8 hafta boyunca beslenmiştir. Bu süreçte balıkların büyümesi, yem kullanımı ve hayatta kalma oranı açısından önemli bir farklılık gözlenmemiş ve vücut bileşenleri diyetten etkilenmemiştir. Aynı zamanda besleme maliyeti ise kontrol diyetiyle karşılaştırıldığında %15,6 oranında azalmıştır.

Caimi vd. (2020) yapmış olduğu bir çalışmada, Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*) diyetinde balık ununun %25'ine kadar KAS larva unu ile değiştirilmesinin balıkların büyüme performansını, kondisyon faktörünü, biyometrik ve morfometrik indeksleri ve balığın tüm vücut proksimat bileşimini etkilemeden mümkün olduğunu göstermiştir. Mersin balıklarının tüm vücudunun yağ asidi bileşimi, diyetle %18,5 KAS larva unu ekleme seviyesinde bile önemli ölçüde değiştiğini de kaydetmiştir.

Fawole vd. (2020) yapmış olduğu bir çalışmada, Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*) yavrusu üzerinde 60 günlük bir deneysel besleme yürütmüştür. Kontrol diyeti, temel protein kaynağı olarak balık unu kullanılarak formüle edilmiş ve sırasıyla 57g/kg, 115g/kg ve 172 g/kg olarak diyetlere dahil etme seviyesine karşılık gelen eşdeğer protein bazında %25, %50 ve %75 oranlarında KAS larva unu ile aşamalı olarak ikame edilmiştir. Afrika yayın balığının diyetlerine KAS larva ununun 172g/kg'a kadar (%75 Balık unu) ikamesinin balıkların büyüme, besin kullanımı, antioksidan ve sağlık durumunu bozmadan etkili bir şekilde kullanılabileceğini ifade etmiştir.

Guerreiro vd. (2020) Granyöz (*Argyrosomus regius*) balığı üzerinde uyguladığı bir besleme çalışması sonucunda, diyetlerdeki balık ununun %17'sine karşılık gelen %10 KAS larvası ununun diyetlere dahil edilmesinin, balıkların yem kullanımı, tüm vücut kompozisyonu ve yağ asidi profili üzerinde önemli olumsuz etkiler olmaksızın mümkün olduğunu kaydetmiştir.

Melenchon vd. (2020) yapmış olduğu gökkuşağı alabalığı diyetlerinde KAS ve un kurdu (*Tenebrio molitor*) larva unlarının potansiyel kullanımı adlı çalışmada, diyetlere böcek unu ilave edilmesinin büyüme, protein kullanımı ve balıkların fizyolojik durumu üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını ancak böcek unu ilavesi arttıkça filetodaki omega-3 yağ asitlerinde önemli bir azalma gözlemlendiğini söylemiştir. Böcek ununun gökkuşağı alabalığında balık ununun kısmi ikamesi için uygun bir alternatif olabileceğini, ancak en

uygun böcek türünü belirlemek ve filetodaki omega-3 yağ asitlerinin azalmasıyla başa çıkmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu ifade etmiştir.

Li vd. (2020) yapmış olduğu bir çalışmada, protein kaynağı olarak balık unu, soya proteini konsantresi, bezelye proteini konsantresi, mısır gluteni ve buğday gluteni kombinasyonundan oluşan bir referans diyet ve balık ununun tamamının ve bezelye proteini konsantresinin çoğunun siyah asker sineği larvası unu ile değiştirildiği bir test diyeti hazırlamıştır. Atlantik somonu (*Salmo salar*) (başlangıç vücut ağırlığı, 1,4 kg) üzerine 16 haftalık bir besleme çalışması düzenlenmiştir. Balıkların bağırsak sağlığı, organ ve doku endeksleri, histopatoloji değişkenleri ve lipid metabolizması, bağışıklık tepkileri, bariyer fonksiyonları ve detoksifikasyon/stres tepkilerini gösteren gen ekspresyonu gibi son noktalar kullanılarak değerlendirmiştir. Böcek unu diyetiyle beslenen balıklarda distal bağırsağın nispi ağırlığı daha yüksek bulunduğunu ifade etmiştir. Sonuç olarak balık ununun tamamen KAS larvası unu ile değiştirilmesi Atlantik somonunun bağırsak sağlığını tehlikeye atmadığını söylemiştir. Diğer taraftan Weththasinghe vd. (2021) yapmış olduğu bir çalışmada, ortalama başlangıç ağırlıkları 34g olan Atlantik somonunu yedi hafta boyunca yedi çeşit izonitrojenik, izolipidik ve izoenerjik diyetten biriyle beslemiştir. Sonuç olarak KAS larva unu ve ezmesinin Atlantik somonunda büyüme performansını bozmadan sırasıyla diyet proteinin %12,5 ve %6,7'sinin yerini alabileceğini söylemiştir.

Xu vd. (2020) yaptığı bir çalışmada, farklı böcek yağlarının yavru aynalı sazanda büyüme performansı, lipid metabolizması, enflamasyon ve ilgili gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini incelemek için bir besleme denemesi yapmıştır. Yavru aynalı sazanlar KAS yağı (BSFO, 25g/kg), ipekböceği pupa yağı (SWPO, 25g/kg), sarı un kurdu yağı (YMO, 25g/kg) ve üç böcek yağının karışımından (MIXO, 25g/kg) hazırlanan dört izonitrojenik ve izolipidik diyetlerle 59 gün boyunca beslenmiştir. BSFO ve MIXO diyetleri ile beslenen balıkların ağırlık artışı ve spesifik büyüme hızı, diğer iki böcek yağı diyetiyle beslenen balıklara göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Genel olarak, diyetlere KAS yağı ve üç yağın kombinasyonunun dahil edilmesinin diğer iki yağa (YMO ve SMPO) kıyasla, yavru ayna sazanın büyüme performansını, intraperitoneal yağın lipid metabolizmasını, karaciğer antioksidan kapasitesini ve inflamatuvar yanıtını olumlu yönde etkilediğini ifade etmiştir.

Doğan (2021) Sazan diyetlerinde alternatif protein kaynağı olarak KAS larvası ununun kullanımı için %50, %65, %75 oranda balık unu yerine KAS larva unu ikame edilen diyet hazırlamıştır. %65 diyet grubunda ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı, protein etkinlik oranı, net protein kullanım oranı ve yem değerlendirme oranlarının pozitif yönde etkilenmiş,

%75'lik diyet grubunun protein içerinin (%20,22) diğeri diyet gruplarından önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiş ve KAS larva ununun sazan diyetlerinde alternatif hayvansal protein kaynağı olarak düşünölebileceğinin kanaatine varmıştır.

Xu vd. (2021) yapmış olduğu bir çalışmasında, yüksek oranda n-3 doymamış yağı asidi (HUFA) ile zenginleştirilmiş KAS yağının (BSFO) yavru aynalı sazanların (*Cyprinus carpio* var. *Specularis*) büyüme performansı, lipid metabolizması, enflamasyon ve ilgili genler ekspresyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için 8 haftalık bir besleme çalışması yapmıştır. 25g/kg soya fasulyesi yağı içeren (SO) kontrol diyeti ve %25, %50, %75 veya %100 oranında n-3 (HUFA) ile zenginleştirilmiş BSFO ile değiştirilmiş diyetler olmak üzere toplam beş diyet grubu düzenlemiştir. Soya fasulyesi yağı yerine %50 veya daha yüksek oranda n-3 (HUFA) ile zenginleştirilmiş BSFO ikame edilmesiyle balıkların büyüme ve besin kullanımının yanı sıra birçok sağıık parametresi de önemli ölçüde iyileştiğini, %50 veya daha yüksek bir replasman seviyesi, gen ekspresyonundaki ilgili değişikliklerle birlikte periton içi yağ indeksinde ve adiposit boyutunda azalmaya yol atıldığını, aynı ikame seviyeleri balıkların serum biyokimyasal profilinde de iyileşmeler olduğunu ve bağışıklık durumunun arttığına dair belirtiler gösterdiğini ifade etmiştir. Karaciğeri ve ön böbreğin gen ekspresyonu sonuçlarında ise, soya fasulyesi yağının %50'den daha fazlasının BSFO ile değiştirilmesiyle beslenen balıklarda daha az enflamatuar bir duruma işaret ettiğini kaydetmiştir. Sonuç olarak soya fasulyesi yağı yerine %50-100 oranında n-3 HUFA ile zenginleştirilmiş BSFO değiştirilmesinin yavru aynalı sazanların performansını ve sağıık durumunu olumlu yönde etkilediğini söylemiştir.

Shati vd. (2022) yaptığı bir çalışmada, soya unu yerine (%0, %50 ve %100) oranlarında KAS unu içeren diyetlerle, Nil tilapya larvalarını %5 vücut ağırlığı oranındaki yemle 28 gün, %3 vücut ağırlığı oranındaki yemle 54 gün, %2,5 vücut ağırlığı oranındaki yemle 84 gün beslemiştir. Çalışma sonucun, KAS larva ununun Nil tilapyası diyetlerinde soya ununa karşı uygun maliyetli bir alternatif olduğunu ve dolayısıyla büyüme ve karkas vücut kompozisyonu üzerinde olumsuz bir etkisi olmadan soya ununun yerini %100'e kadar alabileceğini belirlemiştir.

Shah ve etingöl (2022) kara asker sineğı larvalarının, ilerinde bulunan bazı antimikrobiyal peptitler ve kitin sayesinde bağışıklık sistemini düzenleyici özelliklere sahip olduğunu ifade etmiştir. Erickson vd. (2004) da yaptığı bir çalışmada, KAS larvalarının tavuk gübresindeki *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica* Serovar *Enteritidis* bakterisini azaltıldığını kaydetmiştir.

1.7. Çalışmanın Amacı

Su ürünleri yetiştiriciliğinin amacı sağlıklı, sürdürülebilir ve kârlı bir faaliyet yapmaktır. Bunun da en başarılı yolu kaliteli ve ekonomik yemle kaliteli ve tekrarlanabilir su ürünleri elde etmektir (Demir, 2014). Su ürünleri yetiştiriciliğinde en büyük masrafı balık yeminin oluşturduğu ifade edilmektedir (Keskin ve Atar, 2011). Yetiştiriciliği yapılan türlerin büyük çoğunluğunun etçil (karnivor) balıklar olduğu ve onların karma yem bileşimlerinin %60-80'nin balık unu ve yağından oluştuğu bilinmektedir (Demir, 2008). Dolayısıyla, karnivor balık yetiştiriciliği işletme maliyetinin %40-70'ni yem giderleri oluşturmaktadır (Bilgüven, 2002). Gatlin vd. (2007)'ne göre su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilir bir büyümenin sağlanması, uygun fiyatlı, sindirilebilir, kaliteli ve hammadde tedarikinde sıkıntı olmayan yemlerin üretilmesine bağlıdır.

Balık unu ve yağı, karnivor balıkların ihtiyaç duyduğu en önemli besin içerikleridir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilirliğinin sağlanmasında önemli rol oynayan faktörlerde de balık unu ve yağıdır. Yıllardır balık unu ve yağının yerini alabilecek hammaddeler üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bu arayışlar içerisinde, araştırmacılar özellikle kan unu, kemik unu gibi et yan ürünlerine, soya fasulyesi gibi yağ bitkilerine, ve mikrobiyal proteinlere odaklanmaktadır (Boyd vd., 2020). Bitkisel proteinlerin en azından bazı hayvan türlerin ihtiyaçlarını giderecek oranda triptofan, metiyonin, treonin, lizin gibi amino asitleri, içermemesi bitkisel proteinlerin hayvan yemlerinde kullanımını sınırlamaktadır (Józefiak vd., 2016). Yıllardır hayvan beslemelerinde kullanılan et yan ürünleri neticesinde meydana gelen deli dana hastalığı (BSE) gibi ölümcül hastalıklar, onların yaratacağı ekonomik kayıp ve insan sağlığına olan tehditler düşünülerek omurgalı hayvanlardan yapılan hammaddelerin balık yetiştiriciliğinde kullanımı sınırlandırılmıştır (Elwert vd., 2010). Böylece su ürünleri yetiştiricisinde yem hammaddesi olarak ilk tercihler halen balık unu ve yağı olmaktadır.

Doğal balık stoklarını korumak, azalmasını önlemek ve aynı zamanda sürdürülebilir hammadde tedarikini sağlamak için, balık unu ve yağının yerine insanların günlük yaşamında ortaya çıkan organik atık ve çöpleri kullanarak yetiştirilebilen mantarlar, böcekler, küfler, algler ya da onların yan ürünlerinin hammadde olarak kullanılması araştırmacılar tarafından düşünülmektedir (Boyd vd., 2020). İlgili araştırmalar kapsamında çeşitli böcek türleri incelenmiştir ve bunların içerisinde özellikle KAS'nin çeşitli yönlerden en ideal tür olduğu kanaatine varılmıştır. Larvaların çeşitli organik atıklarla beslenebilmesi,

çevre zarar vermemesi, organik atık maddelerini organik gübreye dönüştürmesi, üretiminin kolay ve pratik olması, enerji sarfiyatının oldukça düşük olması ve en önemlisi KAS larvalarının besin içeriğinin oldukça zengin olmasından dolayı son yıllarda en ilgi gören böcek türü olmuş ve dünyanın birçok yerinde yaygın olarak üretilmeye başlamıştır. Hazırlanan raporlar ve elde edilen veriler ışığında, KAS dünya çapındaki gıda açığı sorununu çözmede, oldukça umut verici bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (Kar vd., 2018).

Balık sağlığı ve refahı, bağırsak mikrobiyotasının gıdaları sindirme, besinleri metabolize etme, büyüme oranını artırma ve konakçıyı hastalığa neden olan enfeksiyonlardan koruma yeteneğine bağlıdır (Bruni vd., 2018; Ghanbari vd., 2015; Llewellyn vd., 2014; Lyons vd., 2017). Dolayısıyla, sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası, balıkların besinleri kullanma, büyüme ve sağlıklarını koruma becerilerini geliştirmede çok önemli bir rol oynamaktadır. Bir balığın bağırsağındaki mikrobiyota, patojenleri uzak tutmanın yanı sıra balığın beslenmesini, yaşam süresi ve genel sağlığını da düzenlemektedir. Bağırsak mikrobiyotasındaki sindirim mikropları biyolojik aktiviteye sahip yeni ve umut verici biyoaktif bileşikler ürettikleri için çok büyük önem arz etmektedir. Balıklardaki bağırsak mikrobiyotasının bileşimi balığın yaşına, habitatına, beslenmesine, yılın zamanına, trofik konumuna ve diğer değişkenlere bağlı olarak değişmektedir. Bağırsak mikrobiyotasını anlamak, araştırmacılara hedeflenen balık türlerinin bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek su ürünleri yetiştiriciliğini geliştirmek için yollar geliştirmede yardımcı olabilir.

Balık yetiştiriciliğinde büyük kayıplara yol açan bir diğer unsur ise hastalıklardır (Arda vd., 2002). Balıklarda ortaya çıkan hastalıklar genellikle konakçı, mikroorganizma (patojenler) ve stres faktörleri (fiziksel koşulların ani değişimi, balık refahının iyileştirilmemesi, stok yoğunluğu, hijyen) arasındaki etkileşimlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Austin ve Austin, 1999). Patojen etkenlerin erken ve doğru teşhisi hastalıkların büyük kayıplara yol açmasını belli ölçüde engellemektedir. Günümüzde yetiştiricilikte hastalıklarla mücadele kapsamında antibiyotikler ve diğer kimyasal maddeler sıklıkla kullanılmaktadır ve belli ölçüde başarılarla ulaşılmaktadır (Benbrook, 2002). Ancak yoğun antibiyotik kullanımının bazı olumsuz etkileri de söz konusu olabilmektedir. Antibiyotik kalıntıları kullanıldıkları ortamlarda birikerek ve ölü bir tabaka oluşturarak çevre kirliliğine neden olmaktadır. Sürekli antibiyotik kullanımı patojenlerde antibiyotiğe karşı direnç kazanmasına da yol açmaktadır. Ayrıca tüketim yoluyla bu tip dirençli bakterilerin insan vücuduna taşınması da söz konusu olabilmektedir. Yoğun antibiyotik kullanımı çok sayıdaki hedef dışı faydalı bakterilerin de yok olmasına sebebiyet vererek, balığın bağırsak

mikrobiyal flora yapısının bozulmasına ve bakteri dağılımındaki dengesizliğe yol açabilmektedir (Cabello, 2006; Gomez-Gil vd., 2000).

Kara asker sinekleri potansiyel olarak farklı organik atıkları protein açısından zengin biyokütleyle dönüştürme yeteneğine sahiptir. Ancak farklı atık malzemeleri üzerinde yetiştirilen KAS larvalarının besin değerleri değişiklik göstermektedir. Sürdürülebilir KAS larvaları üretimi için tavuk atığı unu, sebze-meyve atıkları ve tavuk atığı ile sebze- meyve atığı karışımı KAS larvalarını beslemek için kullanılabilir, fakat amino asit ve diğer besin içeriği açısından balık ununa benzerliği ve aynı zamanda önemli ölçüde daha yüksek bir besin değerine sahip olması nedeniyle, etçil balıkların yemlerinde balık ununun kısmi ikamesi olarak tavuk atığı unu ile sebze-meyve atığı karışımı üzerinde beslenen (yetiştirilen) KAS larvaları kullanılabilir (Yandi, vd., 2023a). Ayrıca KAS larvaları sebze-meyve karışımı ve tavuk atık unu ile beslendiğinden, KAS prepupalarının yağ asidi içerikleri yüksektir. Laurik asit, bu çalışmada kullanılan KAS larvalarında bulunan en bol yağ asitlerinden biridir. Söz konusu laurik asit antimikrobiyal olduğu gösterilen doymuş bir yağ asididir ve antibakteriyel ve en çok gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir (Harlystiarini vd., 2019). KAS larvaları yüksek konsantrasyonda laurik asit içermektedir. Tez çalışmamızla paralel yürütülen diğer bir çalışmada, balık diyetlerine dahil edilen KAS larva unu oranının artması genellikle bütün balığın yağ asidi bileşiminin artmasıyla sonuçlanmıştır.

Tez çalışmamızın amacı tavuk NuGet'i atığı unu ve sebze-meyve karışımı (1:9) üzerinde yetiştirilen KAS larvalarının antibakteriyel özelliklerinin balıkları *Lactococcus petauri* 'nin neden olduğu Lactococcosis hastalığına karşı koruyup koruyamayacağını, KAS larva unu içeren diyetlerin sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonunu etkileyip etkilemediğini ve sitokinlerden interlökin 10 (*Il-10*), tümör nekroz faktörü- α (*Tnf- α*), interlökin 8 (*Il-8*), transforme edici büyüme faktörü beta (*Tgf- β*), interlökin 1 Beta (*Il-1 β*) genlerinin ve bağışıklık ile ilgili genlerden immünoglobulin M (*IgM*), toll benzeri reseptör 5 (*Tlr-5*), major histokompatibilite kompleksi II (*Mhc-II*) ve immünoglobulin tau ağır zinciri (*IgT*) gibi genlerin üzerindeki etkilerini belirlemektir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez çalışmasında, “120R008” kodlu ve “*Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larvalarının Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Sürdürülebilir Protein ve Lipid Kaynağı Olarak Kullanımı” başlıklı TÜBİTAK projesi esnasında üretilen ortalama ağırlıkları $5,01 \pm 0,08$ g ve ortalama boyları $7,50 \pm 0,06$ cm olan toplam 600 adet gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır.

Tez çalışması, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ Araştırma ve Uygulama Ünitesinde, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Balıkçılık Teknolojisi Bölümü, Moleküler Biyoloji Laboratuvarında, Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsünde ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, İyidere Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezinde koordineli şekilde yürütülmüştür.

Balık deneyleri, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (Rize, Türkiye), Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Karar no: 2019/41, Tarih: 20.12.2019) onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması üç ana bölümden oluşmaktadır.

Birinci bölümde, besleme çalışmaları için, KAS larvaları elde edilmiş (Yandi, vd., 2023a) ve belirlenen rasyon içeriğine göre diyet yemleri hazırlanmıştır. Gökkuşığı alabalığı yavruları 90 gün boyunca deneysel olarak hazırlanan yemler ile beslenmiştir. Besleme çalışması boyunca her 15 günde bir balık ölçümleri yapılmıştır (Yandi, vd., 2023b).

İkinci bölümde, 90 günlük besleme deneyi sonunda bağırsak mikrobiyota çalışmaları için her tanktan 3'er balıktan bağırsak örnekleri alınmıştır.

Üçüncü bölümde, 90 günlük besleme deneyi sonunda farklı KAS larva unu ihtiva edilen yemler ile beslenen balıkların *Lactococcus petauri* patojenine karşı dirençliliği değerlendirilmiştir.

2.1. Besleme Çalışmaları

2.1.1. KAS Larvalarının Elde Edilmesi

KAS larvaları üretimi için, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Prof. Dr. İbrahim OKUMUŞ Uygulama ve Araştırma Ünitesinde bir larva üretim odası kurulmuştur. Tavuk nugget artığı unu ve meyve-sebze karışımı (1:9) üzerinde

yetiştirilen KAS larvaları, prepupal aşamada hasat edilmiş, kurutulmuş ve larva unu üretmek için öğütülmüştür. KAS larvalarının üretim görsellerine Şekil 5’de yer verilmiştir.



Şekil 5. Kara asker sineği larva unu üretimi (A: sinekhane, B: larvaların oluşması, C: hasat, D: kurutma işlemi, E: larva unu)(orijinal)

2.1.2. Balık Diyetlerinin Hazırlanması

Tez çalışmasında, Balık unu, Kara Asker Sineği (KAS) larva unu, balık yağı, soya, mısır gluteni, buğday unu ve vitamin-mineral karışımından oluşan yem rasyonu oluşturulmuştur. Kontrol yem grubu olarak %40 oranında balık unu ihtiva edecek bir bazal diyet (B0) hazırlanmıştır. Akabinde bazal diyetteki balık unu sırasıyla %25, %50, %75, %100 oranlarında KAS larva unu ihtiva edecek şekilde diyetler hazırlanmış ve bu diyetler B25, B50, B75, B100 olarak adlandırılmıştır. Diyet gruplarının yem formülü ve içerikleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Deneysel diyet gruplarının yem formülleri

Yem İçeriği (%)	Diyet Grupları				
	B0	B25	B50	B75	B100
Balık unu	40	30	20	10	0
KAS larva unu	0	10	20	30	40
Balık yağı	9	9	9	9	9
Soya	20	20	20	20	20
Mısır gluteni	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3
Buğday unu	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7
Vitamin-Mineral Karışımı	1	1	1	1	1

Balık yemleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, İyidere Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde hazırlanmıştır. Belirlenen oranlardaki yem hammaddeleri hazırlanmış, geniş bir kap içerisine aktarılıp yavaş yavaş su ilave edilerek karıştırılıp yoğurularak hamur kıvamına getirilmiş ve kıyma makinesi ile çekilerek pelet formu verilmiştir. Akabinde pelet halindeki yemler fırında kurutulmuş ve kesilerek ufaltılmıştır. Hazırladığımız deneysel yemler nem alıp bozulmaması için +4°C buz dolabında muhafaza edilmiştir. Yem hazırlama aşamaları ile ilgili görsellere Şekil 6'da yer verilmiştir.



Şekil 6. Balık yemlerinin hazırlanması (A: hammadde, B: yoğurma işlemi, C: kıyma makinesi ile çekme işlemi, D: pelet halindeki yem, E: ufaltılmış yem)(orijinal)

2.1.3. Deney Düzeneğinin Hazırlanması

Balık besleme denemeleri için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, İyidere Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde 10 adet (75L/adet su hacmine sahip toplam hacmi 100L/adet) fiber glass tank kullanılarak deney deneme düzeneği oluşturulmuştur. Tüm tanklar doğal kaynak suyu akış sistemine bağlanmıştır. Deney grupları (toplam 5 farklı diyet grubu) için ortalama boy ve ağırlıkları birbirine benzer olan ($5,01 \pm 0,08\text{g}$ ve $7,50 \pm 0,06\text{cm}$) 600 adet gökkuşağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) her bir tanka 60 adet yerleştirilmiş ve her bir diyet grubuna rasgele iki tank atanmıştır. Tanklar hava taşları ile sürekli olarak oksijenlendirilmiştir. Deneme boyunca tankların su sıcaklığı günlük olarak ölçülüp kayıt altına alınmıştır. Deney grupları haricinde sadece ticari yem ile beslenen pozitif kontrol grubu da mevcuttur. Kurulan deney düzeneğinin fotoğrafları Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Çalışmalar için kurulan deney düzeneği (orijinal)

2.1.4. Balıkların Beslenmesi ve Bakımı

Deneyssel diyet gruplarındaki balıklar 90 gün boyunca el ile günde 3 öğün (sabah 09:00 öğlen 13:00 ve akşam 17:00 saatlerinde), vücut ağırlıklarının %1'i oranında yemlenmiştir. Bu süreçte 15 günlük periyotlarla toplamda 6 kez balıkların boy ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Ölçümden önceki iki gün boyunca balıklar aç bırakılarak sindirim sistemindeki dışkıların atılması sağlanmıştır. Ölçümden hemen önce balıklar seyreltik benzokain çözeltisi (50-100mg/L) ile bayıltılmıştır.

2.2. Bağırsak Mikrobiyotası Metagenom Çalışmaları

2.2.1. Bağırsak, Ön Böbrek ve Su Örneklerinin Alınması

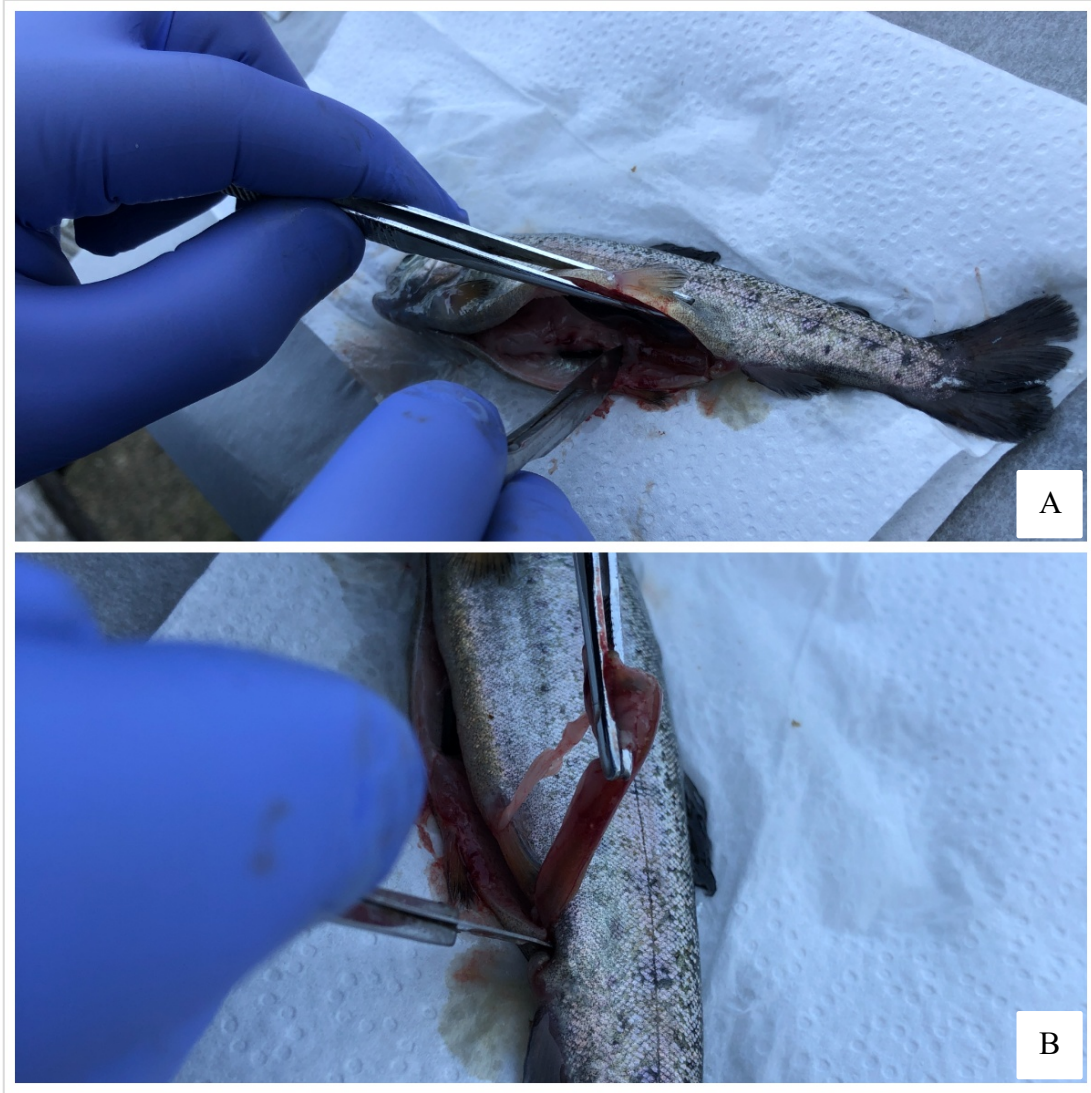
Büyüme deneyinin sonunda her gruptan üçer balık rastgele örneklenerek farklı oranlarda KAS unu ikame edilen yemler ile beslenen balıkların sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu değişimi değerlendirilmiştir. Balıklar, yemlerin sindirim sisteminden geçmesine izin vermek ve allokon (kolonize olmayan) mikrobiyotanın sindirim sistemindeki miktarının azaltılabilmesi için 48 saat boyunca aç bırakılmıştır.

Örneklen balıklara, yüksek dozda (250mg/L) benzokain ile ötenazi yapılmıştır. Balıkların sindirim sistemi (orta bağırsak) aseptik olarak çıkartılmış ve DNA izolasyonu yapılana kadar 1,5 ml'lik plastik tüpler içerisinde -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Bağırsak örneklerinin yanı sıra, yine aynı balıklardan ön böbrek örnekleri de aseptik olarak alınmış ve 1,5ml'lik plastik tüplere alınarak RNA izolasyonu yapılana kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Alınan ön böbrek örnekleri hastalık denemesinin 0.gün örnekleri olarak kullanılmıştır.

Ayrıca, her tanktan birer litrelik su örneği alınmış ve 0,22 µm gözenek boyutlu polietersülfon membran filtreden geçirilerek süzölmüştür. Herhangi bir kontaminasyon ve taşınmayı ortadan kaldırmak amacıyla negatif kontrol için 100 mL DNA/RNA içermeyen su filtrelenmiştir.

Balıklardan sindirim sistemlerinin ve ön böbreklerinin örneklenmesini gösteren görseller Şekil 8'de sunulmuştur.



Şekil 8. Böbrek ve sindirim sistemi örneklemeleri (A: karın boşluğunun kesilmesi, B: balık bağırsağının alınması)(orijinal)

2.2.2. DNA'nın Saflaştırılması

Bağırsak örneklerinden DNA saflaştırması DNeasy PowerSoil Kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) ile üretici firmanın belirttiği protokol uygulanarak yapılmıştır. Kısaca, -80°C'de muhafaza edilmekte olan bağırsak örnekleri çıkarılmış, tek kullanımlı bistüri ile yarıya kadar kesilerek açılmış ve bağırsak içeriği mukozal tabaka ile birlikte kazınarak alınmıştır. Örneklerden 0,2 mg bağırsak mukozası PowerBead tüpüne alınmıştır. Kısa süre vortekslelendikten sonra 80 µl C1 solüsyonu eklenmiş ve homojenizatör (Bioprep-24) ile 1000 m/s hızda 3 x 30 sn homojenize edilmiştir. Sonraki adımlar üreticinin belirlemiş olduğu protokole göre gerçekleştirilmiştir.

Tanklardan alınan ve filtrelenmiş su örneklerinden çevresel DNA (eDNA) saflaştırma işlemleri DNeasy PowerWater Kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Saflaştırma üretici firmanın belirlediği protokole göre gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen tüm DNA örneklerinin kalite ve konsantrasyonunun belirlenmesi için, örnekler %1,5'lik agaroz jel üzerinde 5 µl DNA +1 µl yükleme boyası ve 100 bç DNA markır ile 1X TAE tampon sisteminde koşturularak jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir. Ayrıca örneklerin konsantrasyonları spektrofotometrik yöntem (Nanodrop) (Nano-200, Allsheng Inc.) ile de ölçülmüştür. Saflaştırılmış DNA örnekleri bir sonraki işleme kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3. 16S rRNA Geni V3-V4 Bölgesinin Çoğaltılması

Saflaştırılan DNA örneklerinden 16S rRNA geninin V3-V4 değişken bölgesini çoğaltmak için 341F ve 805R primerleri, 5X HiFi Tampon (Kappa Biosystem, Cape Town, Güney Afrika), dNTP Karışımı, kalp DNA, HiFi HotStart DNA Polimeraz (Kappa Biosystem) ve ultra saf su kullanılmıştır. PZR işlemi için kullanılan malzemelerin miktarları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Amplikasyon için kullanılan malzemeler ve miktarları

Formül	Miktar (1) (µl)
5X HiFi Tampon	10
341F (0,6 µM)	1,5
805R (0,6 µM)	1,5
dNTP Karışımı (her biri 0,6 mM)	1,5
Kalıp DNA	3
HiFi HotStart DNA Polimeraz	1
Ultra saf su	31,5
Toplam	50

PZR amplifikasyon işlemi Tablo 4'deki bileşenlerle termal döngü cihazı (Applied Biosystems, ABD) kullanılarak Tablo 5'de belirtilen reaksiyon sıcaklıkları uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5. PCR amplifikasyon koşulları

Adımlar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95	3 dk	1
Denatürasyon	98	20 sn	
Tutunma	55	18 sn	24
Uzama	72	15 sn	
Son uzama	72	10 dk	1

PZR amplifikasyon işlemleri tamamlandıktan sonra, elde edilen ampikonlar kalite ve konsantrasyon kontrolü için, %2'lik agaroz jel elektroforezi üzerinde yürütülerek görüntülenmiştir.

2.2.4. Çoğaltılan Örneklerin Dizilenmesi

Örneklerin DNA kütüphanesinin hazırlanmasında Nextera XT DNA Library Prep kiti (Illumina, San Diego, California, ABD) kullanılmıştır. Örnekler eşit bir şekilde tek bir tüp içerisinde birleştirilmiş ve standart Illumina sekanslama protokolleri izlenerek Illumina NovaSeq 6000 dizileme platformunda paired-end sekanslama yöntemi (2 x 50) ile dizilenmiştir. DNA kütüphanesinin hazırlanması ve dizileme işlemleri hizmet satın alma yöntemiyle yapılmıştır.

2.2.5. Biyoinformatik Analiz

Elde edilen ham okumaların kalite kontrolleri yapılmıştır. Boyutu 150 bp'den küçük olan diziler ve Q- skoru 20'den küçük olan diziler veri setinden ayıklanmıştır. Çift yönlü dizi okumaları FLASH v. 1.2.11 kullanılarak birleştirilmiştir. Dizilerin veri analizinde, QIIME iş akışı kullanılmıştır (Gajardo vd., 2017). QIIME ile kimerik dizilerin çıkarılması ve etkili etiketlerin oluşturulmasının ardından, OTU belirleme aşamasında diziler %97 benzerlik temelinde SILVA 138 SSUrRNA veri tabanına göre işlevsel taksonomik birimlere (OTU) atanmıştır. OTU atamaları cins seviyesinde veya mümkün olan en düşük taksonomik seviyelerde yapılmıştır. *Cyanobacteria* filumuna ait taksonlar, bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olmadıkları düşünüldüğü için veri setinden ayıklanmıştır.

2.3. Hastalık Direnci Testi ve Bağışıklık Genlerinin Ekspresyonu

2.3.1. Bakterinin Hazırlanması ve Balıklara Enjekte Edilmesi

Lactococcus petauri (Lg-Per suşu) Tryptic Soy Agar (TSA)'da 30°C'de, 24 saat boyunca inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Tek ve saf bir bakteri kolonisi TSA agar besiyerinden Brain Heart (Infusion) Agar (BHI) sıvı besiyerine aktarılmıştır. Bakteriler inkübasyon sonrası 10 dk boyunca 4000 x g'de santrifüj edilerek BHI sıvı besiyerinde peletlendirilmiştir. Elde edilen pelet Phosphate Buffered Saline (PBS) içinde yeniden süspanse edilmiştir. Bakteri konsantrasyonunu 1×10^6 CFU değerine ayarlamak için seyreltme işlemi ve spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır (McFarland, 1907). Enjeksiyon konsantrasyonu olarak belirlenen değer olan 1×10^6 CFU gökkuşağı alabalıkları için daha önceki yapılan çalışmalarda *L. petauri* suşu için belirlenen LD₅₀ değeridir.

Her bir diyet gurubundan rastgele seçilen 60 adet balık kullanılarak, iki tekrarlı olacak şekilde (her bir diyet grubu için iki tank ve her tankta 30 adet balık) tanklara yerleştirilmiştir. Toplamda 300 adet gökkuşağı alabalığı kullanılmıştır. Enjeksiyon öncesi balıklar benzokain solüsyonu (50-150mg/L) ile sakınleştirilmiştir. Karın boşluğuna enjeksiyon yöntemi kullanılarak balıklara 0,1ml *L. petauri* enjekte edilmiştir. Kontrol grubuna ise 0,1 ml fosfat tamponlu salin (PBS) enjekte edilmiştir.

2.3.2. Enfeksiyon Sonrası Hastalık Takibi

L. petauri ile enfekte edilmiş balıklar aynı deneysel diyet yemleri ile beslenmeye devam edilmiştir. Kontrol grubu bazal diyetle (B0), diğer gruplar farklı oranlarda KAS içeren (B25, B50, B75, B100) yemler ile günde iki kez yemlenmiştir. Enfeksiyon sonrası hastalık ve ölümler 21 gün boyunca takip edilmiştir. Tanklarda meydana gelen ölümler her gün kaydedilmiştir. Ölü balıkların fotoğrafları çekilmiş ve tanklardan çıkarılmıştır. Su sıcaklıkları günlük ölçülmüştür. Deneme süresince su sıcaklığı 11,9 °C ila 16,6 °C arasında değişim göstermiştir. Hastalık deneyinin sonunda her grubun göreceli hayatta kalma oranları kaplan-Meier testi ile hesaplanmıştır.

2.3.3. Ön Böbrek Örneklerinin Alınması

Gen ekspresyonu analizi için hastalık denemesinin 0., 3., 7., 14. ve 21. gününde her diyet grubundan 3'er balık olmak üzere toplam 15 adet balığın ön böbrek örnekleri

alınmıştır. Önce yüksek doz benzokain (250mg/L) ile anestezi uygulanan balıkların ön böbrek örnekleri aseptik şekilde çıkarılıp, 5ml'lik tüpler içerisinde RNA izolasyonuna kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.3.4. RNA İzolasyonu

Hastalık denemesinin farklı günlerinde balıklardan alınan ön böbreklerden RNA saflaştırması ve cDNA sentezi yapılmıştır. RNA saflaştırma işlemleri ticari bir kit (NucleoGene, İstanbul, Türkiye) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokol izlenerek yapılmıştır. Dondurulmuş ön böbrek dokularından 20mg doku buz üzerinde tartılarak alınmış ve 1 ml RNA ekstraksiyon kiti solüsyonu içinde Bioprep-24 homojenizatör kullanılarak 900 m/s hızda 3 x 25 sn süreyle homojenize edilmiştir. Saflaştırma sırasında ortamdaki DNA'yı uzaklaştırmak için örnekler DNase I enzimi ile muamele edilmiştir.

Saflaştırılan RNA'ların kalitesi ve miktarı bir Nanodrop spektrofotometre (Nano-200, Hangzhou AllSheng) kullanılarak belirlenmiştir. RNA saflaştırma işleminin hemen ardından cDNA sentezi yapılmıştır.

2.3.5. cDNA Sentezi

Balıkların ön böbrek örneklerinden izole edilmiş RNA'ları cDNA'ya (komplementer DNA) çevirmek için RevertAid First Strand cDNA Sentez Kiti (Thermo Scientific, ABD) kullanılmıştır. Bu amaçla, PZR tüplerinin içine aktarılan solüsyonlar ve miktarları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. cDNA sentezi için kullanılan solüsyonlar ve miktarları

Formül	Miktar (1) (µl)
Template (Kalıp) RNA	3
5X reaksiyon buffer tamponu	4
10 nM dNTP	2
RNaz inhibitörü	1
Revert Aid	1
50 M primer (Random Hexamer)	1
Saf su	8
Toplam	20

Ters transkripsiyon T100 termal döngü cihazında (Bio-Rad Laboratories, California, ABD) gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Ters transkripsiyon için uygulanan termal sıcaklık döngüsü

Sıcaklık (°C)	Süre(dk)
25	5
42	60
70	5

Elden edilen cDNA örnekleri bir sonra işlemlere kadar -80 °C’de muhafaza edilmiştir.

2.3.6. Gerçek Zamanlı qPZR Testi

Bağışıklıkla ilgili olduğu varsayılan genlerin ekspresyonu RT-qPCR yöntemi kullanılarak Q2000A Gerçek Zamanlı qPCR (LongGene, Çin) cihazında yapılmıştır. Primerleri tasarlamak için GenBank Primer Tasarım Aracı (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) kullanılmıştır. Tasarlanan primerler Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Gen ekspresyonu için kullanılan primer çiftler

Primer	İleri primer5’ -3’	Geri primer5’ -3’	Boyut (bp)	Erime sıcaklığı (°C)	Verimlilik	R ²	Genbank erişim numarası
<i>IGM</i>	AATGGAATGACGAAGGCGGG	TGCTGCAGATATTCCGGTTGT	199	60	100,50	98,52	S63348
<i>IGT</i>	GTGATTACCAGGAGGGGGTC	AGGCTCAGTCAGTAGGGTGTT	209	59	100,9	98,24	KX185936.1
<i>MHC-II</i>	AGGTGGTTCAAATGCGAGGA	GACATGGGGCTCAACTGTCT	95	59	99,66	99,61	NM_001195534
<i>TNF-α</i>	CCGTCAACGATGCAGGATGAA	GCCGGCAATCTGCTTCAATG	90	60	99,25	99,72	AJ277604
<i>TLR-5</i>	AGAGTACGCGGGGGAAGTAA	GGGGTGCATTTCACCACTTG	244	59	97,63	99,68	AB062504
<i>IL-8</i>	GCAAGAGCGGTCAGGAGATT	CTGTGTTGTTTTACCGGGTCG	119	59	101,8	99,72	AY160987
<i>TGF-β</i>	ACAGTTGCTGGGTTTGAATACG	TCAAAAAGGATCAGCCCCCA	199	59	100,1	99,69	AJ007836.1
<i>IL-1β</i>	GACTTGATGGCTAGGCACTG	AAAGGAAACGCACCATGTCTG	248	59	101,8	99,14	AJ004821
<i>IL-10</i>	GTGTCACGCTATGGACAGCA	CGAGCCAGTCTACTTACGCA	171	59	100,5	98,91	AB118099
<i>β-Actin</i>	TACCACCGGTATCGTCATGG	CAGAGCGTAGCCCTCGTAGA	73	59	98,03	99,63	KC888023

RT-qPCR için seyreltilmiş cDNA, EvaGreen (Biotium, Inc., Parkway Fremont, CA, ABD), primer karışımı ve hot-start Taq 2X Master Mix (Qiagen)'ler kullanılmıştır. Kullanılan malzemeler ve miktarları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. RT-qPCR işleminde kullanılan solüsyonr ve miktarları

Formül	Miktar (1) (µl)
Seyreltilmiş cDNA	1
EvaGreen	0,7
Primer karışımı	1
Hot-start Taq 2X Master Mix	12,5
Saf su	4,8
Toplam	20

RT- qPCR termal için uygulanan döngü ayarları Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. qPCR termal döngü ayarları

Adımlar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95	15 dk	1
Denatürasyon	95	20 sn	
Tutunma	59	20 sn	40
Uzama	72	30 sn	
Erime eğrisi (Melting curve)			

Farklı diyet grubu ile beslenip *L. petuari* ile enfekte edilen balıklarda bağışıklık ile ilgili genlerin ekspresyonunu değerlendirmek için immünoglobulin M (*IgM*), tümör nekroz faktörü (*Tnf-a*), transforme edici büyüme faktörü beta (*Tgf*), immünoglobulin tau ağır zinciri (*IgT*), interlökin 8 (*Il-8*), toll benzeri reseptör 5 (*Tlr-5*), interlökin 10 (*Il-10*), interlökin 1 Beta (*Il-1β*) ve majör histokompatibilite kompleksi II (*MhcII*) genlerinin ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür. Kontrol geni olarak beta-aktin kullanılmıştır. Amplifikasyonu kontrol etmek için RT-qPCR ürünleri %2,5 agaroz jel üzerinde görüntülenmiştir. RT-qPCR verimliliği ve gen ekspresyon sonuçları Öztürk vd. (2019) göre analiz edilmiştir. İlgili gen ekspresyonunun kantifikasyonu için karşılaştırmalı CT ($\Delta\Delta Ct$) yöntemi kullanılmıştır. İlgili gen ekspresyonu (kat değişiklikleri cinsinden) $2^{-\Delta\Delta CT}$ ile hesaplanmıştır.

2.3.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz ve görselleştirme için R programlama (ver. 4.2.1) (R Core Team, 2021) kullanılmış ve tüm istatistiksel analizler %95 güven aralığında gerçekleştirilmiştir.

Deney grupları arasında yaygın veya özgün operasyonel taksonomik birimler (OTU)'ların sayılarını görselleştirmek için Venn Diagram (v 1.7.3) paketi kullanılarak Venn diyagramları oluşturulmuştur. Filum, familya ve cins seviyelerinde relatif (göreceli) bolluk bar (çubuk) grafikleri ggplot2 (v. 3.4.0) paketi kullanılarak oluşturulmuştur. Bakteri kompozisyonlarını daha iyi yansıtmak için Metacoder paketi kullanılarak Heat trees (ısı ağaçları) grafiği oluşturulmuştur. Bağırsak mikrobiyom (microbiome) kompozisyonunun görsel ayrımını belirlemek için FactoMineR ve factoextra paketleri kullanılarak temel bileşen analizi (PCA) yapılmıştır. Bray-Curtis farklılık matrisi ve 999 permütasyon değeri ile, vegan paketi kullanılarak, gruplar arasında bağırsak mikrobiyomundaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Benzerliklerin analizi (ANOSIM)'ndeki anlamlı bir farklılığın ardından, gruplar arası ikili farklılıkları belirlemek için benzerlik yüzdeleri (SIMPER) kullanılmış ve taksonun katkısı değerlendirilmiştir.

Gen ekspresyonu deneyini takiben, sağkalım eğrileri (survival curves) Kaplan-Meier prosedürü kullanılarak oluşturulmuş ve Cox-Mantel (log-rank) testi kullanılarak yapılmıştır. Deneme gruplarındaki farklılıkların istatistiksel önemi iki yönlü (two-way) ANOVA kullanılarak belirlenmiştir. Deney grupları arasında gen ekspresyonundaki çok değişkenli varyasyonu değerlendirmek için temel bileşen analizi (PCA) ve PERMANOVA gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Bağırsak Mikrobiyotası

Metabarkodlama sonucunda tüm diyet grupları ve su örnekleri dahil olmak üzere toplam 654626 ham okuma elde edilmiştir. Kalite filtrelemesi ve kimera (chimera)'ların ortadan kaldırılması (giderilmesi) işlemlerinden sonra, en düşük okuma 49174 (su) ile en yüksek okuma 97761 (B100) arasında değişen toplam 486850 filtrelenmiş okuma elde edilmiştir. Genel olarak, OTU atanması yapılamamış okuma yüzdesi %0,8 (B0) ile %28,1 (su) arasında değişmektedir. Elde edilen dizi okuma verileri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Dizileme sonrası elde edilen ham okuma verileri

	B0	B25	B50	B75	B100	Sudaki	Toplam
Toplam ham okuma	112082	101886	113657	100759	120274	105968	654626
Toplam filtrelenen okuma	84073	79921	91574	84347	97761	49174	486850
Toplam OTU atanmış okuma	83407	78807	90735	83352	96518	31984	464803
Atanmamış okuma	666	1114	839	995	1243	13818	18675

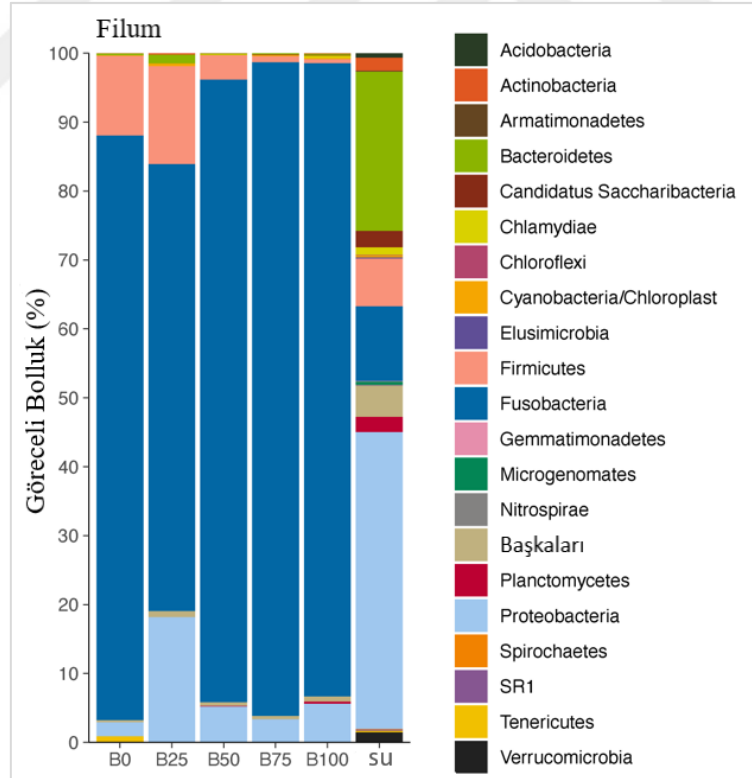
Good's Coverage Index'e göre alfa çeşitlilik metriği (Alpha diversity matrix) tahmini bağırsak örnekleri için $0,9787 \pm 0,0004$ (ortalama $\pm$ SE) ve su örnekleri için 0,4287 olarak hesaplanmıştır; bu da bağırsak örnekleri için yeterli dizileme derinliğini ve su örnekleri için yetersiz dizileme derinliği yapıldığını göstermektedir.

Balık mikrobiyotasından elde edilen diziler 359 OTU'ya atanmıştır. 59 OTU B0 ile, 119 OTU B25 ile, 112 OTU B50 ile, 83 OTU B75 ile ve 146 OTU B100 ile beslenen gruptaki balık bağırsak mikrobiyotasında bulunmuştur. Suda ise toplam 483 OTU bulunmuştur. OTU kompozisyon analizleri için filtrelenmiş (göreceli bolluğu %0,005'ten az olan OTU'lar hariç tutulmuştur) okumalar 10 filum, 64 familya ve 171 cins düzeyinde tanımlanmıştır. Bunlardan 9 filum, 28 familya ve 42 cins tüm kütüphanelerde ortak bulunmuştur. Good's coverage, alfa çeşitlilik indeksi ve atanmış OTU'lar Tablo 12'de gösterilmiştir.

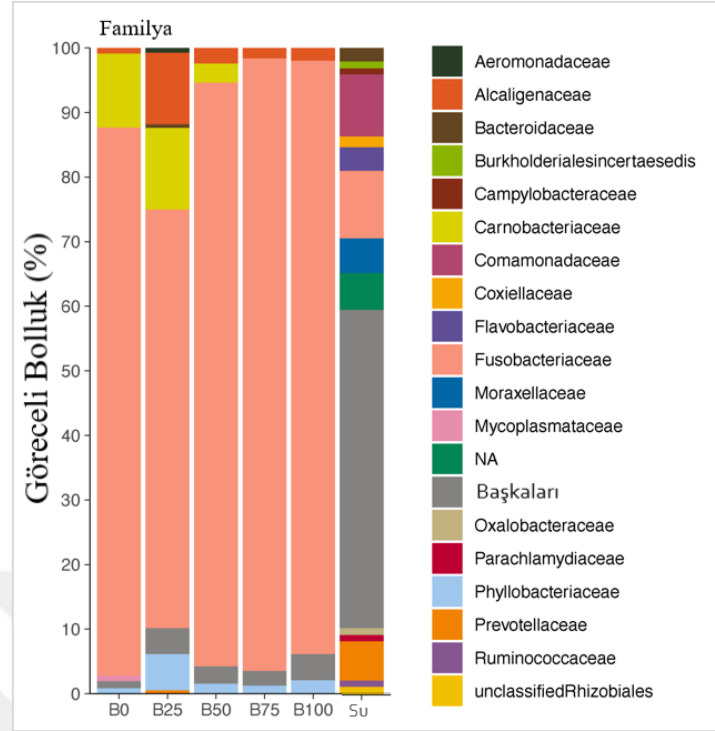
Tablo 12. Good's coverage, alfa çeşitlilik indeksi ve OTU sayıları

	B0	B25	B50	B75	B100	Sudaki	Toplam
Good's coverage	0.9775	0.9641	0.9696	0.9775	0.9651	0.4287	
Shannon	0.58	1.28	0.48	0.31	0.42	3.98	
Simpson	0.27	0.54	0.17	0.09	0.13	0.95	
Filum	9	8	9	9	9	10	10
Familya	28	42	42	35	44	62	64
Cins	42	69	67	55	76	159	171
OTU	59	119	112	83	146	483	359

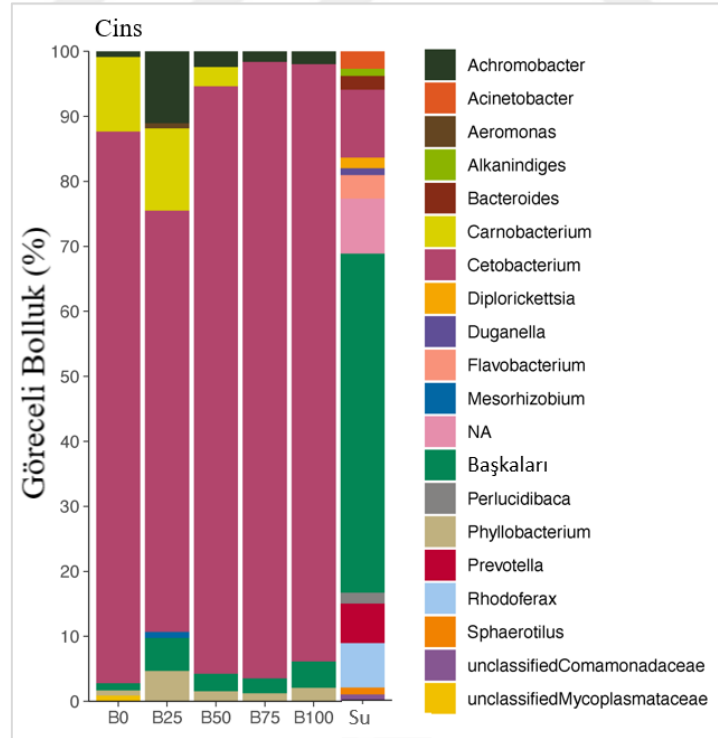
Tüm balıkların (Bazal diyet ve KAS içeren diyetle beslenen balıkların) bağırsaklarındaki mikrobiyota su mikrobiyotasından farklı bulunmuştur. En bol bulunan bakteri filumların örneklerde filum, familya ve cins düzeyinde dağılımları sırasıyla Şekil 9, Şekil 10, ve Şekil 11'de gösterilmiştir.



Şekil 9. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların filum seviyesinde dağılımı

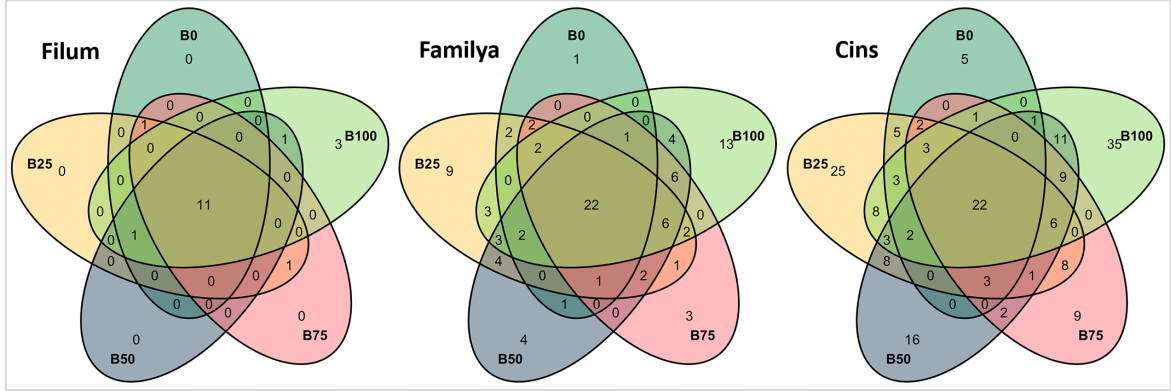


Şekil 10. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların ailesi seviyesinde dağılımı



Şekil 11. Bağırsak mikrobiyotasında en yaygın gözlenen taksonların cins seviyesinde dağılımı

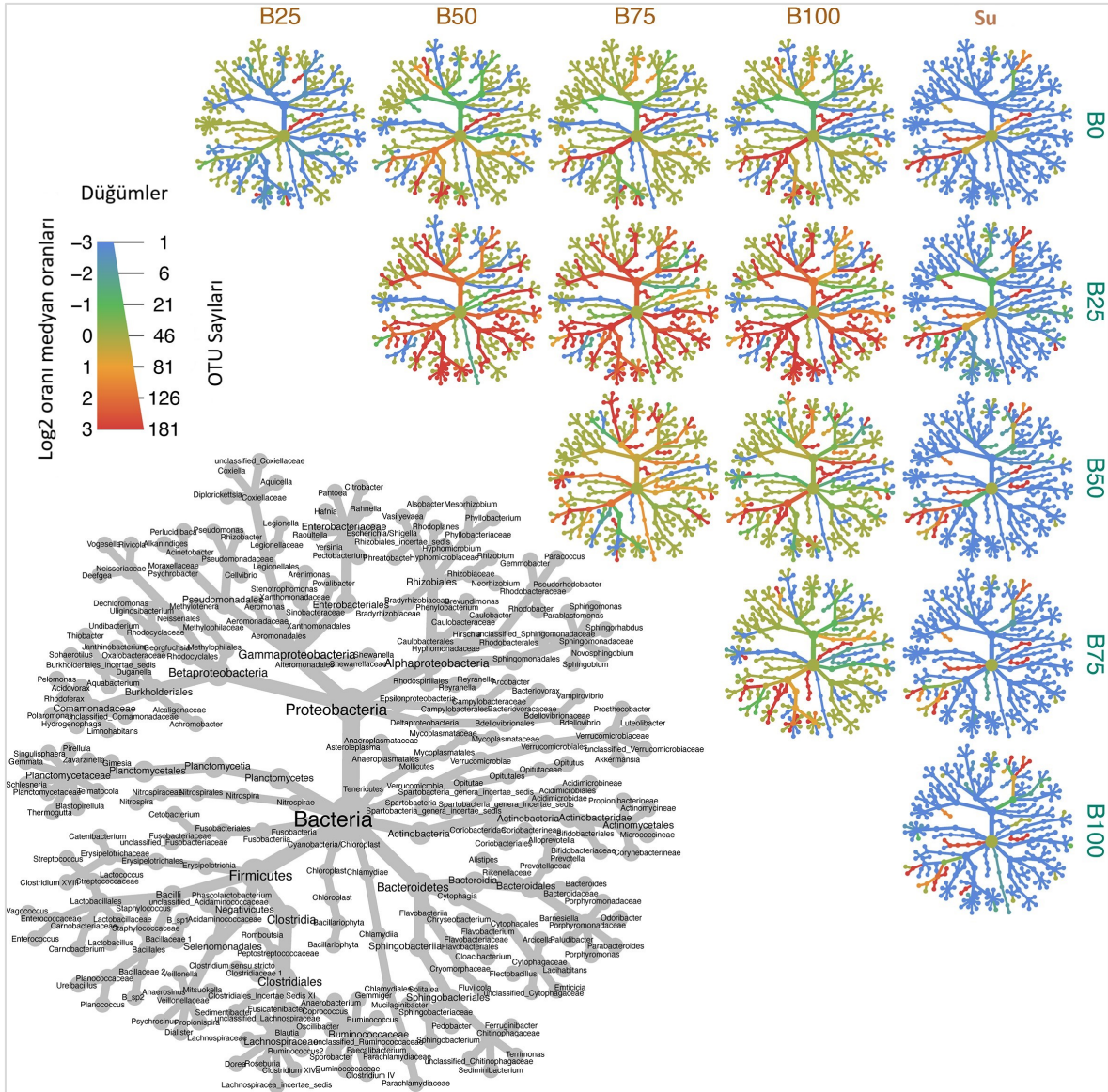
Fusobacteria, *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* en fazla tespit edilen filumlar arasındadır. *Fusobacteriaceae*, *Carnobacteriaceae* ve *Alcaligenaceae* en fazla tespit edilen familyalar arasındadır. Son olarak, *Cetobacterium*, *Carnobacterium* ve *Achromobacter* ise en fazla tespit edilen cinsler arasındadır. Filum, familya ve cins düzeyinde her bir gruba özgün ve ortak gözlenen OTU'lar Şekil 12'de gösterilmiştir.



Şekil 12. Gruplar arası farklılık ve ortak otu'ların venn şeması

Ana taksonlar kontrol diyeti ve KAS içeren diyetle beslenen gruplarda benzer kalırken, ticari bir diyetten KAS içeren bir diyetle geçiş bağırsaktaki bakteri çeşitliliğini artırmıştır. Genel olarak, bağırsaktaki bakteriyel çeşitliliğin artması öncelikle *Firmicutes* (*Bacillaceae*), *Actinobacteria* (*Propionibacteriaceae*, *Coriobacteriaceae* ve *Corynebacteriaceae*) ve *Proteobacteria* taksonlarının bolluklarındaki değişimden kaynaklı olduğu gözlemlenmiştir.

Gruplar arasındaki mikrobiyota önemli ölçüde farklı bulunmuştur (ANOSIM, $R^2 = 0.84$, $p < 0.05$). Şekil 11'deki yığılmış çubuk grafikler alabalık grupları arasında benzer mikroorganizma bolluğunu gösterirken, aşağıdaki Şekil 13'da gösterilen ısı ağacı grafiği gruplar arasında paylaşılan ve paylaşılmayan OTU'ları ortaya koymaktadır.

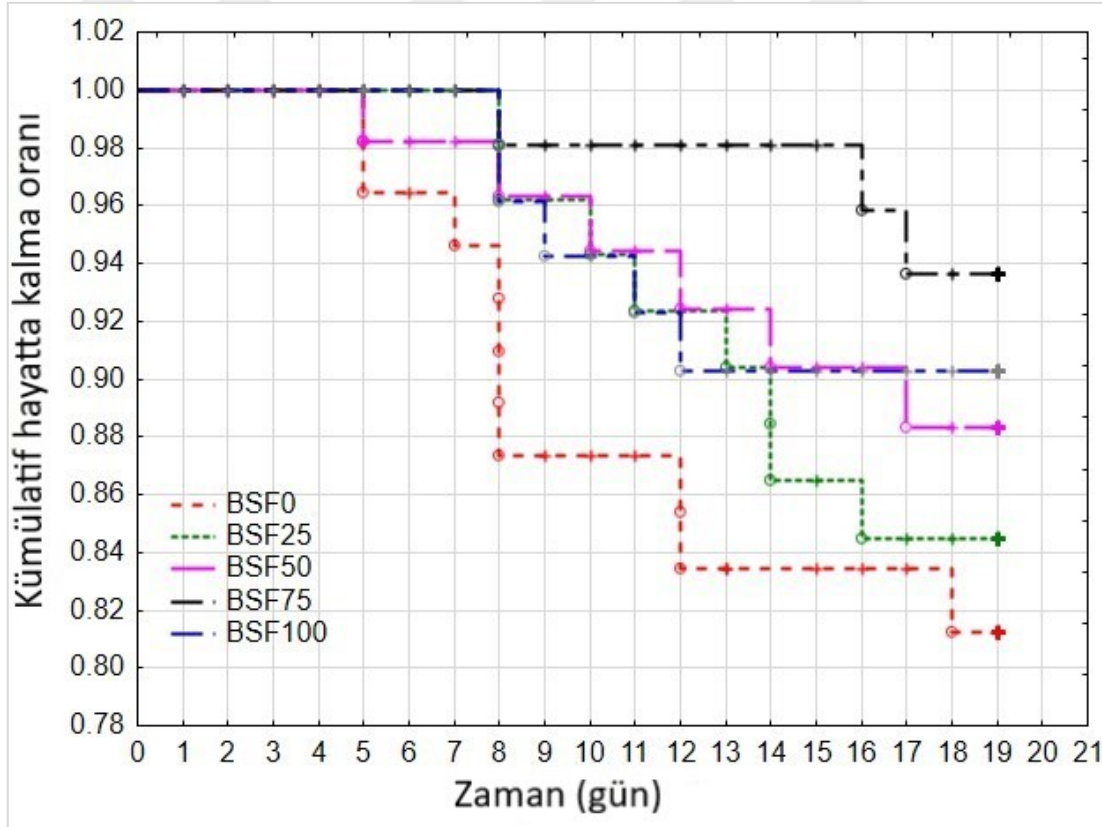


Şekil 13. Gruplara göre bakterilerin head tree (ısı ağacı) grafiği

ANOSIM sonuçlarına göre, su mikrobiyotası tüm bağırsak mikrobiyotalarından önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte, sindirim sistemlerindeki mikrobiyal topluluk kompozisyonlarında önemli bir fark tespit edilmemiştir. SIMPER analizi, *Cetobacterium* (Fusobacteria filumu), *Achromobacter* (Proteobacteria Filumu) ve *Carnobacterium* (Firmicutes Filumu) cinslerinin artan bolluklarının gözlemlenen grup farklılıklarına en önemli katkıda bulunan taksonlar olduğunu ortaya koymuştur. SIMPER tablosuna ek tablo 1’de yer verilmiştir.

3.2. Hastalık Direnci Testi

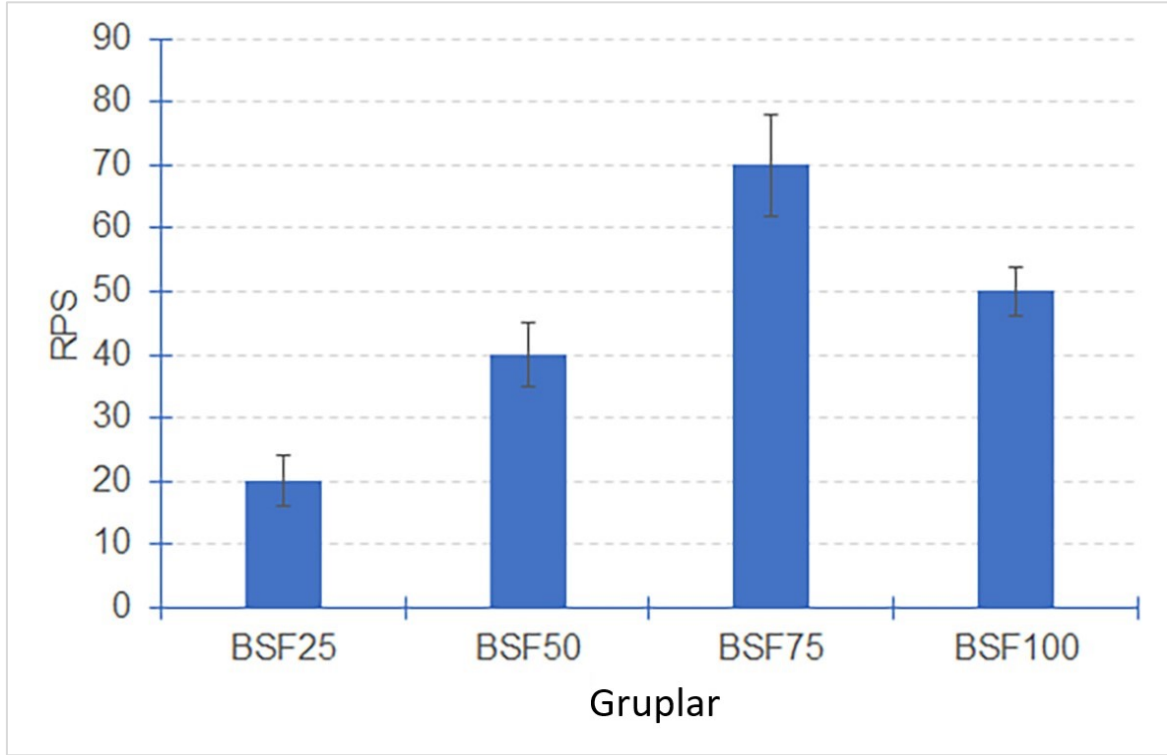
Hastalık direnci testi süresince kontrol grubunda (*L. petauri* ile enfekte edilmeyen grup) deneme süresi boyunca herhangi bir ölüm meydana gelmemiştir. *L. petauri* ile enfekte edilen balıklarda ilk ölümler denemenin 5. gününde B0 ve B50 gruplarında başlamıştır. Gruplara göre ölüm sıralaması B0>B25>B50>B100>B75 olarak ifade edilebilmektedir. Bu sıralama *L. petauri* 'ye karşı en dirençli grubun B75 olduğunu göstermektedir. En çok ölüm B0 grubunda yaşanırken, en az ölüm ise B75 grubunda gözlenmiştir. Günlük ölümlere bakıldığında meydana gelen en çok günlük ölüm hastalığın 8. gününde meydana gelmiştir. Bu da hastalığın 8. gününde en şiddetli geçtiğini, sonrasında yavaş yavaş etkisinin azaldığını göstermektedir. Gruplara göre balık ölümleri Şekil 14’de görselleştirilmiştir.



Şekil 14. Farklı diyetler ile beslenen grupların *L. petauri* ile enfeksiyonu sonrası deneme süresi boyunca gözlenen kümülatif hayatta kalma oranları

B0 grubuyla karşılaştırıldığında, balıkların KAS içeren yemlerle %25, %50, %75 ve %100 seviyelerinde beslenmesi, balıkların hayatta kalma oranını sırasıyla 20, 40, 70 ve 50

oranında artırdığı tespit edilmiştir. Farklı oranlarda KAS unu ihtiva eden yemler ile beslenen balıkların karşılaştırmalı hayatta kalma oranı Şekil 15’de gösterilmiştir.



Şekil 15. Kontrol grubuna göre farklı oranlarda KAS unu içeren diyetler ile beslenen balıkların karşılaştırmalı hayatta kalma oranları

Ölü balıkların karaciğerleri, böbrekleri ve dalaklarından yapılan ekimlerde saf *L. petauri* kolonileri elde edilmiştir. Ölmüş balıkların gözlerinde dışa doğru şişme (egzoftalmus), kanama ve karınlarında şişkinlik gözlemlenmiştir. Bunlar semptomlar *Lactococcus* hastalığı sonucu yaygın gözlenen semptomlardır. Hastalığın etkisi altında kalan balıkların önce gözlerinin kör olmaya başladığı, akabinde yem almayı kestiği, suyun yüzey kısmında hareket ettiği gözlemlenmiştir. Hastalık etkisi altında kalan ya da hastalıktan dolayı ölen balıklara ait bazı fotoğraflar Şekil 16, Şekil 17 ve Şekil 18’de verilmiştir.



Şekil 16. *Lactococcus* hastalığı sonucu gözlenen karında şişkinlik (orijinal)



Şekil 17. *Lactococcus* hastalığı sonucu gözlerde oluşan hemoraj ve eksoptalmia (orijinal)



Şekil 18. *Lactococcus* hastalığını takip eden süreçte gözlerde mantarlaşma (orijinal)

3.3. Gen Ekspresyonu

RT-qPCR ile kontrol grubu (B0) ve farklı oranlarda KAS içeren diyet gruplarının (B25, B50, B75 ve B100) böbreğindeki sitokinlerin (*Il-10*, *Tnf- α* , *Il-8*, *Tgf- β* ve *Il-1 β*) ve bağışıklık ile ilgili genlerin (*IgM*, *Tlr-5*, *Mhc-II* ve *IgT*) ekspresyonu değerlendirilmiştir.

Hastalığın 0.günü (balıklar *L. petauri* ile enfekte edilmeden önce) tüm sitokinlerin ve bağışıklıkla ilgili genlerin gen ekspresyonları en düşük düzeyde bulunmuştur. Farklı seviyelerdeki gen ekspresyonları hastalığın 3. günü ve sonrasında itibaren tespit edilmeye başlanmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, farklı oranlarda (%25, %50, %75 ve %100) KAS larva unu içeren diyetlerle beslenen gruplardaki balıkların 3. günden başlayarak sitokinlerinin (*Il-10*, *Tnf- α* , *Il-8*, *Tgf- β* ve *Il-1 β*) ve bağışıklık ile ilgili genlerinin (*IgM*, *Tlr-5*, *Mhc-II* ve *IgT*) ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak önemli ölçüde artmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 19).

Kontrol grubu (B0) ile kıyaslandığında, KAS larva unu içeren diyetlerle beslenen tüm gruplardaki tüm sitokin yanıtlarında (B100 grubu için *Il-10* hariç) artış olmuştur. Bu süreç boyunca sadece B100 grubu için (*Il-10*) gen regülasyonu azalmıştır. B0 grubu için *Tnf- α* , *Il-8* ve *Il-1 β* , B25 grubu için *Tnf- α* hariç diğer sitokinler hastalığın 21. gününde en yüksek değere ulaşmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 19).

İnterlökin 10 (*Il-10*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, sadece B100 grubunun verdiği yanıt sürekli azalış göstermiştir. Diğer tüm gruplar hastalığın 14. gününe geldiğinde genin ekspresyonu sert bir yükselişe geçmiş ve zirve yapmıştır (Şekil 19).

Tümör nekroz faktörü- α (*Tnf- α*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, tüm gruplarda genin ekspresyonu hastalığın 3. gününe kadar yükselmiştir. Bu yükseliş sadece B25 grubunda 14. güne kadar devam etmiş ve sonrasında inişe geçmiştir. Bu genin ekspresyonu B100 grubunda 7. günden itibaren B50 ve B75 gruplarında 14. günden itibaren yükselişe geçmiş ve 21. günde yüksek değerine ulaşmıştır (Şekil 19).

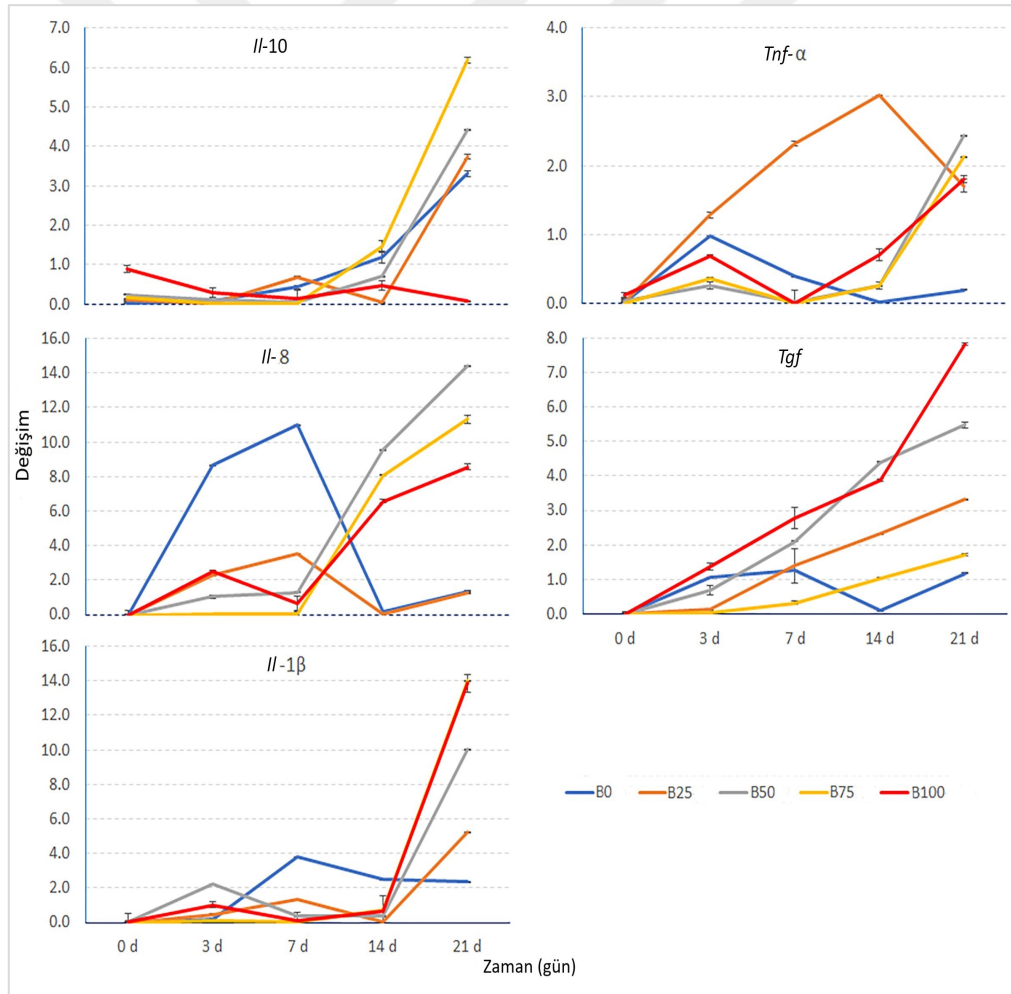
İnterlökin 8 (*Il-8*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, B0 grubunda genin ekspresyonu ilk günden itibaren sert yükselişe geçmiş ve 7. günden itibaren sert düşüşe geçmiştir. B25 hariç diğer gruplar 7. günden itibaren genin ekspresyonu sert yükselişe geçmiş ve yüksek değerine ulaşmıştır (Şekil 19).

Transforme edici büyüme faktörü beta (*Tgf- β*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, B0, B50 ve B100 gruplarında genin ekspresyonu ilk günden itibaren yükseliş meyili göstermiştir. Sadece B0 grubunda genin ekspresyonu 7. gününden sonra düşüşe geçerken,

B50 ve B100 gruplarında devamlı yükselmiş ve 21. gününde ise en yüksek değerine ulaşmıştır. B25 ve B75 gruplarında ise genin ekspresyonu 3. günden itibaren yükselmiş ve 21. gününde yüksek değerine ulaşmıştır (Şekil 19).

İnterlökin 1 Beta ($Il-1\beta$) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, tüm gruplar ilk günden 14. güne kadar inişli çıkışlı grafik sergilemiştir. B0 grubunda genin ekspresyonu 7. günden sonra azalmaya başlamıştır. Diğer gruplarda ise genin ekspresyonu 14. günden itibaren sert yükselişe geçmiş ve yüksek değerine ulaşmıştır (Şekil 19).

Genel olarak bakıldığında, B0 (kontrol) grubunun sitokinleri *L. petauri* enfeksiyonuna karşı yanıt vermemiştir. Sadece ($Il-10$) geni 21. güne kadar yükselmiştir. ($Tnf-\alpha$) geni 3. güne kadar, ($Il-8$), ($Tgf-\beta$) ve ($Il-1\beta$) genleri 7. güne kadar yukarı doğru yükseliş göstermiş ardından düşüşe geçmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Sitokinlerin ($Il-10$, $Tnf-\alpha$, $Il-8$, $Tgf-\beta$ ve $Il-1\beta$) rölatif gen ekspresyon seviyeleri

Enfeksiyondan sonra gökkuşağı alabalığının bağışıklıkla ilgili genlerinin ekspresyonlarında farklı değişimler meydana gelmiştir. Hastalığın 0. gününde (enfeksiyon öncesi), düşük seviyede de olsa *IgM* geninin ekspresyonu tüm gruplarda, *Tlr-5* geninin ekspresyonu B25 grubunda, *IgT* geninin ekspresyonu B25, B50 ve B100 gruplarında tespit edilmiştir. İmmünoglobulin M (*IgM*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, hastalığın ilk günü tüm gruplarda ekspresyonun düşük olduğu görülmektedir. Tüm gruplarda ilk günden yükselişe geçen gen ekspresyonu 3. güne geldiğinde B25 ve B75 grubunda azalmaya başlamıştır. B0, B50 ve B100 grupları ise yatay seyrini devam ettirmiştir. B0 grubunda 7. günden itibaren genin ekspresyonu artmaya başlamış ve 21. günde en yüksek seviyesine ulaşmıştır. B25 grubu 3. günden 14. güne kadar düşüş sergilemiş ve sonrasında yükselişe geçse de 3. gündeki seviyesine anca ulaşmıştır. B50 grubu 7. gün itibariyle sert yükselişe geçmiş ve 21. günü zirve yapmıştır. B75 grubu 3. günden 21. güne kadar sürekli iniş gerçekleştirmiştir. B100 grubu 3. günden 14. güne kadar çok az yükseliş gösterdikten sonra düşüşe geçmiştir (Şekil 20).

Toll benzeri reseptör 5 (*Tlr-5*) ekspresyon seviyelerine bakıldığında, B25 grubunda ilk günde ekspresyon olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplar ilk günden yükselişe geçmiştir. B0 grubunda genin ekspresyonu 3.günden itibaren yatay seyretmiştir. Diğer gruplarda ise genin ekspresyonu sürekli yükselerek 21. günde en yüksek değerine ulaşmıştır (Şekil 20).

Majör histokompatibilite kompleksi II (*Mhc-II*) ekspresyonuna bakıldığında, B75 grubu ilk günden itibaren yükselmiş ve 14. güne geldiğinde düşüşe geçmiştir. B0 grubu 3. günden itibaren yükselmiş 7. günü zirve yapmış ve sonrasında sert düşüşe geçmiştir. B25 ve B50 grubunda genin ekspresyonu 3. günden itibaren yükselmiş ve 14. günden itibaren düşüşe geçmiştir. B100 grubunda ise genin ekspresyonu 7. günden itibaren sert bir şekilde yükseliş göstermiş ve 14. gün itibariyle sert düşüş gerçekleşmiştir (Şekil 20).

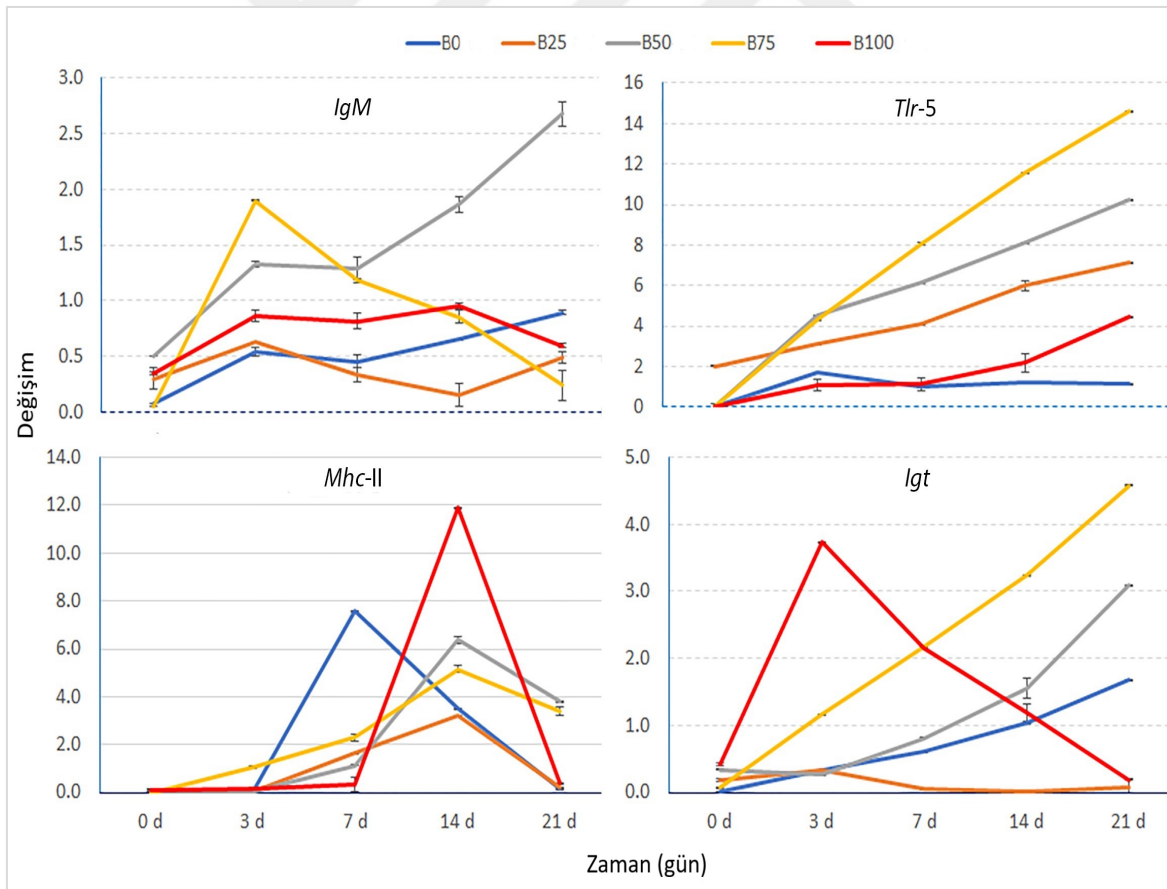
İmmünoglobulin tau ağır zinciri (*IgT*) ekspresyonuna bakıldığında, B0, B50, B75 gruplarında bu genin ekspresyonu ilk günden 21. güne kadar yükselmiş. B25 grubunda genin ekspresyonu yatay seyretmiştir. B100 grubunda ise genin ekspresyonu ilk günden 3. güne kadar sert yükselmiş ve sonrasında sert düşüş gerçekleşmiştir (Şekil 20).

Genel olarak bakıldığında, hastalığın ilk günü sadece B25 grubunda *Tlr-5* geninin ekspresyonu artmış, bağışıklıkla ilgili diğer genlerin ekspresyonunda önemli bir değişiklik belirlenmemiştir. Hastalığın 3. günü itibariyle bağışıklıkla ilgili genleri regüle ettiren gruplar B50 ve B75 olmuştur. 21. güne kadar gen ekspresyon seviyeleri en çok yükseliş gösteren

gruplar yine B50 ve B75 olmuştur. Bunlardan görebildiğimiz gibi yine en iyi bağışıklığı B50 ve B75 grupları göstermiştir (Şekil 20).

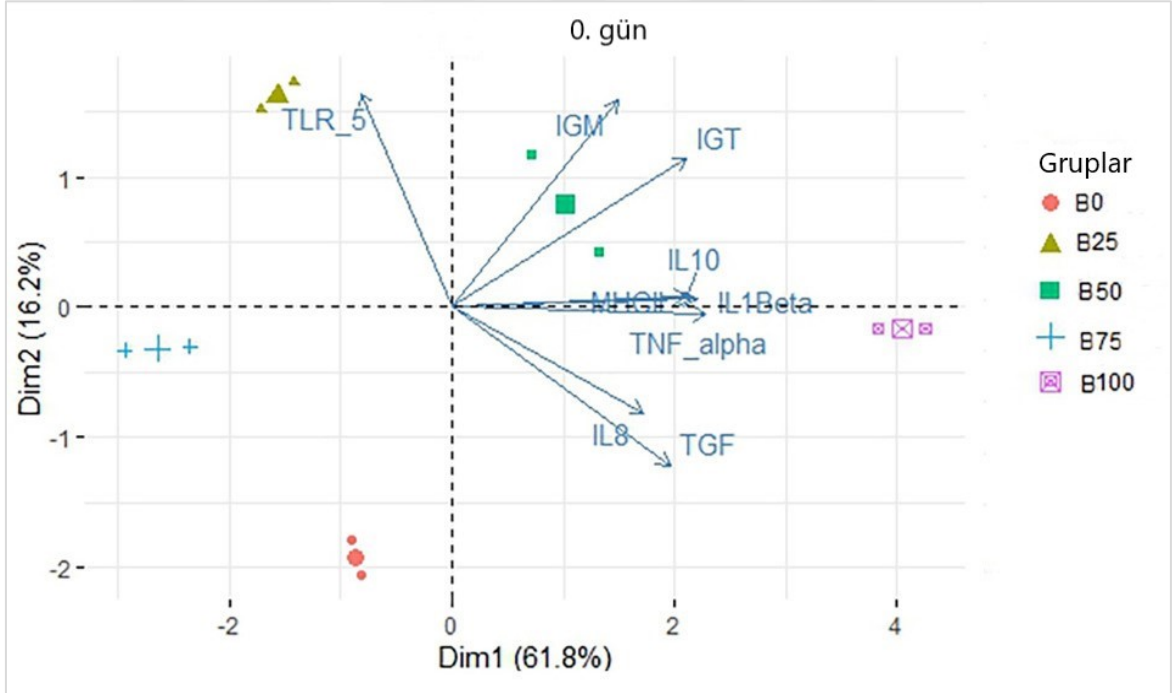
Tlr-5 geninin ekspresyonu hastalığın 0. gününde de tespit edilmiştir. Bağışıklıkla ilgili genler içerisinde *Tlr-5* en aktif gen olmuş ve KAS içeren diyetlerle beslenen tüm gruplarda ekspresyon belirlenmiştir. En yüksek kat değişikliği (fold change) B75 grubunda (14,620 kat değişiklik) ve ardından B50 grubunda (10,231 kat değişiklik) gözlenmiştir (Şekil 20).

B75 grubundaki *IgT* geninin ekspresyonu, *Tlr-5* gen ekspresyonuna benzer şekilde gün geçtikçe artmıştır. *IgM* geninin ekspresyonu hastalığın 3. ve 7. günlerinde B50 ve B75 grupları hariç tüm gruplarda düşük seviyede gerçekleşmiştir. Enfeksiyondan sonraki ilk üç günde *Mhc-II* geninde kayda değer bir ekspresyon belirlenmemiştir. *Mhc-II* geninin ekspresyonu B0 (kontrol) grubunda 7,57 kat artmış, hastalığın 14. gününde ise 3,54 kata kadar düşmüştür. Hastalığın 14. gününde *Mhc-II* geninin ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla üç kattan fazla artmıştır (Şekil 20).



Şekil 20. Bağışıklıkla ilgili genlerin (*IgM*, *Tlr-5*, *Mhc-II* ve *IgT*) rölâtif gen ekspresyonunun grafiği

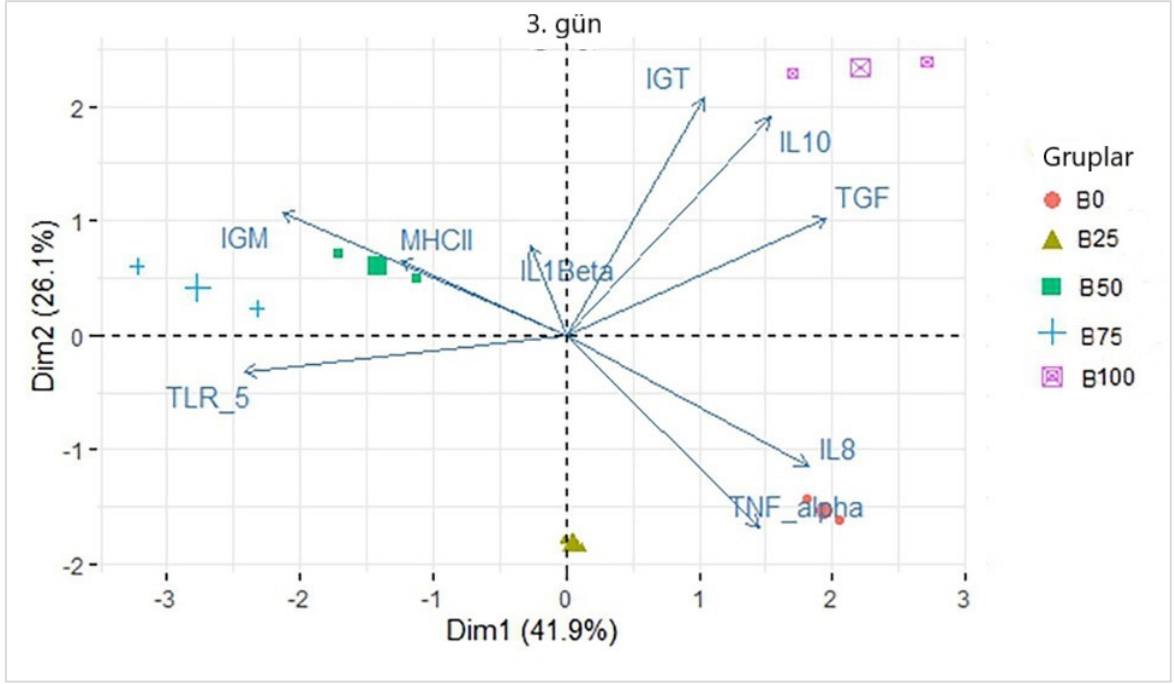
PCA-Biplot (Temel bileşenler) Analizlerine bakıldığında 0 günde *Tgf* 'nin en düşük değişkenliğe sahip olduğu, diğer değişkenlerin ise benzer değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. İlk iki bileşen varyasyonun %78'ini açıklamaktadır. PC1'de, B50 ve B100 ile beslenen grupların gen ifadeleri deneyin başında diğer gruplardan önemli ölçüde farklı bulunmuş ve varyasyonun %61,8'ini oluşturmuştur. B100 ile beslenen grupta *Il-10*, *Mhc-II*, *Il-1 β* ve *Tnf- α* 'nın yanı sıra B50 ile beslenen grupta *IgM* ve *IgT* 'nin ve B25 ile beslenen grupta *Tlr-5* 'in yüksek ekspresyonu bu ayrımın temel etkenleri olarak belirlenmiştir. PC2 varyansın %16,2'sini oluşturmuştur. B25 ve B100 ile beslenen gruplar arasında *IgM* ve *IgT* gen ekspresyonundaki farklılıklarla açıklanan önemli bir ayrım oluşmuştur. *Tlr-5*, *Il-8* ve *Tgf* ile negatif bir korelasyona sahipken *Il-10*, *Il-1 β* , *Tnf- α* ve *Mhc-II* ile yüksek bir pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. 0.gün PCA analiz grafiği

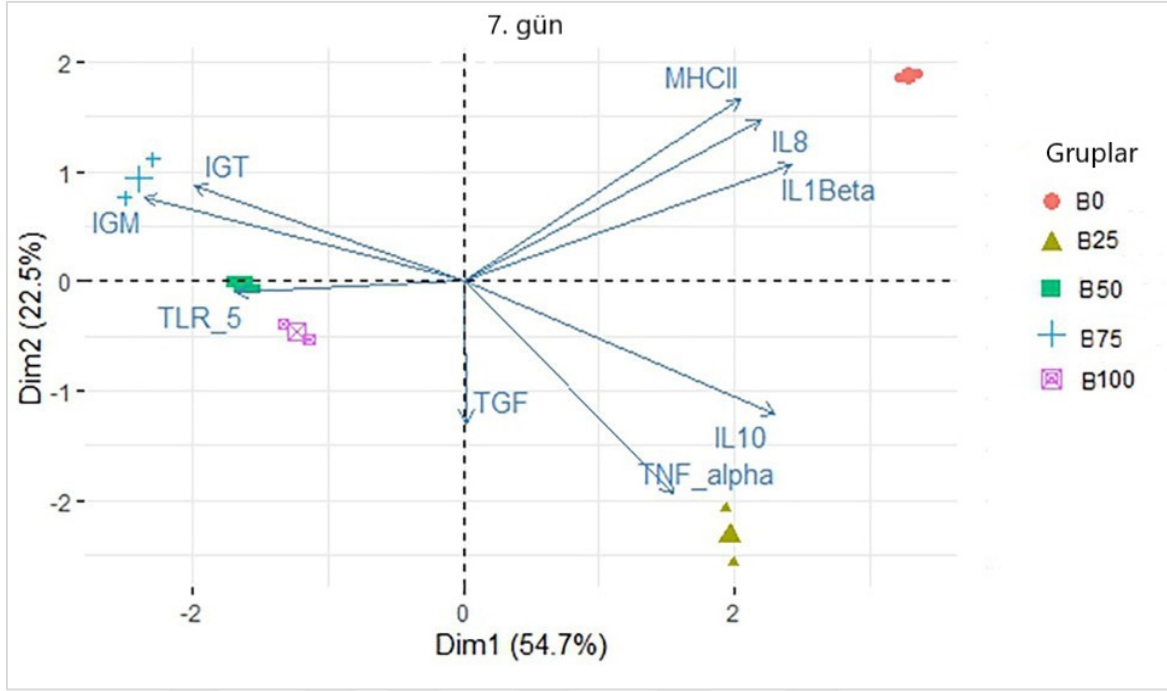
Üçüncü günde, ilk iki bileşen gruplar arasındaki varyansın %68'ini açıklamıştır. B0 ve B100 ile beslenen balıkların gen ekspresyonu, B50 ve B75 ile beslenen gruplardan önemli ölçüde farklı bulunmuş ve varyansın %41,9'unu temsil etmiştir. Bu ayrımın ana etmenleri B0 ve B100 ile beslenen gruplardaki yüksek *Tgf* ve *Il-8* gen ekspresyon seviyelerinin yanı sıra B50 ve B75 ile beslenen gruplardaki *IgM* ve *Tlr-5* gen ekspresyon seviyeleridir. PC2 varyasyonun %26,1'ini oluşturmaktadır. B0 ve B100 ile beslenen gruplar arasında *IgT* ve

Tnf- α genlerin ekspresyonlarındaki farklılıklar önemli bir ayrışmaya neden olmuştur. Gen korelasyonu enfeksiyondan 3 gün sonra değişmiştir. *Mhc-II* ve *IgM* yüksek bir korelasyona sahipken, *Il8* ve *Tnf- α* negatif bir korelasyona sahip bulunmuştur. *IgT*, *Il-10* ve *Tgf* birbiriyle ilişkili ve B100 grubuna ait bulunmuştur. *Tnf- α* ve *Il-8* de yakından ilişkilidir ve B0 grubu ile pozitif bir ilişkiye sahiptir. Genler arasında *Il-10* geni en düşük değer varyansına sahiptir (Şekil 22).



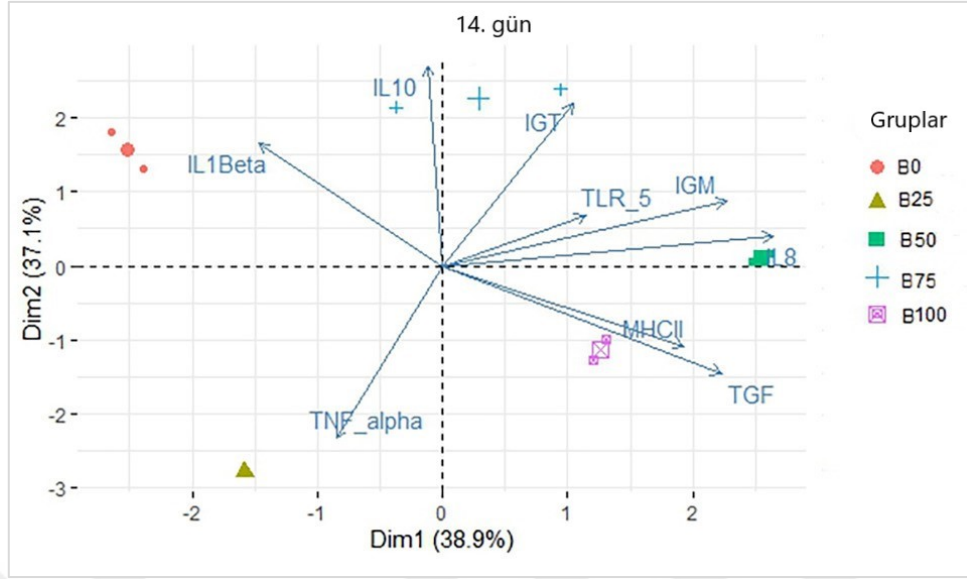
Şekil 22. 3. gün PCA analiz grafiği

PCA1, enfeksiyondan 7 gün sonra B0 ve B25 ile beslenen grupların gen ekspresyonları %54,7 varyansla diğer gruplardan net bir şekilde ayırmıştır. B50, B75 ve B100 ile beslenen gruplarda *Tlr-5*, *IgM* ve *IgT* genlerinin ekspresyonu bu ayrımın birincil nedenidir. PC2 varyasyonun %22,5'ini oluşturmakta olup, B0 ile beslenen ve B25 ile beslenen gruplar arasında *MhcII*, *Il-8* ve *Tnf- α* genlerinin ekspresyonundaki değişikliklerle açıklanan önemli bir ayrım vardır. Enfeksiyon sonrası süre 7 güne geldiğinde, B75 ve B100 ile beslenen gruplarda *IgM*, *IgT* ve *Tlr-5* yakın korelasyon gösterirken, B25 ile beslenen grupta *Il-10* ve *Tnf- α* negatif korelasyon göstermiştir. B0 grubunda *Mhc-II*, *Il-8* ve *Il-1 β* da yüksek korelasyon göstermiştir (Şekil 23).



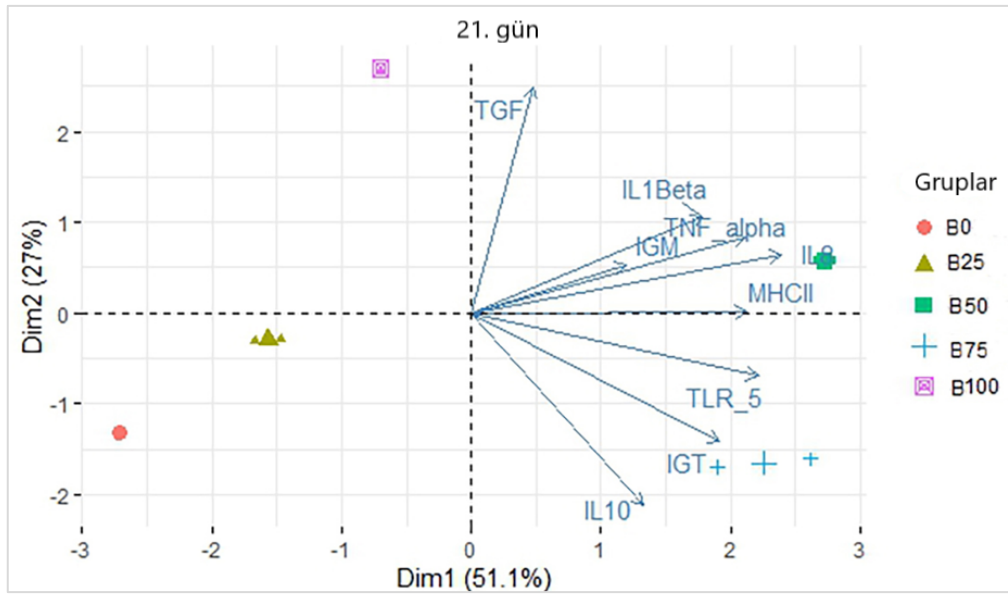
Şekil 23. 7. gün PCA analiz grafiği

On dördüncü günde, ilk iki bileşen varyansın %76'sını oluşturmuştur. B50 ve B100 ile beslenen grupların gen ekspresyonları, varyansın %38,9'unu oluşturarak B0 ve B25 ile beslenen gruplardan önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Bu farklılığın ana etmenleri B0 ve B100 ile beslenen gruplardaki yüksek *Tgf* ve *Il-8* genlerinin ekspresyonunun yanı sıra B0 ile beslenen gruptaki *Il1β* gen ekspresyonudur. PC2 varyasyonun %37,1'ini açıklamıştır ve B25 ile beslenen ve B75 ile beslenen gruplar arasında *Il-1β* ve *Tnf-α* genlerinin ekspresyon farklılıkları ile açıklanan önemli bir ayrım vardır. Öte yandan, *Tlr-5*, *IgM*, *Il-8*, *Mhc-II* ve *Tgf* pozitif korelasyon gösterirken, *Il1β* ve *Tnf-α* negatif korelasyon göstermiştir. B50 ve B100 gruplarında *Tlr-5* ile *IgM* arasında bir bağlantı vardır. *Tgf* hariç, *Il-10*, *IgT* ve *Tlr-5* genleri B75 ile beslenen grupta büyük ölçüde temsil edilirken, geri kalan genler B50 ile beslenen grupta güçlü bir şekilde temsil edilmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. 14. gün PCA analiz grafiği

B50 ve B75 ile beslenen grupların gen ekspresyonları, deneyin son gününde (21. gününde) B0 ve B25 ile beslenen gruplardan önemli ölçüde farklılık göstermiş ve varyasyonun %51,1'ini oluşturmuştur. Bu farklılığın ana nedenleri B50 ve B75 ile beslenen gruplardaki yüksek *Mhc-II*, *Il-8* ve *Tlr-5* ekspresyon seviyeleridir. PC2 varyansın %27'sini oluşturmaktadır ve B75 ile beslenen ve B100 ile beslenen gruplar arasında *Il-10* ve *Tnf- α* gen ekspresyonundaki varyasyonlarla açıklanan önemli bir ayrım vardır (Şekil 25).



Şekil 25. 21. gün PCA analiz grafiği

4. TARTIŞMA

KAS larva ununun diyetle dahil edilmesinin balıkların büyümesi üzerindeki etkisine ilişkin çok sayıda çalışma olmasına rağmen, bağırsak mikrobiyotası ve bağışıklık tepkisi üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Büyüme performansı su ürünleri yetiştiriciliğinin önemli bir yönü olsa da balık yemi maliyetindeki harcama kalemlerinin en aza indirgenmesi ve aynı zamanda balık sağlığının korunması, balıkların bağışıklığının artırılması, olası ekonomik kayıpların önlenmesi de su ürünleri yetiştiriciliği için çok büyük önem arz etmektedir. Yem içerikleri ve yem formülasyonu, büyüme oranlarının yanı sıra balık sağlığını da etkileyebilmektedir. Bu nedenle, yoğun yetiştiricilik faaliyetlerinde en uygun stratejilerin benimsenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışması, kara asker sineği (KAS) larva ununun balık diyetindeki balık unu yerine farklı oranlarda (%25, %50, %75 ve %100) ikame edilmesinin gökkuşağı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini incelemek için yürütülmüştür. Bulgularımız, KAS larva ununun yeme dahil edilmesinin sindirim sistemi ve bağışıklık sistemi açısından önemli sonuçlar doğurduğunu göstermektedir.

4.1. Bağırsak Mikrobiyotası

Rimoldi vd. (2019)'ne göre, balıkların sindirim sistemindeki mikrobiyal topluluk kompozisyonu diyet ile ilişkilidir. Bruni vd. (2018) yapmış olduğu çalışmada, kısmen yağı alınmış KAS larva unu ile beslenen gökkuşağı alabalığının bağırsak bakteri kompozisyonunun diyet değişikliklerine duyarlı olduğunu, yüksek düzeyde beslenen gruplarda mikrobiyal kompozisyonun değiştiğini ve mikrobiyal biyoçeşitliliğin arttığını ortaya koymuştur. Terova vd. (2019)'ne göre KAS larva ununun yemlere dahil edilmesi balığın bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde değiştirmekte ve mikrobiyal çeşitliliği arttırmaktadır. Huyben vd. (2019) KAS larva ununun gökkuşağı alabalığının bağırsağındaki bakteri çeşitliliğini arttırdığını ve bakterilerinin kompozisyonunu değiştirdiğini ifade etmiştir. Araştırmamız da KAS larva ununun balık diyetine dahil edilmesinin gökkuşağı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonunu değiştirdiğini ortaya koymaktadır.

Ndotono vd. (2022)'ne göre, yumurta tavuğu rasyonlarına KAS larva unu ekleme oranı arttıkça tavuk bağırsağındaki potansiyel olarak faydalı bakterilerin (*Lactobacillus*, *Bacteroides* ve *Enterococcus*) bolluğunda artış meydana gelmektedir. Xu vd. (2021) yaptığı araştırmalar sonucu, kontrol grubunun bağırsak mikrobiyal bileşimini KAS içeren diyetle beslenen grupla karşılaştırıldığında, aslen baskın olan *Tenericutes* filumunun, *Fusobacteria* ile yer değiştirdiğini ve *Tenericutes*'in en bol bulunan cinsi *Mycoplasma*'nın, *Fusobacteria*'nın *Cetobacterium* cinsi ile yer değiştirdiğini tespit etmiştir. Mevcut çalışmamızın bulgularına göre, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* en en yaygın gözlenen filumlar arasındadır. *Fusobacteriaceae*, *Carnobacteriaceae* ve *Alcaligenaceae* en yaygın gözlenen familyalar arasındadır. *Cetobacterium*, *Carnobacterium* ve *Achromobacter* en yaygın gözlenen cinsler arasındadır.

Önceki çalışmalar, bakteri topluluklarının bolluğunun örneklenen sindirim sistemi bölümüne göre farklılık gösterdiğini bildirmektedir. Ayrıca, allokton mikroplar (geçici) olarak bilinen diyet içeriğiyle ilişkili mikrobiyota, balık bağırsağındaki otokton mikrobiyota (yerleşik) olarak bilinen mukoza ile ilişkili mikrobiyotadan da farklı olduğunu ortaya koymaktadır (Bruni vd., 2018; Gajardo vd., 2017; Merrifield vd., 2009; Rimoldi vd., 2019). Çalışmamızda, yemin sindirim sisteminden geçmesine izin vermek için balıklar örneklemekten önceki 48 saat boyunca aç bırakılmış ve bağırsak mukozası kazınarak otokton mikrobiyota örneklenmiştir. Bulgularımıza göre, diyetten bağımsız olarak gökkuşağı alabalığının bağırsak mikrobiyotasında en bol bulunan filumlar *Fusobacteria*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria*'dir. Çalışmamızın bulguları allokton mikrobiyotasının daha düşük oranda temsil edilmesiyle sonuçlanmıştır. Sonuçlarımız önceki çalışmaların sonuçlarını doğrulamaktadır.

Terova vd. (2019) allokton bağırsak mikrobiyotasında *Proteobacteria*, *Firmicutes* ve *Actinobacteria* baskınlığını bildirmiş ve bunların arasında, *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* bolluğu diyete KAS larva unu eklenmesinden önemli ölçüde etkilendiğini ifade etmiştir. Aksine, Rimoldi vd. (2019) KAS unu ile farklı balık unu ikame oranları içeren diyetlerle beslenen gökkuşağı alabalığının otokton mikrobiyotasında (bağırsak mukozası) en bol takson olarak *Tenericutes* filumunu rapor etmiş ve bağırsak mikrobiyotası değerlendirme çalışmalarında bildirilen OTU sayısından nispeten daha düşük sayıda OTU'nun tespit edildiğini bildirmiştir. Terova vd. (2019) çalışma sonucunda, gökkuşağı alabalığı dışkı örneklerinde %97 özdeşlikte 450 OTU tespit edildiğini, bunun içindeki 62 OTU'nun temel bağırsak mikrobiyotasını oluşturduğunu bildirmiştir. Rimoldi vd. (2019) KAS içeren bir

diyetle beslenen gökkuşığı alabalığının bağırsak mukozasında 74 OTU tespit etmiştir. Benzer şekilde mevcut çalışmamızda, farklı oranlarda KAS larva unu içeren diyetle beslenen balıkların bağırsak mukozasında tespit edilen OTU sayısı 59 ile 146 arasında değişmektedir. Bu da yemle ilişkili bakterilerin bağırsak mukozasındaki kolonizasyonunun sınırlı olduğunu göstermektedir.

Önceki çalışmalarda, KAS larva unu içeren yemlerle beslenen balıkların sindirim sistemindeki mikrobiyal çeşitliliğin, normal diyetle beslenen balıklara kıyasla nispeten daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Bruni vd., 2018; Huyben vd., 2019; Li vd., 2021; Terova vd., 2019). Mevcut çalışmada da benzer şekilde, KAS içeren diyetle beslenen balıklarda kontrol diyetiyle beslenen balıklara kıyasla daha yüksek mikrobiyal çeşitlilik gözlenmiştir. Özellikle, *Actinobacteria*, *Firmicutes* ve *Proteobacteria* gruplarına ait taksonların bollukları artmıştır. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, KAS içeren bir diyetle beslenen gökkuşığı alabalığının bağırsak mikrobiyotasında *Firmicutes*, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria*'ya ait taksonların daha yüksek bir bolluk gösterdiği, bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinde bir artış meydana geldiği ve mikrobiyota kompozisyonunun değiştiği diğer çalışmalarda da rapor edilmiştir (Huyben vd., 2019; Terova vd., 2019).

Sindirim sistemindeki mikrobiyotanın vitamin ve kısa zincirli yağ asitlerinin yapımına yardımcı olan kitini fermente ettiği de bilinmektedir (Ghanbari vd., 2015; Rimoldi vd., 2019). *Firmicutes* üyeleri, kitini fermente edebilen laktik asit bakterileri olarak da bilinir (Xie vd., 2021) ve hastalıklara karşı direnç ve gıdaların besin değerinin artırılması dahil olmak üzere potansiyel sağlık ve beslenme yararları vardır (Gilliland, 1990). Önceki çalışmalarda, gökkuşığı alabalığının bağırsak mikrobiyotasındaki *Firmicutes* üyelerinin bolluğunda, diyetle dahil edilen KAS unu oranının artmasıyla birlikte bir artış meydana geldiği bildirilmiştir (Bruni vd., 2018). Buna ek olarak, *Bacillaceae* familyası üyeleri KAS ile beslenen alabalık gruplarında bol miktarda bulunmuştur. Bu sonuç, KAS unu içeren diyetler ile Atlantik somonu üzerinde yapılan besleme denemeleri sonuçları ile uyumludur (Li vd., 2021, 2022). KAS ilave edilen yemin mikrobiyotası, artan bağırsak mikrobiyota çeşitliliğini açıklayabilir. Mevcut çalışmada yem mikrobiyotası değerlendirilmemiş olsa da, önceki çalışmalar bu iddiayı desteklemektedir (Li vd., 2022).

Balıkların bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık sistemlerinde kritik bir rol oynadığı için özel bir öneme sahiptir. Bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, balığın bağışıklık sistemi üzerinde de etkilere neden olabilir. Bazı mikroorganizmaların artışı, bağışıklık hücrelerinin aktivitesini artırabilir ve patojenlere karşı daha etkili bir savunma sağlayabilir. Balık

bağırsağındaki faydalı bakteriler, bağışıklık sistemini eğitmeye ve modüle etmeye yardımcı olarak sağlıklı bir bağışıklık tepkisini teşvik edebilir ve hastalık direncini artırabilir (Ringø vd., 2016). Bu bakteriler besin elementleri için zararlı patojenlerle rekabet edebilir, antimikrobiyal bileşikler üretebilir ve enfeksiyonları savuşturmak için balıkların bağışıklık sistemini uyarabilir. Örneğin, çalışmalar balık bağırsağındaki bazı laktik asit bakteri türlerinin antimikrobiyal bileşiklerin üretimi yoluyla *Vibrio* ve *Aeromonas* türleri gibi balık patojenlerinin büyümesini engelleyebildiğini göstermiştir (Nayak, 2010). Bununla birlikte, yararlı bakterilerin bolluğu veya çeşitliliğindeki değişiklikler gibi bağırsak mikrobiyota bileşimindeki bozukluklar bu dengeyi bozabilir ve balıkların bağışıklık sistemini zayıflatarak onları hastalıklara karşı daha duyarlı hale getirebilir (Gatesoupe, 1999). Sindirim sistemi bakteri topluluğunda gözlenen bu değişiklikler, sindirim sistemi sağlığının ve besin emiliminin optimize edilmesine katkıda bulunabilir. Bu sonuçlar, KAS larvalarının balık yemlerine potansiyel bir probiyotik olarak eklenmesinin olumlu etkilerini vurgulamaktadır.

4.2. Hastalık Direnci ve Gen Ekspresyonu

Tez çalışmamızda kara asker sineğinin herhangi bir düzeyde diyeteye dahil edilmesinin balıkların yem alımı veya hayatta kalması üzerinde olumsuz bir etkisi olmamıştır. KAS larvalarının balık diyetine eklenmesi, balıkların bağışıklık sistemini uyararak belirli bağışıklık genlerinin ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Bu, balıkların patojenlere karşı daha dirençli hale geldiğini ve bu besleme stratejisinin balık sağlığı üzerinde pozitif bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Balıkların hayatta kalması ve bağışıklık tepkisi KAS takviyeli yem ile iyileştirilmiştir. Tez çalışmamızda, balıkların nispi hayatta kalma oranları B50, B75 ve B100 gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur.

Kara asker sineği larvaları protein, lipid ve dış iskelet olmak üzere üç ana fraksiyondan oluşur. Bu fraksiyonlar, antimikrobiyal peptitler, laurik asit ve kitin gibi balıklarda bağırsak mikrobiyotasını modüle edebilen biyoaktif bileşikler içerir (Weththasinghe vd., 2022). Sindirim sistemi mikrobiyotasının KAS larva unun diyeteye dahil edilmesiyle modüle edilmesi beklenmektedir çünkü KAS, prebiyotik özelliklere sahip olduğu bilinen ancak sindirilebilirliği düşük olan kitin içeriği bakımından zengindir (Goycoolea vd., 2000). Buna

ek olarak, önceki çalışmalar kitinin bakteriyel enfeksiyonlara karşı antimikrobiyal özelliklerini vurgulamıştır (Nawaz vd., 2018; Qin vd., 2014; Zhou vd., 2013).

Balıkların *Lactococcosis* hastalığına karşı korunması, KAS unundaki antimikrobiyal peptitlerin, yağ asitlerinin ve kitinin varlığına bağlı olabilir. Piliçlere KAS larvası yedirilmesi, civcivlerde tifo hastalığına neden olan bir patojen olan *Salmonella gallinarum*'a karşı bağışıklık tepkisini tetiklemiştir (Provost vd., 2011). Ayrıca, KAS larvalarından ekstrakte edilen kitinin %0.2 oranda yeme dahil edilmesi broyler tavuğu'unda (etli piliç) *S. typhimurium* sayısını azaltmıştır (Menconi vd., 2014). KAS larvalarının bir ekstresi *Salmonella spp.* ve *Escherichia coli*'ye karşı önemli antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Başka bir çalışmada, liyofilize KAS larvalarının metanol ekstresi test edilmiş ve *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğu gösterilmiştir. (Park ve ark., 2014). KAS larvalarının metanol ekstresi *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Shigella spp.* gelişimini ve çoğalmasını engellemiştir (Choi vd., 2012). Ayrıca, KAS unu *Clostridium perfringens*'in büyümesini önemli ölçüde baskılamıştır (Dong, vd., 2021a) ve KAS unu ve kitin bakımından zengin KAS unu sindirimleri, toksin A'nın *C. difficile* tarafından oluşturulan hücre mukozal tabakaları üzerindeki zararlı etkilerini büyük ölçüde azaltmıştır. (Dong, vd., 2021b).

KAS larva ekstresi ayrıca antimikrobiyal olduğu gösterilen doymuş bir yağ asidi olan yüksek konsantrasyonda laurik asit içermektedir. Çalışmamızda diyetlere dahil edilen KAS larvaları sebze-meyve karışımı ve tavuk atık unu ile beslendiğinden, KAS prepupalarının yağ asidi içerikleri yüksektir. Laurik asit, bu çalışmada kullanılan KAS larvalarında bulunan en bol yağ asitlerinden biridir (Yandi, vd., 2023a). Antibakteriyel ve antiviral bir bileşik olan laurik asit en çok gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir (Harlystiarini vd., 2019). Laurik asit, virülans faktörlerini, membran biyosentezini ve biyofilm oluşumunu inhibe ederek vejetatif hücreleri ve sporları öldürür (Schlievert vd., 2018).

Böcek bağışıklık sisteminin bir parçası olarak, antimikrobiyal peptitler (AMP'ler) patojen mikroorganizmaların istilasını önler. AMP'ler böcek yağ gövdesi tarafından sentezlenir ve daha sonra hemolenf içine salınırlar (Kang vd., 1998; Park vd., 2014). KAS yetiştiricileri ve larvaları, tanınan AMP'leri kodlayan toplam 57 gen içerir (Moretta vd., 2020). Defensin benzeri peptit 4 (DLP4) ve çekropin benzeri peptit 1 (CLP1) gibi AMP'ler KAS larvalarının hemolenfinden izole edilip saflaştırılmış ve yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Park vd., 2015; Park ve Yoe, 2017). Ayrıca, KAS larvalarından elde edilen iki antimikrobiyal peptit, Hidefensin-1 ve Hidiptericin-11,

bakteriyel membran lizizi yoluyla *E. coli* ve *Streptococcus pneumoniae*'nin gelişimini engellemiştir (Xu vd., 2020). Çeşitli dozlarda KAS ile beslenen civcivlerde AMP aktivitesi, kontrole kıyasla *Salmonella gallinarum* enfeksiyonundan sonra lizozim aktivitesinde artış, CD4 lenfosit sayısında artış ve civcivlerin hayatta kalma oranlarında iyileşme ile sonuçlanmıştır (Lee vd., 2018).

Bizim çalışma sonuçlarımız da bu yukarıda bahsi geçen deney bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Balık yemlerine KAS unu eklenmesi, muhtemelen BSF'deki antimikrobiyal yağ asitleri, kitin ve antimikrobiyal peptitlerin varlığı nedeniyle *L. petauri*'ye karşı balıkların hayatta kalmasını önemli ölçüde artırmaktadır.

KAS'nin kitin bileşimi yaşam evresine göre değişmektedir. Kitin seviyeleri larvalarda en yüksektir (%3,6), bunu pupalar (%3,1) ve yetişkinler (%2,9) takip eder (Wang vd., 2020). Bu çalışmada, bazal diyet (B0) %40 oranda balık unu içermektedir; balık unu KAS unu ile ikame edilmiş ve prepupalar kullanılmıştır; böylece yemdeki kitin içeriği %3,1 olmuştur. Balık unu %0, %25, %50, %75 ve %100 KAS unu ile ikame edildiğinden dolayı diyetlerin kitin içeriği %0, %0,31, %0,62, %0,93 ve %1,24 olarak hesaplanabilir. Böceklerdeki kitin probiyotik olarak işlev görebilir (Islam ve Yang, 2017). Olumlu bir bağırsak mikrobiyal popülasyonu kitini hedef alarak konak organizmanın sağlığını ve performansını iyileştirebilir (Karlsen vd., 2017).

Diyetteki kitin içeriğinin %0,93'e kadar artırılması RPS (Göreceli Hayatta Kalma Yüzdesi)'i artırır; ancak kitin içeriğinin %1,24'e çıkarılması RPS'i marjinal olarak azaltır. Bu nedenle, diyetteki kitin içeriğinin %0,62 ile %0,93 arasında olması balıklar için faydalı olabilir. Bulgularımız Lanes vd. (2021) tarafından da desteklenmiştir. Balık diyetlerindeki %2'ye kadar kitinin doğuştan gelen bağışıklığı tetiklediğini öne sürmüşlerdir. Öte yandan, balıklar günde iki veya üç kez kurutulmuş KAS ile beslendiğinde, bağırsaklarında kitin birikerek kabız olmalarına ve daha az yem almalarına veya yem almayı reddetmelerine neden olmuştur (Ozturk vd., 2022). Bu nedenle, yavru balıkların günde iki kezden fazla bütün KAS prepupaları ile beslenmesi önerilmemektedir. Fenolik bir bileşik olan melanin, hayvan yemlerinde stres ve tümörleri en aza indirmek için kullanılan biyoaktif bir bileşendir (Cordero ve Casadevall, 2020). Eumelanin, siyah asker sineğinin renginden sorumlu melanindir ve antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahiptir (Ushakova vd., 2017).

Cho vd. (2022) yapmış olduğu çalışma sonucunda, KAS içeren gruplarının tüm vücuttaki laurik asit içeriği diyetlerle yakından ilişkili olduğunu ve kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. KAS içeren gruplardaki balıklar,

kontrol gruplarına kıyasla önemli ölçüde daha yüksek interlökin 1 β (*IL-1 β*), interlökin 8 (*IL-8*) ve immünoglobulin M (*IgM*) genleri ekspresyonu gösterdiğini, *Aeromonas salmonicida* ile 10 gün boyunca yapılan hastalık direnci testinde, KAS diyetiyle beslenen balıklar, kontrol diyetiyle beslenenlere göre önemli ölçüde daha yüksek kümülatif hayatta kalma oranı gösterdiğini bildirmiştir. Mevcut çalışmamızda, benzer şekilde sonuçlara erişmiştir.

Bu çalışmada, KAS'nin laktokokal enflamasyon üzerindeki etkisini araştırmak için tümör nekroz faktörü (*Tnf- α*) geninin ekspresyonu kullanılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, KAS enfeksiyonun 21. gününde *Tnf- α* genini önemli ölçüde aktive etmiş ve yukarı regüle etmiştir. Bu nedenle, balık yemindeki KAS'nin *Tnf- α* genini açtığı ve bunun da balıkları *Lactococcus* hastalığına karşı koruduğu açıktır. Gökkuşığı alabalığının KAS prepupa unu içeren diyetle beslenmesi, enfeksiyon sonrası bağışıklık ve sitokinle ilişkili genleri aktive etmiştir. Gen ifadeleri, diyetteki KAS yüzdesinden ve enfeksiyon sonrası gün sayısından etkilenmiştir. Balıklar *L. petauri* ile enfekte edilmeden önce (0 gün), farklı seviyelerde KAS içeren diyetlerle beslenen balıklarda bağışıklık ve sitokin ile ilgili gen ekspresyonu benzer seviyelerdedir. Bununla birlikte, enfeksiyondan 3 gün sonra, PCA'ya göre, KAS ile beslenen gruplarda bağışıklık ve sitokin ile ilgili gen ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır. Benzer bir durum 7 ve 14 günde de gözlenmiştir. 21. günde durum değişmiş ve ifade edilen tüm genler PCA 1'de görülebilmıştır. *IgT*, *Il-10* ve *Tlr-5* B75 ile beslenen grupta sunulurken, geri kalan genler B50 ile beslenen grup tarafından temsil edilmiş, *IgM* ise bu iki grup tarafından temsil edilmiştir. Hayatta kalma ve gen ekspresyon sonuçlarına göre, gökkuşığı alabalığı KAS larvalarının kitini çıkarılmadan veya KAS ununa işlem uygulamadan, %50'ye kadar KAS unu içeren yemle beslenebilir.

5. SONUÇLAR

Bu araştırma, kara asker sineği larvalarının balık yemine eklenmesinin gökkuşağı alabalığının sindirim sistemindeki bakteri kompozisyonu ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Su mikrobiyotası tüm bağırsak mikrobiyotalarından önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($p<0.05$). SIMPER analizi, *Cetobacterium* (Fusobacteria filumu), *Achromobacter* (Proteobacteria Filumu) ve *Carnobacterium* (Firmicutes Filumu) cinslerinin artan bolluklarının gözlemlenen grup farklılıklarına en önemli katkıda bulunan taksonlar olduğunu ortaya koymuştur.

Gruplara göre ölüm sıralaması B0>B25>B50>B100>B75 olarak ifade edilebilmektedir. Bu sıralama *L. petauri* 'ye karşı en dirençli grubun B75 olduğunu göstermektedir.

Genel olarak bakıldığında, B0 (kontrol) grubunun sitokinleri *L. petauri* enfeksiyonuna karşı yanıt vermemiştir. Bağışıklıkla ilgili genlerin ekspresyonlarına bakıldığında hastalığın 3. günü itibariyle bağışıklıkla ilgili genleri regüle ettiren gruplar B50 ve B75 olmuştur. 21. güne kadar gen ekspresyon seviyeleri en çok yükseliş gösteren gruplar yine B50 ve B75 olmuştur. Bunlardan görebildiğimiz gibi yine en iyi bağışıklığı B50 ve B75 grupları göstermiştir

Bu bulgular, sürdürülebilir balık yetiştirme uygulamalarını geliştirmek ve balık sağlığını iyileştirmek için yeni bir yaklaşım sunmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, bu besleme stratejisinin daha fazla detayını ortaya çıkararak ve farklı balık türlerini içeren daha geniş örneklem grupları üzerinde çalışarak bu önemli konuyu daha da aydınlatmalıdır.

6. ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiriciliği dünya ve ülkemizde gerek gıda üretimi açısından gerek sağladığı istihdam ve ülke ekonomisine olan katkılarından dolayı çok büyük öneme sahiptir. Bu bağlamda sürdürülebilirliğin sağlanması için mevcut kaynakların korunması, teknolojilerin geliştirilmesi, yeni yem kaynaklarının bulunması, balıkların bağışıklık sistemlerinin doğal yöntemlerle geliştirilerek ekonomik kayıpların önüne geçilmesi ve daha da önemlisi sağlıklı gıda üretiminin elde edilmesi için, yapmış olduğumuz bu tez çalışmamız önemli sonuçları ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar ışığında kâr amaçlı kurulan işletmelere, konuyla ilgili çalışmalar yürüten araştırmacılara katkıda bulunabilecek önerilerimiz şu şekilde sıralanabilir.

1. Yüksek besin değerine sahip kara asker sineği larvalarının yetiştirilmesi için üretim sürecinin standardize edilmesi gerekmektedir.
2. Kara asker sineği larva ununun besin değerini daha iyi araştırmak için farklı balık türleri üzerinde denenmesi ve onların üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir.
3. Kara asker sineğinin yeme dahil edilmesinin balıkların bağışıklık sistemi üzerine olan etkilerinin daha iyi incelenmesi için çeşitli patojenler üzerinde ayrıntılı hastalık denemelerinin yapılması gerekmektedir.
4. Gökkuşuğu alabalığı kara asker sineği larvalarında bulunan kitini sindirememektedir. Kitinin antimikrobiyal özelliğinden verimli şekilde yararlanabilmek için gelecekteki araştırmalarda kitini sindirmenin ve kitinin olumsuz etkilerini gidermenin yolları hakkında araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
5. İlaç tedavileri sonucu oluşan antibiyotik direnç, gelecekte bakteriyel hastalıklarla olan mücadelelerde zorlukların yaşanacağını göstermektedir. Bundan dolayı gerek antibiyotik kirliliğinin önüne geçilebilmek gerek daha ekonomik üretim yapmak kara asker sineği gibi doğal yöntemlerin ve yeni teknolojilerin keşfedilmesi gerekmektedir.
6. Sucul ekosistemlerde yaşayan doğal balık stoklarının azalması hatta bazı türlerinin yok olmasındaki ana nedenlerden biri çevre kirliliğidir. Dolayısıyla balıkların doğal yaşam alanlarının korunması ve iyileştirilmesi için halkın bu konudaki

duyarlılığının ve hassasiyetinin artırılması ve sıfır atık projesi gibi projelerin ön planda tutulması gerekmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R. H., Metwally, A. A., Shakweer, M. S., Khallaf, M. A., & Abdel-Latif, H. M. R. (2020). Effects of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae Meal on Growth Performance, Organs-Somatic Indices, Body Composition, and Hemato-Biochemical Variables of European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522.
- Afonso, A., Silva, J., & Gomes, S. (2003). *Lactococcus garvieae* Trout Infections in Portugal: A New Challenge on Fish Vaccinology. *IBMC News*, 7, 4-6.
- Aizpurúa, J., & Esnault, F. (1999). Revista de Acuicultura Trouvit Informa. Invierno. *Invierno*, 1, 21-23.
- Akbulut, S., & Keten, A. (2001). Düzce Yöresindeki Alabalık Yetiştiriciliği Üzerine Bir Çalışma. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A(2), 49-60.
- Akmermer, B., & Ayyıldız, H. (2021). Türkiye Su Ürünleri Sektörünün Rekabet Edebilirliğinin Porter'ın Elmas Modeli ile Değerlendirilmesi. *Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 7(1), 34-45.
- Alpbaz, A. (2005). *Su Ürünleri Yetiştiriciliği*. İzmir: Alp Yayınları.
- Altınterim, B. (2010). *Çörekotu (Nigella sativa, L) Yağının Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum, 1792) 'nın İmmün Sistemine Etkisinin Araştırılması*. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.
- Altinok, I., Ozturk, R. C., & Ture, M. (2022). NGS Analysis Revealed that *Lactococcus garvieae* Lg-Per Was *Lactococcus petauri* in Türkiye. *Journal of Fish Diseases*, 45(12), 1839-1843.
- Arda, M., Seçer, S., & Sarıeyyüpoğlu, M. (2002). *Balık Hastalıkları*. Ankara: Medisan Yayınları.
- Assefa, A., & Abunna, F. (2018). Maintenance of Fish Health in Aquaculture: Review of Epidemiological Approaches for Prevention and Control of Infectious Disease of Fish. *Veterinary Medicine International*, 2018, 1-10.
- Atabay, A. (2015). *Bitkisel Katkı Maddesi Artemisia vulgaris 'in Gökkuşığı Alabalıklarında (O. mykiss, Walbaum) Büyüme Performansı ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi*. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Austin, B., & Austin, D. A. (1999). *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish* (3rd Edition). Chichester: Springer-Praxis Publishing.
- Awad, E., Austin, B., & Lyndon, A. (2012). Effect of Dietary Supplements on Digestive Enzymes and Growth Performance of Rainbow Trout. *Journal of American Science*, 8(12), 858-864.

- Bark, S., & McGregor, D. (2001). The First Occurrence of *Lactococcosis* in Farmed Trout in England. *Trout News*, 31, 9-11.
- Barka, A. B. A. (2019). *Akçakesme (Phillyrea latifolia) Bitkisinin Gökkuşığı Alabalıklarının (Oncorhynchus mykiss) Bağışıklık Yanıtı Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi*. Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kastamonu.
- Bayizit, Ç. (2021). *Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Ceviz Yaprağı Ekstraktının Alabalıkların Büyüme Performansı ve Hastalık Direnci (Aeromonas salmonicida) Üzerine Etkileri*. Ç. O. M. Ü., Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Behnke, R. J. (2002). *Trout and Salmon of North America*. New York: The Free Press.
- Belghit, I., Liland, N. S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y. X., Waagbø, R., Kroghdahl, A., & Lock, E. J. (2019). Black Soldier Fly Larvae Meal Can Replace Fish Meal in Diets of Sea-water Phase Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 503, 609-619.
- Belghit, I., Liland, N. S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y. X., Kroghdahl, Å., & Lock, E. J. (2018). Potential of Insect-Based Diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 491, 72-81.
- Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Sargent, J. R., & Campbell, P. J. (2001). Replacement of Fish Oil with Rapeseed Oil in Diets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. *The Journal of Nutrition*, 131(5), 1535-1543.
- Benbrook, C. M. (2002). *Antibiotic Drug Use in U.S. Aquaculture* [IATP Report]. The Northwest Science and Environmental Policy Center. https://www.iatp.org/sites/default/files/421_2_37397.pdf
- Bilen, S., Altunoglu, Y. C., Ulu, F., & Biswas, G. (2016). Innate Immune and Growth Promoting Responses to Caper (*Capparis spinosa*) Extract in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 57, 206-212.
- Bilgüven, M. (2002). *Yemler Bilgisi, Yem Teknolojisi ve Balık Besleme*. Ankara: Akademisyen Yayınevi.
- Boomker, J., Imes, G. D., Cameron, C. M., Naude, T. W., & Schoonbee, H. J. (1979). Trout Mortalities As a Result of *Streptococcus* Infection. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 46(2), 71-77.
- Bovera, F., Loponte, R., Marono, S., Piccolo, G., Parisi, G., Iaconisi, V., Gasco, L., & Nizza, A. (2016). Use of Tenebrio Molitor Larvae Meal As Protein Source in Broiler Diet: Effect on Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Carcass and Meat Traits. *Journal of Animal Science*, 94(2), 639-647.
- Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., McNevin, A. A., Tacon, A. G. J., Teletchea, F., Tomasso, J. R., Tucker, C. S., & Valenti, W. C. (2020). Achieving Sustainable Aquaculture: Historical and Current

Perspectives and Future Needs and Challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633.

- Bruni, L., Belghit, I., Lock, E. J., Secci, G., Taiti, C., & Parisi, G. (2019). Total Replacement of Dietary Fish Meal with Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae does not Impair Physical, Chemical or Volatile Composition of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3), 1038-1047.
- Bruni, L., Pastorelli, R., Viti, C., Gasco, L., & Parisi, G. (2018). Characterisation of the Intestinal Microbial Communities of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) Partially Defatted Larva Meal as Partial Dietary Protein Source. *Aquaculture*, 487, 56-63.
- Bruno, D. W., & Poppe, T. T. (1996). *A Colour Atlas of Salmonid Diseases*. Cambridge: Academic Press.
- Cabello, F. C. (2006). Heavy Use of Prophylactic Antibiotics in Aquaculture: A Growing Problem for Human and Animal Health and for the Environment. *Environmental Microbiology*, 8(7), 1137-1144.
- Caimi, C., Renna, M., Lussiana, C., Bonaldo, A., Gariglio, M., Meneguz, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Gai, F., Elia, A. C., Prearo, M., & Gasco, L. (2020). First Insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae Meal Dietary Administration in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) Juveniles. *Aquaculture*, 515.
- Cammack, J. A., & Tomberlin, J. K. (2017). The Impact of Diet Protein and Carbohydrate on Select Life-History Traits of the Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Insects*, 8(2), 3-14.
- Canhilal, R., Yüksel, E., & Ülger, İ. (2020). Böceklerin Hayvan Yemi Olarak Kullanım Olanakları. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 3(1), 42-46.
- Carson, J., Gudkovs, N., & Austin, B. (1993). Characteristics of an Enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 16, 381-388.
- Caruso, D., Devic, E., Subamia, I. W., Talamond, P., & Baras, E. (2013). *Technical Handbook of Domestication and Production of Diptera Black Soldier Fly (BSF), Hermetia illucens, Stratiomyidae*. Bogor: IPB Press.
- Cheng, W., & Chen, J. (1999). Effect of Cultivation Broth pH, Temperature and NaCl Concentration on Virulence of an Enterococcus-Like Bacterium to the Giant Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 36, 233-237.
- Cho, J. H., Bae, J., & Hwang, I. J. (2022). Effects of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Pre-Pupae Meal on the Growth, Stress, and Immune Responses of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Reared at Different Stocking Densities. *Aquaculture Reports*, 25, 101202.

- Choi, W. H., Choi, H. J., Goo, T. W., & Quan, F. S. (2018). Novel Antibacterial Peptides Induced by Probiotics in *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larvae: Probiotics, Immunization, Peptide. *Entomological Research*, 48(4), 237-247.
- Choi, W. H., Yun, J. H., Chu, J. P., & Chu, K. B. (2012). Antibacterial Effect of Extracts of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Against Gram-Negative Bacteria: *Hermetia illucens* Antibacterial Activity. *Entomological Research*, 42(5), 219-226.
- Chung, P. Y., & Khanum, R. (2017). Antimicrobial Peptides as Potential Anti-Biofilm Agents Against Multidrug-Resistant Bacteria. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(4), 405-410.
- Cordero, R. J. B., & Casadevall, A. (2020). Melanin. *Current Biology*, 30(4), 142-143.
- Çağırzan, H. (2004). Biotyping of *L. garvieae* Isolated from Turkey. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21(3), 267-269.
- Çelik, S. Y. (2021). *Anason (Pimpinella anisum)'un Gökkuşığı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Büyüme Performansı ve Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine İmmunostimulan Etkisinin Belirlenmesi*. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Antalya.
- Çelikkale, M. S. (1991). *Orman içi Su Ürünleri* (1. bs). Trabzon: KTÜ Basımevi.
- Çelikkale, M. S. (1994). *İçsu Balıkları Yetiştiriciliği*. Trabzon: KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Yayınları.
- Çelikkale, M. S. (2002). *İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği*. Trabzon: KTÜ Matbaası.
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E., & Okumuş, İ. (1999). *Türkiye Su Ürünleri Sektörü, Potansiyeli, Mevcut Durumu, Sorunları ve Çözüm Önerileri*. İstanbul: İstanbul Ticaret Odası.
- Demir, E. (2014). *Avrupa Balık Yetiştiriciliği El Kitabı*. Çanakkale: ÇOMÜ basımevi
- Demir, O. (2008). Türkiye Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Yem Sektörüne Genel Bakış. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 2(5), 704-710.
- Demirsoy, A. (2014). *Yaşamın Temel Kuralları-Omurgasızlar/Böcekler-Entomoloji*. Ankara: Hacettepe Yayınevi.
- Devic, E., Leschen, W., Murray, F., & Little, D. C. (2018). Growth Performance, Feed Utilization and Body Composition of Advanced Nursing Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed Diets Containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal. *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 416-423.
- Diener, S., Zurbrugg, C., Gutierrez, F. R., Nguyen, D. H., Morel, A., Koottatep, T., & Tockner, K. (2011). *Black Soldier Fly Larvae for Organic Waste Treatment- Prospects and Constraints*. Wastesafe 2011, 2nd International Conference on Solid Waste Management in Developing Countries, 1-8, Khulna.

- Diener, S., Zurbrugg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of Organic Material by Black Soldier Fly Larvae: Establishing Optimal Feeding Rates. *Waste Management and Research*, 27(6), 603-610.
- Diler, Ö., Altun, S., Adiloglu, A. K., Kubilay, A., & Isikli, B. (2002). First Occurrence of *Streptococcus* Affecting Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 22(1), 21-26.
- Doğan, H. (2021). *Siyah Asker Sineği (Hermetia illucens L.) Larvası Ununun Sazan (Cyprinus carpio L.1758) Diyetlerinde Alternatif Protein Kaynağı Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması*. İskenderun Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.
- Dong, L., Ariëns, R. M. C., America, A. H. P., Paul, A., Veldkamp, T., Mes, J. J., Wichers, H. J., & Govers, C. (2021). Clostridium Perfringens Suppressing Activity in Black Soldier Fly Protein Preparations. *LWT*, 149, 111806.
- Dong, L., Tomassen, M. M., Ariëns, R. M. C., Oosterink, E., Wichers, H. J., Veldkamp, T., Mes, J. J., & Govers, C. (2021). Clostridioides Difficile Toxin A-Mediated Caco-2 Cell Barrier Damage was Attenuated by Insect-Derived Fractions and Corresponded to Increased Gene Transcription of Cell Junctional and Proliferation Proteins. *Food & Function*, 12(19), 9248-9260.
- Edwards, D. J. (1978). *Salmon and Trout Farming in Norway*. Surrey: Wiley & Sons.
- Elbeshti, R. T. A. (2018). *Ekstrakte Edilmiş Damarlıca'nın (Plantago lanceolata L.) Gökkuşığı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Büyüme Performansı, Kan Parametreleri, Bağışıklık sistemi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi*. Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kastamonu.
- Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A., & Bercovier, H. (1999). Biodiversity of *L. garvieae* Strains Isolated from Fish in Europe, Asia, and Australia. *Environ. Microbiol.*, 65(3), 1005-1008.
- Elhag, O., Zhou, D., Song, Q., Soomro, A. A., Cai, M., Zheng, L., Yu, Z., & Zhang, J. (2017). Screening, Expression, Purification and Functional Characterization of Novel Antimicrobial Peptide Genes from *Hermetia illucens* (L.). *PLOS ONE*, 12(1), e0169582.
- Elia, A. C., Capucchio, M. T., Caldaroni, B., Magara, G., Dörr, A. J. M., Biasato, I., Biasibetti, E., Righetti, M., Pastorino, P., Prearo, M., Gai, F., Schiavone, A., & Gasco, L. (2018). Influence of *Hermetia illucens* Meal Dietary Inclusion on the Histological Traits, Gut Mucin Composition and the Oxidative Stress Biomarkers in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 496, 50-57.
- Elwert, C., Knips, I., & Katz, P. (2010). *A Novel Protein Source: Maggot Meal of the Black Soldier Fly (Hermetia illucens) in Broiler Feed*. 11. Tagung Schweine und Geflügelernährung, Institut für Agrarund Ernährungswissenschaften, Universität Halle Wittenberg, 140-142, Halle.

- Erickson, M. C., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J., & Doyle, M. P. (2004). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Chicken Manure by Larvae of the Black Soldier Fly. *Journal of Food Protection*, 67(4), 685-690.
- FAO. (2011). *Small-scale Rainbow Trout Farming*. Rome: FAO.
- FAO. (2017). *The Future of Food and Agriculture and Challenges*. Rome: FAO.
- FAO. (2018). *Dünyada Balıkçılık ve Su Ürünleri Yetiştiriciliğinin Durumu*. Rome: FAO
- Fawole, F. J., Adeoye, A. A., Tiamiyu, L. O., Ajala, K. I., Obadara, S. O., & Ganiyu, I. O. (2020). Substituting Fishmeal with *Hermetia illucens* in the Diets of African Catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on Growth, Nutrient Utilization, Haemato-physiological Response, and Oxidative Stress Biomarker. *Aquaculture*, 518, 734849.
- Feng, M., Fei, S., Xia, J., Labropoulou, V., Swevers, L., & Sun, J. (2020). Antimicrobial Peptides as Potential Antiviral Factors in Insect Antiviral Immune Response. *Frontiers in Immunology*, 11, 2030.
- Fisher, H. J., Collins, S. A., Hanson, C., Mason, B., Colombo, S. M., & Anderson, D. M. (2020). Black Soldier Fly Larvae Meal As a Protein Source in Low Fish Meal Diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 521, 1-9.
- Gajardo, K., Jaramillo-Torres, A., Kortner, T. M., Merrifield, D. L., Tinsley, J., Bakke, A. M., & Kroghdahl, Å. (2017). Alternative Protein Sources in the Diet Modulate Microbiota and Functionality in the Distal Intestine of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5), e02615-16.
- Gall, G. A. E., & Crandel, P. A. (1992). The Rainbow Trout. *Aquaculture*, 100, 1-10.
- Gamsız, K., & Korkut, A. Y. (2021). Su Ürünleri ve Hayvancılık (Kara Asker Sineğinin (*Hermetia illucens*) Su Ürünleri Yemlerinde Kullanım Olanakları). (ss. 13-27). Ankara: Akademisyen Kitabevi.
- Gatesoupe, F. J. (1999). The Use of Probiotics in Aquaculture. *Aquaculture*, 180(1-2), 147-165.
- Gatlin, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., Herman, E., Hu, G. S., Kroghdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., J Souza, E., Stone, D., Wilson, R., & Wurtele, E. (2007). Expanding the Utilization of Sustainable Plant Products in Aquafeeds: A Review. *Aquaculture Research*, 38(6), 551-579.
- Ghanbari, M., Kneifel, W., & Domig, K. J. (2015). A New View of the Fish Gut Microbiome: Advances from Next-Generation Sequencing. *Aquaculture*, 448, 464-475.
- Ghittino, C., & Prearo, M. (1992). Report of Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy. *Boll. Soc. It. Patol. Ittica*, 8, 4-11.

- Gilliland, S. E. (1990). Health and Nutritional Benefits from Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 87(1-2), 175-188.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., & Turnbull, J. (2000). The Use and Selection of Probiotic Bacteria in the Larval Culture of Aquatic Organisms. *Aquaculture*, 191, 259-270.
- Goodman, L. B., Lawton, M. R., Franklin-Guild, R. J., Anderson, R. R., Schaan, L., Thachil, A. J., Wiedmann, M., Miller, C. B., Alcaine, S. D., & Kovac, J. (2017). *Lactococcus petauri* sp. Nov., Isolated from an Abscess of a Sugar Glider. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(11), 4397-4404.
- Guerreiro, I., Castro, C., Antunes, B., Coutinho, F., Rangel, F., Couto, A., Serra, C. R., Peres, H., Pousão-Ferreira, P., Matos, E., Gasco, L., Gai, F., Corraze, G., Oliva-Teles, A., & Enes, P. (2020). Catching Black Soldier Fly for Meagre: Growth, Whole-body Fatty Acid Profile and Metabolic Responses. *Aquaculture*, 516, 734613.
- Gün, A., & Kızak, V. (2019). Dünyada ve Türkiye’de Su Ürünleri Üretiminde İstatistiki Durum. *Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5(2), 25-36.
- Harlystiarini, H., Mutia, R., Wibawan, I. W. T., & Astuti, D. A. (2019). In Vitro Antibacterial Activity of Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) Larva Extracts Against Gram-Negative Bacteria. *Buletin Peternakan*, 43(2).
- Hoshina, T., Sano, T., & Morimoto, J. (1958). A *streptococcus* Pathogenic to fish. *Journal of The Tokyo University of Fisheries*, 44, 57-68.
- Huyben, D., Vidaković, A., Werner Hallgren, S., & Langeland, M. (2019). High-Throughput Sequencing of Gut Microbiota in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Larval and Pre-pupae Stages of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). *Aquaculture*, 500, 485-491.
- Islam, Md. M., & Yang, C. J. (2017). Efficacy of Mealworm and Super Mealworm Larvae Probiotics as an Alternative to Antibiotics Challenged Orally with *Salmonella* and *E. coli* Infection in Broiler Chicks. *Poultry Science*, 96(1), 27-34.
- Józefiak, D., Józefiak, A., Kierończyk, B., Rawski, M., Świątkiewicz, S., Długosz, J., & Engberg, R. M. (2016). Insects—A Natural Nutrient Source for Poultry—A Review. *Annals of Animal Science*, 16(2), 297-313.
- Kang, D., Liu, G., Lundström, A., Gelius, E., & Steiner, H. (1998). A Peptidoglycan Recognition Protein in Innate Immunity Conserved from Insects to Humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 10078-10082.
- Kar, S., Şamlı, H. E., & Arın, L. (2018). Kara Asker Sineği *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758): Biyoloji, Üretim ve Beslemede Kullanımı. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(2), 246-263.
- Karga, M. (2022). Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve Siyah hardal (*Brassica nigra*) Tohumları ile Defne (*Laurus nobilis*) Yaprağı Özütlerinin Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Bağışıklık Yanıtı ve Büyüme Performansı

Üzerine Etkileri. Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kastamonu.

- Karlsen, Ø., Amlund, H., Berg, A., & Olsen, R. E. (2017). The Effect of Dietary Chitin on Growth and Nutrient Digestibility in Farmed Atlantic cod, Atlantic Salmon and Atlantic Halibut. *Aquaculture Research*, 48(1), 123-133.
- Keskin, E., & Atar, H. H. (2011). Su Ürünleri Yetiştiriciliği Doğal Balık Stokları İlişkisi. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, 356, 4-9.
- Kim, S. A., & Rhee, M. S. (2016). Highly Enhanced Bactericidal Effects of Medium Chain Fatty Acids (Caprylic, Capric, and Lauric Acid) Combined with Edible Plant Essential Oils (carvacrol, eugenol, β -resorcylic acid, trans -cinnamaldehyde, thymol, and vanillin) Against *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*, 60, 447-454.
- Kroeckel, S., Harjes, A. G. E., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., & Schulz, C. (2012). When a Turbot Catches a Fly: Evaluation of a Pre-pupae Meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Fish Meal Substitute—Growth Performance and Chitin Degradation in Juvenile Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364-365, 345-352.
- Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G., & Diler, Ö. (2005). *Lactococcus garvieae* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1), 39-48.
- Lalander, C. H., Fidjeland, J., Diener, S., Eriksson, S., & Vinnerås, B. (2015). High Waste-to-Biomass Conversion and Efficient *Salmonella* spp. Reduction Using Black Soldier Fly for Waste Recycling. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 261-271.
- Lanes, C. F. C., Pedron, F. A., Bergamin, G. T., Bitencourt, A. L., Dorneles, B. E. R., Villanova, J. C. V., Dias, K. C., Riolo, K., Oliva, S., Savastano, D., & Giannetto, A. (2021). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae and Prepupae Defatted Meals in Diets for Zebrafish (*Danio rerio*). *Animals*, 11(3), 720.
- Lee, J., Kim, Y. M., Park, Y. K., Yang, Y. C., Jung, B. G., & Lee, B. J. (2018). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Enhances Immune Activities and Increases Survivability of Broiler Chicks Against Experimental Infection of *Salmonella Gallinarum*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(5), 736-740.
- Li, S. L., Ji, H., Zhang, B. X., Zhou, J. S., & Yu, H. B. (2017). Defatted Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal in Diets for Juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth Performance, Antioxidant Enzyme Activities, Digestive Enzyme Activities, Intestine and Hepatopancreas Histological Structure. *Aquaculture*, 477, 62-70.
- Li, Y., Bruni, L., Jaramillo-Torres, A., Gajardo, K., Kortner, T. M., & Krogdahl, Å. (2021). Differential Response of Digesta and Mucosa-Associated Intestinal Microbiota to Dietary Insect Meal During the Seawater Phase of Atlantic Salmon. *Animal Microbiome*, 3(1), 8.

- Li, Y., Gajardo, K., Jaramillo-Torres, A., Kortner, T. M., & Kroghdahl, Å. (2022). Consistent Changes in the Intestinal Microbiota of Atlantic Salmon Fed Insect Meal Diets. *Animal Microbiome*, 4(1), 8.
- Li, Y. X., Kortner, T. M., Chikwati, E. M., Belghit, I., Lock, E. J., & Kroghdahl, Å. (2020). Total Replacement of Fish Meal with Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae meal does not Compromise the Gut Health of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 520, 734967.
- Li, Z., Mao, R., Teng, D., Hao, Y., Chen, H., Wang, X., Wang, X., Yang, N., & Wang, J. (2017). Antibacterial and Immunomodulatory Activities of Insect Defensins-DLP2 and DLP4 Against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports*, 7(1), 12124.
- Llewellyn, M. S., Boutin, S., Hoseinifar, S. H., & Derome, N. (2014). Teleost Microbiomes: The State of the Art in Their Characterization, Manipulation and Importance in Aquaculture and Fisheries. *Frontiers in Microbiology*, 5.
- Lyons, P. P., Turnbull, J. F., Dawson, K. A., & Crumlish, M. (2017). Phylogenetic and Functional Characterization of the Distal Intestinal Microbiome of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* from Both Farm and Aquarium Settings. *Journal of Applied Microbiology*, 122(2), 347-363.
- Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R. S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2017). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Pre-pupae Meal As a Fish Meal Replacement in Diets for European Seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 476, 79-85.
- May, B. M. (1961). The Occurrence in New Zealand and the Life-History of the Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *New Zealand Journal of Science* 4: 55-65, 4(1), 55-65.
- McFarland, J. (1907). The Nephelometer: an Instrument for Estimating the Number of Bacteria in Suspensions Used for Calculating the Opsonic Index and for Vaccines. *Jama: The Journal of the American Medical Association*, XLIX(14), 1176.
- Melenchón, F., Larrán, A. M., de Mercado, E., Hidalgo, M. C., Cardenete, G., Barroso, F. G., Fabrikov, D., Lourenço, H. M., Pessoa, M. F., & Tomás-Almenar, C. (2020). Potential Use of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) and Mealworm (*Tenebrio molitor*) Insectmeals in Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 27(2), 491-505.
- Menconi, A., Pumford, N. R., Morgan, M. J., Bielke, L. R., Kallapura, G., Latorre, J. D., Wolfenden, A. D., Hernandez-Velasco, X., Hargis, B. M., & Tellez, G. (2014). Effect of Chitosan on *Salmonella* Typhimurium in Broiler Chickens. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(2), 165-169.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R. T. M., & Davies, S. J. (2009). Soybean Meal Alters Autochthonous Microbial Populations, Microvilli Morphology and Compromises Intestinal Enterocyte Integrity of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(9), 755-766.

- Moretta, A., Salvia, R., Scieuzo, C., Di Somma, A., Vogel, H., Pucci, P., Sgambato, A., Wolff, M., & Falabella, P. (2020). A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the Black Soldier Fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Reports*, 10(1), 16875.
- Muzquiz, J. L., Royo, F. M., Ortega, C., de Blas, I., Ruiz, & Alonso, J. L. (1999). Pathogenicity of Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Dependence of Age of Diseased Fish. ., 19,114–119. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 19, 114-119.
- Myers, H. M., Tomberlin, J. K., Lambert, B. D., & Kattes, D. (2008). Development of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Fed Dairy Manure. *Environmental Entomology*, 37(1), 11-15.
- Nayak, S. K. (2010). Role of Gastrointestinal Microbiota in Fish: Role of Gastrointestinal Microbiota in Fish. *Aquaculture Research*, 41(11), 1553-1573.
- Ndotono, E. W., Khamis, F. M., Bargul, J. L., & Tanga, C. M. (2022). Gut Microbiota Shift in Layer Pullets Fed on Black Soldier Fly Larvae-Based Feeds Towards Enhancing Healthy Gut Microbial Community. *Scientific Reports*, 12(1), 16714.
- Nguyen, T. T. X., Tomberlin, J. K., & Vanlaerhoven, S. (2015). Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste. *Environmental Entomology*, 44(2), 406-410.
- Nyakeri, E. M., Ayieko, M. A., Amimo, F. A., Salum, H., & Ogola, H. J. O. (2019). An Optimal Feeding Strategy for Black Soldier Fly Larvae Biomass Production and Faecal Sludge Reduction. *Journal of Insects as Food and Feed*, 5(3), 201-213.
- Oliveira, F., Doelle, K., List, R., & O'reilly, J. R. (2015). Assessment of Diptera: Stratiomyidae, Genus *Hermetia illucens* (L., 1758) Using Electron Microscopy. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(5), 147-152.
- Ozturk, R. C., Yandi, I., Terzi, Y., & Altinok, I. (2022). Growth, Health and Fillet Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Directly with Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Prepupae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(5).
- Özdemir, N. (1996). *Alabalık Yetiştiriciliği*. İstanbul: Hasad Yayıncılık.
- Özek, K. (2016). Böcek Kökenli Protein Kaynaklarının Yem Değeri ve Kanatlıların Beslenmesinde Kullanılabilme Olanakları. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3), 272-278.
- Özel, O. T. (2015). *Alternatif Yağ Kaynaklarının Yavru Karadeniz Alabalıklarında (Salmo trutta labrax Pallas, 1811) Büyüme Performansı, Liğit Metabolizması ve Bazı Genlerin mRNA Ekspresyonu Üzerine Etkisi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Samsun.
- Öztürk, R. Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1).

- Park, H. H. (2016). *Black Soldier Fly Larvae Manual*. Amherst: University of Massachusetts Amherst.
- Park, S. I., Chang, B. S., & Yoe, S. M. (2014). Detection of Antimicrobial Substances from Larvae of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): Antimicrobial Activity of *H. illucens*. *Entomological Research*, 44(2), 58-64.
- Park, S. I., Kim, J. W., & Yoe, S. M. (2015). Purification and Characterization of a Novel Antibacterial Peptide from Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae. *Developmental & Comparative Immunology*, 52(1), 98-106.
- Park, S. I., & Yoe, S. M. (2017). A Novel Cecropin-Like Peptide from Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*: Isolation, Structural and Functional Characterization: A Cecropin-Like Peptide from *H. illucens*. *Entomological Research*, 47(2), 115-124.
- Peeler, E. J., & Taylor, N. GH. (2011). The Application of Epidemiology in Aquatic Animal Health Opportunities and Challenges. *Veterinary Research*, 42(1).
- Pennell, W., & Barton, B. A. (1996). *Principles of salmonid culture*. Amsterdam: Elsevier.
- Pereira, F., Ravelo, C., Toranzo, A. E., & Romalde, J. L. (2004). *L. garvieae*, an Emerging Pathogen for the Portuguese Trout Culture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24, 274.
- Petterson, A. (2010). *Effects of Replacing Fish Oil with Vegetable Oils in Feed for Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) and Arctic Charr (Salvelinus alpinus)*. Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Doctoral Thesis, Uppsala.
- Provost, B., Jouan, V., Hilliou, F., Delobel, P., Bernardo, P., Ravallec, M., Cousserans, F., Wajnberg, E., Darboux, I., Fournier, P., Strand, M. R., & Volkoff, A. N. (2011). Lepidopteran Transcriptome Analysis Following Infection by Phylogenetically Unrelated Polydnviruses Highlights Differential and Common Responses. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(8), 582-591.
- Revenga, C., Campbell, I., Abell, R., Villiers, P. D., & Bryer, M. (2005). Prospects for Monitoring Freshwater Ecosystems Towards the 2010 Targets. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1454), 397-413.
- Rimoldi, S., Gini, E., Iannini, F., Gasco, L., & Terova, G. (2019). The Effects of Dietary Insect Meal from *Hermetia illucens* Prepupae on Autochthonous Gut Microbiota of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals*, 9(4), 143.
- Ringø, E., Zhou, Z., Vecino, J. L. G., Wadsworth, S., Romero, J., Kroghdahl, Å., Olsen, R. E., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Owen, M., Lauzon, H. L., Martinsen, L. L., De Schryver, P., Bossier, P., Sperstad, S., & Merrifield, D. L. (2016). Effect of Dietary Components on the Gut Microbiota of Aquatic Animals. A Never - Ending Story?. *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 219-282.
- Salem, M. O. A. (2022). *Akhardal (Sinapis alba) ve Keten Tohumu (Linum usitatissimum) Yağlarının Gökkuşığı Alabalıklarının (Oncorhynchus mykiss) Büyüme Performansı*,

Bağıışıklık Yanıtı, Kan Parametreleri, Sindirim Enzimleri ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri. Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kastamonu.

- Sarıeyyüpoğlu, M., Özcan, M., & Barata, S. (2017). Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda Deri Ensizyonu ile Operasyon Uygulanması ve Balığın Canlılığının Kontrolü Üzerine Bir Araştırma. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 29(1), 9-13.
- Schlievert, P. M., Kilgore, S. H., Kaus, G. M., Ho, T. D., & Ellermeier, C. D. (2018). Glycerol Monolaurate (GML) and a Nonaqueous Five-Percent GML Gel Kill *Bacillus* and *Clostridium* Spores. *mSphere*, 3(6), e00597-18.
- Shah, S. R. A., & Çetingöl, I. S. (2022). Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) Larvae as Ecological, Immune Booster and Economical Feedstuff for Aquaculture. *Marine Science and Technology Bulletin*, 11(1), 52-62.
- Shati, S. M., Opiyo, M. A., Nairuti, R. N., Shoko, A. P., Munyi, F., & Ogello, E. O. (2022). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal Improves Growth Performance, Feed Utilization, Amino Acids Profile, and Economic Benefits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.). *Aquatic Research*, 5(3), 238-249.
- Singh, A., & Kumari, K. (2019). An Inclusive Approach for Organic Waste Treatment and Valorisation Using Black Soldier Fly larvae: A Review. *Journal of Environmental Management*, 251, 1-13.
- Skrobonja, E. (2020). *13 Reasons Why You Should Try The Black Soldier Fly In 2020*. <https://www.eatcrickster.com/author/emanuel-skrobonja> adresinden alınmıştır.
- Smith, G. R., & Stearly, R. F. (1989). The Classification and Scientific Names of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 78, 153-161.
- Şahin, T. (2002). Su Ürünleri Araştırmalarında Uygulanabilirlik. *Yunus Araştırma Bülteni*, 2(3), 4-5.
- Tarım ve Orman Şurası. (2019). *Balıkçılık ve Su Ürünleri Grubu Çalışma Belgesi* (ss. 10-155).
- Tekelioğlu, N., Kumlu, M., Yanar, M., & Erçen, Z. (2007). Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi Sektörünün Durumu ve Sorunları. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*. 5(8), 682-693.
- Terova, G., Rimoldi, S., Ascione, C., Gini, E., Ceccotti, C., & Gasco, L. (2019). Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Gut Microbiota is Modulated by Insect Meal from *Hermetia illucens* Prepupae in the Diet. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 29(2), 465-486.
- Terzioğlu, S. (2012). *Bazı Tıbbi Bitki Türlerinin Gökkuşığı Alabalıklarının (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi ve Büyüme Performansı Üzerine Etkisi*. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.

- Toranzo, A. E., Magariños, B., & Romalde, J. L. (2005). A Review of the Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems. *Aquaculture*, 246(1-4), 37-61.
- Tschirner, M., & Simon, A. (2015). Influence of Different Growing Substrates and Processing on the Nutrient Composition of Black Soldier Fly Larvae Destined for Animal Feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4), 249-259.
- Türe, M., Altınok, I., & Alp, H. (2018). Effects of Cage Farming on Antimicrobial and Heavy Metal Resistance of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, and *Lactococcus garvieae*. *Microbial Drug Resistance*, 24(9), 1422-1430.
- TÜBA. (2019). *II. Gıda ve Sağlıklı Beslenme Sempozyumu Raporu "Su Ürünleri ve Sağlık"*. Ankara: Tek Ses Ofset Matbaacılık.
- Türe, M., Altınok, İ., Işıdan, H., Savaş, H., & Kutlu, İ. (2012). *PFGE Metodu Kullanılarak Lactococcus garvieae'nin Genetik Çeşitliliğinin ve Yılımının Belirlenmesi* [TAGEM Proje Sonuç Raporu].
- UNFPA. (2023). *Dünya Nüfus Durumu Raporu 2023; 8 Milyar Yaşam, Sonsuz Olasılıklar: Haklar ve seçimler üzerine* (s. 190). UNFPA.
- URL-1. (2023, Mart 01). Gökkuşığı Alabalığı Sistematığı: https://tr.wikipedia.org/wiki/G%C3%B6kku%C5%9Fa%C4%9F%C4%B1_alabal%C4%B1%C4%9F%C4%B1 adresinden alınmıştır.
- URL-2. (2023, Mart 03). Rainbow Trout Photo: <https://vtfishandwildlife.com/fish/fishing-opportunities/sportfish-of-vermont/rainbow-trout> adresinden alınmıştır.
- URL-3. (2023, Mart 03). *Hermetia illucens* Hayat Döngüsü. Agricultural Research Council. <https://www.arc.agric.za/arc-ppri/Fact%20Sheets%20Library/The%20Black%20Soldier%20Fly%20-%20BSF.pdf> adresinden alınmıştır.
- URL-4. (2023, Nisan 05). *L. petauri*. <https://www.izsplv.it/tr/supertrout/farmers-corner/g%C3%B6kku%C5%9Fa%C4%9F%C4%B1-alabal%C4%B1%C4%9F%C4%B1-laktokokosis-salg%C4%B1n%C4%B1ndan-lactococcus-petauri-su%C5%9Funun-izolasyonu-ve-genom-dizisinin-ilk-raporu.html> adresinden alınmıştır.
- URL-5. (2023, Ağustos 13). Kara asker sineği sistematığı. https://tr.wikipedia.org/wiki/Hermetia_illucens adresinden alınmıştır.
- Ushakova, N. A., Dontsov, A. E., Sakina, N. L., Brodsky, E. S., Ratnikova, I. A., Gavrilova, N. N., Bastrakov, A. I., Kozlova, A. A., & Nekrasov, R. V. (2017). Melanin Properties at the Different Stages Towards Life Cycle of the Fly *Hermetia illucens*. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 424-431.
- Üstüner, T., Hasbenli, A., & Rudolf, Roz. (2003). The First Record of *Hermetia illucens* Linnaeus 1758 Diptera Stratiomyidae from the Near East. *Studia Dipterologica*, 10(1).

- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). *Edible Insects—Future Prospects for Food and Feed Security*. FAO.
- Veldkamp, T., Duinkerken, G. van, Huis, A. van, Lakemond, C. M. M., Ottevanger, E., Bosch, G., & Boekel, T. van. (2012). *Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets: A feasibility study Report 638*. Wageningen: UR Livestock Research.
- Vendrell, D., Balcazar, J., Ruizzarzuela, I., Deblas, I., Girones, O., & Muzquiz, J. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4), 177-198.
- Vural, O. (2015). *Arı Sütünün Zebra Balığı (Danio rerio) Diyetlerinde Bazı Büyüme (GH ve IGF-I) ve İmmün Sistem (TGF-B) Doku Spesifik Gen Ekspresyonları Üzerine Olan Etkisi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Wang, G. X., Peng, K., Hu, J. R., Yi, C. Y., Chen, X. Y., Wu, H. M., & Huang, Y. H. (2019). Evaluation of Defatted Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae Meal as an Alternative Protein Ingredient for Juvenile Japanese Seabass (*Lateolabrax japonicus*) Diets. *Aquaculture*, 507, 144-154.
- Wang, H., Rehman, K. U., Feng, W., Yang, D., Rehman, R. U., Cai, M., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2020). Physicochemical Structure of Chitin in the Developing Stages of Black Soldier Fly. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 901-907.
- Wang, Y. S., & Shelomi, M. (2017). Review of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Animal Feed and Human Food. *Foods*, 6(10), 91.
- Weththasinghe, P., Hansen, J. Ø., Nøklund, D., Lagos, L., Rawski, M., & Øverland, M. (2021). Full-Fat Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) Meal and Paste in Extruded Diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Effect on Physical Pellet Quality, Nutrient Digestibility, Nutrient Utilization and Growth Performances. *Aquaculture*, 530, 735785.
- Weththasinghe, P., Rocha, S. D. C., Øyås, O., Lagos, L., Hansen, J. Ø., Mydland, L. T., & Øverland, M. (2022). Modulation of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Gut Microbiota Composition and Predicted Metabolic Capacity by Feeding Diets with Processed Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meals and Fractions. *Animal Microbiome*, 4(1), 9.
- Xie, J., Xie, W., Yu, J., Xin, R., Shi, Z., Song, L., & Yang, X. (2021). Extraction of Chitin From Shrimp Shell by Successive Two-Step Fermentation of *Exiguobacterium profundum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 677126.
- Xu, F. M., Hou, S. W., Wang, G. X., Gong, J. Y., Zhou, L., Huang, Y. H., Huang, X. D., & Liu, L. (2021). Effects of Zymolytic Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Pulp as Dietary Supplementation in Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Reports*, 21, 100823.

- Xu, X., Ji, H., Yu, H., & Zhou, J. (2020). Influence of Dietary Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) Pulp on Growth Performance, Antioxidant Capacity and Intestinal Health of Juvenile Mirror Carp (*Cyprinus carpio* var. *Specularis*). *Aquaculture Nutrition*, 26(2), 432-443.
- Xu, X. X., Ji, H., Belghit, I., Liland, N. S., Wu, W. Y., & Li, X. Q. (2021). Effects of Black Soldier Fly Oil Rich in n-3 HUFA on Growth Performance, Metabolism and Health Response of Juvenile Mirror Carp (*Cyprinus carpio* var. *Specularis*). *Aquaculture*, 533, 1-13.
- Xu, X. X., Ji, H., Belghit, I., & Sun, J. (2020). Black Soldier Fly Larvae as a Better Lipid Source than Yellow Mealworm or Silkworm Oils for Juvenile Mirror Carp (*Cyprinus carpio* var. *Specularis*). *Aquaculture*, 527, 1-11.
- Yandi, I., Ozturk, R. C., Terzi, Y., Kayis, S., & Altinok, I. (2023). Effects of Chicken Waste Meal and Vegetable Substrate Fed Black Soldier Fly Prepupae Meal on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Insects as Food and Feed*, 9(4), 427-439.
- Yandi, I., Öztürk, R. Ç., Kocabas, M., Kurtoglu, I. Z., & Altinok, I. (2023). Nutritional Composition of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Reared on Chicken Waste Meal, Fruit & Vegetable Waste, and Their Mixture. *Journal of Insects as Food and Feed*, 9(5), 557-567.
- Yaseen, Q., Hameed, U., Muhammad, N., & Munir, A. (2016). Artificial Feed for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in District Swat Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(5), 155-1518.
- Žáková, M., & Borkovcová, M. (2013). *Hermetia illucens* Application in Management of Selected Types of Organic Waste. 2nd Electronic International Interdisciplinary Conference. Int. Interdisciplinary Con. pp 367-370. Pradesh.

8. EKLER

Ek Tablo 1. SIMPER analizi sonuçları

B0 vs B25	Farklılık = 31,89%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B0	Ortalama bolluk B25
	Cetobacterium	59,32	59,32	70600	51100
	Achromobacter	15,8	75,12	764	8760
	Carnobacterium	8,468	83,59	9740	10000
	Phyllobacterium	5,989	89,58	712	3730
	unclassifiedMycoplasmataceae	1,307	90,89	706	16
	Mesorhizobium	1,268	92,16	78	719
	Aeromonas	1,004	93,16	79	586
	Prevotella	0,6345	93,79	86	405
	Faecalibacterium	0,5696	94,36	33	321
	Acinetobacter	0,567	94,93	52	338
	Bacteroides	0,5378	95,47	138	406
	Streptophyta FAMILYA	0,5062	95,98	83	337
B0 vs B50	Farklılık = 27,65%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B0	Ortalama bolluk B50
	Cetobacterium	75,14	75,14	70600	82500
	Carnobacterium	14,4	89,55	9740	2620
	Achromobacter	2,817	92,36	764	2090
	Phyllobacterium	1,64	94	712	1430
	unclassifiedMycoplasmataceae	1,35	95,35	706	44
	Bacillales ORDER	0,5396	95,89	0	257
	Vampirovibrio CİNS	0,2268	96,12	0	108
	Enterobacteriaceae FAMILYA	0,1848	96,3	0	88
	Aeromonas	0,1754	96,48	79	155
	Bacteroides	0,1502	96,63	138	69
	Pseudorhodobacter CİNS	0,1449	96,77	0	69
B0 vs B75	Farklılık = 28,16	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B0	Ortalama bolluk B75
	Cetobacterium	73,55	73,55	70600	79100
	Carnobacterium	19,69	93,25	9740	316
	Achromobacter	1,707	94,96	764	1470
	unclassifiedMycoplasmataceae	1,41	96,37	706	31
	Phyllobacterium	0,9921	97,36	712	1010
	Bacillales ORDER	0,3268	97,69	0	151
	Streptophyta FAMILYA	0,1892	97,87	83	162
	Mesorhizobium	0,1603	98,03	78	143
	Faecalibacterium	0,1474	98,18	33	100
	Bacteroides	0,1356	98,32	138	90
	Saccharibacteriageneraincertaesis	0,1322	98,45	2	63
	Aeromonas	0,1027	98,55	79	106
B0 vs B100	Farklılık = 31,13	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B0	Ortalama bolluk B100
	Cetobacterium	70,79	70,79	70600	89400

Ek Tablo 1'in devamı

	Carnobacterium	17,11	87,9	9740	0
	Phyllobacterium	2,379	90,28	712	2020
	Achromobacter	1,998	92,28	764	1850
	unclassifiedMycoplasmataceae	1,231	93,51	706	5
	Bacillales ORDER	0,6127	94,12	0	341
	Pseudorhodobacter CİNS	0,5606	94,68	0	312
	unclassifiedParachlamydiaceae	0,5177	95,2	5	293
	Rhodobacter	0,3198	95,52	0	178
	Rhodobacteraceae	0,2947	95,82	0	164
	Streptophyta FAMILYA	0,22	96,04	83	203
	Mesorhizobium	0,2102	96,25	78	193
B0 vs Sur	Farklılık = 90,53	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B0	Ortalama bolluk Su
	Cetobacterium	55,05	55,05	70600	4710
	Carnobacterium	8,143	63,19	9740	45
	Rhodoferrax	2,766	65,96	0	3040
	Prevotella	2,309	68,27	86	2620
	Flavobacterium	1,478	69,74	0	1630
	Acinetobacter	1,047	70,79	52	1200
	Saccharibacteriageneraincertaedis	0,9487	71,74	2	1050
	Bacteroides	0,7471	72,49	138	949
	Comamonadaceae FAMILYA	0,7103	73,2	0	781
	Diploricetisia	0,663	73,86	0	729
	Perluclidibaca	0,6567	74,52	0	722
	unclassifiedMycoplasmataceae	0,5896	75,11	706	4
B25 vs B50	Farklılık = 34,59	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B25	Ortalama bolluk B50
	Cetobacterium	61,83	61,83	51100	82500
	Carnobacterium	12,7	74,53	10000	2620
	Achromobacter	11,43	85,96	8760	2090
	Phyllobacterium	3,945	89,91	3730	1430
	Mesorhizobium	1,077	90,99	719	89
	Aeromonas	0,7383	91,72	586	155
	Bacteroides	0,5766	92,3	406	69
	Prevotella	0,5579	92,86	405	79
	Acinetobacter	0,535	93,39	338	25
	Faecalibacterium	0,489	93,88	321	35
	Bacillales ORDER	0,4355	94,32	0	257
	Streptophyta FAMILYA	0,3825	94,7	337	114
B25 vs B75	Farklılık = 36,18%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B25	Ortalama bolluk B75
	Cetobacterium	58,23	58,23	51100	79100
	Carnobacterium	16,56	74,8	10000	316
	Achromobacter	12,43	87,23	8760	1470
	Phyllobacterium	4,633	91,86	3730	1010
	Mesorhizobium	0,9829	92,85	719	143

Ek Tablo 1'in devamı

Aeromonas	0,819	93,67	586	106
Prevotella	0,5512	94,22	405	82
Bacteroides	0,5393	94,76	406	90
Acinetobacter	0,493	95,25	338	49
Faecalibacterium	0,3773	95,63	321	100
Streptophyta FAMILYA	0,3084	95,94	337	162
Bacillales ORDER	0,2567	96,19	0	151
B25 vs B100 Farklılık = 38,43%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B25	Ortalama bolluk B100
Cetobacterium	61,58	61,58	51100	89400
Carnobacterium	14,92	76,49	10000	0
Achromobacter	10,31	86,8	8760	1850
Phyllobacterium	2,76	89,56	3730	2020
Mesorhizobium	0,7855	90,35	719	193
Aeromonas	0,6847	91,03	586	127
Bacillales ORDER	0,5013	91,53	0	341
Bacteroides	0,4641	92	406	95
Pseudorhodobacter CİNS	0,4586	92,46	0	312
Prevotella	0,445	92,9	405	107
Acinetobacter	0,4321	93,33	338	48
unclassifiedParachlamydiaceae	0,4203	93,75	7	293
B25 vs Su Farklılık = 86,45%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B25	Ortalama bolluk Su
Cetobacterium	42,89	42,89	51100	4710
Carnobacterium	9,261	52,15	10000	45
Achromobacter	7,92	60,07	8760	216
Phyllobacterium	3,383	63,45	3730	78
Rhodferax	2,911	66,36	0	3040
Prevotella	2,13	68,49	405	2620
Flavobacterium	1,555	70,05	0	1630
Saccharibacteriageneraincertaedis	0,99	71,04	11	1050
Acinetobacter	0,8341	71,87	338	1200
Comamonadaceae FAMILYA	0,7475	72,62	0	781
Diploricettsia	0,6977	73,32	0	729
Perlucidibaca	0,691	74,01	0	722
B50 vs B75 Farklılık = 20,72%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B50	Ortalama bolluk B75
Cetobacterium	84,17	84,17	82500	79100
Carnobacterium	6,346	90,52	2620	316
Achromobacter	2,349	92,86	2090	1470
Phyllobacterium	1,606	94,47	1430	1010
Bacillales ORDER	0,3263	94,8	257	151
Enterobacteriaceae FAMILYA	0,2428	95,04	88	0
Vampirovibrio CİNS	0,2065	95,25	108	33
Streptophyta FAMILYA	0,1851	95,43	114	162
Faecalibacterium	0,1807	95,61	35	100

Ek Tablo 1'in devamı

	Aeromonas	0,1786	95,79	155	106
	Mesorhizobium	0,1768	95,97	89	143
	Pseudorhodobacter CİNS	0,1544	96,12	69	13
B50 vs B100	Farklılık = 21,69%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B50	Ortalama bolluk B100
	Cetobacterium	81,97	81,97	82500	89400
	Carnobacterium	6,422	88,39	2620	0
	Phyllobacterium	2,016	90,41	1430	2020
	Achromobacter	1,944	92,35	2090	1850
	unclassifiedParachlamydiaceae	0,6526	93,01	26	293
	Pseudorhodobacter CİNS	0,5935	93,6	69	312
	Bacillales ORDER	0,3332	93,93	257	341
	Rhodobacter	0,3027	94,24	54	178
	Rhodobacteraceae	0,2905	94,53	45	164
	Mesorhizobium	0,2583	94,78	89	193
	Streptophyta FAMILYA	0,2374	95,02	114	203
	Vampirovibrio CİNS	0,2186	95,24	108	19
B50 vs Su	Farklılık = 89,91%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B50	Ortalama bolluk Water
	Cetobacterium	62,89	62,89	82500	4710
	Rhodoferrax	2,562	65,45	0	3040
	Prevotella	2,142	67,59	79	2620
	Carnobacterium	2,084	69,67	2620	45
	Achromobacter	1,508	71,18	2090	216
	Flavobacterium	1,369	72,55	0	1630
	Phyllobacterium	1,093	73,64	1430	78
	Acinetobacter	0,99	74,63	25	1200
	Saccharibacteriageneraincertaedis	0,8683	75,5	15	1050
	Bacteroides	0,7437	76,25	69	949
	Comamonadaceae FAMILYA	0,658	76,91	0	781
	Perlucidibaca	0,6083	77,51	0	722
B75 vs B100	Farklılık = 21,68%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B75	Ortalama bolluk B100
	Cetobacterium	86,56	86,56	79100	89400
	Phyllobacterium	2,66	89,22	1010	2020
	Achromobacter	1,85	91,07	1470	1850
	Carnobacterium	0,8106	91,88	316	0
	Pseudorhodobacter CİNS	0,7602	92,64	13	312
	unclassifiedParachlamydiaceae	0,7196	93,36	162	293
	Bacillales ORDER	0,484	93,84	151	341
	Rhodobacteraceae	0,4171	94,26	0	164
	Rhodobacter	0,3758	94,64	30	178
	Rhizobiales ORDER	0,2645	94,9	0	104
	Rhizobiales ORDER	0,2467	95,15	0	97
	Streptophyta FAMILYA	0,2027	95,35	162	203
B75 vs Su	Farklılık = 90,32%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B75	Ortalama bolluk Water

Ek Tablo 1'in devamı

	Cetobacterium	63,5	63,5	79100	4710
	Rhodofexax	2,693	66,19	0	3040
	Prevotella	2,248	68,44	82	2620
	Flavobacterium	1,439	69,88	0	1630
	Achromobacter	1,069	70,95	1470	216
	Acinetobacter	1,02	71,97	49	1200
	Saccharibacteriageneraincertaedis	0,8716	72,84	63	1050
	Phyllobacterium	0,7979	73,64	1010	78
	Bacteroides	0,7635	74,4	90	949
	Comamonadaceae FAMILYA	0,6917	75,1	0	781
	Diplorickettsia	0,6422	75,74	4	729
	Perlucidibaca	0,6394	76,38	0	722
B100 vs Su	Farklılık = 89,02%	Katkı %	Kümülatif %	Ortalama bolluk B100	Ortalama bolluk Water
	Cetobacterium	66,16	66,16	89400	4710
	Rhodofexax	2,475	68,63	10	3040
	Prevotella	2,054	70,69	107	2620
	Phyllobacterium	1,518	72,2	2020	78
	Flavobacterium	1,321	73,52	7	1630
	Achromobacter	1,273	74,8	1850	216
	Acinetobacter	0,9413	75,74	48	1200
	Saccharibacteriageneraincertaedis	0,785	76,52	87	1050
	Bacteroides	0,7004	77,22	95	949
	Comamonadaceae FAMILYA	0,6376	77,86	0	781
	Perlucidibaca	0,5894	78,45	0	722
	Diplorickettsia	0,5701	79,02	32	729

ÖZGEÇMİŞ

Hidayet SAYRAMOĞLU, ilk ve orta öğrenimini Bortala Şehri 7. Lisesi'ne bağlı İlkokul ve Ortaokulda, lise öğrenimini Bortala İl Deneyisel Lisesi'nde tamamladı.

2007 yılında, ÇHC Kuzeydoğu Orman Üniversitesi (Northeast Forestry University), Yaban Hayatı Kaynakları Fakültesi, Yaban Hayatı Yönetimi Bölümünü kazandı. 2 yıl süren zorunlu Çince ve İngilizce hazırlık eğitiminin ardından 2009 yılında kazanmış olduğu bölümde lisans eğitimine başladı ve 2013 yılında bu bölümdeki dört yıllık lisans öğrenimini başarıyla tamamlayarak Yaban Hayatı Mühendisi unvanını aldı.

2013 yılında, Türkiye'ye geldi. İstanbul Üniversitesi Türkçe Öğretim Merkezi'nde bir yıl Türkçe kursuna gitti. 2014 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Fakültesi Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Bölümü Tezli Yüksek Lisans programını kazandı ve 2018 yılında başarıyla mezun oldu. Aynı yıl KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümünde Doktora eğitimine başladı ve halen devam ediyor.

Evli ve iki çocuk babası olup, iyi derecede Çince ve İngilizce bilmektedir.

Sayramoğlu, H., Öztürk, R., Ustaoglu, D., Terzi, Y., Yandi, I., Kayis, S., Capkin, E., & Altinok, I. (2023). Effects of black soldier fly meal feeding on rainbow trout gut microbiota, immune-related gene expression, and *Lactococcus petauri* resistance. *Journal of Insects as Food and Feed* (published online ahead of print 2023). <https://doi.org/10.1163/23524588-20230057>

Sayramoğlu, H., Öztürk, R., Ustaoglu, D., Terzi, Y., Yandi, I., Kayis, S., Capkin, E., & Altinok, I. (2023, October 24-26). *Effect of Larvas of Hermetia Illucens (Diptera: Stratiomyidae) on Rainbow Trout's Bacteria Composition in The Digestive System and Immune System*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences "SOFAS 2023", Trabzon, Türkiye.