



Mannan oligosakkarit (MOS) İlaveli Yemlerle Beslenen *Oreochromis niloticus*'un Karaciğer Paraoksonaz Enzim Aktivitesi ve Malondialdehit Düzeyinin Araştırılması

Ferbal Özkan-Yılmaz^{1*}, Arzu Özlüer-Hunt², Mehmet Berköz³

¹Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, 33169, Yenişehir/Mersin, Türkiye

²Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 33169, Yenişehir/Mersin, Türkiye

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, 65080 Kampus/Van, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş 20 Nisan 2015
Kabul 02 Temmuz 2015
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:
Oreochromis niloticus
Mannan oligosakkarit
Paraoksonaz
Prebiyotik
Karaciğer

* Sorumlu Yazar:

E-mail: ferbal1111@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışmada mannan-oligosakkarit (MOS) ilaveli yemle beslenen *Oreochromis niloticus*'da karaciğer dokusu paraoksonaz (PON) enzim aktivitesi ile malondialdehit (MDA) düzeyi araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar, MOS'un %0,25; %0,35 ve %0,45 oranlarını içeren yemler ile 60 gün beslenmişlerdir. Deney sonunda *O. niloticus* karaciğer dokusu PON aktivitesi MOS katkılı gruplarda kontrol grubuna oranla artmıştır. Mannan oligosakkarit ilaveli yemlerle beslenen gruplardaki balıkların karaciğer dokusu MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli oranda azaldığı belirlenmiştir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 3(8): 639-643, 2015

Investigation on Paraoxonase Enzyme Activity and Malondialdehyde Level in Liver of *Oreochromis niloticus* Fed with MOS Supplemented Diet

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 April 2015
Accepted 02 July 2015
Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:
Oreochromis niloticus
Mannan oligosaccharide
Paraoxonase
Prebiotic
Liver

ABSTRACT

In this study, it was evaluated paraoxonase activity (PON) and malondialdehyde (MDA) level in liver tissue of *Oreochromis niloticus* fed with mannan oligosaccharide (MOS) supplemented diet. For this purpose, fish were fed commercial diet supplemented with 0.25%, 0.35% and 0.45% dietary MOS for 60 days. At the end of experiment, PON activity of liver tissue was increased in MOS groups when compared to control group. It was determined that MDA level of tissue was decreased significantly in MOS groups when compared to control group.

* Corresponding Author:

E-mail: ferbal1111@hotmail.com

Giriş

Gelişmiş ve endüstrileşmiş ülkelerin temel gıda ihtiyacının büyük bir kısmı balıklardan karşılanmakta ve balık en çok tüketilen gıdalar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Artan nüfus ve gıda ihtiyacından dolayı balık üretimi de dünyanın her yerinde hızla artmaktadır (Baylan ve ark., 2015). Balık yetiştiriciliği sektöründe, balık sağlığı en önemli konu olup, halk sağlığını doğrudan ilgilendirmektedir. Bu alanda kullanılan antibiyotiklerin balık dokularında birikimi ve dolayısıyla insan sağlığı üzerinde antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişimi gibi yan etkileri bulunmaktadır (Yıbar ve Soyutemiz, 2013). Günümüzde prebiyotik ve probiyotik kullanıma olan ilginin artmasından dolayı araştırmacılar maya gibi organik maddeler kullanarak, balık sağlığını iyileştirecek alternatif yöntemler bulma arayışı ile çok sayıda çalışmalar yapmaktadırlar.

Mannan şekerleri, maya hücre duvarının karbonhidrat bileşiklerinden biridir. Bu şekerlerin hayvan metabolizmasında; bağışıklık sistemini düzenlemek, patojenik mikroorganizmaları engellemek (Newman, 1994) ve aflatoksinlerin etkilerini azaltmak (Devegowda ve ark., 1994) gibi fizyolojik olumlu etkileri belirlenmiştir. Mannan şekerlerinin yetiştiricilik için kullanılabilir özellikleri bakımından daha zengin bir formu da mannan-oligosakkaritlerdir. Ekmek mayası olarak da bilinen *Saccharomyces cerevisiae*'nin hücre duvarından elde edilen mannan-oligosakkarit (MOS), bir prebiyotik olup, doğal bir katkı maddesidir (Genç ve ark. 2011). Son yıllarda yapılan araştırmalarla, balık yetiştiriciliğinde MOS'un çok yönlü bir alternatif hammadde kaynağı olduğunu ortaya koymuştur (Staykov ve ark., 2007; Torrecillas ve ark., 2014).

Paraoksonaz (PON, arylalkyl phosphatase, E.C. 3.1.8.1), kalsiyuma bağlı bir enzimdir ve karaciğer tarafından sentez edilen, aromatik karboksilik asit esterlerini hidroliz eden esterazdır (Li ve ark., 1993). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile PON'un antioksidan özelliği olduğu, lipid peroksidleri nötralize ederek hücre zarlarında koruyucu bir etki gösterdiği bilinmektedir (Mackness ve ark., 1996; Aviram and Rosenblot, 2004; Konaş-Aşkar ve Büyükleblebici, 2012). Paraoksonaz lipid peroksidlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkili olup, peroksidad benzeri aktiviteye de sahip olduğu düşünülmektedir (Mackness ve ark. 1998). Bununla birlikte lipopolisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlamaktadır (Aviram ve ark., 1998). Paraoksonaz enziminin karaciğer, böbrek, ince barsak ve beyin başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunduğu, enzimin aktivitesinin genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiği belirtilmiştir (Kurban ve ark., 2010). Paraoksonaz enziminin önceleri sadece memelilerde bulunduğu düşünülürken, daha sonra yapılan çalışmalarda balıklarda ve kuşlarda da olduğu tespit edilmiştir (Keizer ve ark., 1991; Bastos ve ark., 1998).

Organizmalarda, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve diğer prooksidanları, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimlerle sürekli etkisizleştiren bir sistem bulunmaktadır. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (Keleştemur ve Özdemir,

2011). Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFAs) oksidatif parçalanma sürecidir (Repetto ve ark., 2012). Malondialdehit (MDA) başlıca ve en çok çalışılan bir peroksidasyon ürünüdür. Toksik bir molekül olan MDA, hücrede DNA ve proteinler gibi makro moleküllere zarar vererek hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine, membran bütünlüğünün yok olmasına ve permabilitenin artmasına neden olabilmektedir (Del Rio ve ark. 2005).

Bu çalışma kapsamında MOS'un yeni bir balık yemi hammadde olarak beslemede kullanılmasının balık sağlığı açısından öneminin anlaşılması amaçlanmıştır. Mannan-oligosakkaritin %0,25; %0,35 ve %0,45 oranlarını içeren yemler ile 60 gün beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu PON enzim aktivitesi ile MDA düzeyi incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Balık Temini ve Deney Kurgusu

Deney materyali olan balıklar ve deneysel sistem, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su Balıkları Yetiştiricilik Biriminde gerçekleştirilmiştir. Balıkların beslenmesi dikdörtgen beton havuz içinde bulunan 100x100x125 cm (En-Boy-Derinlik) ebatlarında olan 12 adet deney kafeslerinde yapılmıştır. Su derinliği 1 m olarak tutulmuş olup, balıkların bulunduğu havuza sürekli su girdisi sağlanmıştır. Deneyde kullanılan *O. niloticus* bireyleri 12,20±0,02 g ağırlığında olup, iki hafta boyunca 1000 L beton havuzda adaptasyon için hazırlanmıştır. Bu dönemde balıklar, her gün vücut ağırlığının %3 oranında ticari yem (2 mm Bio Aqua, Çamlı Yem, İzmir, Türkiye) ile beslenmiştir. Deney aşamasında balıklar rastgele 10 balık/kafes olacak şekilde kafeslere dağıtılmıştır. Deney süresince balıklar, %0,25; %0,35 ve %0,45 oranlarında MOS (Bio-MOS®, Alltech, Inc. ABD) ilave edilmiş olan yem ile beslenmişlerdir. Ticari yem, Bio-MOS ile karıştırılmış ve peletler şeklinde yeniden oluşturulmuştur. Kontrol yemi de, MOS ilave edilmeksizin, benzer şekilde işlem görmüştür. Kafeslerde bulunan balıkların beslenmesi 60 gün boyunca sabah ve akşam olmak üzere günde 2 öğün (08:00; 16:00) canlı ağırlıklarının %3'ü olacak şekilde yapılmıştır. Balıklar her 15 gün sonunda ağırlık ortalaması alınarak verilecek yem miktarı tekrar ayarlanmıştır. Balıkların bulunduğu tankların günlük sıcaklık ve oksijen değerleri ölçülmüş ve sıcaklık değeri 27,50±0,80°C ve oksijen 7,10±0,07 mg/l olarak belirlenmiştir.

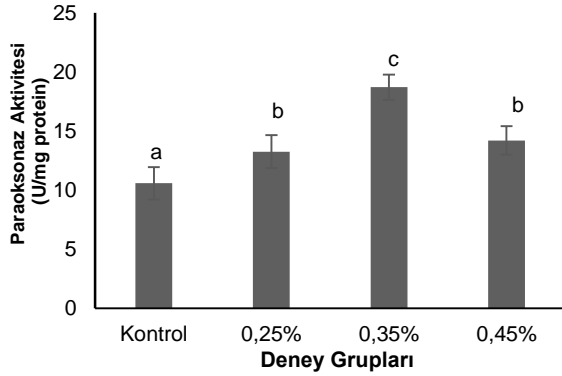
Biyokimyasal Analizler

Deney periyodu sonunda gruplardan alınan 6 adet balık disekte edilerek karaciğer dokusu alınmıştır. Cam tüpe aktarılan doku üzerine 1/10 (w/v) olacak şekilde serum fizyolojik çözeltisi eklenilecek ve buz doldurulmuş plastik kap içerisine yerleştirilen cam tüpteki doku 13,500 devir/dakika hızda 3 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar +4°C ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve biyokimyasal parametrelere bakılana kadar bu süpernatantlar -20°C'de saklanmıştır.

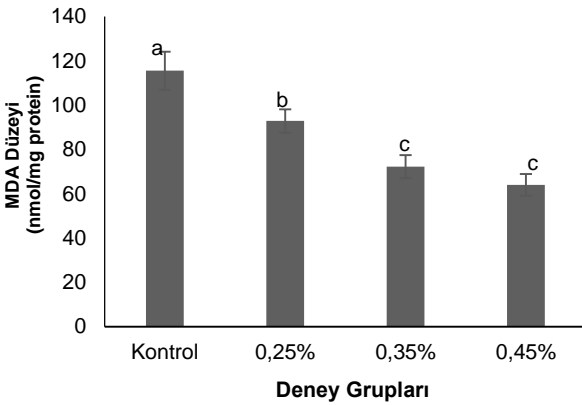
Tablo 1 Bazal Yemin Bileşimi (Kuru madde üzerinden)

Besin içeriği (%)	İçerik (%)
Ham Protein	45,39
Ham yağ	12,46
Kuru madde	87,08
Kül	8,28
Nem	12,92

Kg yem başına vitamin / mineral takviyesi: folik asit 5 mg, pantotenik asit 62 mg, erişim kodu 560 mg, 15,000 IU, B1 vitamini, 13 mg vitamin B12 0,50 mg, B2 vitamini, 25 mg vitamin B6, 12 mg C vitamini, 600 mg, D3 vitamini 2500 IU E vitamini, 62 mg vitamin K3 vitamini 6,50 mg, 125 mg, inositol, 10 mg, 5 mg, Cu, Co 0,26 g, Fe, 63 mg, 1,65 I, Mg, Mn, 25 mg, selenyum, 0,13 mg niasin, Zn, 75 mg



Şekil 1 Farklı oranlarda Bio-Mos® içeren yemlerle beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu paraoksonaz aktivitesi. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0,05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.



Şekil 2 Farklı oranlarda Bio-Mos® içeren yemlerle beslenen *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0,05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Karaciğer dokusu PON aktivitesi ölçümü, Bastos ve ark. (1998) belirttiği yöntemle yapılmıştır. Paraoksonaz aktivitesini ölçmek için Tris-HCl kullanılarak, PON 'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan para-nitrofenol'ün oluşumu spektrofotometrede 400 nm'de ölçülerek belirlenmiştir. Enzim aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol para-nitrofenol/ml/dk olarak tanımlanmıştır. Bulunan enzim aktivitesi U/mg protein olarak belirtilmiştir. Doku MDA düzeyi Yagi (1998) tarafından bildirilmiş olan yöntemle yapılmıştır. Lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiobarbitirik asit ile reaksiyonu sonucu

oluşan pembe kırmızı rengin absorbanansı spektrofotometrede 532 nm'de ölçülerek değerlendirilmiştir. Bulunan veriler nmol/mg protein olarak belirtilmiştir. Doku protein düzeyleri Lowry ve ark. (1951)'ın belirlemiş olduğu yöntemle analiz edilmiştir. Bu yöntemle göre alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmakta, bu kompleks fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini redüklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein derişimi ile doğru orantılı olup, oluşan renk, 750 nm'de absorbanans değerleri belirlenmiştir.

Deneme sonunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 Windows paket programı kullanılmıştır. One way-Anova (Tek Yönlü Varyans Analizi) uygulanmış ve ortalamalar arasındaki fark Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile $P < 0,05$ önem düzeyinde değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada *O. niloticus* karaciğer dokusu PON enzim aktiviteleri Şekil 1'de sunulmuştur. Mannan-oligosakkarit içeren yem ile beslenen deney gruplarındaki balıkların karaciğer dokusu PON enzim aktivitesi kontrole göre önemli oranda artmıştır ($P < 0,05$). Prebiyotik ve probiyotiklerin, antioksidatif savunma üzerine özel fonksiyonlara sahip olduğu, ancak bu konuda bilgilerin yeterli olmadığı bildirilmektedir (Kullisaar ve ark., 2012). Bilindiği gibi, bağırsak flora üyeleri, vitamin sentezi, besin ve mineral emiliminin iyileştirilmesi, antibesinsel faktörlerin giderilmesi, bağırsak fizyolojisini düzenlemektedir (Kullisaar ve ark., 2012). Prebiyotikler, sağlığı destekleyen bu bakterilerin metabolizmasını aktive ederek, yararlı etki yapan, sindirilemeyen yem katkı maddeleri olarak tanımlanır (Manning ve Gibson, 2004). Probiyotiklerin gelişimi, ortamda oligosakkarit olarak bilinen kompleks karbonhidratların bulunmasına bağlıdır (Gibson ve Roberfroid, 1995). Sohail ve ark. (2011) kuşlar üzerine MOS ile yaptıkları bir çalışmada, çevre şartları ile azalan antioksidan kapasitenin MOS ilavesi ile düzeltilebileceğini ve bağırsaklardan iz elementlerin emilimini arttırdığını bulmuşlardır. Mannan-oligosakkarit ile yapılan çalışmalarda balıkların bağırsak morfolojisi özellikle villüslerin sayı ve hacimce iyileştirilmesini sağladığı gösterilmiştir (Dimitroglou ve ark., 2009; Torrecillas ve ark., 2015). Mannan-oligosakkaritin PON enzim aktivitesinde artmaya neden olması, yararlı bağırsak mikrobiyal ekolojisini düzeltmesi ve dolayısıyla yararlı bakterilerin gelişimi teşvik etmesi yoluyla besin emiliminin daha iyi olması şeklinde düşünülmektedir (Sohail ve ark., 2011, Akrami ve ark., 2012).

Oreochromis niloticus karaciğer dokusu MDA düzeyi Şekil 2'de sunulmuştur. Lipit peroksidasyon göstergesi olarak ölçülen balık karaciğer dokusu MDA düzeyi, MOS ilaveli yemlerle beslenen deney gruplarında kontrol grubuna oranla önemli düzeyde azalmıştır ($P < 0,05$). Antioksidatif stres sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikallerine bağlı olarak oluşan lipid peroksidasyonunun en iyi göstergesi MDA'dır. Mannan-oligosakkarit ilaveli yem ile beslenen hayvanlarda antioksidan enzim aktivitelerinde artış olduğu bazı çalışmalarda belirtilmiştir. Zang ve ark. (2012) *Litopenaeus vannamei* (pasifik beyaz karides)'de MOS ilavesinin antioksidan ve immün sistemde artırıcı etki yaptığını bildirmişlerdir.

Özlüer-Hunt ve ark (2011) MOS'un *O. niloticus*'da antioksidan enzimleri uyarıcı etki yaptığını bulmuşlardır. Paraoksonaz enziminin antioksidan özelliği olduğu, lipid peroksitleri nötralize ederek hücre zarlarında koruyucu bir etki gösterdiği bilinmektedir (Mackness ve ark. 1998). Paraoksonazın yapısındaki sistein aminoasidine bağlı olarak antioksidan özellik taşıdığı ve düşük-dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyona karşı korumada önemli rol aldığı ve ayrıca lipid peroksitlerini hidroliz edebilme özelliği ile de HDL ve LDL'de hidroperoksit birikimini azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mackness ve ark., 1993; Aviram ve ark., 1998; Draganov ve La Du, 2004). Bu çalışmada MDA düzeyinin azalması, PON enzim aktivitesinin artmasına ve bundan dolayı lipid oksidasyonun azalmasına bağlı olabilir.

Sonuç olarak, su ürünleri yetiştiriciliği alanında doğal bir yem katkı maddesi olan MOS'un etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda büyüme ve sağlık parametreleri üzerinde olumlu yanıtlar bulunmuştur. Bu çalışmada, MOS ilaveli yemlerle beslenen *O. niloticus* karaciğer dokusunda PON aktivitesi artmış ve MDA düzeyi azalmıştır. Mannan-oligosakkaritin besin emilimi ve sindirimi ile karaciğer metabolizması üzerindeki etkisinin anlaşılmasına yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

Akrami R, Chitsaz H, Hezarjaribi A, Ziaei R. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance and immune response of gibel carp Juveniles (*Carassius auratus gibelio*). J Vet Adv, 2: 507-513.

Aviram M, Rosenblat M. 2004. Paraoxonases 1, 2, and 3, Oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. Free Radical Bio Med., 37(9):1304-1316.

Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Erogul J, Hsu C, Dunlop C, 1998. Paraoxonase Active Site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 18: 1617-1624.

Bastos VLFC, Folly E, Rossini A, Ceccarelli PS, Senhorini JA, Bastos JC. 1998. Paraoxonase activity in liver of pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Characidae), Revista Brasileira de Zoologia, 15(5): 677-685.

Baylan M, Mazı G, Gündoğdu S. 2015. Balık beslemede biyoteknolojik uygulamalar. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(3):112-116.

Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 15: 316-328.

Devegowda G, Aravind BIR, Rajendra K, Mortan MG, Baburathna A, Sudarshan C. 1994. A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by the use of *Saccharomyces cerevisiae* cultures added to feed, In: Biotechnology in the Feed Industry. (Ed. by Lyons, TP, and Jacques, KA), Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 235-245.

Dimitroglou A, Merrifield DL, Moate R, Davies SJ, Spring P, Sweetman J, Bradley G. 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Anim Sci, 87: 3226-3234.

Draganov DI, La Du BN. 2004. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. Naunyn Schmiedebergs, Arch Pharmacol, 369: 78-88.

Genç E, Genç MA, Aktaş M, Bircan-Yıldırım Y, İkizdoğan AT. 2011. Su ürünleri yetiştiriciliğinde mannan-oligosakkarit (MOS) kullanımı üzerine Türkiye'de farkındalık yaratma. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 7(1):18-24.

Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr, 125: 1401-1412.

Keizer J, D'Agostina G, Vittozi L. 1991. The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*). Aquatic Toxicology, 21(3-4):239-254

Keleştemur, G.T., Özdemir, Y. 2011. Balıklarda Antioksidan Savunma ve Oksidatif Stres Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 4(1):69-73.

Kontaş-Aşkar T, Büyükleblebici O. 2012. Paraoxonase: A new biochemical marker of oxidant-antioxidant status in atherosclerosis. In: Oxidative Stress-Molecular Mechanisms and Biological Effects. (Ed. by Lushchak, V.). InTech, ISBN: 978-953-51-0554-1

Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M. 2012. Probiotics and oxidative stress. In: Oxidative stress-Environmental induction and dietary antioxidants (Ed. by Lushchak, V.) 203-222.

Kurban S, Akpınar Z, Mehmetoğlu İ. 2010. Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması. Genel Tıp Dergisi, 20(1): 13-17.

Li WF, Costa LG, Furlong CE. 1993. Serum paraoxonase status: a major factor in determining resistance to organophosphates. J Toxicol Environ Health, 40: 337-346

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem, 193: 265-275

Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, Durrington PN. 1993. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. Atherosclerosis, 104: 129-135.

Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. 1996. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. Curr Opin Lipidol., 7: 69-76.

Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkei W, Durrington PN. 1998. The effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. FEBS Letters, 423: 57-60

Manning TS, Gibson GR. 2004. Prebiotics. J. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 18: 287-298

Newman K. 1994. Mannan-oligosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. In: Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium, (Ed. by T. P. Lyons and K. A. Jacques), Nottingham University Press, Nottingham, UK, 167-175.

Özlüer-Hunt A, Berköz M, Özkan F, Yalin S, Erçen Z, Erdoğan E, Gündüz SG. 2011. Effect of mannan oligosaccharide on growth, body composition, and antioxidant enzyme activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Isr. J. Aquacult.-Bamidgheh, 63(2): 613-620.

Repetto M, Semprine J, Boveris A. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. In: Lipid peroxidation, (Ed. by Catala, A.). New Delhi, InTech, pp 1-28.

- Sohail MU, Rahman ZU, Ijaz A, Yousaf MS, Ashraf K, Yaqub T, Zaneb H, Anwar A, Rehman H. 2011. Single or combined effects of mannan-oligosaccharides and probiotic supplements on the total oxidants, total antioxidants, enzymatic antioxidants, liver enzymes, and serum trace minerals in cyclic heat-stressed broilers. *Poultry Science*, 90: 2573–2577
- Staykov Y, Spring P, Denev S, Sweetman J. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult Int.*, 15: 153-61.
- Torrecillas S, Montera D, Izquierdo M. 2014. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: Potential mode of action. *Fish Shellfish Immunol*, 36: 525-544.
- Torrecillas S, Montero D, Caballero MJ, Robaina L, Zamorano MJ, Sweetman J, Izquierdo M. 2015. Effects of dietary concentrated mannan oligosaccharides supplementation on growth, gut mucosal immune system and liver lipid metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.*, 42: 508-516
- Yagi K.1998. Simple procedure for specific enzyme of lipid hydroperoxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol*, 108: 107-110.
- Yıbar A, Soyutemiz E. 2013 Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı ve Muhtemel Kalıntı Riski. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8(1): 97-104.
- Zhang J, Liu Y, Lixia Tian L, Yang H, Guiying Liang G, Xu D. 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, 33: 1027-1032.