



Vol 1 No. 2 (2025) Veterinary and Zootechnical Sciences

VETERINARY & ZOOTECHNICAL SCIENCES

Cilt / Volume 1

Sayi / Number 2

Yil / Year : 2025



VETERINARY AND ZOOTECHNICAL SCIENCES

Cilt / Volume: 1, Sayı / Number: 2, Yıl / Year: 2025

From The Editor;

Dear Readers and Authors,

We are pleased and honored to present the second issue of Veterinary and Zootechnical Sciences (VZS) in 2025. VZS is an open-access academic journal that adheres to scientific publishing ethics and undergoes double-blind peer-review. We would like to thank the academics who contributed articles to this issue of Veterinary and Zootechnical Sciences (VZS), the esteemed scientists on the editorial boards, and the reviewers who participated in the evaluation process with their opinions, ideas, contributions, and criticisms.

Editor in Chief

Assoc. Prof. Dr. Arda Onur ÖZKÖK

Editörden;

Sevgili Okuyucular ve Yazarlar,

Veterinary and Zootechnical Sciences (VZS)" olarak, 2025 yılının ikinci sayısını sunmaktan mutluluk ve onur duyuyoruz. VZS, bilimsel yayın etiğini ilke edinen, çift kör hakemli, açık erişimli akademik dergidir. Veterinary and Zootechnical Sciences (VZS)'ın bu sayısında makaleleriyle katkıda bulunan akademisyenlere, editör kurullarında yer alan değerli bilim insanlarına ve bu süre boyunca görüş/fikir/katkı/eleştirileriyle makalelerin değerlendirme sürecinde yer alan hakemlere teşekkür ederiz.

Baş Editör

Doç. Dr. Arda Onur ÖZKÖK

Cilt /Volume: 1, Sayı / Number: 2, Yıl / Year: 2025

Doç. Dr. Arda Onur ÖZKÖK

Baş Editör
Editor-in Chief

Doç. Dr. Arda Onur ÖZKÖK
Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Veterinerlik Bölümü Laborant ve Veterinerlik Sağlık Programı

Baş Editör
Yardımcıları

Doç. Dr. Gözde KILINÇ
Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü Gıda Kalite Kontrolü ve Analizi Programı

Araş. Gör. Dr. Burcu Esin
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

Editor-in-Chief

Assoc. Prof. Dr. Arda Onur ÖZKÖK
Amasya University, Suluova Vocational School, Department of Veterinary Medicine, Laboratory Technician and Veterinary Health Program

Co-Editor in Chief

Assoc. Prof. Dr. Gözde KILINÇ
Amasya University, Suluova Vocational School, Department of Food Processing, Food Quality Control and Analysis Program

Res. Asst. Dr. Burcu ESİN
Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Reproduction and Artificial Insemination Department

Danışma Kurulu

Prof. Dr. Anton GERILOVYCH
One Health Bilimsel ve Araştırma Enstitüsü Genel Müdürü, Özel Bilimsel Kuruluş (Kharkiv, Ukrayna)
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı
Prof. Dr. Mustafa ARICAN
Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Veterinerlik Cerrahisi Anabilim Dalı
Prof. Dr. Mehmet Rıfat VURAL
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Veterinerlik Doğum ve Jinekolojisi Anabilim Dalı
Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR
Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

Advisory Board

Prof. Dr. Anton GERILOVYCH
Director general in One Health Scientific and Research Institute, Private Scientific Institution (Kharkiv, Ukraine)
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ
Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Preclinical Sciences, Department of Veterinary Microbiology
Prof. Dr. Mustafa ARICAN
Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Department of Veterinary Surgery
Prof. Dr. Mehmet Rıfat VURAL
Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Department of Veterinary Obstetrics and Gynecology
Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR
Atatürk University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination

Editör Kurulu

Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Seyda CENGİZ

Milas Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Semiha YALÇIN

Milas Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Temel Bilimler Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Emrah SUR

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Nariste KADYRALİEVA

Kırgızistan Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Sadullah BAHAR

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı

Doç. Dr. Beste DEMİRCİ

Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı

Doç. Dr. Tunahan SANCAK

Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Veterinerlik Cerrahisi ABD

Prof. Dr. Mehmet CENGİZ

Milas Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Doğum Ve Jinekoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mustafa Selçuk ALATAŞ

Konya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

Doç. Dr. Erinc GÜMÜŞ

Aksaray Üniversitesi, Eski Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, Hayvan Besleme Bölümü

Prof. Dr. Didem PEKMEZCİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Arş. Gör. Dr. Çağatay ESİN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Doç. Dr. Feray ALTAN

Dokuz Eylül Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü, Veterinerlik Farmakoloji Ve Toksikolojisi Anabilim Dalı

Doç. Dr. Metodi PETRICHEV

Sofya Ormancılık Üniversitesi, Bitki Patolojisi ve Kimya Bölümü, Bulgaristan

(Veteriner Biyokimya, Farmakoloji ve Toksikoloji Uzmanı)

Prof. Dr. Ali Tümay GÜRLER

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Özgecan KORKMAZ AĞAOĞLU

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Genetik Anabilim Dalı

Doç. Dr. Eda Baldan TOKER

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler, Veterinerlik Viroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Nuray Gamze BOZDAĞ

İzmir Dokuz Eylül Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi Bölümü, Veterinerlik Gıda Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Doç. Dr. Veysel PARLAK

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimleri, İç sular Biyolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Harun ARSLAN

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimleri, Balıkçılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı

Prof. Dr. Serdar ALTUN

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimleri, Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı

Dr. Ainhoa SARMIENTO GARCÍA

Hayvansal Üretim Bölümünde Yardımcı Öğretim Görevlisi. Salamanca Üniversitesi, Salamanca, İspanya

Doç. Dr. Fayyaz RASOOL

Balıkçılık ve Su Ürünleri Yetiştiriciliği, Zooloji Bölüm Başkanı, Lahor Faisalabad Kampüsü Eğitim Üniversitesi

Dr. Shakeela PARVEEN

Faisalabad-Pakistan Tarım Üniversitesi, Zooloji, Yaban Hayatı ve Balıkçılık Bölümü

İstatistik

Prof. Dr. Ömer Cevdet BİLGİN

Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi İstatistik Bölümü

Dil Editörü

Dr. Öğr. Üyesi Momin MOMİN

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi

Editorial Board

Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pre-Clinical Sciences, Veterinary Microbiology Division

Prof. Dr. Seyda CENGİZ

Milas Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pre-Clinical Sciences, Veterinary Microbiology Division

Assist. Prof. Dr. Semiha YALÇIN

Milas Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pre-Clinical Sciences, Veterinary Microbiology Division

Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Basic Veterinary Sciences, Biochemistry Division

Prof. Dr. Emrah SUR

Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology

Assist. Prof. Dr. Nariste KADYRALİEVA

Kyrgyzstan Manas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology

Prof. Dr. Sadullah BAHAR

Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy

Assoc. Prof. Dr. Beste DEMİRCİ

Kastamonu University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy

Assoc. Prof. Dr. Tunahan SANCAK

Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Veterinary Surgery

Prof. Dr. Mehmet CENGİZ

Milas Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Obstetrics and Gynecology

Prof. Dr. Mustafa Selçuk ALATAŞ

Konya Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases

Assoc. Prof. Dr. Erinc GÜMÜŞ

Aksaray University, Eski Vocational School, Veterinary Medicine, Laboratory Technician and Veterinary Health Program, Animal Nutrition Department

Prof. Dr. Didem PEKMEZCİ

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Department of Veterinary Internal Medicine

Res. Asst. Dr. Çağatay ESİN

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, Internal Medicine Division

Assoc. Prof. Dr. Feray ALTAN

Dokuz Eylül University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pre-Clinical Sciences, Veterinary Pharmacology and Toxicology Division

Assoc. Prof. Dr. Metodi PETRICHEV

Sofia Forestry University, Department of Plant Pathology and Chemistry, Bulgaria

(Veterinary Biochemistry, Pharmacology and Toxicology Specialist)

Prof. Dr. Ali Tümay GÜRLER

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pre-Clinical Sciences, Veterinary Parasitology Division

Prof. Dr. Özgecan KORKMAZ AĞAOĞLU

Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science and Nutrition, Genetics Division

Assoc. Prof. Dr. Eda Baldan TOKER

Bursa Uludağ University, Faculty of Veterinary Medicine, Pre-Clinical Sciences, Department of Veterinary Virology

Assoc. Prof. Dr. Nuray Gamze BOZDAĞ

Izmir Dokuz Eylül Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Department of Veterinary Food Hygiene and Technology

Assoc. Prof. Dr. Veysel PARLAK

Atatürk University, Faculty of Fisheries, Basic Fisheries Sciences, Department of Inland Waters Biology

Prof. Dr. Harun ARSLAN

Atatürk University, Faculty of Fisheries, Basic Fisheries Sciences, Department of Fisheries Basic Sciences

Prof. Dr. Serdar ALTUN

Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Pre-Clinical Sciences, Department of Veterinary Pathology

Dr. Ainhoa SARMIENTO GARCÍA

Assistant Lecturer in Animal Production Department. University of Salamanca, Salamanca, Spain

Assoc. Prof. Dr. Fayyaz RASOOL

Head of the Department of Fisheries and Aquaculture, Zoology, Lahore Faisalabad Campus, Teaching University

Dr. Shakeela PARVEEN

Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, Faisalabad-Pakistan Agricultural University

Statistics

Prof. Dr. Ömer Cevdet BİLGİN

Department of Statistics, Faculty of Science, Atatürk University

Language Editor

Assist. Prof. Dr. Momin MOMİN

Faculty of Fisheries, Atatürk University

Hacı Bayram Mahallesi Atatürk Bulvarı No: 494 5100, Amasya / Türkiye
Hacı Bayram Neighborhood Atatürk Boulevard No: 494 5100, Amasya / Türkiye

Tel: 05422245711

İletişim / Communication: vzs.journal@gmail.com, editor@vetzoosci.com

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli/ Longturn and peer-reviewed published

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı ya da dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre Veterinary and Zootechnical Sciences dergisi sahibi yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

İnternet Adreslerimiz / Web Addresses

<https://vetzoosci.com>



İÇİNDEKİLER/CONTENTS

	Makale/Article Türü/Type	Sayfa No/Page No
Research Article Influence of Baker's Yeast and Aspergillus oryzae on Growth and Microbial Composition of Silver Carp (Hypophthalmichthys molitrix). Orba Maan, Shakeela Parveen, Fayyaz Rasool, Arooj Haneef, Aqsa Ameen, Muhammad Haroon, Ifrah Mustafa, Areeha Fatima, Farwa Batool, Naila Mukhtar	Research Article	131-144
Research Article Evaluation of White Button Mushroom (Agaricus Bisporus) Feed on Haemato Biochemical and Gut Health of Rohu (Labeo rohita) Navera Ahmed, Shakeela Parveen, Fayyaz Rasool, Arooj Haneef, Aiza Munawer Ali, Amna Anees, Naila Mukhtar, Farwa Batool, Shumaila Maryam	Research Article	145-156
Research Article Protective Effects of Passiflora edulis Fruit Extract on Caenorhabditis elegans under Low and High Oxidative Stress Conditions Yeşim Özkan, Ayşenur Çelik	Research Article	157-171
Research Article Effect of Grape Seed (Vitis vinifera) Extract on Growth and Blood Parameters of Ctenopharyngodon idella (Grass carp) and Carassius auratus (Goldfish) Aneela Nazir, Shakeela Parveen, Fayyaz Rasool, Arooj Haneef, Daima Nosheen, Sana Ghaffar, Muhammad Afzaal, Naila Mukhtar, Noman Sanwal, Muhammad Haroon	Research Article	171-184
Research Article Investigation of the Probiotic Properties of Some Cattle-Origin Bacterial Isolates (Lactobacillus spp., Enterococcus faecium, and Escherichia coli) Emine Çakırtaş, Timur Gülhan	Research Article	185-200
Derleme Makalesi / Review Article Kedi ve Köpeklerde Çiğ Beslenme ve Kuru Mama (Konvansiyonel) Beslenme Arasında Farklar, Benzerlikler, Yararlar, Zararlar Differences, Similarities, Benefits, and Risks Between Raw Feeding and Dry Food Feeding (Conventional) in Cats and Dogs Adem Yücel, Gültekin Yıldız	Derleme Makalesi / Review Article	201-214
Derleme Makalesi / Review Article Dünyada Küçükbaş Hayvan Islahında Genomik Seleksiyon ve Genom Boyu İlişkilendirme (GWAS) Teknolojisi Genomic Selection and Genome-Wide Association Analysis (GWAS) Technology in Small Ruminant Breeding Globally Arzu Özdemir, Berna Bozca	Derleme Makalesi / Review Article	215-235
Derleme Makalesi / Review Article Veteriner Hekimlikte Biyomedikal Yaklaşımlar ve Kullanım Alanları Biomedical Approaches and Applications in Veterinary Medicine Kürşad Arda Baykaya	Derleme Makalesi / Review Article	236-249
Derleme Makalesi / Review Article Küçükbaş Hayvancılıkta Liflerin Analiz Yöntemleri ve Gelecek Perspektifleri Fiber Analysis Methods and Future Perspectives in Small Ruminant Farming Berna Bozca, Arzu Özdemir	Derleme Makalesi / Review Article	250-262



Influence of Baker's Yeast and *Aspergillus oryzae* on Growth and Microbial Composition of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)

Orba MAAN¹ , Shakeela PARVEEN^{1*} , Fayyaz RASOOL² ,
Arooj HANEEF¹ , Aqsa AMEEN¹ , Muhammad HAROON¹ ,
Ifrah MUSTAFA¹ , Areeha FATIMA¹ ,
Farwa BATOOL¹ , Naila MUKHTAR¹ 

¹ Fish Microbiology and Immunology Lab, Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

² Department of Zoology, University of Education Lahore, Faisalabad Campus, Faisalabad, Pakistan

*Correspondence: drshakeela.fayyaz@uaf.edu.pk

Received: 09.08.2025

Accepted: 19.09.2025

Published: 25.12.2025

How to Cite: Maann et al. (2025). Influence of Baker's Yeast and *Aspergillus oryzae* on Growth and Microbial Composition of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *VZS*, 1(2), 131-144. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-16>

Abstract: This research was conducted to evaluate the growth performance and microbial composition of *Hypophthalmichthys molitrix* (*H. molitrix*) after baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and Koji Mold (*Aspergillus oryzae*) administration. Both of these feeds contain good levels of beta-glucans and are used for their immunostimulatory effects. *A. oryzae* is an important source of organic compounds, such as glutamic acid, glucoamylase, and proteases. The cellular content of yeast contain proteins, glucans, and minerals that can enhance the growth of fish. About 60 fingerlings were taken and divided into 3 experimental groups with randomized placements to ensure unbiased results. The experimental groups were fed at 2% body weight with baker's yeast (T₁), *A. oryzae* (T₂), and control group with 100% commercial feed (T₀) during the 8-week trial period. For growth estimation, the length and weight of fish were measured weekly. After completion of trial fish weight gain (WG), specific growth rate (SGR), survival rate, and feed conversion ratio (FCR) were measured. The statistical results collected from treatments were compared by using a single-factor ANOVA under Tukey test. There was significant increase in T₁ and T₂ growth indicators as T₀<T₁ <T₂ with p<0.05. Also, samples were collected from gills and intestine of fish for microbial evaluation, and analysis were performed on nutrient agar (NA) media. In comparison to T₀, the bacterial count in T₁ and T₂ treatment was less, resultantly. The results highlighted the potential of baker's yeast and *A. oryzae* as feed supplements, providing encouraging opportunities for enhancing fish overall health and efficiency.

Keywords: *Aspergillus oryzae*, bacterial counting, baker's yeast, growth performance, immunomodulation, fish feed

INTRODUCTION

Aquaculture, particularly pond aquaculture, plays a significant role in Pakistan economy by increasing fish production and contributing to economic development. The fishing industry contributed 0.41% of the gross domestic product (GDP) of 2.12% of the total agriculture GDP of Pakistan (Mohsin et al., 2015). With an average annual output rate of 3,57,903 MT, Pakistan's total fisheries production from 1950 to 2017 was

2,43,37,449 MT. In 2017, aquaculture contributed 23,56,257 MT, while catch fisheries contributed 2,19,81,192 MT.

Fish, crustaceans, aquatic plants, and molluscs can all be raised through a practice known as aquaculture. Fresh, brackish, and seawater habitats are all suitable for growing these organisms. The rapid food production practice of aquaculture primarily depends on culturing and harvesting freshwater fish stock (Bostock et al., 2010). The most affordable and highly nutritious protein sources are aquatic animals, adding to the food surplus available for poor people providing vital nutrients like vitamins, proteins, and minerals (Pradeepkiran, 2019). Aquaculture, on the other side, is facing serious challenges, like cost of feed, labor-intensiveness protocols and environmental pollution (Yue and Shen, 2022).

Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), widely used carp specie with great aquaculture potential, is present in reservoirs, lakes, streams, and ponds naturally (Zu et al., 2023). Silver carp, due to their large requirement in aquaculture, plankton control, human consumption and in capture fisheries enhancement, has been widely distributed all over the world (Paker et al., 2013). The temperatures ranges from 6 to 28°C at young age of fish and 22 to 32°C during adult age (Ahmed et al., 2019). Adult Silver carp are filter feeders with unique gill rakers that create a filtering system like a sponges. They consume zooplankton, phytoplankton, debris, and bacteria (Calkins et al., 2012).

In Pakistan, two Chinese carp species, the Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) and the Silver carp, *H. molitrix*, are raised extensively in a semi-intensive culture system together with some Indeginous carps like *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala* with great potential (Iqbal and Asghar, 2012).

The microbiota, formerly known as the microbial biota or microflora, is defined as the diverse population of microorganisms that live on peripheral body surfaces and cavities that are exposed to the atmosphere. The outermost layer of fish body and all other bony skeleton are invaded by many microbes before birth, and these organisms create associations with their hosts (Spor et al., 2011). Fish gills and intestines may have diverse range of microbiota that might play significant role in food digestibility, growth, and immune development. The complex microbial population in the gastrointestinal (GI) tracts of organisms comprises all; bacteria, viruses, yeast, protozoans, and archaeans (Zarkasi et al., 2016).

Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) is a type of yeast commonly utilized in the baking industry. It contains a variety of immunostimulants, including β -glucans, nucleic acids and mannan oligosaccharides that has been shown effective in improving both immune responses and fish growth performance (Abdel-Tawwab et al., 2008). Yeast are single-celled members of fungi kingdom, ranging from 6 to 10 μ m in size. Yeast cells are composed of two primary fractions, the cell wall and intracellular components (Shurson, 2018).

Approximately 10-30% of the biomass of yeast cells is made up of yeast. For example, the usual composition of the cell wall of *S. cerevisiae* is 5% protein and 95% polysaccharides, with 35-40% mannoprotein, 5-10% β -1,6-glucans, 50-55% β -1,3-glucans, and 2-5% is chitin (Hansen et al., 2021). The ruminal bacteria includes peptides, amino acid, organic acid, and B vitamins that provide growth-promoting substrates by yeast cultures. Yeast uses sugar in the processes of fermentation (anaerobic respiration) and aerobic respiration during lab experiment. Anaerobic fermentation produces a number of metabolites, such as peptides, alcohols, esters, which may be beneficial for an animal's nutrition and health in addition to releasing carbon and net ATP gains. Additionally, there are nutrient-rich yeast supplement options available in the form of Baker's and Brewer's yeast (Baker et al., 2022).

There are various species of filamentous fungus in the genus *Aspergillus*. Koji Mold (*Aspergillus oryzae*) is extensively used for medicine and food production. The two most important fungi for biotechnology applications are *A. oryzae* and *Aspergillus niger*, which have a long history of strain improvement (Hu et al., 2011). In addition to fish skin, *Aspergillus* can also be discovered in fish gills and intestines (Saleemi et al., 2020). Fish fed with dietary *A. oryzae* revealed improved immunological response, resistance to various diseases, better feed utilization, and growth performance (Dawood et al., 2020).

Various studies have proved the potential of *A. oryzae* and *S. cerevisiae* but its efficacy especially in *H. molitrix* health is underexplored. This study aimed to investigate the impact of both feed components on the growth and microbial composition of silver carp.

MATERIAL AND METHOD

Research Field and Duration

This experiment was conducted for a period of 2 months from 20/11/2023 to 20/01/2024 in aquarium designated as Control-T₀, Treatment-T₁ and Treatment-T₂ at Department of Zoology, Wildlife, and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad.

Experimental Design

Two aquarium were alienated into two replicates of experimental aquarium designated as Control- T₀, Treatment-T₁ and Treatment-T₂ with 20 fishes in each tank. Local Ethics Committee principles have been followed with ethical approval number 1224 dated 29-01-2024, University of Agriculture, Faisalabad.

Pre-stock Management

The experimental design of the aquarium considered various factors such as aquarium size, aeration, fish type, water chemistry, and overall design. The aquarium size was chosen based on the number and size of fish to be kept, and a suitable filtration system was selected accordingly. The type of fish chosen was compatible with each other and ideal for the aquarium's size. The aquarium was set up by filling it with water, adding a de-chlorinator, and setting up the aeration system.

Fish Stocking and Management

Each Aquarium was stocked with 20 *H. molitrix*, fed with different experimental feed and control with commercial feed. Healthy Silver carp with an average weight of 90-110g were obtained from freshwater earthen ponds of the University of Agriculture, Faisalabad, and acclimatized for 12 days. During the trial, the fish were kept in 120-litre aquaria with three replicates at a density of 10 fish per aquarium. Water was continuously aerated and maintained at $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, pH 7.5 ± 0.5 , and dissolved oxygen levels of 5-7 mg/L. The fish were fed twice a day with commercial feed and experimental feed.

Feed Preparation

T₀; Control group were given 100% commercial feed according to 2.5% of body weight. T₁ treatment group were fed with Baker's yeast and T₂ treatment group with *Aspergillus oryzae* as supplementary feed. Baker's yeast diet was prepared using chopped bread and yeast which is collected from local area of Pakistan. Add few drops of distilled water, slightly mix and spread this material in the trays for one hour. The oven was preheated at 40°C and the material were dried for 24 hours until crumbled. *A. oryzae*

fungal strain was prepared using an alternative way via solid-state fermentation of okra diluted to about 60% and incubated for 7 days at 30°C (Devanathi et al., 2024). The fermented mass obtained after incubation was harvested as a feed supplement once dried and ground.

Sample Collection

For microbiological analysis, 10 samples from each treatment groups' fish were taken from gills and intestine portion using sterilized apparatus. The samples were placed in an eppendorf tube filled with 0.9% saline solution (9mg of NaCl dissolved in 100ml H₂O), homogenized it well and labelled accordingly as C for control and E1 for first experimental treatment and E2 for second.

Microbial Media: Preparation and Counting

Dissolve 18.75g of nutrient agar (NA) (OXOID LTD., Basingstoke, Hampshire, England) in distilled water and adjust the volume to 250 ml. Thoroughly mix the solution and cover the flask using aluminium foil. Place the flask in an autoclave at a partial pressure of 15 lbs and a temperature of 121°C for 15 minutes. After removing the flask from the autoclave, allow it to cool at 40-45°C and pour the solution into petri dishes, allowing it to solidify under sterilized conditions. The petri plates will exhibit a creamy yellow-colored media. An average of three was considered an accurate count in standard lab analysis. So, three petri dishes were prepared for sample under each treatment with agar media spreading uniformly.

For microbial count nutrient agar was used that supported the successful cultivation of various types of bacteria. It contains essential minerals and nutrients that are necessary for the growth of most bacteria, fungi, and yeasts. Agar is incorporated into the medium as a solidifying agent, allowing it to be poured onto petri plates, creating a suitable surface for microbial growth (Ogunshe and Olabode, 2009). The pH of the nutrient agar is approximately 7.4±0.2 at 25°C. Typical formula (g/L) of nutrient agar used:

Lab-lemco powder 1.0; Yeast extract 2.0; Peptone 5.0; Sodium chloride (NaCl) 5.5; Agar 15.0 red 0.025; Agar 15.0.

Bacterial Examination

For the identification/characterization of bacteria, gram staining was performed using staining property of gut microbes. On petri plates, the colony formation on nutrient

agar media were firstly observed with naked eye. After that, single-celled bacterial cell shapes like bacilli, filamentous and coccus etc.; colony assemblage like chains, clusters etc., were observed and noted after staining the slide containing bacterial colony, microscopically.

For confirming the identified isolates at basic genus level, selective biochemical tests viz., catalase, indole and carbohydrate fermentation test were performed.

Determination of Growth Parameters

Throughout the trial period, various growth parameters were measured to assess the development of the fish. These measurements consist of body weight documented in grams and length documented in centimeters. Additionally, key metrics such as the specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), length and weight gain and survival percentage were calculated by using the same method and formula's used to check the growth performances (Abdel-Aziz et al., 2021).

Limnological Parameters of Water

Consistent monitoring of the water parameters was ensured by maintaining regulatory control with regular timings of 9:00-10:00 AM. Water temperature and pH of treatment groups were noted using HANNA-HI8520 meter. A 'DO (Dissolved Oxygen) meter' (HI-9146) was used after adjusting its unit "ppm" to note the dissolved oxygen in fish tanks.

Statistical Analyses

Statistical inference as Single factor ANOVA under Tukey test were used for final results.

RESULT

Growth Performance

The findings showed that, after eight weeks of T₀ (control group), silver carp average weight at the beginning of the trial was 3.16 g, and it increased to 4.99 g at the end. In contrast, T₁ had an average weight of 3.56 g at the beginning of the trial, which increased to 6.48 g at the end of trial. While T₂ had an average weight 7.23 at the end of the trial. As a result, treatment T₁ and T₂ showed higher growth performance than treatment T₀. The control group gave maximum 8.1 and 5.9 cm length in final record showing the experimental feeds significant result (Table 1).

Table 1. Growth performance of fishes under different treatments

Parameters	T0	T1	T2	p-value	Significant/ Non significant
Average weight	1.95±0.348 ^b	2.77±0.843 ^{ab}	2.92±0.859 ^a	0.02	Significant
Gain in weight	0.12±0.143	0.36±0.329	0.31±0.364	0.02	Significant
Average length	4.54±0.958 ^b	6.0±1.612 ^{ab}	6.47±1.868 ^b	0.004	Significant
Gain in length	0.37±0.138	0.671±0.16	0.75±0.113	0.004	Significant
SGR	1.81±2.039 ^a	5.12±4.704 ^b	4.5±5.18 ^{ab}	0.03	Significant
FCR	2.44±0.172 ^a	2.157±0.098 ^a	2.15±0.098 ^a	0.07	Non-Significant
Survival rate	13.33±9.87	13.33±11.54	13.33±11.55	90%	

The letters (a), (b) and (ab) showed that means that do not share a letter are significantly different. SGR= Specific Growth Rate; FCR= Feed Conversion Ratio

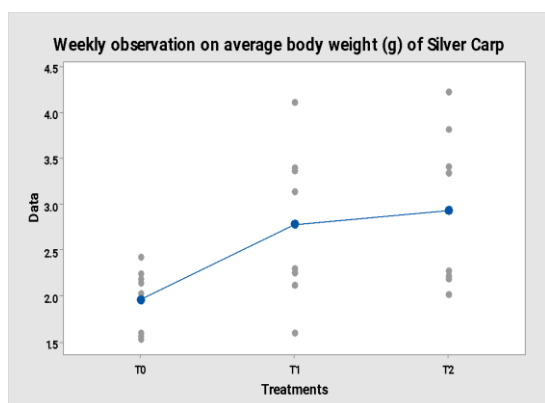


Figure 1. Average body weight (g)

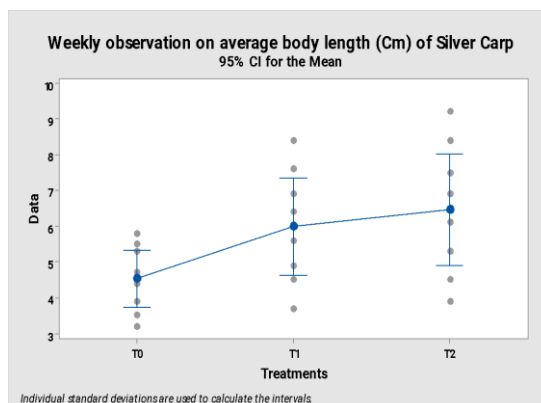


Figure 2. Average body length (cm)

The experimental results showed that there is significant change in silver carp growth rate p -value (<0.05). Silver carp showed positive result as long as fed with the baker's yeast and *A. oryzae* as compared to control group, which was fed with commercial feed. Figure 1 and Figure 2 showed the mean differences in treatment groups average body weight and average body length, respectively.

Total Bacterial Count

Nutrient agar (NA) media was used for culturing the intestine and gills sample of silver carp where maximum and minimum number of colonies were noted and estimated

along with their CFU value. Mean colony forming unit values of each treatment under study on NA showed significant increase in microbial population (Table 2).

Table 2. Mean±SD of colony forming unit of different treatments on nutrient agar (NA)

Treatments	T0	T1	T2	p-value	Significant/ Non-Significant
	Mean±SD	Mean±SD	Mean±SD	0.0001	Significant
CFU of intestine	151.4±39.65	229.7±36.01	88.7±22.36	0.0001	Significant
CFU of gills	138.4±45.74	204.5±25.85	86.2±14.61	0.0001	Significant

SD: Standard Deviation

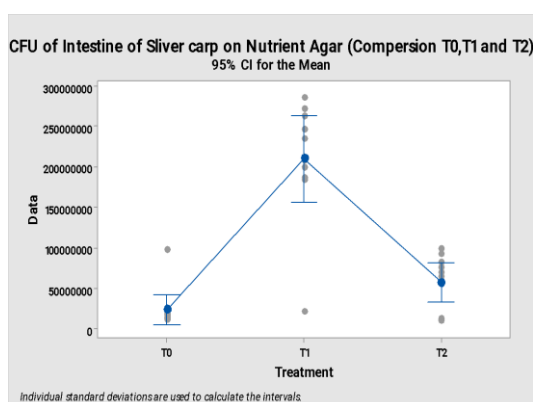


Figure 3. NA CFU comparison of intestine

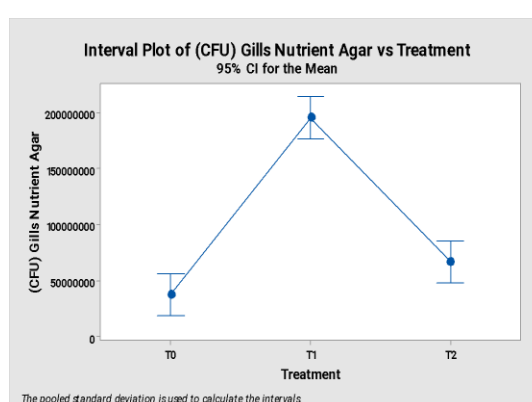


Figure 4. NA CFU comparison of gills

Figure 3 and Figure 4 showed the comparative difference of colony forming unit (CFU) under three treatments for intestine and gill samples, respectively.

Identified Bacterial Strains

After incubation period of petri plates for 24 hours, visual observations were made. The media showed slightly opalescent to yellowish gel with visible elevations (flat and convex) of bacterial cells forming colonies as circular, irregular and rhizoid. The colony morphology depicted the bacterial strains as *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Bacillus* spp., and *Bifidobacterium*. The microscopic investigation further revealed the presence of gram-negative rods and gram-positive cocci.

Biochemical tests confirmed the isolates as *Staphylococcus* and *Bacillus* spp., were gram-positive cocci and catalase negative while *E. coli* were gram-negative rods and indole positive. *Bifidobacterium* presence was confirmed as it fermented the carbohydrate in test.

Limnological Parameters

Water is the vital commodity of life of fish that directly affect its feeding behavior. Thus, to ensure the optimal survival conditions for fish under each treatment group were observed, maintained, and noted regularly. The Mean values for temperature, pH, and dissolved oxygen from 20/10/2023 to 20/01/2024 determined are shown in Table 3. The readings indicated the presence of optimal vital conditions for fish under study.

Table 3. Limnological parameters in each treatment group

Parameters	Concentrations			
	Groups	Minimum	Maximum	Mean±SD
Temperature	T ₀	20	30	25±3.08
	T ₁	20	30	25±3.08
	T ₂	20	30	25±3.08
pH	T ₀	6.6	7.2	6.9±0.41
	T ₁	6.3	7.6	6.95±0.63
	T ₂	6.5	7.9	7.2±0.67
DO	T ₀	6.4	7.8	7.1±0.69
	T ₁	6.4	7.3	6.85±0.35
	T ₂	6.2	7.1	6.65±0.33

DO: Dissolved Oxygen; SD: Standard Deviation

DISCUSSION

This study was conducted at the Microbiology and Immunology Laboratory, Department of Zoology, Wildlife, and Fisheries, University of Agriculture in Faisalabad. Its primary objective was to examine the effect of baker's yeast and *A. oryzae* on the gut microbes and growth parameters of Silver carp.

Saccharomyces cerevisiae is a significant natural bioproduct which contain chitin oligonucleotides and β -glucan which had positive effect on fish growth and development. About 85–90% of the dry weight of the cell is composed of polysaccharides, which make up the cell wall, which might make up 20–25% of the cell (Hassaan et al., 2018). Adineh et al. (2011) reported that Larvae from the species *Hypophthalmichthys molitrix* larvae are vital for freshwater aquaculture. He worked to elucidate the effects of feeding silver carp larvae a combination of probiotic bacilli bacteria (*Bacillus licheniformis* and *Bacillus circulans*) and Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and showed promising results. Baker's yeast used as higher production in industry and also enhance the growth as diet.

An essential live food, *Artemia urmiana nauplii* (*A. urmiana*) became a vehicle for providing probiotic bacillus to the digestive system of silver carp larvae. For bioencapsulation *A. urmiana* had high potential to carry beneficial effect to carry digestive tract for the cultivation of fish larvae. According to the experiment, fish fed experimental treatments had much higher feeding and growth data than fish fed control diets, but there was no noticeable distinction in the survival rate. On silver carp larvae yeast bioencapsulation and *Bacillus* had great effect on the growth rate. *A. urmiana* had major effect and food conversion ratio decrease (Adineh et al., 2011).

In aquaculture probiotic practices is important to increase immunity level, and resistance against disease. Gram positive *Bacillus*, *Bifidobacteria* and many other are the member in aquaculture as probiotics. It was proved by many researcher adding *A. oryzae* in the diet of fish, pig and poultry to improve the health and immune responses. On the other side, *A. oryzae* and b-glucan increased the growth in Nile tilapia (Dawood et al., 2020).

Intestinal enzyme output can be diminished when pathogenic microorganisms disrupt the standard shape of the intestinal mucosa (Li et al., 2012). There was a significant p -value <0.05 decline in number of total bacteria, like *Escherichia coli*, Enterobacteriaceae, in the stomach and intestines of silver carp as their diets were supplemented with *A. oryzae*. This decrease might be linked to a bactericidal process to adjust the aqueous pH or oxidation state for optimal element solubility (Williams et al., 2011).

Fish growth was evaluated on growth parameters like length in (cm) and weight gain (g), SGR, FCR in control group T_0 as well as in baker's yeast treatment T_1 and *A. oryzae* treatment T_2 . The growth performance of silver carp fingerlings fed as experimental diet for 2 months were shown in Table 1. The findings showed that, after eight weeks of T_0 , silver carp average weight at the beginning of the trial was 1.52g, and it increased to 2.41 g at the end. In contrast, T_1 had an average weight of 1.58g at the beginning of the trial, which increased to 4.10 g at the end of trial, and T_2 had average weight 2 g at the start and 4.21 g at the end of trail. As a result, treatment T_1 T_2 showed higher growth performance than treatment T_0 . By calculating the weight of each treatment, the specific growth rate findings were also determined. The data from the control group showed the lowest SGR, while the data from T_1 , T_2 indicated the highest $T_0 < T_1 < T_2$.

The initial average length of silver carp was 3.2 cm, although final average total length was measured as 5.8 cm in control T₀, which was fed with commercial feed. The initial average total length of T₁ was 3.7 cm, while the was recorded as 8.4 cm in treatment, which was treated with 100% baker's yeast and T₂ had 3.9 cm initial length and 9.2 cm was final length with *A. oryzae*, a significant relation exists between treatments and average length. About 90 % survival was noted in T₁ and T₂ as compared to T₀. So, there was a significant increase in fish WG, SGR and survival rate were noted in T₁, T₂, as compared to T₀ (p<0.05).

The findings of the study suggest that baker's yeast supplementation can be an effective nutritional strategy to improve the growth performance and feed consumption efficiency of silver carp in aquaculture settings. The observed changes in feed utilization and gut microbial communities indicate a potential mechanism through which baker's yeast and *A. oryzae* reduce FCR and enhance overall health in fish. In physicochemical parameter survival, reproduction, growth, and other factors are influenced by water temperature (Hussain et al., 2021). Another important limiting factor for growth is pond pH (Uzoka et al., 2012). Physiological activities, growth rate, and metabolic activities reduce due to acidic pH (Uzoka et al., 2015). During the experiment, pH vary from 6.3 to 7.6 in T₁ and 6.5 to 7.9 in T₂ group, and play a significant role in fish production. The physico-chemical parameters such as pH and DO approve with the findings of Okomoda et al. (2016) and Dixit et al. (2015) who measure all these parameters of different types of fish species in pond water. Concerning the finding of Nakkina (2016) and Hura et al. (2018) it may due to different hematological and physico-chemical indices that had selected for the sake of study.

CONCLUSION

Conclusively, this study offered valuable insights into the usage of baker's yeast and *Aspergillus oryzae* in aquaculture feed industry and also highlighted their potential effects on the growth and microbial communities specifically for silver carp. Both these feeds proved their efficacy as dietary supplement in improving the sustainability and profitability of aquaculture practices by enhancing the overall health via microbial modulations and growth performance of fish.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest stated by authors.

REFERENCES

- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., & Ismael, N.E. (2008). Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280(1-4), 185-189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.055>
- Abdel-Aziz, M.F., Abdel-Tawwab, Y.A., Sadek, M.F., & Yones, A.M.M. (2021). Evaluation of use effective microorganisms (EM) with different feeding strategies on growth performance, body chemical composition and economic efficiency of monosex Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. *Aquatic Living Resources*, 34, 21.
- Adineh, H., Jafaryan, H., Faramarzi, M., Jamali, H., & Alizadeh, M. (2011). The effects of mixture commercial live bakers' yeast and probiotic bacillus on growth and feeding performance and survival rate of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae via bioencapsulated *Artemia urmiana nauplii*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 4(3), 430-436.
- Ahmed, I., Sheikh, Z.A., Wani, G.B., & Shah, B.A. (2019). Sex variation in hematological and serum biochemical parameters of cultured Chinese silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Comparative Clinical Pathology*, 28, 1761-1767.
- Baker, L.M., Kraft, J., Karnezos, T.P., & Greenwood, S.L. (2022). The effects of dietary yeast and yeast-derived extracts on rumen microbiota and their function. *Animal Feed Science and Technology*, 294, 115476. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115476>
- Bostock, J., McAndrew, B., Richards, R., Jauncey, K., Telfer, T., Lorenzen, K., & Corner, R. (2010). Aquaculture: global status and trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 2897-2912. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0170>
- Calkins, H.A., Tripp, S.J., & Garvey, J.E. (2012). Linking silver carp habitat selection to flow and phytoplankton in the Mississippi River. *Biological Invasions*, 14, 949-958. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10530-011-0128-2>
- Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., & Shahin, M.G. (2020). Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β -glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12, 172-183. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9513-9>
- Devanthi, P.V.P., Pratama, F., Pramanda, I.T., Bani, M.D., Kadar, A.D., & Kho, K. (2024). Exploring the potential of *Aspergillus oryzae* for sustainable mycoprotein production using okara and soy whey as cost-effective substrates. *Journal of Fungi*, 10(8), 555. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof10080555>
- Dixit, A.K., Pandey, S.K., Mehta, R., Ahmad, N., & Pandey, J. (2015). Study of physico-chemical parameters of different pond water of Bilaspur district, Chhattishgarh, India. *Environmental Skeptics and Critics*, 4, 89-95.
- Hansen, J.Ø., Lagos, L., Lei, P., Reveco-Urzuza, F.E., Morales-Lange, B., Hansen, L.D., Schiavone, M., Mydland, T., Arntzen, M.Ø., Mercado, L., Benicio, R.T., & Øverland, M. (2021). Down-stream processing of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)-Effect on nutrient digestibility and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 530, 735707. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735707>

Hassaan, M.S., Mahmoud, S.A., Jarmolowicz, S., El-Haroun, E.R., Mohammady, E.Y., & Davies, S.J. (2018). Effects of dietary baker's yeast extract on the growth, blood indices and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 24(6), 1709-1717. DOI: <https://doi.org/10.1111/anu.12805>

Hu, H.L., Van den Brink, J., Gruben, B.S., Wosten, H.A.B., Gu, J.D., & De Vries, R.P. (2011). Improved enzyme production by co-cultivation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* and with other fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1), 248-252. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.008>

Hura, M.U.D., Zafar, T., Borana, K., Prasad, J.R., & Iqbal, J. (2018). Effect of commercial probiotic *Bacillus megaterium* on water quality in composite culture of major carps. *International Journal of Current Agricultural Science*, 8(1), 268-273.

Hussain, M., Hassan, U.H., Siddique, M.A., Mahmood, K., Abdel-Aziz, M.F., Laghari, M.Y., Abro, N.A., Gabol, K., & Rizwan, S. (2021). Effect of varying dietary protein levels on growth performance and survival of milkfish *Chanos chanos* fingerlings reared in brackish water pond ecosystem. *The Egyptian Journal of Aquatic Research* 47(3), 329-334. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.05.001>

Iqbal, Z., & Asghar, M. (2012). Saprolegniasis in two commercially important carps. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(2).

Li, P., Piao, X., Ru, Y., Han, X., Xue, L., & Zhang, H. (2012). Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(11), 1617. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12292>

Mohsin, M., Yongtong, M., Hussain, K., Mahmood, A., Zhaoqun, S., Nazir, K., & Wei, W. (2015). Contribution of fish production and trade to the economy of Pakistan. *International Journal of Marine Science*, 5(18), 1-7. DOI: <https://doi.org/10.5376/ijms.2015.05.0018>

Nakkina, M. (2016). Study of growth rate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Research & Development* 7(8), 8-11.

Ogunshe, A.A.O., & Olabode, O.P. (2009). Antimicrobial potentials of indigenous Lactobacillus strains on gram-negative indicator bacterial species from *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) microbial inhibition of fish-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research* 3, 870-876.

Okomoda, V.T., Tihamiyu, L.O., & Lortim, M. (2016). The effect of water renewal on growth of *Clarias gariepinus* fingerlings. *Croatian Journal of Fisheries* 25-29. DOI: <https://doi.org/10.1515/cjf-2016-0005>

Paker, I., Beamer, S., Jaczynski, J., & Matak, K.E. (2013). Compositional characteristics of materials recovered from headed gutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by isoelectric solubilization and precipitation using organic acids. *Journal of Food Science*, 78(3), E445-E451. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12044>

Pradeepkiran, J.A. (2019). Aquaculture role in global food security with nutritional value: A review. *Translational Animal Science*, 3(2), 903-910. DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txz012>

Saleemi, S., Iqbal, Z., & Khalid, A.N. (2020). Morphological and pathological effects of aspergillosis in silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*. *Punjab University Journal of Zoology*, 35(1), 129-133. DOI: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pujz/2020.35.1.129.133>

- Shurson, G.C. (2018). Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 60-76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010>
- Spor, A., Koren, O., & Ley, R. (2011). Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), 279-290. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2540>
- Uzoka, C.N., Nwigwe, H.C., Ihejirika, C.E., Ibe, C.C., & Onwuagba, J.I. (2012). Growth and survival of hatchlings of *Clarias gariepinus* subjected to various pH treatments. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 2(10), 35-39.
- Uzoka, C.N., Anyanwu, J.C., Uche, C.C., Ibe, C.C., & Uzoma, A. (2015). Effect of pH on the growth performance and survival rate of *Clarias gariepinus* Fry. *International Journal of Research in Biosciences*, 4(3), 14-20.
- Williams, W.P., Ozkan, S., Ankala, A., & Windham, G.L. (2011). Ear rot, aflatoxin accumulation, and fungal biomass in maize after inoculation with *Aspergillus flavus*. *Field Crops Research*, 120(1), 196-200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.10.002>
- Yue, K., & Shen, Y. (2022). An overview of disruptive technologies for aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 111-120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.04.009>
- Zarkasi, K.Z., Taylor, R.S., Abell, G.C., Tamplin, M.L., Glencross, B.D., & Bowman, J.P. (2016). Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) gastrointestinal microbial community dynamics in relation to digesta properties and diet. *Microbial Ecology*, 71, 589-603. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0728-y>
- Zu, B., Li, W., Yang, Q., Guo, J., An, J., Li, J., & Mei, X. (2023). Ingestion of microplastics by silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) larvae: Quantification of ingestion and assessment of microbiota dysbiosis. *Aquatic Toxicology*, 257, 106475. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106475>



Evaluation of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Feed on Haemato Biochemical and Gut Health of Rohu (*Labeo rohita*)

Navera AHMED¹✉, Shakeela PARVEEN¹✉, Fayyaz RASOOL²✉,
Arooj HANEEF^{1*}✉, Aiza MUNAWER ALI¹✉, Amna ANEES¹✉,
Naila MUKHTAR¹✉, Farwa BATOOL¹✉, Shumaila MARYAM²✉

¹ Fish Microbiology and Immunology Lab, Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad, Faisalabad, Pakistan

² Department of Zoology, University of Education Lahore, Faisalabad Campus, Faisalabad, Pakistan

*Correspondence: rooj1406@gmail.com

Received: 21.11.2025

Accepted: 01.12.2025

Published: 25.12.2025

How to Cite: Ahmed et al. (2025). Evaluation of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) Feed on Haemato Biochemical and Gut Health of Rohu (*Labeo rohita*). *VZS*, 1 (2), 145-156. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-25>

Abstract: The primary aim of this study was to determine the impact of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) on the gut microbiota, hematobiochemical parameters of Rohu (*Labeo rohita*). White Button Mushroom (WBM) has immunostimulatory and hematological benefits therefore, an experiment was performed using WBM to improve gut health and blood profile of Rohu. Fish were kept for 8 weeks in two groups: a control group (given commercial feed) and an experimental group (given WBM powder diet). Each group contained 20 fingerlings. Hematological parameters were assessed, and the results revealed, the mean RBC count in the treated group (T₁) was $1.30 \times 10^6/\mu\text{l}$, significantly higher than the control group (T₀), which had a mean of $0.27 \times 10^6/\mu\text{l}$; similarly mean Hb count in (T₁) was higher than (T₀). Mean WBCs counts in (T₀) was significantly lower than (T₁) counts. Hematocrit (Hct) and Mean Corpuscular Volume (MCV) were also high in experimental group indicating enhanced immune response in Rohu. Bacterial colonies count of (T₁) cultured on nutrient agar was 234.5×10^6 CFU, significantly higher than (T₀) counts, which were 94.7×10^6 CFU, similarly CFU counts of WBM fed group were higher in tryptic soy agar and Eosin methylene blue. This supports the potential of mushroom-based diets as natural immunostimulants in aquaculture.

Keywords: *Agaricus bisporus*, aquaculture, fish gut microbiota, hematological parameters, immunostimulant, White Button Mushroom

INTRODUCTION

The evaluation of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) feed on gut microbiota and hematobiochemical parameters of *Labeo rohita* (Rohu) presents a novel approach in sustainable aquaculture nutrition. This study investigates how mushroom-based dietary inclusion influences the gut health and blood profile of Rohu under controlled experimental conditions. Aquaculture is the fastest-growing food production sector, now providing over 50% of global fish supply (Beveridge et al., 2015). To sustain this growth, optimizing fish nutrition is essential for ensuring growth, survival, and

health. Therefore, aquaculture research focuses on developing cost-effective, nutrient-rich feeds without synthetic additives (Tocher et al., 2010). Synthetic additives have several negative impacts, such as antibiotic resistance on fish culture therefore, various natural feed additives have been applied such as Mushrooms for their minimum environmental impacts and ability to improve gut health and boost immunity in aquaculture species (Van Doan et al., 2019). Among these Mushrooms, *Agaricus bisporus* known as White Button mushroom (WBM) holds a vital position because of its nutritional composition that includes all essential nutrients, carbohydrates, dietary fiber, fats, vitamins (Riboflavin), and natural bioactive compounds like β -glucans and antioxidants that may enhance immune function and improve gut microbiota (Liu et al., 2013; Hoseinifar et al., 2019). Mushrooms are known for their medicinal properties, offering antibacterial and antifungal benefits (Harikrishnan et al., 2018). Available literatures showed that dietary WBM could be an antibiotic alternative to promote growth (Amiri et al., 2018), improve antioxidant capacity and regulate immune function in several fish specie (Hoseinifar et al., 2019). However, no previous research has been conducted regarding the effect of dietary WBM supplementation on hematology and gut health of Rohu.

Rohu (*Labeo rohita*) is a major fish specie in aquaculture research due to its fast growth and high nutritional value because it contains protein, omega-3 fatty acids, vitamins B12 and D, and minerals like calcium, phosphorus, and iron and has also high consumer preference (Sarma et al., 2020). Enhancing Rohu's health through natural feed in polyculture systems supports sustainable aquaculture (Jena et al., 2007). Fish hematology can be used as a tool to determine the health profile of fish (Fazio et al., 2018). Furthermore, research has shown that the gut microbiota of Rohu can be modulated through the use of probiotics and prebiotics, which can help to improve its growth, immunity, and disease resistance. However, very limited work was carried out on button mushroom (Rajani et al., 2023). For the first time in aquaculture, it was used by Harikrishnan et al. (2018) and conclude that 5% and 10% of its extract can be used to improve *Clarias gariepinus* hematology and enhance its immunity against *Flavobacterium columnare*. Current study focuses to evaluate the effect of White Button Mushroom on hematobiochemical and gut health of Rohu which can in turn increase the output of aquaculture.

MATERIAL AND METHOD

The experiment was conducted at Fish Microbiology Laboratory, located at Fish Farm, Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture Faisalabad. Local Ethics Committee principles have been followed with ethical approval number 2249-12 dated 11/02/2025, University of Agriculture, Faisalabad.

Feed Formulation

White button mushroom powder was made from fresh healthy mushrooms purchased through market. The fresh water mushrooms were washed to get rid of any dirt and impurities. Next, the mushrooms were cut down into thin, uniform slices to ensure they dried evenly. A food dehydrator/oven was utilized for drying mushrooms at temperatures between 50–60°C for 6–8 hours (or for 2–3 days if air-dried them) until they were completely dry and brittle. After they were dried, the mushroom slices were blended in a blender (or spice grinder) to create a fine powder and shifted it to eliminate any larger particles. Finally mushroom powder was stored in an airtight container (Habib et al., 2021). The prepared feed was then added to the experimental aquarium at final concentration of 2% based on their body weight

Fish Sampling and Experimental Design

Rohu, ranging between 1.5g-7g were caught using netting from the freshwater earthen pond at the University of Agriculture Faisalabad. A total of 80 Rohu fingerlings were collected for experimental and control groups. All fish were healthy but to avoid any infection the fishes were treated with 0.2% of KMnO₄ solution and acclimatized for a period of 48 hours according to the method of Habib et al. (2021) and then divided into two groups: Control group fed with commercial feed, and the experimental group fed with 2% WBM powder diet. The mean water quality parameters, including temperature 24±2°C, DO, salinity, and pH, were measured by HANNAI-9146 and HANNA HI-8424, respectively (Dawood et al., 2020).

Blood Sampling and Gut Health Parameters

Following the experimental diet, 0.4 cc of blood samples was taken from the caudal vein of ten healthy, randomly chosen fish using a sterile syringe and a 22-gauge needle. The samples were then kept at 4°C in plastic tubes with EDTA (an anticoagulant) before being sent to the lab for prompt analysis (Torrecillas et al., 2011). Hemoglobin concentration (Hb) and white blood cell (WBC), and red blood cell (RBC) counts were performed in accordance with standard protocol (Houston, 1990). Differential WBC and RBC counts were conducted Giemsa-stained blood smears. While the hemoglobin (Hb)

concentration was measured using a spectrophotometer (Model RA 1000, Technicon Corporation, USA) at 540 nm using the Blaxhall and Daisley (1973) method, the packed cell volume (PCV, %) was calculated using the micro hematocrit method (Dawood et al., 2020).

intestinal samples using sterile tools post-pithing, and storing them in 0.5 ml of 0.9% NaCl saline in Eppendorf tubes at 4°C according to the method of Sarma et al. (2020). Nutrient agar was prepared by dissolving 18.75 g in 250 ml distilled water, autoclaving at 121°C for 20 min, and pouring into sterile Petri dishes for microbial culture by following the method of Atlas *et al.* (2010). After pouring nutrient agar into sterile Petri plates and allowing it to solidify, the intestinal suspensions were inoculated and incubated at 28-30°C for 24-48 hours to obtain visible bacterial colonies. Distinct colonies were carefully examined for their morphological characteristics, such as size, color, margin, and elevation.

Representative colonies were picked and subjected to Gram staining, followed by microscopic observation to determine Gram reaction (positive or negative), bacterial shape (cocci, bacilli, spirilla), and cellular arrangement (single, pairs, chains, or clusters). For further identification, fresh and pure colonies (not the stained samples) were selected from agar plates and inoculated into different biochemical media, including TSI agar, citrate agar, SIM medium, and urease test, to assess their metabolic traits. The combined results of colony morphology, microscopic examination, and biochemical profiling were then compared with standard references to identify the bacterial species.

Statistical analysis

Blood test's data and Gut microbial data was subjected to statistical analysis at the end of trial. T-test was performed to compare the mean of two variables. The statistical analysis was carried out using MS Excel (Software), and the significance level was adjusted at $\alpha = 0.05$.

RESULT

Gut health

Total bacterial count CFU and total microbiological content of intestine sample of rohu (*Labeo rohita*) cultured on three culturing medias viz., nutrient agar, tryptic soy agar, and eosin methylene blue. Gut samples colony-forming unit (CFU) values showed that a range of microbial communities cultivated on three distinct Agar media. The treatment's

Mean±SD values revealed a considerable difference between control and experiment group in terms of bacterial counts. Gut's bacterial count was significantly greater in experimental group (P<0.05) than in control group (Table 1).

Table 1. Total Viable Count of To and T1 on Different Media

Media	T ₀ -CFU	T ₁ -CFU	P-Value	Significance/NS
	Mean±SD	Mean±SD		
Nutrient Agar	94.7±14.80	234.5±37.21	0.0001**	Significant
Tryptic soy Agar	75.4±24.5	171.9±50.33	0.0001**	Significant
Eosine Methylene Blue	107.2±14.80	215.2±37.21	0.0001**	Significant

Bacterial Species Identification

Bacterial species isolated from the gut of Rohu fingerlings revealed a distinct difference between control and WBM-fed groups (Table 2). The experimental group showed a higher prevalence of beneficial bacteria such as *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis*, while pathogenic bacteria, including *Aeromonas hydrophila* and *Staphylococcus aureus*, were markedly reduced compared to the control group. These findings suggest that supplementation of WBM feed promoted probiotic bacterial growth, suppressed potential pathogens, and thus contributed to improved gut health, reflecting the success of the feeding trial.

Table 2. Bacterial Species Isolated From Gut of Rohu in Control (To) and Experimental Group (T₁)

Identified species	Gram reaction	Morphology	Control tank(T ₀) Result	Experimental tank(T ₁) Result	Role in fish health
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+	Rods	Present (moderate growth)	Abundant growth	Probiotic, enhances digestion and immunity
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Gram -	Rods	High growth	Reduced growth	Opportunistic pathogen causing gut infections

<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram +	Cocci in chain	Low presence	Moderate growth	Probiotics, improves gut microbiota balance
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Gram -	Rods	Low growth	Moderate growth	Some strains are beneficial, improve nutrients cycling
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	Cocci in clusters	Moderate growth	Low present	Opportunistic pathogen, harmful in excess

Haemato Biochemical Parameters

Haematological parameters such as RBCs, WBCs, Mean cell Hemoglobin, Hematocrit, Mean cell volume were assessed at the end of trial, and data were analyzed statistically by using T-test on MS Excel. Results show significant differences in each parameter between control and experimental group. The results showed an elevation in RBCs, WBCs, Hb, and MCH level of fish cultivated in the WBM-fed group. The results are represented in graph below. These findings suggest that White Button Mushroom (WBM) supplementation has a positive influence on the haematological profile of *Labeo rohita*. Increased red blood cell counts and hemoglobin levels indicate better oxygen-carrying capacity of blood, which ultimately supports enhanced metabolism and growth performance

Similarly, the rise in white blood cell count reflects a strengthened immune response, highlighting the immunostimulatory effect of mushroom-based feed. Elevated hematocrit and mean cell volume further support the evidence of improved erythropoiesis and better physiological status in experimental fish. Such improvements in blood parameters are consistent with previous studies reporting the bioactive role of mushrooms, especially due to their polysaccharides, antioxidants, and immunomodulatory compounds. The enhancement of haematological indices is also an indirect indication of reduced stress and improved gut microbiota balance in the WBM-fed group, as healthy microbial flora contributes to nutrient absorption and overall health,

Thus, the haemato-biochemical outcomes not only confirm the nutritional benefits of WBM feed but also validate its importance in Aquaculture industry.

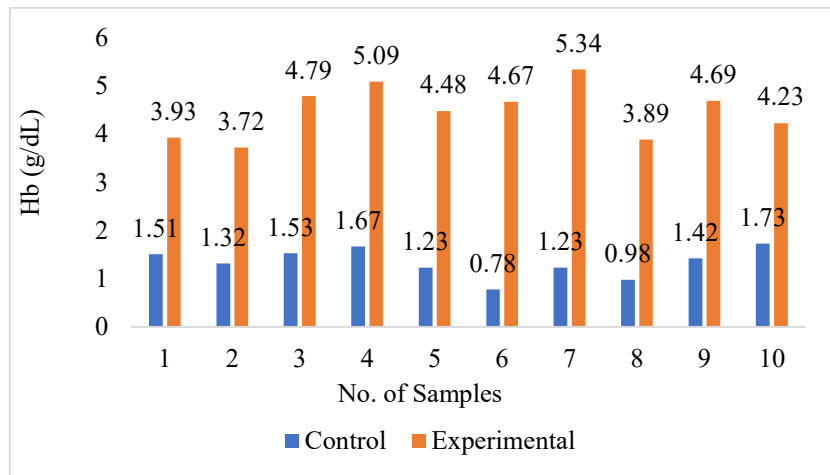


Figure 1. Graphical representation of Hb counts of Rohu in To and T₁

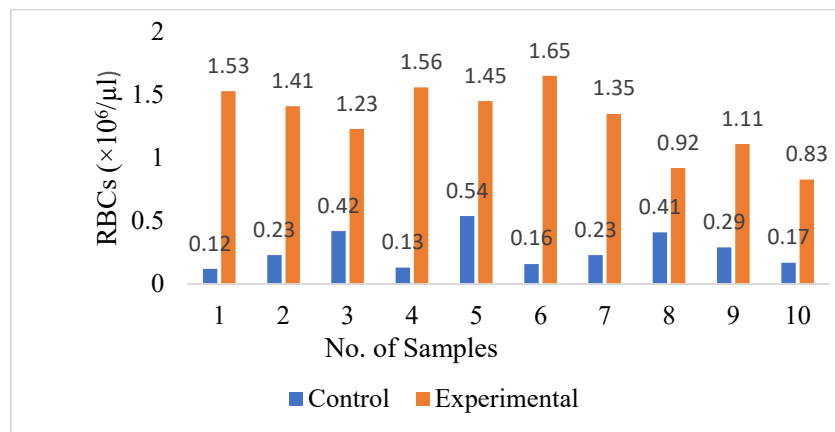


Figure 2. Graphical representation of RBCs counts of Rohu in To and T₁

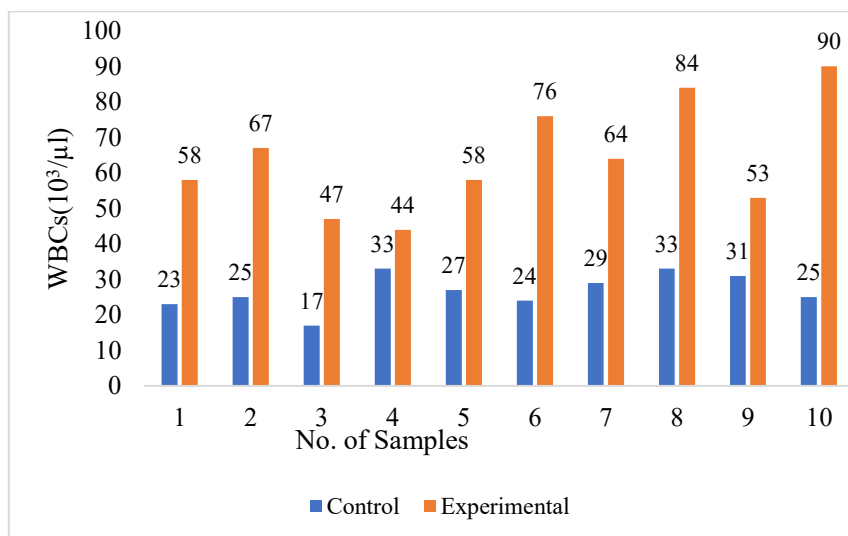


Figure 3. Graphical representation of WBCs counts of Rohu in To and T₁

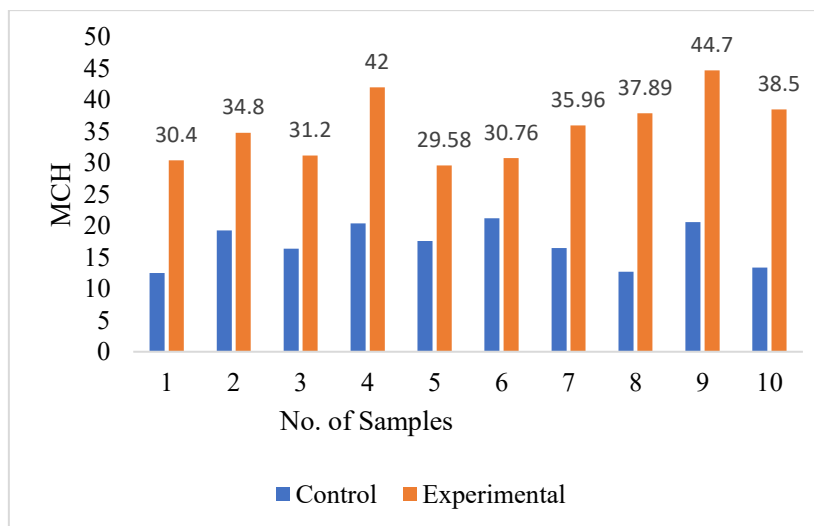


Figure 4. Graphical representation of MCH counts of Rohu in T₀ and T₁.

Table 3. Total counts of different hematological parameters of Rohu

Parameter	T ₀	T ₁	P-Value	Significance/NS
	Mean±SD	Mean±SD		
RBC (10 ⁶ /μl)	0.27±0.14	1.307±0.27	0.0001**	Significant
Hb (g/dL)	1.34±0.29	4.483 ±0.53	0.0001**	Significant
HCT (g/dL)	14.501±3.01	39.235±5.55	0.0001**	Significant
MCV (fL)	97.241±3.61	106.05±3.77	0.0001**	Significant
MCH	17.06±2.97	35.08±5.03	0.0001**	Significant
MCHC (g/dL)	26.93±0.912	39.176±0.89	0.0001**	Significant
WBC (10 ³ /μl)	26.7±4.98	64.1±15.31	0.0001**	Significant

The results indicated the mean RBC count in the treated group (T₁) was $1.30 \times 10^6/\mu\text{l}$, significantly higher than the control group (T₀), which had a mean of $0.27 \times 10^6/\mu\text{l}$, similarly mean Hb count in (T₁) is 4.48g/dL, which is higher as compare to (T₀) which was 1.34g/dL. Mean WBCs counts in (T₀) was significantly lower then (T₁) counts. Hematocrit (Hct) and Mean Corpuscular Volume (MCV) were also high in experimental group indicating enhanced immune response in Rohu. Bacterial colonies count of (T₁) cultured on nutrient agar was 234.5×10^6 CFU, significantly higher then (T₀) counts, which were 94.7×10^6 CFU, similarly CFU counts of WBM fed group were higher in tryptic soy agar and Eosin methylene blue.

DISCUSSION

This study assessed how the food additive White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) affected *Labeo rohita*'s gut microbiota and hematological profile. The results show that adding WBM significantly boosted fish health, as seen by higher bacterial colony counts and improved blood parameters. The experimental group's gut microbial numbers, as measured by CFU on TSA, NA, and EMB medium, were noticeably greater. This implies that WBM stimulates the growth of gut microbes, possibly as a result of the prebiotic properties of its fiber and polysaccharide content. The observed hematological improvements are further supported by the critical function that a healthy gut flora plays in nutrition absorption and disease resistance.

Red and white blood cell counts, hemoglobin concentration, hematocrit, MCV, and MCHC were all significantly higher in the mushroom-fed group than in the control group, according to hematological study. The elevated levels of RBCs and Hb suggest enhanced oxygen-carrying capacity. These enhancements point to improved erythropoiesis, increased oxygen delivery, and more robust immunological responses. Particularly, the increase in WBC count suggests immune-stimulation, most likely brought on by bioactive substances in WBM like β -glucans, which are known to strengthen innate immunity. These results are in line with other research showing that fish given natural supplements like spirulina or herbal extracts have better hematological condition.

It's interesting to observe that while growth performance is emphasized in many mushroom research, the current paper emphasizes improvements in gut health and immunity, which are equally important for sustainable aquaculture. Higher survival rates, less susceptibility to disease, and increased production are all closely correlated with improved haematological and microbiological characteristics. This is in line with the rising demand for functional feeds that enhance animal comfort and farm profitability in addition to meeting nutritional needs.

The enhanced health condition of *L. rohita* was probably influenced by the biological activity of mushrooms, particularly their immunomodulatory and antioxidant qualities. These findings are consistent with other studies using mushroom-based feed additives. Aminzadeh *et al.* (2024) reported significant improvement in hematological and immunological parameters in *Huso huso* fed with *Agaricus bisporus*. Zakariaei *et al.* (2022) showed that button mushroom and probiotics synergistically enhanced gut microbial composition and immune gene expression in zebrafish. White button mushroom (*A. bisporus*) powder in fish feed improve both hematological indices and gut

microbial health. This dual benefit positions WBM as a sustainable, natural immunostimulant and feed additive for the freshwater aquaculture system.

Overall, the study's findings provide evidence to the idea that supplementing fish with White Button Mushrooms enhances their immunity, haematology, and gut microbial balance by means of its bioactive ingredients, especially β -glucans. Because of these two positive aspects, WBM is a viable option for a functional feed additive in freshwater aquaculture, potentially replacing or lowering the need for antibiotics. These results support the inclusion of additives derived from mushrooms in commercial aquaculture feeds and further the global trend towards sustainable and health-conscious aquaculture methods.

However, it is important to recognize that the optimal inclusion level of WBM was not varied in this study. Future studies could explore graded levels of WBM to determine the Dosage-dependent effect.

CONCLUSION

The current study concludes that dietary supplementation of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) at 2% inclusion level significantly improved the gut microbiota and hematological parameters of *Labeo rohita*. Enhanced RBCs, WBCs Counts, hemoglobin level, and microbial colony counts indicate that WBM positively influenced fish immunity, digestion, and overall health. These findings support the use of WBM as a functional feed additive to promote fish welfare and reduce dependence on synthetic antibiotics in Aquaculture. Given the natural immunomodulatory and antioxidant properties of Mushrooms, they offer a promising alternative for sustainable aquaculture practices. The outcome of this research opens new perspectives on incorporating edible mushroom in aquafeeds, and further investigation are recommended to explore dosage optimization and underlying molecular mechanism.

Conflict of interest

There are no reported conflicts of interest by the authors.

REFERENCES

Aminzadeh, A., Jafari, V., & Hoseinifar, S.H. (2024). The effects of dietary *Agaricus bisporus* powder on growth performance, haematological indices, and serum immune response in beluga (*Huso huso*) juvenile. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1487586.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1487586>

Amiri, O., Miandare, H. K., Hoseinifar, S. H., Shabni, A., & Safari, R. (2018). Skin mucus protein profile, immune parameters, immune-related gene expression, and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed white button mushroom (*Agaricus bisporus*) powder. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(4).2
DOI: <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2018025825>

Atlas, R.M. (2010). Handbook of Microbiological Media (4th ed.). CRC Press.
DOI: <https://doi.org/10.1201/EBK1439804063>

Beveridge, M.C. & Brummett, R.E. (2015). Aquaculture and the environment. *Freshwater Fisheries Ecology*, 794–803. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118394380.ch55>

Dawood, M.A., Eweedah, N.M., El-Sharawy, M.E., Awad, S.S., Van Doan, H. and Paray, B.A. (2020). Dietary white button mushroom improved the growth, immunity, antioxidative status and resistance against heat stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 523, 735229-735235. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735229>

Fazio, F., Saoca, C., Fortino, G., Piccione, G. & Zumbo, A., 2020. Seasonal biochemical response in two aquaculture species (*Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(4). DOI: <https://doi.org/10.22092/ijfs.2019.119854>

Habib, S.S., Naz, S., Khalid, S., Kanwal, R., Ameer, I., Khan, S.N.A., Rehman, A.U., Kousar, M., Khan, S.U. & Nazir, N. (2021). Effect of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) on immunity and haematological parameters of *Oreochromis niloticus*. *Pakistan Journal of Zoology*, 7, 1-4. DOI: <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20201020051009>

Harikrishnan, R., Naafar, A., Musthafa, M.S., Ahamed, A., Arif, I.A. & Balasundaram, C. (2018). Effect of *Agaricus bisporus* enriched diet on growth, hematology, and immune protection in *Clarias gariepinus* against *Flavobacterium columnare*. *Fish & Shellfish Immunology*, 73, 245–251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.024>

Hoseinifar, S.H., Zou, H.K., Paknejad, H., Hajimoradloo, A. & Van Doan, H. (2019). Effects of dietary white-button mushroom powder on mucosal immunity, antioxidant defence, and growth of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 501, 448–454.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.007>

Jena, J. K., Das, P. C., Das, R., & Mondal, S. (2007). Performance of olive barb, *Puntius sarana* (Hamilton) in fingerling rearing with rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) and mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*, 265(1-4), 305-308.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.008>

Liu, J., Li, Z., Li, X., & Wang, Y. (2013). On-farm feed management practices for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in southern China. In: Hassan, M.A. (Ed), *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 71-99p. The Director, CIFRI, Barrackpore, West Bengal.

Rajani, M., Madhavi, K. & Anupama, R.R. (2023). Analytical study on growth and decomposition analysis of scampi production in India. *Journal of Experimental Zoology*, 26(1), 1269–1272. DOI: <https://doi.org/10.51470/Jez.2023.26.1.1269>

Sarma, K., Dey, A., Kumar, S., Chaudhary, B.K., Mohanty, S., Kumar, T. & Bhatt, B.P. (2020). Effect of salinity on growth, survival and biochemical alterations in the freshwater fish *Labeo rohita* (Hamilton 1822). *Indian Journal of Fisheries*, 67(2).
DOI: <https://doi.org/41-47.10.21077/ijf.2019.67.2.86894-06>

Tocher, D.R. (2010). Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research* 41(5), 717–732. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>

Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Esteban, M.Á., Dadar, M. & Thu, T.T.N. (2019). Mushrooms, seaweed, and their derivatives as functional feed additives for aquaculture: an updated view. *Studies In Natural Products Chemistry*, 62, 41–90.
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00002-2>

Zakariaei, H., Sudagar, M., Hoseini, S.S., Paknejad, H. & Baruah, K., (2022). The effect of using synbiotics containing button mushroom (*Agaricus bisporus*) extract in combination with two species of lactic acid bacteria on digestive enzyme activities, body composition, growth and intestinal microbial flora in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Marine Science and Technology*, 21(2), 63–7. DOI: <https://doi.org/10.22113/jmst.2020.233183.2>



Protective Effects of *Passiflora edulis* Fruit Extract on *Caenorhabditis elegans* under Low and High Oxidative Stress Conditions

Yeşim ÖZKAN^{1*} , Ayşenur ÇELİK¹ 

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Science, Ordu University, Ordu

*Correspondence: yozkan52@gmail.com

Received: 05.11.2025

Accepted: 08.12.2025

Published: 25.12.2025

How to Cite: Özkan, Y., & Çelik, A. (2025). Protective Effects of *Passiflora edulis* Fruit Extract on *Caenorhabditis elegans* under Low and High Oxidative Stress Conditions. *VZS*, 1(2), 157–171. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-21>

Abstract: The worm *Caenorhabditis elegans* has a number of advantages, including lifespan, reactive oxygen species, fecundity, germline cell apoptosis, population growth, and mitochondrial membrane potential, as well as its ability to survive a wide range of environmental conditions, making it a useful model organism for investigating the effects of natural compounds and plants. *Passiflora edulis* Sims *edulis* (purple passion fruit) possesses high antioxidant activity due to its high polyphenol content. Oxidative stress, caused by an imbalance between reactive oxygen species (ROS) production and antioxidant defenses, is a key factor in cellular dysfunction and degenerative diseases. Natural antioxidants, particularly polyphenolic compounds, have demonstrated potential in mitigating oxidative damage. This study investigates the protective effects of *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* (passion fruit) extract (PFE) on the nematode *Caenorhabditis elegans* under low and high oxidative stress conditions. Synchronized L3–L4 nematodes were exposed to 0.5 mmol/L H₂O₂ for 30 minutes (low stress) or 60 minutes (high stress) and subsequently treated with low (28 µL) or high (555 µL) doses of PFE. ROS levels, survival rate, reproduction, and population growth were evaluated. Results indicated that low-dose PFE reduced ROS levels and improved survival, while high-dose PFE increased ROS under both stress and non-stress conditions. Reproductive capacity and population growth were significantly enhanced by PFE, with dose- and stress-dependent effects. These findings suggest that PFE exhibits adaptive hormetic effects at low concentrations and potential protective activity against oxidative stress, whereas high doses may induce oxidative stress under certain conditions.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*, *Passiflora edulis*, oxidative stress, ROS, reproduction, survival

INTRODUCTION

Oxidative stress is a fundamental form of cellular stress that arises from an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense capacity, playing a central role in the etiology of numerous degenerative pathologies (Spinelli et al., 2024; Remigante et al., 2024). Excessive ROS accumulation disrupts cellular homeostasis by inducing extensive molecular damage, including lipid peroxidation, protein oxidation, and DNA lesions. These molecular perturbations form the biochemical basis for functional decline associated with cardiometabolic diseases,

neurodegenerative syndromes, ischemic injury, and aging (Girotti and Korytowski, 2021; Lv et al., 2025). While ROS at low levels serve critical signaling functions, their overaccumulation triggers cell death pathways, thereby compromising tissue integrity and organismal resilience (Pérez-Torres et al., 2017; Gu et al., 2020). Consequently, oxidative stress represents a pivotal research focus for understanding both physiological regulation and pathophysiological outcomes.

Natural antioxidants, particularly polyphenolic compounds, have garnered increasing scientific interest due to their potential to mitigate the biochemical consequences of oxidative stress. Plant-derived antioxidants exhibit diverse mechanisms, including free radical scavenging, metal ion chelation, and modulation of signaling pathways, making them attractive candidates for both therapeutic interventions and functional food development (Imtiaz et al., 2023). Despite the traditional use of many medicinal plants, the mechanistic basis of their biological effects and their impact at the organismal level remain incompletely understood.

Passiflora edulis Sims f. *edulis* has historically been recognized for its sedative and anxiolytic properties, while recent studies highlight its anti-inflammatory and antioxidant potential (Petry et al., 2001; Dhawan et al., 2004; Coleta et al., 2006; Montanher et al., 2007). The phenolic profile of *Passiflora* species is enriched with flavonoids and other polyphenolic compounds that exhibit strong antioxidant activity (Ferrerres et al., 2007; Zeraik and Yariwake, 2010). However, *in vivo* data on the effects of fruit extracts under oxidative stress in model organisms are limited, particularly regarding how biological resilience is modulated under low versus high oxidative stress conditions.

Caenorhabditis elegans, as a genetically well-characterized model organism, offers unique advantages for investigating oxidative stress biology. Its genome contains orthologs corresponding to approximately 60-80% of human genes and conserves many signaling pathways involved in aging, apoptosis, metabolic regulation, and stress responses (Guarente and Kenyon, 2000; Lant and Storey, 2010). Moreover, its transparent body plan, short life cycle, and low maintenance cost allow real-time *in vivo* monitoring of ROS accumulation and oxidative damage (Kaletta and Hengartner, 2006). These features make *C. elegans* an ideal system for evaluating the biological effects of natural antioxidants. Although flavonoids and other plant-derived compounds have been largely

studied *in vitro* for their modulation of cellular stress mechanisms, the *in vivo* relevance at the whole-organism level remains largely unexplored.

In this study, examining the potential of *Passiflora edulis* fruit extract to enhance organismal resilience under oxidative stress using nematode models can provide valuable insights both mechanistically and for potential functional applications. The aim of the present study is to systematically evaluate the effects of *Passiflora edulis* fruit extract on survival and ROS accumulation in *C. elegans* under low and high oxidative stress conditions. Such analyses are intended to elucidate the modulatory capacity of the fruit extract on oxidative stress tolerance, addressing a significant gap in the literature regarding the biological efficacy of natural antioxidant compounds.

MATERIAL AND METHOD

Material

Caenorhabditis elegans N2 strain (wild-type Bristol) was obtained from İstinye University. All other laboratory materials were sourced from the Department of Molecular Biology and Genetics, Ordu University, and passion fruit (*Passiflora edulis*) was locally procured from Antalya, Turkey.

C. elegans Culture

In this study, the N2 wild-type strain of *C. elegans* was used. Nematodes were maintained on Nematode Growth Medium (NGM) and fed with *Escherichia coli* OP50 under standard culture conditions at a constant temperature of 20°C. Synchronized populations were generated by washing NGM plates containing predominantly gravid adults. To obtain synchronized nematodes, adult worms were treated with a bleaching solution (1 N NaOH and 5% sodium hypochlorite) and gently vortexed every 2 minutes over a total period of 10 minutes. The solution was then centrifuged, and the supernatant containing lysed worm debris was removed, leaving behind an egg pellet. The egg pellet was washed three times and resuspended in M9 buffer. Eggs were incubated with gentle agitation for approximately 12 hours to hatch and establish a synchronized population. Larvae at the L3–L4 stage were subsequently used for all experimental assays.

Preparation of Passion Fruit Extract (PFE)

Prior to extraction, passion fruits were thoroughly washed and crushed together with their seeds using a mortar and pestle. The fruit material was then subjected to

methanol treatment and extracted using a Soxhlet apparatus for approximately 6 hours. Following extraction, the methanolic extract was concentrated under reduced pressure using a rotary evaporator, ensuring complete removal of methanol. This process yielded approximately 3 mL of a semi-solid extract. The obtained extract was stored at -20°C until further use. For experimental applications, the extract was diluted with distilled water to prepare working solutions at two different concentrations: a high-dose group containing 555 µL and a low-dose group containing 28 µL of extract.

Experimental Groups and Stress Application

Experiments were organized into three main groups:

Control groups (CG₁–CG₃): unstressed nematodes, some treated with low or high dose PFE.

Low stress groups (LDS): nematodes exposed to 0.5 mmol/L H₂O₂ for 30 min, followed by PFE treatment.

High stress groups (HDS): nematodes exposed to 0.5 mmol/L H₂O₂ for 60 min, followed by PFE treatment.

After H₂O₂ exposure, nematodes were washed with M9 buffer, and PFE treatment was applied for 24 hours. All groups were incubated at 20°C.

Table 1. Indicating Treatment Regimen Plan for Experimental and Control Groups

Group	Control (no stress)	High Stress (H₂O₂)	Low Stress (H₂O₂)
CG₁	NGM only	HDS	LDS
CG₂	NGM + High Dose PFE (HD PFE)	HDS + HD PFE	LDS + HD PFE
CG₃	NGM + Low Dose PFE (LD PFE)	HDS + LD PFE	LDS + LD PFE

NGM: Nematode Growth Medium, **PFE:** Passion Fruit Extract (*Passiflora edulis*), **HD:** High Dose, **LD:** Low Dose, **HDS:** High Duration Stress (60 min H₂O₂ exposure), **LDS:** Low Duration Stress (30 min H₂O₂ exposure)

Passiflora Extract Treatment Protocol

In the experiments, methanolic extract obtained from fresh *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* fruits was used as the therapeutic agent. The extract was applied at two concentrations: 555 µL for the high-dose group and 28 µL for the low-dose group. Hydrogen peroxide (H₂O₂, 1% w/v, 0.5 mmol/L) served as the oxidative stress inducer. Nematodes in the high-stress groups were exposed to H₂O₂ for 60 minutes, whereas

nematodes in the low-stress groups were exposed for 30 minutes. Following exposure, nematodes were carefully washed with M9 buffer to remove residual H₂O₂. Immediately after washing, nematodes in the experimental groups were treated with the passion fruit extract for 24 hours. Control groups were treated with the extract for 24 hours without prior washing. All experimental and control groups were incubated at 20°C throughout the treatment period.

DCFH-DA Assay for Intracellular ROS Levels in C. elegans

Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels in *C. elegans* were measured using the molecular probe H₂DCFDA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate), following previously described protocols with minor modifications (Liao et al., 2011; Yang et al., 2013; Yoon et al., 2018). In this assay, non-fluorescent DCFDA permeates the cells and is oxidized by intracellular H₂O₂ to form the fluorescent compound 2',7'-dichlorofluorescein (DCF), which is then quantified using a fluorescence reader. Briefly, adult worms from the experimental groups (exposed to H₂O₂ stress and subsequently treated with passion fruit extract) and control groups were incubated in 6-well plates containing 50 µM H₂DCFDA in M9 buffer at room temperature for 30 minutes in the dark, in triplicate. Following incubation, fluorescence intensity was measured with excitation at 485 nm and emission at 528 nm to assess ROS production.

Visualization of Ros Production in c. elegans Using Fluorescence Microscopy

For fluorescence imaging, worms from both control and experimental groups were incubated in 6-well plates containing 50 µM H₂DCFDA in M9 buffer at 37°C for 1 hour in the dark, with three replicates per group. Following incubation, nematodes were carefully washed with M9 buffer to remove excess dye. Fluorescence imaging was performed using a Nikon Eclipse Ni fluorescence microscope, ensuring consistent exposure time, magnification, and light intensity across all samples. Multiple regions of each nematode were imaged to obtain representative data.

Lethality (Survival Rate) Assay

The survival rate of *C. elegans* was assessed to evaluate the effects of low and high H₂O₂ exposure followed by treatment with passion fruit extract (PFE) (Zhang et al., 2018). For this purpose, synchronized adult nematodes (L4 stage, 5 ± 1 worms per well) were transferred into 24-well plates containing Nematode Growth Medium (NGM). *Escherichia coli* OP50 served as the food source. Nematodes were incubated at 20°C for

7 days. Every 24 hours, each well was examined under a dissection microscope to count live and dead nematodes. Survival was determined based on the worms' motor response to mechanical stimulation (platinum wire touch) (Dhawan et al., 1999). Nematodes that were immobile and unresponsive to the stimulus were considered dead. The survival rate was calculated using the following formula (Zhang et al., 2018):

$$\text{Survival rate of } C. \textit{ elegans} = \left(\frac{\text{Number of surviving nematodes}}{\text{Total number of nematodes}} \right) \times 100$$

Reproduction Assay

Reproductive performance of *C. elegans* was evaluated using a 72-hour assay as described by Dhawan et al. (1999), with minor modifications. Test solutions were prepared from three experimental groups treated with either high or low doses of PFE, alongside a control group. For each well, a single worm from an age-synchronized culture was transferred into 5 μ L of the respective test solution. Nine wells were assigned per concentration, and all treatments were conducted under identical conditions to those used in the lethality assay. After 96 hours, the total number of offspring, including all developmental stages beyond the fifth generation, was recorded. For each experimental condition and control group, the mean number of offspring across the nine wells was calculated, and the entire assay was repeated three times to ensure reproducibility.

Population Growth Assay

The population growth of *C. elegans* was assessed to evaluate the potential restorative effects of PFE following exposure to low and high H₂O₂-induced oxidative stress (Dhawan et al., 1999). Age-synchronized L4 stage nematodes were transferred to 24-well NGM (Nematode Growth Medium) plates at a density of 20 nematodes per well (Corsi et al., 2015). *Escherichia coli* OP50 was used as the food source. Experimental and control groups were subjected to the respective stress and treatment regimens as described in Table 1, with control groups remaining unexposed to H₂O₂. All plates were incubated at 20 \pm 1 $^{\circ}$ C for 5 days. On day 5, the total number of live individuals in each well, including parent nematodes, larvae, and offspring, was counted under a stereomicroscope. Nematodes from each well were collected into 2 mL of M9 buffer, homogenized carefully, and 5 μ L aliquots were taken for counting under a stereomicroscope. Counts were performed separately for each group, and the average across three replicates was calculated. All measurements were conducted on the same day

by the same investigator to minimize variability. Population growth was expressed relative to the initial number of nematodes using the following formula (Zhang et al., 2018).

$$\text{Population Increase (\%)} = \frac{\text{Observed live nematodes} - \text{Initial nematodes}}{\text{Initial nematodes}} \times 100$$

Statistical Analysis

All measurements, including ROS levels and other experimental parameters, were analyzed using IBM SPSS Statistics version 26. Differences between groups were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc multiple comparison test when significant differences were detected. A p-value of <0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Measurement of ROS Levels as an Oxidative Stress Biomarker

In this study, the *in vivo* model organism *Caenorhabditis elegans* was subjected to oxidative stress by exposure to 1% H₂O₂ (0.5 mmol/L) for low (30 min) and high (60 min) durations. The protective potential of *Passiflora edulis* fruit extract (PFE) was subsequently evaluated at both high and low concentrations to assess its capacity to mitigate oxidative stress-induced damage.

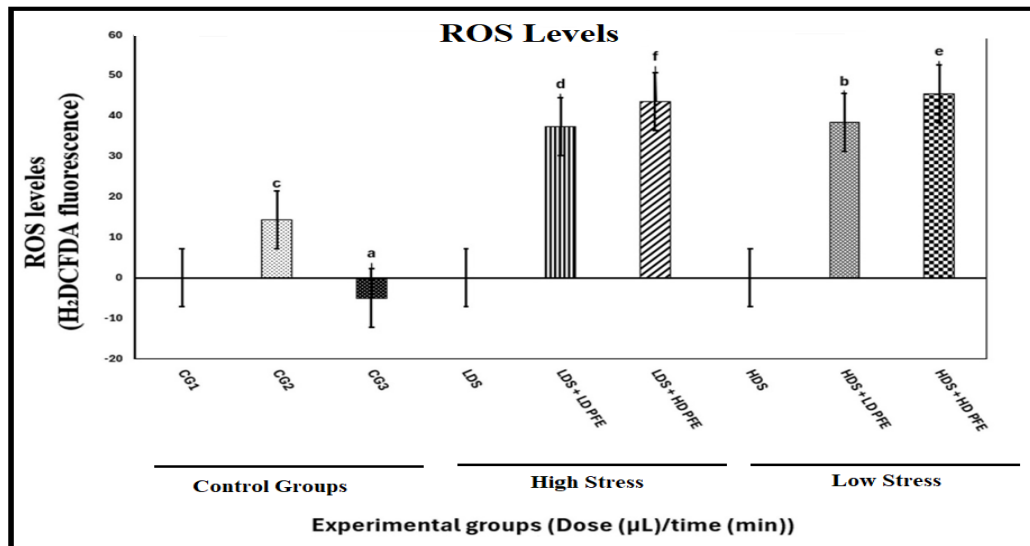


Figure 1. Reactive oxygen species (ROS) levels estimated by the H₂DCFDA assay in wild-type (N2) *Caenorhabditis elegans* strains. The data obtained are the average of three replicate samples. Error bars with different letters indicate that the means are significantly different at the 95% confidence level (P<0.05).

Intracellular ROS levels were measured as a biomarker of oxidative stress, and the results are presented in Fig. 1. Among the three control groups (CG₁, CG₂, and CG₃), which were not exposed to H₂O₂, ROS levels were markedly lower compared to the experimental groups. Within the control groups, the lowest ROS levels were observed in individuals treated with low-dose PFE. Conversely, high-dose extract treatment in CG₁ led to increased ROS levels compared to other control groups, suggesting that PFE may exert a dose-dependent biphasic effect-reducing oxidative stress at low concentrations while inducing stress at higher concentrations. In the experimental groups, different combinations of H₂O₂ exposure and extract dosage were evaluated. The highest ROS levels were observed in nematodes exposed to prolonged H₂O₂ treatment (high stress, 60 min) combined with high-dose extract, followed by worms exposed to short H₂O₂ exposure (low stress, 30 min) with high-dose extract. Notably, the duration of H₂O₂ exposure alone (30 and 60 min) did not significantly affect ROS production, indicating that the high-dose PFE, rather than H₂O₂ exposure duration, was primarily responsible for the observed increase in ROS. In other words, the extract acted as an additional pro-oxidant both in the presence and absence of H₂O₂. ROS levels across groups were ranked as follows: HDS + HD PFE > LDS + HD PFE > HDS + LD PFE > LDS + LD PFE > CG₂ > CG₁ > LDS > HDS > CG₃. Statistical analysis revealed significant differences among all groups, including the controls (P<0.05). These findings indicate that high-dose PFE induces oxidative stress, whereas low-dose extract exerts a protective, stress-reducing effect in *C. elegans* (P<0.05).

Fluorescence Microscopy Visualization of ROS Production

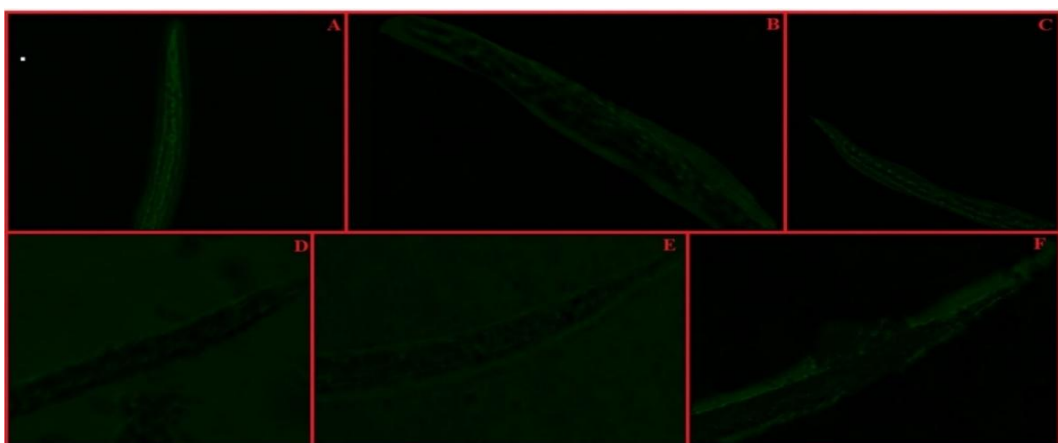


Figure 2. Fluorescence microscope images of the oxidative stress on the *C. elegans* (50 μ m). (A) HDS + HD PFE (B) LDS + HD PFE (C) HDS + LD PFE (D) CG₁ (E) HDS (F) CG₂

Fluorescence microscopy analysis revealed a pattern of ROS production that closely mirrored the quantitative ROS measurements. As shown in Figure 2, except for panels D and E, nematodes exhibited strong green fluorescence, corresponding to the localization of oxidative stress as stained by the H₂DCFDA probe. Visual assessment of fluorescence intensity indicated that the duration of H₂O₂ exposure (short and long) did not produce notable differences in ROS generation. In contrast, nematodes treated with high concentrations of *Passiflora edulis* fruit extract, including those in the control group CG₂, exhibited markedly increased fluorescence intensity, suggesting enhanced ROS accumulation in response to the extract at high doses.

Effect of Extract and H₂O₂ Stress on C. elegans Population Growth

The variation in offspring number in *C. elegans*, depending on the dose of *Passiflora* Fruit Extract (PFE) and the duration of H₂O₂-induced stress, is shown in Figure 3.

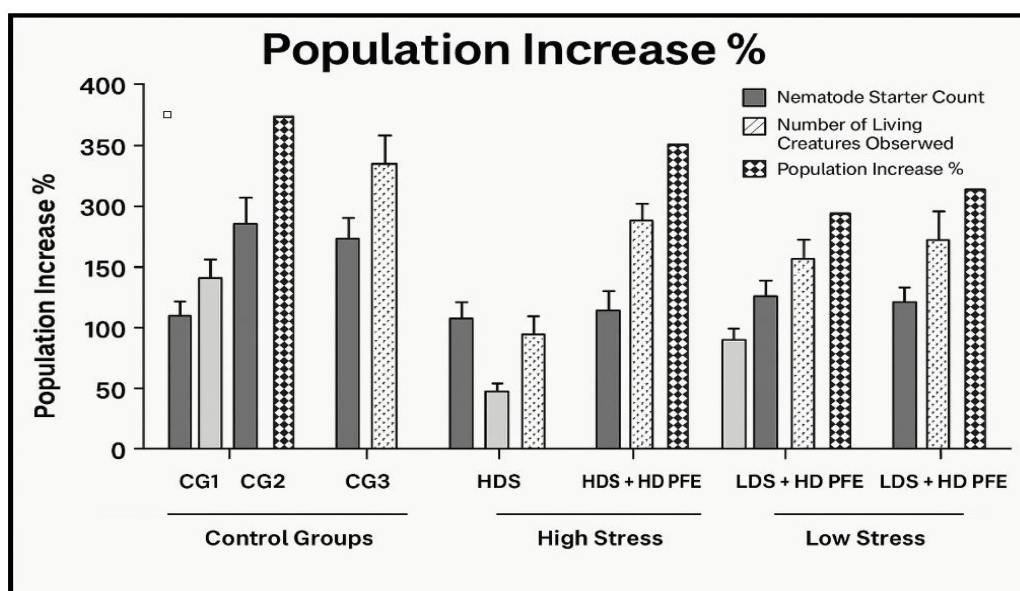


Figure 3. Population growth of *C. elegans* is influenced by *Passiflora* Fruit extract (PFE) concentration and H₂O₂-induced stress. Results from the experiments in which nematodes were incubated for 7 days under H₂O₂ exposure followed by treatment with PFE are presented. Treatment with PFE enhanced nematode reproductive output. Additionally, the extract exhibited a dose-dependent mitigation of oxidative stress. Different letters indicate statistically significant differences between group means as determined by one-way ANOVA ($P < 0.05$) followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT; $\alpha = 0.05$). Error bars represent standard deviations ($n=3$).

Individuals exhibited significant variability in reproduction based on both the H₂O₂ exposure period and PFE concentration. Both the control groups (without H₂O₂ exposure) and the groups treated with PFE following H₂O₂ stress showed a significant

increase in population size ($P < 0.05$). Population growth was influenced by both the duration of H_2O_2 exposure and the PFE concentration. In groups exposed to H_2O_2 , the number of live nematodes was markedly reduced. However, PFE treatment following H_2O_2 exposure resulted in increased survival. Notably, in groups exposed to prolonged H_2O_2 stress, nematodes treated with a high PFE dose exhibited fewer live individuals compared to those treated with a low PFE dose, indicating that while PFE has a restorative effect, its efficacy decreases at higher concentrations. Specifically, nematodes exposed to prolonged H_2O_2 stress responded better to low-dose PFE treatment than to high-dose treatment. Conversely, in groups exposed to short-term H_2O_2 stress, high-dose PFE treatment resulted in a substantial increase in live nematodes. These results collectively suggest that PFE possesses a strong restorative effect on nematode population growth under oxidative stress conditions.

Effect of Passiflora Fruit Extract on C. elegans Survival Under Oxidative Stress

In the survival analysis of *Caenorhabditis elegans*, exposure to high-duration H_2O_2 stress (HDS) resulted in severe toxicity, markedly reducing survival rates (Figure 4).

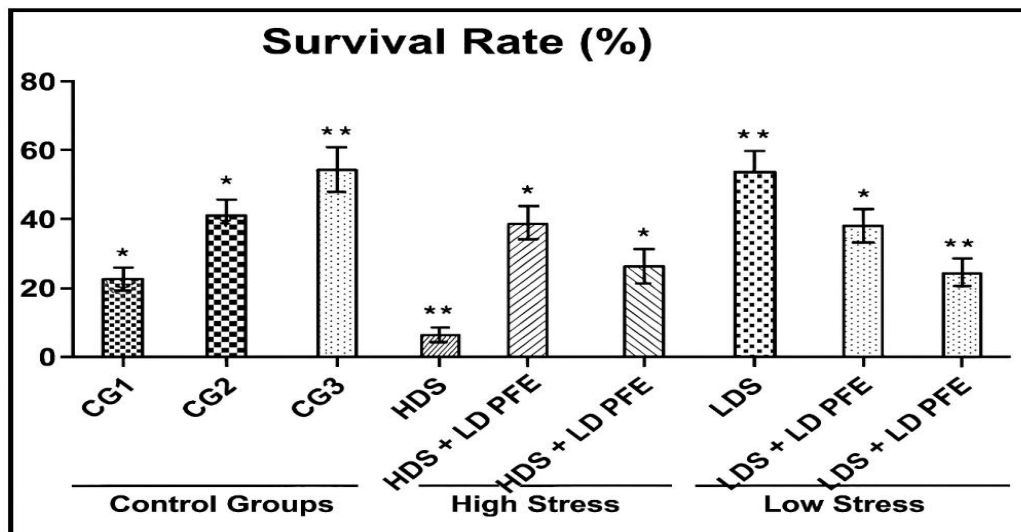


Figure 4. Survival Rate (%) of *Caenorhabditis elegans* after 1% 0.5 mmol/L H_2O_2 -mediated oxidative stress. Different population groups were exposed to low and high duration H_2O_2 before being treated with high and low doses of passiflora fruit extract. Untreated populations were used as controls ($n = 20$). Data are presented as mean survival percentage ($P < 0.05$).

Treatment with PFE at both high and low doses significantly improved survival compared to untreated nematodes under HDS conditions ($P < 0.05$), indicating a protective or anti-stress effect of PFE under severe oxidative stress. Under low-duration stress

(LDS), PFE treatment also enhanced survival at both doses, with the high-dose PFE group exhibiting the highest survival percentage. These findings suggest that PFE may induce an adaptive or mild hormetic response under mild stress conditions. Among the control groups, CG₁ displayed the highest survival, whereas CG₂ and CG₃ showed significantly reduced survival rates, indicating that in the absence of oxidative stress, PFE may exert a mild toxic or nutrient-disturbing effect. Overall, these results demonstrate that PFE exerts a condition-dependent effect: protective under oxidative stress, yet potentially deleterious in stress-free environments.

DISCUSSION

In this study, the biological effects of *Passiflora edulis* Sims f. *edulis* fruit extract (PFE) were systematically investigated in *Caenorhabditis elegans* under low and high oxidative stress conditions. The findings indicate that PFE exerts significant effects on ROS production, survival, and reproduction, depending on both extract concentration and stress duration. ROS measurements and fluorescence microscopy images revealed that high-dose PFE increased ROS levels in nematodes, regardless of whether they were exposed to H₂O₂ stress or not. This suggests that PFE can exhibit pro-oxidant properties at high concentrations, indicating that the biological effects of the extract are dose- and environment-dependent. In contrast, low-dose PFE demonstrated antioxidant activity by reducing ROS levels under both stressed and control conditions. These results are consistent with previous reports in the literature that flavonoids and polyphenolic compounds can exert hormetic effects (Imtiaz et al., 2023). Previous studies support the antioxidative potential of *P. edulis*. Sunitha and Devaki (2009) reported strong radical scavenging activity of *P. edulis* leaf ethanol extracts using DPPH assays. Similarly, methanolic extracts of *P. edulis* fruit and peel reduced neutrophil-mediated ROS production and myeloperoxidase activity, indicating anti-inflammatory and antioxidant effects *in vitro*. *In vivo* studies in rats further showed that consumption of *P. edulis* byproducts enhanced glutathione reductase activity and reduced oxidative damage (da Silva et al., 2014; Cazarin et al., 2015). Additionally, methanolic extracts of *P. edulis* fruits demonstrated broad antioxidant activity (DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC) as well as potential anticancer properties, emphasizing the bioactive potential of the fruit (Badalova et al., 2021).

Our findings in *C. elegans* align with previous studies using this model organism to assess antioxidant activity and stress resistance. For example, the leaf extract of *Garcinia atroviridis* was reported to enhance both heat and oxidative stress resistance and modulate stress-response gene pathways in *C. elegans* (Chuajit et al., 2024). Classical polyphenols, such as curcumin and resveratrol, also demonstrate similar effects in nematodes, reducing ROS accumulation, enhancing survival under oxidative stress, and extending lifespan (Chen et al., 2013; Xu et al., 2023). Furthermore, *Cassia fistula* extracts improved oxidative stress resistance and survival in *C. elegans*, confirming the generalizability of plant-based antioxidant interventions in nematode models (Thabit et al., 2018). Comparing our results with these studies, several parallels emerge. First, similar to curcumin, resveratrol, and *Cassia fistula*, PFE at low doses enhanced ROS scavenging and survival in stressed nematodes. Second, our observation that high-dose PFE can increase oxidative stress is reminiscent of hormetic responses reported for other polyphenols, where excessive doses may paradoxically induce mild stress. Third, PFE treatment also promoted reproductive output and population growth, consistent with the notion that antioxidants can mitigate stress-induced reproductive impairment in *C. elegans*.

Overall, our data corroborate the established antioxidant properties of *P. edulis* and extend these findings by demonstrating its efficacy in a whole-organism *in vivo* model. The differential effects of low and high doses underscore the importance of optimizing extract concentration to maximize protective benefits while avoiding potential pro-oxidant effects. These results contribute to a growing body of evidence supporting the use of natural fruit extracts as modulators of oxidative stress, survival, and reproductive health in model organisms.

CONCLUSION

This study demonstrates that *Passiflora edulis* fruit extract (PFE) exerts dose- and stress-dependent effects on *Caenorhabditis elegans* under oxidative stress. High-dose PFE significantly elevated ROS levels in both stressed and non-stressed nematodes, indicating potential pro-oxidant activity, whereas low-dose PFE consistently reduced ROS, showing strong antioxidant properties. Survival analyses revealed that PFE improved nematode viability under both low and high oxidative stress, with the greatest benefit observed at low stress and moderate extract concentrations. Population and

reproductive assessments further indicated that PFE mitigates the detrimental effects of oxidative stress, although excessively high doses following prolonged stress were less effective, suggesting a hormetic response. Overall, these findings highlight the dual nature of PFE: protective at low doses, yet potentially pro-oxidant at high doses, emphasizing the importance of optimal dosing for achieving maximal antioxidant and restorative effects.

Acknowledgements: I wish to express my deepest and sincere gratitude to my late father, Murat ÖZKAN, for his unwavering dedication, guidance, and support to his children. His encouragement has profoundly influenced my personal and professional journey and continues to serve as a lasting inspiration. May he rest in peace.

Funding Source: This study received no financial support from any institution(s) or individual.

Conflict of Interest: The authors of this article have no conflict of interest with any institution or individual.

REFERENCES

Badalova, V., Atay, M.Ö., & Ardıl, B. (2021). Determination of Different Biological Activities of Methanolic Extracts of Fruits of *Passiflora ligularis* Juss. and *Passiflora edulis* Sims. *Natural Products and Biotechnology*, 1(2), 75-84.

Cazarin, C.B.B., da Silva, J.K., Colomeu, T.C., Batista, Â.G., Meletti, L.M.M., Paschoal, J.A.R., Junior S. B., de Campos Braga, P. A., Reyes F. G. R., Augusto, F., de Meirelles, L. R., de Lima Zollner, R., Júnior, M.R.M. (2015). Intake of *Passiflora edulis* leaf extract improves antioxidant and anti-inflammatory status in rats with 2, 4, 6-trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis. *Journal of Functional Foods*, 17, 575-586.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.034>

Chen, W., Rezaizadehnajafi, L., & Wink, M. (2013). Influence of resveratrol on oxidative stress resistance and life span in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65(5), 682-688. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.12023>

Chuaijit, S., Punsawad, C., Winoto, V., Plaingam, W., Kongkaew, I., Phetcharat, A., Ichikawa, T., Kubo, M., Kawakami, F., Tedasen, A., Chatatikun, M. (2024). Leaf extract of *Garcinia atroviridis* promotes anti-heat stress and antioxidant effects in *Caenorhabditis elegans*. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1331627. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1331627>






Coleta, M., Batista, M.T., Campos, M.G., Carvalho, R., Cotrim, M.D., Lima, T.C.M.D., & Cunha, A.P.D. (2006). Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(12), 1067-1073. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1997>

- Corsi, A.K., Wightman, B., & Chalfie, M. (2015). A transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 200(2), 387–407.
DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>
- da Silva, J.K., Cazarin, C.B.B., Batista, Â.G., & Maróstica Jr, M. (2014). Effects of passion fruit (*Passiflora edulis*) byproduct intake in antioxidant status of Wistar rats tissues. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1213-1219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.060>
- Dhawan, R., Dusenbery, D. B., & Williams, P. L. (1999). Comparison of lethality, reproduction, and behavior as toxicological endpoints in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 58(7), 451-462.
DOI: <https://doi.org/10.1080/009841099157179>
- Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). Passiflora: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(1), 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.023>
- Ferreres, F., Sousa, C., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R.M., & Gil-Izquierdo, A. (2007). New C-deoxyhexosyl flavones and antioxidant properties of *Passiflora edulis* leaf extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10187-10193.
DOI: <https://doi.org/10.1021/jf072119y>
- Girotti, A. W., & Korytowski, W. (2021). Pathophysiological potential of lipid hydroperoxide intermembrane translocation: Cholesterol hydroperoxide translocation as a special case. *Redox Biology*, 46, 102096. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102096>
- Gu, Y., Han, J., Jiang, C., & Zhang, Y. (2020). Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Research Reviews*, 59, 101036. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101036>
- Guarente, L., & Kenyon, C. (2000). Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, 408(6809), 255-262. DOI: <https://doi.org/10.1038/35041700>
- Imtiaz, F., Ahmed, D., Abdullah, R.H., & Ihsan, S. (2023). Green extraction of bioactive compounds from *Thuja orientalis* leaves using microwave-and ultrasound-assisted extraction and optimization by response surface methodology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 35, 101212. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101212>
- Kaletta, T., & Hengartner, M.O. (2006). Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(5), 387-399. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd2031>
- Lant, B., & Storey, K.B. (2010). An overview of stress response and hypometabolic strategies in *Caenorhabditis elegans*: conserved and contrasting signals with the mammalian system. *International Journal of Biological Sciences*, 6(1), 9.
DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.6.9>
- Liao, V.H.C., Yu, C.W., Chu, Y.J., Li, W.H., Hsieh, Y.C., & Wang, T.T. (2011). Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 132(10), 480-487. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2011.07.008>
- Lv, H., Liu, Y., Yang, X., Xu, X., Zhou, J., & Yu, W. (2025). Research progress on the role of oxidative stress in the pathogenesis of vascular dementia and its treatment. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 108475.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2025.108475>

- Montanher, A.B., Zucolotto, S.M., Schenkel, E.P., & Fröde, T.S. (2007). Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 281-288. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.031>
- Pérez-Torres, I., Guarner-Lans, V., & Rubio-Ruiz, M.E. (2017). Reductive stress in inflammation-associated diseases and the pro-oxidant effect of antioxidant agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2098. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18102098>
- Petry, R.D., Reginatto, F., de-Paris, F., Gosmann, G., Salgueiro, J.B., Quevedo, J., Kapczinski, F., Ortega, G. G., & Schenkel, E. P. (2001). Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. *Phytotherapy Research*, 15(2), 162-164. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.694>
- Remigante, A., Cordaro, M., & Morabito, R. (2024). Redox homeostasis and antioxidant strategies in the pathophysiology. *Antioxidants*, 13(3), 281. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13030281>
- Thabit, S., Handoussa, H., Roxo, M., El Sayed, N.S., de Azevedo, B.C., & Wink, M. (2018). Evaluation of antioxidant and neuroprotective activities of *Cassia fistula* (L.) using the *Caenorhabditis elegans* model. *PeerJ*, 6, e5159. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.5159>
- Xu, J., Du, P., Liu, X., Xu, X., Ge, Y., & Zhang, C. (2023). Curcumin supplementation increases longevity and antioxidant capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1195490. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1195490>
- Yang, H.C., Chen, T.L., Wu, Y.H., Cheng, K.P., Lin, Y.H., Cheng, M.L., & Chiu, D.T. (2013). Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency enhances germ cell apoptosis and causes defective embryogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Cell Death & Disease*, 4(5), e616-e616. DOI: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.132>
- Yoon, D.S., Lee, M.H., & Cha, D.S. (2018). Measurement of intracellular ROS in *Caenorhabditis elegans* using 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate. *Bio-protocol*, 8(6), e2774-e2774. DOI: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2774>
- Zeraik, M.L., & Yariwake, J.H. (2010). Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp by HPLC-UV/DAD. *Microchemical Journal*, 96(1), 86-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.02.003>
- Zhang, B., Gong, J., Zhang, W., Xiao, R., Liu, J., & Xu, X.S. (2018). Brain-gut communications via distinct neuroendocrine signals bidirectionally regulate longevity in *C. elegans*. *Genes & Development*, 32(3-4), 258-270. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.309625.117>
- Sunitha, M., & Devaki, K. (2009). Antioxidant activity of *Passiflora edulis* Sims leaves. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(3), 310. DOI: <https://doi.org/10.4103/0250-474X.56038>
- Spinelli, S., Marino, A., Remigante, A., Morabito, R. (2025). Redox homeostasis in red blood cells: from molecular mechanisms to antioxidant strategies. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(8), 655. DOI: <https://doi.org/10.3390/cimb47080655>



Effect of Grape Seed (*Vitis vinifera*) Extract on Growth and Blood Parameters of *Ctenopharyngodon idella* (Grass carp) and *Carassius auratus* (Goldfish)

Aneela NAZIR¹ , Shakeela PARVEEN^{1*} , Fayyaz RASOOL² ,
Arooj HANEEF¹ , Daima NOSHEEN³ , Sana GHAFAR⁴ ,
Muhammad AFZAAL¹ , Naila MUKHTAR¹ ,
Noman SANWAL¹ , Muhammad HAROON¹ 

¹ Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan

² Department of Zoology, University of Education Lahore, Faisalabad Campus, Faisalabad, Pakistan

³ Department of Zoology, Government College University Lahore, Pakistan

⁴ Department of Zoology, Lahore College for Women University, Lahore, Pakistan

*Correspondence: drshakeela.fayyaz@uaf.edu.pk

Received: 27.09.2025

Accepted: 13.11.2025

Published: 25.12.2025

How to Cite: Nazir et al. (2025). Effect of Grape Seed (*Vitis vinifera*) Extract on Growth and Blood Parameters of *Ctenopharyngodon idella* (Grass carp) and *Carassius auratus* (Goldfish). *VZS*, 1(2), 172–184.

DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-18>

Abstract: Proanthocyanidin found in the grape seed (*Vitis vinifera*) have an ameliorating effect for fish health. *Ctenopharyngodon idella* (grass carp) is an important species of aquaculture having significant economic value, and *Carassius auratus* (goldfish) is a potential aquarium fish species. This research work was conducted to study the growth and blood parameters of *C. idella* and *C. auratus* after administration of grape seed extract (GSE) for about 60 days. Total 150 fingerlings of *C. idella* and *C. auratus* were taken and divided into two groups, each group with 25 specimens, randomly placed for unbiased results. Experimental groups were fed with *V. vinifera* extract at 2.75% body weight of fish, and the control group with 100% commercial basal diet. The length and weight of fishes were noted throughout the trial period, keeping the physicochemical parameters of water in optimum ranges. The results showed an increase in values between groups as survival rate (96%), increase in fork length (1.17, 3.67 cm), weight gain (4.9, 11.8 g), FCR (0.0227, 0.0093), SGR (8.88, 9.44), and the improvement in the count of RBCs (10.5, $7 \times 10^6/\mu\text{L}$), WBCs (46.8, $4.6 \times 10^3/\mu\text{L}$) and Hb (9.25, 6.5 g/dL) for the grass carp and goldfish, respectively. Statistical analysis under CRD showed that Grape Seed extract had a significant effect on these parameters, as the p-value was less than alpha (0.05%). Thus, grape seed extract (GSE) proved to be a potential growth and immunity enhancer for fish.

Keywords: Aquaculture, feed additive, grass carp, goldfish, grape seed extract, proanthocyanidin

INTRODUCTION

Aquaculture is rapidly expanding in the world, which provides foodstuff. It is growing and developing in all parts of the world (Subasinghe et al., 2009). Ornamental fish are traded worldwide each year (Stickney and Gatlin, 2022). One of the fundamental sources of animal protein is fish, which provides about 26.2% animal protein (Hassan et al., 2021). There are 193 species of fish that inhabit freshwater in Pakistan. Fish is a source

of protein and minerals (Rafique and Khan, 2012). Aquaculture is the cultivation of marine plants or animals that has been developed continuously since 1970, and the fish that it produced at that time was 3.9 %. More than 90% of aquaculture takes place in developing countries, and it is a source of diet for the poor people there. According to Food and Agricultural Organization (FAO), fish production from farming in Asia is about 84% of the total production (FAO, 2022). Aquaculture is anticipated to produce fifty percent of the world's food in the next 2 decades (Pullin, 2006). In 2016, countries in Asia made for roughly 89% of the world's output. Despite continuing to be the top producers until the 1970s, the majority of the wealthy nations have contributed very little to the blue revolution (Garlock et al., 2020).

Aquatic specie *Ctenopharyngodon idella*, locally known as grass carp, is a chief specie of aquaculture that have much economic value (Cudmore and Mandrak, 2004). Grass carp is a herbivorous fish and is capable of controlling aquatic vegetation, providing potential benefit to the aquatic system. A large amount of information has been issued on the grass carp, as it was used to control aquatic plants globally, as in Arkansas, after 10 years, the use of *C. idella* in the management operation kicked off the vegetative burden, as more than 50 genera of macrophytes and algae are consumed by *C. idella* (Dibble and Kovalenko, 2009). The grass carp, as an economically significant herbivorous fish, has a wider global distribution and is becoming more widely recognized for its ecological contributions discussed (Li et al., 2023).

The Goldfish, *Carassius auratus* (Cypriniformes: Cyprinidae), is one of the ornamental fish species that is traded the most, internationally. It is native to Asian rivers and lakes, were most likely brought to Japan in 1502 by way of China. *C. auratus* is highly sought after ornamental cyprinid fish that is marketed in over 100 countries. At least 2000 years ago, these were first kept in China, where they were mainly reared for food (Brown et al., 2018). Goldfish normally grow to be 15 to 20 cm in length and have a lifespan of six to seven years. The ideal pH range for them is 5.5 to 7.0 (Blanco et al., 2018).

In addition to being a great source of vitamins and fibre, proanthocyanidins, a type of polyphenol, are abundantly found in the grape seeds (*Vitis vinifera*). These compounds can be employed as functional ingredients to treat a variety of health conditions by enhancing the body's natural bioprocesses. Since grape seeds are a byproduct of wine firms, they are readily available commercially. Grape seed extract (GSE) is richest in polyphenolic chemicals and it has anti-inflammatory, antibacterial effects, and it also

obstruct the lipid oxidation, an important perspective for food safety (Gupta et al., 2020). Due to the presence of proanthocyanidin in the grape seed extract it has gained the attention of the user and it influenced the health of organisms also. Proanthocyanidin has an antioxidant effect and it regulates the immune response with decreased platelet aggregation (Kwatra, 2020).

Grape seed extract or *V. vinifera* is a flavonoid polymer and polyphenolic in nature (Nazima et al., 2015), an antioxidant that kills viruses, bacteria, and inhibits programmed cell death or apoptosis (Gao et al., 2014). Phytochemicals have been used as healing additives in aquaculture, and they perform physiological function in aquatic animals (Zhu, 2020). In the winery and grape juice industry, *V. vinifera* production takes place. Phenolic compounds in *V. vinifera* include lipids, fatty acids, carbohydrates, amino acid, proanthocyanidin, and polymerized oligomers, etc. GSE also protects fish against DNA damage and excess free radicals formation. Additionally, it has to increase body weight, reduced immune-mediated injury, as well as oxidative spleen damage in fish. GSE supplemented diets in fish enhance antioxidant capacity and growth rate (Jahanbakhshi et al., 2023).

GSE proved to be a potent growth enhancer that improves basically the feed efficiency in fish and other livestock animals if appropriate dosages are incorporated in diets of animals (Mehrinakhi et al., 2021). Proanthocyanidins found in it has strong antioxidant, anti-inflammatory and it may act as digestive enzymes booster that ultimately leads to better growth and health of fish. Many studies proved an elevation in red blood cell count, haemoglobin, and other blood parameters after low-to-moderate GSE administration (Jahanbakhshi et al., 2023; Abdulrahman et al., 2013; Al-Atbee and Al-Niaeem, 2021)

Researchers have found *V. vinifera* potential in enhancing fish physiology and digestive capabilities, accessing the beneficial role of proanthocyanidins. But specifically, the effect of grape seed extract on the growth and immunity of *C. idella* and *C. auratus* in a system is not well studied before.

MATERIAL AND METHOD

Location

The present research was accomplished at Fisheries Research Farm located at Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture Faisalabad in a two month span period from 19-12-23 to 20-02-24.

Investigatory Species

Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) and Goldfish (*Carassius auratus*) was the experimental specimens used. Local Ethics Committee principles have been followed with ethical approval number 3301-04 dated 16/02/2024, University of Agriculture, Faisalabad.

Experimental Trial

150 fingerlings of both species *C. idella* and *C. auratus* with an average weight of 4.25-6.5g were taken from Fisheries Research Farm, Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad, and were acclimatized for 48 hours. Two groups of Grass Carp and two groups of Goldfish (experimental and control) were made with randomized aquarium placement of fishes for unbiased results in triplicates. Aquariums were provided with full aeration, and other water quality parameters were maintained throughout the experiment period.

Trial Diets

Grape seed extract was used as the experimental diet, according to 2.75% of the body weight of fishes, and 100% commercial basal diet was given to the control group of fishes. Commercially available grape seed extract powder (95% proanthocyanidins) was obtained from an e-commerce platform, Daraz, with brand name Scitonics, and added to the fish diet. Typical nutrient composition of GSE available is mentioned below in Table 1.

$$\text{Amount of feed/Day in grams} = \frac{\text{Total weight of fish samples} \times \text{Feeding rate at 2\% body weight}}{100} = 2.7$$

Table 1. Grape seed extract (GSE) nutrient composition

Parameter	Typical range (per 100g GSE powder)
Total polyphenols	70-90g gallic acid equivalent (GAE)
Proanthocyanidins extract	50-80g catechin equivalent
Moisture	3-8%
Ash	1-3%
Total sugars	<5
Proteins	<2
Lipids	<1

Blood Collection and Haematological Parameters

Blood samples from the caudal vein of fish were taken as samples at the end of the trial, kept in sterile tubes, and labeled accordingly for analysis. A hemocytometer was

used for total RBCs and WBCs counts with the standard protocol mentioned by Parida et al. (2011). One portion of the sample, treated with EDTA, was used to determine hematological parameters, and differential staining was performed to count leukocytes. The other portion was clotted, centrifuged, and stored for measuring total plasma protein and albumin. The other hematological parameters, such as MCV, MCHC, and MCH, were analyzed using the method followed by Saravanan et al. (2011).

Growth Parameters

Growth parameters such as length gain, weight gain, specific growth rate (SGR), and feed conversion ratio (FCR) were calculated.

Weight Gain (g) and Length Gain (cm) Calculation

Weight gain was calculated by subtracting the initial weight from the final weight, and Length was calculated by subtracting the initial length from the final length.

FCR and SGR Calculation

Feed conversion ratio (FCR) and Specific Growth Rate (SGR) was calculated by using the following formulas:

Feed Conversion Ratio = Feed given (dry weight)/ body weight gain (wet weight)

% SGR = $\ln(\text{final weight}) - \ln(\text{initial weight}) \div \text{time duration in days} \times 100$

Physicochemical Parameters of Water

Since physicochemical parameters play an important role in the survival of fish, all those major indicators were regulated and noted regularly during the whole period.

For the determination of pH, a Microprocessor pH meter (HANNA-HI-8424) was used after setting its range at the pH point. Water temperature and dissolved oxygen (DO) was recorded by using a microprocessor meter (HANNA-HI, 9146). The sensor of the meter was dipped into the water surface to directly measure the concentration of dissolved oxygen (DO).

Statistical Analysis

The data was subjected to statistical interference using Minitab software at the end of the research analysis. The results were compared to get the final interpretation by using two factor factorial in Completely Randomized Design (CRD)

RESULTS

Physio-chemical Parameters

Estimation of physio-chemical parameters of water quality is an essential indicator of fish health, as fish is an ectothermic chordate and is dependent on its

environment, i.e., water. Thus, the values for pH, DO, temperature, total hardness (bicarbonates and carbonates), and total alkalinity of water under T₀ and T₁ were noted throughout the period, and the average mean±SD was calculated and is shown in Table 2.

Table 2. Mean±SD of different physicochemical parameters

	pH	DO (mgL⁻¹)	Temperature (°C)	Carbonates (mgL⁻¹)	Bicarbonates (mgL⁻¹)	Total Alkalinity (mgL⁻¹)
T₀	7.79±0.3	7.61±2.1	28.11±2.8	115.7±16.8	120±9.5	145.4±7.9
T₁	7.2±0.4	6.0±0.5	27.0±1.5	70.0±14	79.0±6.9	120.0±6.6

±: Standard Deviation

Fish Growth Studies

Growth metrics of Grass Carp (*C. idella*) and Goldfish (*C. auratus*) fed with Grape seed extract (*V. vinifera*) was examined by accessing the following parameters, and are shown in Table 3 and Table 4.

Increase in the Weight (g) and the Fork Length (cm)

The increase in weight in Goldfish was recorded as 11.8 grams and 4.9 grams in grass carp (experimental group). At the start of the experiment, the average fork length of the *C. idella* was 2 cm, and at the end of the trial period, it was 3.17 cm, so the increase in fork length of *C. idella* was 1.17 cm. The average fork length of the *C. auratus* at the start of the experiment was 3 cm, and at the end of the trial period, it was 6.67 cm, so the increase in the fork length of the *C. auratus* was 3.67 cm.

Feed Conversion Ratio (FCR)

Feed conversion ratio evaluated the best performance of fingerlings in experimental group S2 (1.21±0.005) as compared to its performance in the control group of S2 (1.857 ±0.005). S1 also exhibited significant results in terms of FCR, as shown in Table 3.

Specific Growth Ratio (SGR) (%)

The specific growth rate (SGR) under the control group (T₀), S2 exhibited the lowest SGR (1.27±0.005), while S1 showed a comparatively higher value (1.72±0.007). In contrast, the experimental treatment (T₁) resulted in a marked increase in percentage

SGR for both species, reaching 4.03 ± 1.73 in S1 and 4.81 ± 2.04 in S2, as shown in Table 3.

Survival Rate

Survival Rate Percentage for *C. idella* and *C. auratus* was about 96 percent. Fish mortality for both species remained lowered throughout the trial period, specifically in the experimental group than in the control, as shown in Table 3.

Table 3. Mean \pm SD for growth performance parameters the *C. idella* (S₁) and *C. auratus* (S₂)

Parameters	T ₀		T ₁	
	S ₁	S ₂	S ₁	S ₂
Weight Gain	1.065 \pm 0.005	5.425 \pm 0.100	4.822 \pm 0.080	11.75 \pm 0.129
Fork Length Gain	0.625 \pm 0.129	1.708 \pm 0.228	1.025 \pm 0.115	3.585 \pm 0.081
FCR	2.022 \pm 0.016	1.857 \pm 0.005	1.703 \pm 0.002	1.211 \pm 0.005
SGR (%)	1.72 \pm 0.007	1.27 \pm 0.005	4.03 \pm 1.73	4.81 \pm 2.04
Survival Rate (%)	82	85	95	96.5

FCR: Feed conversion ratio, SGR: Specific growth rate; \pm : Standard Deviation

Table 4. Analysis of growth performance parameters of experimental treatments under CRD

Source	DF	Weight (g)	Fork Length (cm)	FCR	SGR
Specie	1	14540.58 ($<0.001^*$)	894.51 ($<0.001^*$)	81266.74 ($<0.001^*$)	0.48 (0.497 ^{ns})
Treatments	1	11612.62 ($<0.001^*$)	135.84 ($<0.001^*$)	62754.81 ($<0.001^*$)	22.13 ($<0.001^*$)
Specie*Treatments	1	751.20 ($<0.001^*$)	135.84 ($<0.001^*$)	71452.83 ($<0.001^*$)	0.44 (0.517 ^{ns})
Error (residual sum of square)	12				
Total (N-1)	15				

Values represent F-statistics with corresponding p-values in parentheses. Significant effects are observed at $p < 0.05$. \pm : Standard Deviation; * = significant, ns = not-significant

Blood and Immunological Parameters

Immunological parameters like red blood cell (RBCs) count, white blood cell (WBCs) count, haemoglobin, mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin concentration (MCHC), lymphocyte, monocyte, granulocyte, and PLT were accessed and are shown in Table 5.

Table 5. Mean±SD for the Blood Parameters and Immunity of *C. idella* (S₁) and *C. auratus* (S₂)

Parameters	T ₀		T ₁	
	S ₁	S ₂	S ₁	S ₂
RBCs Count (RBCs×10⁶ μL)	1.25±0.25	2.85±0.05	11.75±1.639	9.8125±0.205
Hb Count (g/dl)	1.317±0.157	1.458±0.334	10.2916±0.293	8.041±0.271
MCV Level (fl)	109.75±0.75	87.036±0.128	149.33±0.781	105.11±0.071
MCH (pg)	29.83±0.463	26.193±0.351	39.95±0.513	29.8±0.014
MCHC (g/dL)	25.79±0.624	25.643±0.01	34.616±0.722	36.43±0.018
Lymphocytes %	69.85±0.256	65±1.29	75.66±0.092	79.41±0.552
WBCs Count (WBCs×10³μL)	132.83±0.303	4.866±0.268	180.23±0.466	9.85±0.479
Monocytes%	2.15±0.189	3.11±0.206	3.75±0.095	5.0±0.224
Granulocytes %	28.03±0.149	26.01±0.226	30.83±0.395	33.1±0.071
PLT Count (mcL)	10.133±0.767	17.0±1.82	93.0±3.15	95.5±0.958

RBCs count was 10.5×10^6 and 7×10^6 for the *C. auratus* and *C. idella*, respectively. There was a significant difference in the WBCs count between the control group and the experimental group. WBCs count for *C. idella* was 46.8×10^3 and 4.6×10^3 for the *C. auratus*.

Hemoglobin (Hb) concentration for the *C. idella* was 1.5 g/dL initially and 10.75 g/dL at the end of the experiment, so the improvement in hemoglobin concentration was 9.25 g /dL. Similarly, hemoglobin concentration for *C. auratus* was 2 g/dL initially and 8.5 g/dL at the end of the trial period, so improvement in the hemoglobin concentration in the *C. auratus* was 6.5 g/dL. MCHC value 8.4 g/dL of the *C. idella*, and its value was 10.8 g / dL for the *C. auratus* after 90 days of trial period.

MCV level was 109 fl at the start for the *C. idella* and 149 fl after 90 days of experiment so improvement in the MCV level for the *C. idella* was 40 fl. For the *C. auratus* MCV level was 87.09 fl at the start and 105.33 fl at the end of trial period, so this improvement was 18.24 fl. The value of MCH was 8.4 g/dL for the *C. idella* and 11.94 g/dL for the *C. auratus* at the end of the experimental period. The HCT percentage was 7 % for the *C. idella* and 10.5% for the *C. auratus*, and MCH level was 13.6 pg for the *C. idella* and 3.72 pg for the *C. auratus* at the end of the trial period.

Similarly, lymphocytes, monocytes and platelets counts were higher in the experimental group of the *C. idella* and *C. auratus* that were fed with grape seed extract

in comparison to the control group that was fed with the commercial diet. Lymphocytes percentage was improved 5.7% in the *C. idella* and 15% in the *C. auratus*. Monocytes percentage was also improved 1.8% for the *C. idella* and 2% for the *C. auratus*. Improvement in the granulocytes percentage was 3.1% and 7% for the *C. idella* and *C. auratus*, respectively. Improvement was also seen in the platelets count, 79 mcL and 80 mcL for the *C. idella* and *C. auratus*, respectively.

DISCUSSION

This study was conducted to evaluate the effect of grape seed extract on growth and blood parameter of *Ctenopharyngodon idella* and *Carassius auratus*. Fish immunological responses, disease resistance, and growth performance could all be considerably improved by the use of *V. vinifera* extract as previously showed by Mehrinakhi et al. (2021). Mohammadi et al. (2021) also conducted a study using *V. vinifera* extract as fish food and resulted in increased growth performance in the experimental group of Common carp as in present study grape seed extract increased the growth performance of *C. idella* (4.9 g increase in weight) and *C. auratus* (11.8 g increase in weight), similar to the previous research findings.

Zhai et al. (2014) also documented improvements in growth metrics in *Oreochromis niloticus* fed with meals containing *V. vinifera* at varying concentrations for a 49 day period. The results are compatible with the current study of grape seed extract as it enhanced the growth (FCR, SGR, total length, fork length, etc.) of the *C. idella* and *C. auratus*, and it was shown that FCR, SGR, and fork length of the *C. idella* and *C. auratus* was significantly improved than the control group (T₀). Similarly, according to Huang et al. (2012), diets containing *V. vinifera* significantly enhanced growth characteristics in Crucian Carp (*Carassius carassius*).

Grape seed extract improved the immunity and blood parameters of the *C. idella* and *C. auratus*. Similar results were obtained by *Onchorhynchus mykiss* and *O. niloticus*. Arslan et al. (2018) and Mousavi et al. (2020) elucidated that when given meals containing *V. vinifera* or grape seed extract, Rainbow Trout (*O. mykiss*) and Nile Tilapia (*O. niloticus*) showed comparable outcomes. The effective technique for drawing out various polyphenols from *V. vinifera* is of higher significance for many investigators due to the advantageous influence of phenolic compounds on health enhancement and illness control in living organisms, as stated by Nowshetri et al. (2015).

The incorporation of grape seed extract in the animal dietary regimen offers nourishment with elevated levels of different food compounds such as protein, carbohydrate, and fat, and also a source of pharmacologically active compounds (Shiel et al. 2017). Despite the fact that growth improving impact of different substances in the grape seed (*V. vinifera*) extract is not fully committed, increased growth efficiency might take place by various processes. The amplification of digestive enzyme function after the use of different supplements might lead to improved growth capability in the *O. mykiss*. The fact is, grape seed (*V. Vinifera*) extract could enhance the functionality of some intestinal or digestive enzymes, as shown by Xie et al. (2012) and Laurent et al. (2007).

CONCLUSION

In conclusion, grape seed (*Vitis vinifera*) extract proved to be efficient in improving the growth metrics and blood parameters of two economically important carp species: *Ctenopharyngodon idella* (grass carp) and *Carassius auratus* (goldfish). Therefore, it is recommended to ameliorate the growth and immunity of the fish using easily accessible natural extracts found in food materials. But further studies are required to optimize the use of *V. Vinifera* extract on other fish species and make it accessible as a grape seed extract-supplemented diet to get the full potential of the aquaculture sector.

Conflict of interest

There is no conflict of interest stated by the authors.

REFERENCES

- Abdulrahman, N.M., Abbas, L.M., Darweesh, D.H.A., Aref, H.A.S., Ahmed, W.M.K., Babaker, Z.M.R., & Jabar, R.S. (2013). Effect of grape seed on some blood parameters and serum components of common carp. *Journal of Food Industrial Nutrition Science*, 3, 169-174.
- Al-Atbee, I.A., & Al-Niaeem, K.S. (2021). Efficiency of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Oil on Nonspecific Immune Response and Histopathological Effects in Common Carp *Cyprinus carpio* Challenged with *Pseudomonas aeruginosa*. *Biological Applied Environmental Research*, 5, 130-140. DOI: <https://doi.org/10.51304/baer.2021.5.1.130>
- Arslan, G., Sonmez, A.Y., & Yan, K.T. (2018). Effects of grape (*Vitis vinifera*) seed oil supplementation on growth, survival, fatty acid profiles, antioxidant contents and blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 49, 2256-2266. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.13686>
- Blanco, A.M., Sundarajan, L., Bertucci, J.I., & Unniappan, S. (2018). Why goldfish? Merits and challenges in employing goldfish as a model organism in comparative endocrinology research. *General and Comparative Endocrinology*, 257, 13-28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.02.001>

Brown, C., Wolfenden, D., & Sneddon, L. (2018). Goldfish (*Carassius auratus*). In: *Companion Animal Care and Welfare: UFAW Companion Animal Handbook*, 2, 467-478.
DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119333708.ch23>

Cudmore, B.M. & Mandrak, N.E. (2004). Biological synopsis of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2705 (7), 1-44.

Dibble, E.D. & Kovalenko, K. (2009). Ecological impact of grass carp: A review of the available data. *Journal of Aquatic Plant Management*, 47, 1-15.

Gao, Z., Liu, G., Hu, Z., Li, X., Yang, X., Jiang, B. & Li, X. (2014). Grape seed proanthocyanidin extract protects from cisplatin-induced nephrotoxicity by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Molecular Medicine Reports*, 9, 801-807.
DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.1883>

FAO. 2022. The state of the world's fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Garlock, T., Asche, F., Anderson, J., Bjørndal, T., Kumar, G., Lorenzen, K., & Tveteras, R. (2020). A global blue revolution: Aquaculture growth across regions, species, and countries. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28, 107-116.
DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1678111>

Gupta, M., Dey, S., Marbaniang, D., Pal, P., Ray, S., & Mazumder, B. (2020). Grape seed extract: Having a potential health benefits. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1205-1215.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04113-w>

Hassan, H.U., Ali, Q.M., Ahmad, N., Masood, Z., Hossain, M.Y., Gabol, K., Khan, W., Hussain, M., Ali, A., Attaullah, M., & Kamal, M. (2021). Assessment of growth characteristics, survival rate and body composition of Asian sea bass (*Lates calcarifer*, Bloch 1790) under different feeding rates in closed aquaculture system. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 1324-1330.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.056>

Huang, G., Luo, S. & Zeng, X. (2012). Effects of plant extract from grape seed on growth and composition of muscles of hybrid crucian carp. *Fisheries Science*, 31, 433-436.

Jahanbakhshi, A., Pourmozaffar, S., Mozanzadeh, M.T., Adeshina, I., & Vega Heredia, S. (2023). Dietary effect of grape seed proanthocyanidin extract on growth performance, serum biochemical parameters, skin mucosal immune response, and antioxidant capacity in goldfish. *Annals of Animal Science*, 23, 215-223. DOI: <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0059>

Kwatra, B. (2020). A review on potential properties and therapeutic applications of grape seed extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9, 2519-2540.

Laurent, C., Besançon, P., & Caporiccio, B. (2007). Flavonoids from a grape seed extract interact with digestive secretions and intestinal cells as assessed in an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. *Food Chemistry*, 100, 1704-1712. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.016>

Li, L., Balto, G., Xu, X., Shen, Y., & Li, J. (2023). The feeding ecology of grass carp: A review. *Reviews in Aquaculture*, 15(4), 1335-1354. DOI: <https://doi.org/10.1111/raq.12777>

- Mehrinakhi, Z., Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Moghadam, M.S., & Dawood, M.A. (2021). Extract of grape seed enhances the growth performance, humoral and mucosal immunity, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio*) against *Aeromonas hydrophila*. *Annals of Animal Science*, 21(1), 217-232.
- Mohammadi, Y., Kamangar, B.B., & Zarei, M.A. (2021). Effects of diets containing grape seed proanthocyanidin extract on the growth and oxidative capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 540, 736689. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736689>
- Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Oushani, A.K., Firouzmandi, M., & Mardani, K. (2020). Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(3), 777-786. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00716-4>
- Nazima, B., Manoharan, V., & Miltonprabu, S. (2015). Grape seed proanthocyanidins ameliorate cadmium-induced renal injury and oxidative stress in experimental rats through the upregulation of nuclear related factor 2 and antioxidant responsive elements. *Biochemistry and Cell Biology*, 93, 210-226. DOI: <https://doi.org/10.1139/bcb-2020-0070>
- Nowshetri, J.A., Bhat, Z.A., & Shah, M.Y. (2015). Blessings in disguise: Bio-functional benefits of grape seed extracts. *Food Research International*, 77, 333-348. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.026>
- Parida, S.P., Dutta, S.K., & Pal, A. (2011). Hematological and plasma biochemistry in *Psammodon blanfordianus* (Sauria: Agamidae). *Complementary Clinical Pathology*, 21, 1387-1394. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1303-7>
- Pullin, R.S. (2006). Genetic resources for aquaculture: Status and trends. In: Bartley, D.M., Harvey, B.J. & Pullin, R.S.V. (eds). *Workshop on Status and Trends in Aquatic Genetic Resources: A Basis for International Policy*. FAO Fisheries Proceedings, 109-143p.
- Rafique, M., & Khan, N.U.H. (2012). Distribution and status of significant freshwater fishes of Pakistan. *Record of the Zoological Survey of Pakistan*, 21, 90-95.
- Saravanan, M., Kumar, K.P., & Ramesh, M. (2011). Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3), 206-211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.04.002>
- Shiel, B.P., Hall, N.E., Cooke, I.R., Robinson, N.A., Stone, D.A., & Strugnell, J.M. (2017). The effect of commercial, natural and grape seed extract-supplemented diets on gene expression signatures and survival of greenlip abalone (*Haliotis laevis*) during heat stress. *Aquaculture*, 479, 798-807. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.025>
- Stickney, R.R., & Gatlin, D.M. (2022). *Aquaculture: An Introductory Text*, 115-131p. DOI: <https://doi.org/10.1079/9781800621145.0000>
- Subasinghe, R., Soto, D., & Jia, J. (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 2-9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01002.x>

Xie, L.N., Mao, T.T., Liu, C., Jiang, L.S., Guo, Y.Q., & Fang, L.Y. (2012). Effect of grape seed proanthocyanidins on enzyme activity, relative weight of intestinal organs and routine blood test for weaned piglets. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 27, 17-19.

Zhai, S.W., Lu, J.J., & Chen, X.H. (2014). Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Italian Journal of Animal Science*, 13(3), 3357.

DOI: <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3357>

Zhu, F. (2020). A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. *Aquaculture*, 526, 735422. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735422>



Investigation of the Probiotic Properties of Some Cattle-Origin Bacterial Isolates (*Lactobacillus* spp., *Enterococcus faecium*, and *Escherichia coli*)

Emine ÇAKIRTAŞ^{1*} , Timur GÜLHAN¹ 

¹Ondokuz Mayıs University, Department of Veterinary Microbiology, Samsun, Türkiye

*Correspondence: emine.cakirtas@hotmail.com

Received: 24.11.2025

Accepted: 15.12.2025

Published: 25.12.2025

How to Cite: Çakirtaş, E., & Gülhan, T. (2025). Investigation of the Probiotic Properties of Some Cattle-Origin Bacterial Isolates (*Lactobacillus* spp., *Enterococcus faecium*, and *Escherichia coli*). *VZS*, 1(2), 185–200. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-30>

Abstract: In this study, *Lactobacillus* spp. (56 isolates), *Enterococcus faecium* (25 isolates), and *Escherichia coli* (33 isolates) were isolated from bovine ceca, and their probiotic properties were investigated in vitro. The isolates were evaluated for bile salt tolerance at different concentrations (0.6% and 1.5%), survival rates at pH=2 and pH=7, cell surface hydrophobicity, antibacterial activity against the *E. coli* K99 strain, and susceptibility to six antibiotics from five different classes (ampicillin, trimethoprim–sulfamethoxazole, neomycin, enrofloxacin, amoxicillin-clavulanic acid, and tetracycline). All *E. faecium* and *E. coli* isolates, as well as all but two *Lactobacillus* spp. isolates, were able to grow at 0.6% bile concentration. At 1.5% bile concentration, all *E. coli* isolates and all but two *Lactobacillus* spp. and one *E. faecium* isolate exhibited growth. The viability rates at pH=2 were determined as 34–52% for *Lactobacillus* spp. (14 isolates), 35% for *E. faecium* (1 isolate), and 34–55% for *E. coli* (4 isolates). Hydrophobicity was observed in 19 *Lactobacillus* spp., 14 *E. faecium*, and 14 *E. coli* isolates, respectively, while none of the isolates exhibited antibacterial activity against the *E. coli* K99 strain. Ampicillin was identified as the antibiotic to which the isolates showed the highest resistance, with rates of 92.85% for *Lactobacillus* spp., 96% for *E. faecium*, and 100% for *E. coli*. In conclusion, based on their tolerance to bile salts and low pH, hydrophobic properties, and antibiotic resistance profiles, it was revealed that especially the *Lactobacillus* spp. M22 isolate possesses a high potential for use as a probiotic candidate.

Keywords: *E. coli*, *E. faecium*, *Lactobacillus* spp., probiotic, cow

INTRODUCTION

The term *probiotic*, derived from the Greek words pro (for) and bios (life), was first used by Vergin (1954) in the sense of ‘for life’. The concept was introduced into the scientific literature by Lilly and Stillwell (1965), who defined it as a microbial substance produced by one microorganism that stimulates the growth of another. Later, Parker (1974) described probiotics as organisms and substances that contribute to the intestinal microbial balance a definition quite close to the current understanding. In 2001, the FAO/WHO expert committee defined probiotics as “live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host,” a definition that

has since gained wide acceptance (FAO/WHO, 2002). Today, probiotics include bacterial species such as *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus thermophilus*, and *Escherichia coli* Nissle 1917, as well as yeast species such as *Saccharomyces boulardii* (McFarland and Meta, 2006; Hossain et al., 2012). Probiotics exert their effects in the gastrointestinal tract through mechanisms such as competitive inhibition against pathogens, production of antimicrobial substances, enhancement of intestinal barrier integrity, and modulation of the immune system (Bermudez-Brito et al., 2012). In animal production, the use of probiotics has gained importance, particularly in intensive livestock systems, due to the increasing demand for productivity and the restrictions on antibiotic use. Studies have demonstrated that probiotic supplementation in cattle can positively influence milk yield (Nocek and Kautz, 2006; Boyd et al., 2011), body weight gain (Frizzo et al., 2011), and feed conversion efficiency (Jatkauskas and Vrotniakiene, 2010). Additional benefits such as improved rumen fermentation, enhanced immune response, and reduced disease incidence have also been reported (Desnoyers et al., 2009; Timmerman et al., 2005).

This study was conducted to investigate the *in vitro* probiotic potential of cattle-derived *Lactobacillus* spp., *E. faecium*, and *E. coli* isolates. The isolates were evaluated in terms of bile and pH tolerance, cell surface hydrophobicity, bacteriocin production, antimicrobial activity, and antibiotic resistance profiles. Based on the obtained results, their suitability for use as probiotics was assessed. Determining isolates with strong probiotic potential is particularly important for promoting healthy livestock production systems and reducing antibiotic usage.

MATERIAL AND METHOD

Sample Collection and Bacterial Isolation

In this study, cecal samples were collected from 25 clinically healthy cattle in slaughtered located in Suluova (Amasya) and Bafra (Samsun), Türkiye. Samples were aseptically transferred into sterile containers and transported under cold-chain conditions to the Microbiology Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Ondokuz Mayıs University. Mucosal scrapings were homogenized in 50 mL of physiological saline (PS), vortexed, and serially processed. A 0.1 mL aliquot from each sample was spread, in triplicate, onto three selective media. For the isolation of *Lactobacillus* spp., samples were

plated onto MRS agar and incubated anaerobically at 35°C for 48 h. Colonies exhibiting Gram-positive rod morphology and catalase-negative reactions were identified as presumptive *Lactobacillus* isolates, purified, and stored at -20°C in glycerol-supplemented MRS broth (Victor et al., 2011). For the isolation of *Enterococcus faecium*, samples were streaked onto Bile Esculin Agar (BEA) and incubated aerobically at 37°C for 24 h. Black colonies showing Gram-positive coccoid morphology and catalase negativity were considered presumptive *E. faecium* and stored in glycerol-enriched Tryptic Soy Broth (TSB) (Strompfová et al., 2004). For the isolation of *Escherichia coli*, Eosin Methylene Blue (EMB) agar was used. Colonies with a metallic green sheen, Gram-negative rod morphology, catalase positivity, and oxidase negativity were identified as presumptive *E. coli* isolates. These were purified and preserved at -20°C in glycerol-supplemented TSB (Baker et al., 2013).

DNA Extraction

Genomic DNA of presumptive *Lactobacillus* spp., *E. faecium*, and *E. coli* isolates was extracted using the boiling method. A loopful of fresh colonies cultured on MRS or TSA was suspended in 500 µL distilled water, boiled at 100°C for 10 min, and centrifuged at 11000 × g for 3 min. Supernatants were stored at -20°C until PCR analysis (Pasayo et al., 2019).

Genotypic Identification

Species-level confirmation was performed using PCR with species-specific primers. Extracted DNA samples were amplified under appropriate cycling conditions to target the diagnostic gene regions for *Lactobacillus* spp., *E. faecium*, and *E. coli*. Primer sequences and expected amplicon sizes are shown in Table 1 (Markiewicz & Biedrzycka, 2005; Jackson et al., 2004; Abd El-Razik et al., 2010).

Table 1. Oligonucleotide primer sequences used in the study

Primer	Primer sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)	References
Lacto F	TGGAAACAGGTGCTAATACCG	230	Markiewicz and Biedrzycka (2005)
Lacto R	CCATTGTGGAAGATTCCC		
FM1	GAAAAACAATAGAAGAATTAT	215	Jackson et al. (2004)
FM2	TGCTTTTTGAATTCTTCTTA		
Eco 2083	GCTTGACACTGAACATTGAG	662	Abd El-Razik et al. (2010)
Eco 2745	GCACTTATCTCTCCGCATT		

Bile Tolerance Test

Bile tolerance was assessed by supplementing MRS broth (for *Lactobacillus* spp.) and TSB (for *E. faecium* and *E. coli*) with natural bovine bile at final concentrations of 0.6% and 1.5%. Isolates were inoculated and incubated at 35 °C for 48 h (*Lactobacillus*) or 24 h (*E. faecium* and *E. coli*). Following incubation, cultures were serially diluted to 10^{-9} . From the 10^{-5} , 10^{-6} , and 10^{-7} dilutions, 100 μ L samples were plated onto MRS agar for *Lactobacillus* spp. isolates and onto TSA for *E. faecium* and *E. coli* isolates. Plates were incubated under appropriate conditions. Bacterial growth was evaluated after incubation, and bile tolerance was determined (Strompfova et al., 2004).

pH Tolerance Test

To determine the pH tolerance of the isolates, MRS broth was used for *Lactobacillus* spp., and TSB was used for *E. faecium* and *E. coli*. The pH was adjusted to 2 and 7 using HCl and NaOH solutions. Bacterial suspensions standardized to 0.5 McFarland were inoculated and incubated anaerobically (for *Lactobacillus*) or aerobically (for *E. faecium* and *E. coli*). After incubation, serial dilutions (10^{-1} – 10^{-3} for pH=2; 10^{-5} – 10^{-7} for pH=7) were plated and viable counts determined to assess acid resistance (Strompfova et al., 2004).

Hydrophobicity of the Isolates

To determine the hydrophobicity of the isolates, TSA and MRS agars were prepared with the addition of 0.03% Congo Red. *Lactobacillus* spp. were plated onto MRS agar, whereas *E. faecium* and *E. coli* were plated onto TSA and incubated under appropriate. After incubation, isolates forming pink–red colonies were classified as hydrophobic, and colorless colonies as non-hydrophobic (Sharma et al., 2006).

Bacteriocin Extraction

Lactobacillus spp. isolates were inoculated into MRS broth, *E. faecium* and *E. coli* isolates were inoculated into TSB and incubated under appropriate conditions. The cultures were centrifuged at 9000 rpm for 30 minutes to obtain the supernatants. For bacteriocin precipitation, ammonium sulfate was added to the supernatants at concentrations ranging from 40% to 80% and stirred at +4°C for 24 hours. The precipitates obtained at the most effective concentration were centrifuged at 14.000 rpm for 1 hour, dissolved in physiological saline, and prepared for subsequent analyses (Foulquie Moreno et al., 2003).

Determination of Antibacterial Activity

Antibacterial activity of the extracted bacteriocins was tested against *E. coli* K99 using the agar diffusion method. Mueller–Hinton Agar (MHA) plates were prepared, wells were punched into the agar, and bacteriocin suspensions were loaded into the wells. A 100 µg/mL ofloxacin disk served as the positive control. Plates were incubated, and inhibition zones were measured using a caliper (Tag and McGiven, 1971; Reinhamier et al., 1990).

Antibiotic Susceptibility Testing

Antibiotic susceptibility was determined using the disk diffusion method. MRS agar was used for *Lactobacillus* spp. and MHA for *E. faecium* and *E. coli*. Antibiotic disks included ampicillin (10 µg), trimethoprim–sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), neomycin (30 µg), enrofloxacin (5 µg), amoxicillin–clavulanic acid (20/10 µg), and oxytetracycline (30 µg). Plates were incubated following incubation, the diameters of the inhibition zones were measured and evaluated according to CLSI guidelines (CLSI 2020). Isolates were classified as susceptible (S), intermediate (I), or resistant (R).

RESULTS

Bacterial Isolation and Genotypic Identification

A total of 67 *Lactobacillus* spp., 47 *Enterococcus faecium*, and 33 presumptive *Escherichia coli* colonies were initially isolated. Colonies were initially identified based on their morphological and biochemical characteristics. PCR-based genotypic identification produced clear, species-specific amplicons of 230 bp for *Lactobacillus* spp., 215 bp for *E. faecium*, and 662 bp for *E. coli*. Based on these results, 56 *Lactobacillus* spp., 25 *E. faecium*, and 33 *E. coli* isolates were confirmed and stored at –20 °C for further analysis. PCR images are shown in Figure 1, Figure 2, and Figure 3.

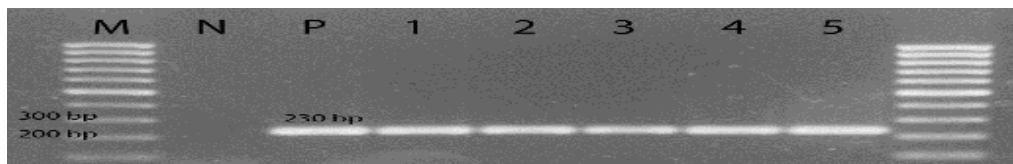


Figure 1. PCR image of *Lactobacillus* spp. (M: Marker, P: Positive Control, N: Negative Control)

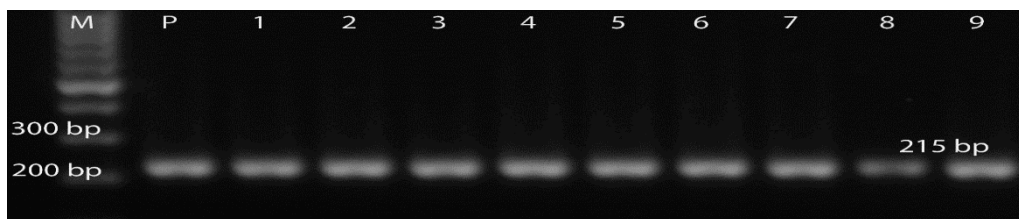


Figure 2. PCR image of *E. faecium* (M: Marker, P: Positive Control)



Figure 3. PCR image of *E. coli* (M: Marker, P: Positive Control, N: Negative Control, 1-12: Positive *E. coli* isolates)

Bile Tolerance Test Results

Bile tolerance analysis showed that two *Lactobacillus* isolates (M12, M14) and one *E. faecium* isolate (B22) exhibited no growth at either bile concentration. One *E. faecium* isolate (B14) grew at 0.6% bile but failed to grow at 1.5%. All *E. coli* isolates were able to grow at both bile concentrations.

At 0.6% bile, the lowest viability among *Lactobacillus* spp. was observed in isolate M6 (77%), whereas the highest was recorded for M54 (100%). For *E. faecium*, viability ranged from 87% (B14) to 99% (B13). Among *E. coli* isolates, viability values varied between 93% (E10) and 99% (E3).

At 1.5% bile, *Lactobacillus* spp. viability ranged from 76% (M6) to 98% (M25). *E. faecium* isolates showed viability values between 82% (B12) and 97% (B2). For *E. coli*, the lowest viability was recorded for E1 (85%) and the highest for E19 (99%).

Overall, all isolates tested in this study maintained high survival levels at both 0.6% and 1.5% bile salt concentrations. The isolates M2, M8, M9, M10, M13, M16, M23, M25, M29, M30, M32, M33, M35, M36, M38, M41, M43, M50, M54, M55, B2, B3, B5, B8, B13, B17, B18, B19, B24, E4, E9, E14, E15, E17, E19, E22, E23, E25, E27, E28, E29, E30, E31, E32, and E33 exhibited viability levels above 95% at both bile concentrations.

Acid Tolerance Test

Table 2. Acid tolerance test results of isolates for pH=7 (log cfu/ml)

İzolat No	log kob/ml	İzolat No	log kob/ml	İzolat No	log kob/ml	İzolat No	log kob/ml
M1	8.00	M29	9.11	M56	8.54	E3	8.70
M2	8.46	M30	8.33	B1	9.50	E4	8.84
M3	8.85	M31	8.15	B2	8.47	E5	8.97
M4	8.77	M32	8.22	B3	8.96	E6	8.86
M5	8.85	M33	8.68	B4	8.79	E7	8.74
M6	8.77	M34	8.82	B5	8.89	E8	8.92
M7	8.08	M35	8.85	B6	9.45	E9	8.76
M8	8.14	M36	9.00	B7	9.50	E10	8.86
M9	8.98	M36	9.00	B8	8.79	E11	9.00
M10	8.85	M37	8.38	B9	8.96	E12	8.82
M11	8.85	M38	8.96	B10	8.77	E13	8.92
M12	8.11	M39	7.81	B11	8.98	E14	8.95
M13	8.83	M40	8.71	B12	8.33	E15	8.94
M14	7.46	M41	8.79	B13	7.93	E16	8.82
M15	8.62	M42	9.17	B14	8.09	E17	8.68
M16	7.30	M43	8.85	B15	8.96	E18	8.84
M17	9.19	M44	8.94	B16	9.12	E19	9.00
M18	9.23	M45	9.18	B17	8.97	E20	8.90
M19	8.94	M46	8.40	B18	8.90	E21	8.96
M20	9.31	M47	9.49	B19	8.74	E22	8.85
M21	8.75	M48	9.21	B20	9.27	E23	8.70
M22	8.52	M49	8.78	B21	8.24	E24	8.94
M23	9.00	M50	8.85	B22	7.49	E25	8.75
M24	8.84	M51	8.96	B23	9.12	E26	8.70
M25	8.47	M52	8.94	B24	8.77	E27	8.89
M26	8.93	M53	8.78	B25	8.68	E28	8.88
M27	8.84	M54	8.81	E1	8.93	E29	8.83
M28	8.52	M55	8.88	E2	8.88	E30	8.99
E33	8.83	E32	8.98	E31	9.00		

M: *Lactobacillus* spp., B: *E. faecium*, E: *E. coli*

Acid tolerance was assessed by determining isolate viability following incubation at pH=2 and pH=7. At pH=2, a total of 14 *Lactobacillus* spp., one *E. faecium*, and four *E. coli* isolates demonstrated survival. Survival rates were as follows: *Lactobacillus* spp., 34 (M40) -52(M1)%; *E. faecium*, 35%(B11); and *E. coli*, 34 (E1)-55 (E20)%. Among all isolates, the *E. coli* strain E20 exhibited the highest survival rate under acidic conditions. The isolates that remained viable at pH=2 were M1, M2, M3, M7, M18, M22, M26, M29, M32, M40, M51, M52, M54, M55, B11, E1, E19, E20, and E27. The survival rates of all isolates were calculated using their log CFU/mL values at pH=7 as the reference. These reference values are presented in Table 2.

Hydrophobicity Test

Hydrophobicity was assessed using Congo Red agar, and isolates producing pink–red colonies were classified as hydrophobic. The overall hydrophobicity rates were as follows: *Lactobacillus* spp., 33.92%; *E. faecium*, 56%; and *E. coli*, 42.42%. The isolates identified as hydrophobic were M1, M4, M8, M19, M20, M21, M22, M23, M24, M29, M36, M39, M42, M46, M48, M49, M50, M54, M56, B1, B2, B3, B6, B7, B8, B9, B11, B13, B15, B17, B18, B20, B25, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14, E15, E16, E17, E18, and E19.

Antibacterial Activity of Bacteriocins

The antagonistic effect of bacteriocins obtained from the isolates against *E. coli* K99 was evaluated using the Disk Diffusion Agar method. However, since no inhibition zones were observed, it was determined that none of the bacteriocins exhibited antibacterial activity.

Antibiotic Susceptibility Profile

The antibiotic susceptibility profiles of the isolates were determined using the Kirby–Bauer disk diffusion method with ampicillin (10 µg), amoxicillin–clavulanic acid (20/10 µg), oxytetracycline (30 µg), trimethoprim–sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), enrofloxacin (5 µg), and neomycin (30 µg) antibiotic disks. Among the *Lactobacillus* spp. isolates, the highest resistance rates were observed against ampicillin (93%) and trimethoprim–sulfamethoxazole (89%), with most isolates exhibiting resistance to these two antibiotics. In contrast, 75% of the isolates were found to be sensitive to oxytetracycline. Evaluation of multidrug resistance revealed that 91.07% of the 56 *Lactobacillus* spp. isolates were resistant to three or more antibiotics. Among the 51 isolates exhibiting multidrug resistance, 3 (5.35%) were resistant to six antibiotics, 7 (12.5%) to five antibiotics, 20 (35.71%) to four antibiotics, and 18 (32.14%) to three antibiotics.

For *Enterococcus faecium*, the highest resistance was detected against ampicillin (100%) and trimethoprim–sulfamethoxazole (60%), whereas all isolates were sensitive to amoxicillin–clavulanic acid. Assessment of multidrug resistance showed that 24% of the 25 *E. faecium* isolates were resistant to three or more antibiotics. Of the six isolates exhibiting multidrug resistance, three (12%) were resistant to four antibiotics and three (12%) to three antibiotics.

In *Escherichia coli* isolates, the highest resistance rate was recorded for ampicillin (100%), while the lowest resistance was observed for enrofloxacin (9.1%) and amoxicillin–clavulanic acid (3%). Evaluation of multidrug resistance revealed that 12.12% of the 33 *E. coli* isolates were resistant to three or more antibiotics. Among the four multidrug-resistant isolates, two (6.06%) were resistant to five antibiotics and two (6.06%) to four antibiotics.

Based on multiple in vitro assays, isolate M22 (*Lactobacillus* spp.) demonstrated a combination of favorable traits. A summary is shown in Table 3.

Table 3. Key probiotic properties of *Lactobacillus* spp. isolate M22

Parameters	Result for M22
Acid tolerance (pH=2)	42.28% viability
Bile tolerance 0.6%	91.93% viability
Bile tolerance 1.5%	89.23% viability
Cell surface hydrophobicity	Positive
Antibiotic profile	AMP (R), AMC (R), ENR (R), OTC (R), NEO (R), SXT (R)

DISCUSSION

In this study, two *Lactobacillus* isolates (M12, M14) and one *Enterococcus faecium* isolate (B22) exhibited no growth at either bile concentration tested, while isolate B14 demonstrated sensitivity only at 1.5% bile. In contrast, all *Escherichia coli* isolates tolerated both bile concentrations. These findings are consistent with Liu et al. (2019), who reported that all *Lactobacillus* isolates and 75% of *Enterococcus* spp. obtained from panda feces were resistant to 0.3% bile salt. Previous research has also shown that cattle-derived *Lactobacillus* spp. can survive in 0.3% bile (Jobby et al., 2020), and that most LAB strains grow in bile concentrations ranging from 0.05% to 0.3% (Brashears et al., 2003). Similarly, *Bacillus* spp. isolated from cattle exhibited variable resistance to 0.3% bile salt (Naeem et al., 2018). Kassa et al. (2024) further demonstrated that LAB isolates from local chickens exhibited strong survival at 0.3% and 0.6% bile after 12-24 hours of incubation. Collectively, these results highlight that bile tolerance is species- and strain-dependent and confirm that resistance to bile salts is a key criterion for selecting potential probiotic candidates. Regarding acid tolerance, 14 *Lactobacillus* isolates survived exposure to pH=2, with viability ranging from 34-52%. Only one *E. faecium* isolate remained viable, whereas four *E. coli* isolates demonstrated acid tolerance with viability between 34-55%. These results indicate that a large proportion of isolates were sensitive

to highly acidic conditions. Comparable findings were reported by Rodriguez-Palacios et al. (2009), who observed that none of 106 bovine LAB isolates grew at pH 2. Likewise, Adetoye et al. (2018) found that only four *Lactobacillus* strains out of 88 bovine LAB isolates survived at pH 3. In contrast, Kassa et al. (2024) noted exceptionally high survival rates (83.6-97.1%) for LAB isolates exposed to pH 2 for 3–6 hours. Gupta et al. (2023) reported that only 27 of 90 LAB isolates tolerated pH 3, whereas Wu et al. (2025) found that eight of thirteen LAB isolates demonstrated low-pH tolerance. Additionally, Zhang et al. (2025) demonstrated significant interspecies differences in acid-adaptation capacity among *Lactobacillus* spp., with *L. crispatus* showing the highest resilience in simulated gastric fluid over 24 hours. Given that survival in acidic environments is essential for passage through the stomach, acid tolerance remains a critical parameter in probiotic strain selection. An important properties of probiotics is their ability to adhesion to host epithelial cells (Yu and Tsen, 1993; Lin et al., 2007). Wadstroum et al. (1987) noted that hydrophobic interactions may be necessary for colonizing the mucus layer. Zareba et al. (1997) suggested that high cell surface hydrophobicity plays a role in bacterial adhesion to epithelial cells. In the present study, hydrophobicity rates were 33.9% for *Lactobacillus* spp., 56% for *E. faecium*, and 42% for *E. coli*. These results are comparable to those reported by Grajek et al. (2016) for calf-derived *Lactobacillus* (26.9-41.1%) and *Enterococcus* (28.4-34.9%) isolates. Additionally, Marchwińska et al. (2022) found that among 41 LAB isolates from pig feces, seven exhibited high and eleven exhibited moderate hydrophobicity (22-63%). Qin et al. (2022) reported nearly 100% hydrophobicity in *Lactobacillus* isolates obtained from horse feces. Such variability across studies indicates that hydrophobicity is strongly strain-dependent and influenced by the host species of origin. No antibacterial activity was observed against *E. coli* K99 for any of the bacteriocin preparations tested. Liu et al. (2019) previously reported antimicrobial effects among panda-derived isolates against ETEC, *S. aureus*, and *Salmonella*, although these effects were attributed to non-proteinaceous factors. Adetoye et al. (2018) likewise reported inhibitory effects from bovine-derived lactobacilli that were not linked to bacteriocin production. Puphan et al. (2015) showed that 15 bovine LAB isolates inhibited *E. coli* ATCC 25923 and *Salmonella* Typhimurium. Bacteriocin production is known to be highly sensitive to environmental and cultural conditions including growth medium, pH, incubation duration, temperature, and inoculum density.

Co-culture strategies and quorum-sensing regulation can significantly enhance bacteriocin yields in LAB (He et al., 2025). Classical studies have shown that even minor alterations in growth conditions may reduce bacteriocin production by up to two orders of magnitude (Reeves, 1965). Therefore, the absence of observable antibacterial activity in this study may reflect insufficient bacteriocin concentration or unfavorable production conditions. Antibiotic susceptibility patterns varied among isolates. For *Lactobacillus* spp., the highest resistance was observed against ampicillin (92.9%), whereas resistance to other antibiotics remained comparatively low. Conversely, Jobby et al. (2020) reported broad susceptibility in cattle-derived *Lactobacillus* strains. Qin et al. (2022) reported that horse-derived isolates were susceptible to ampicillin and tetracycline but resistant to gentamicin and enrofloxacin. For *E. faecium*, resistance was highest against ampicillin (96%), trimethoprim–sulfamethoxazole (56%), and oxytetracycline (20%), consistent with literature describing substantial variability in antimicrobial resistance depending on host and region (Manu et al., 2003; Thal et al., 1995; De Jong et al., 2018). Among *E. coli* isolates, ampicillin resistance was universal (100%), consistent with previous reports from multiple countries and animal hosts (Marinho et al., 2014; Sipahi, 2023; Makita et al., 2016). Since antibiotic resistance represents a major safety consideration in probiotic selection, each candidate strain must be evaluated carefully for resistance traits and the potential for horizontal gene transfer.

CONCLUSION

In conclusion, the M22 strain, which performed successfully in all tests, was also resistant to six antibiotics. Therefore, it represents both a potential probiotic candidate and a strain that requires further investigation regarding the transferability of its antibiotic resistance genes. When compared with the literature, some findings showed similarity while others differed. The limited data on probiotic isolation from cattle in our country underscores the significance of this study. It is recommended that the M22 strain be further evaluated through comprehensive *in vivo* and *in vitro* assays.

Acknowledgment

This study was supported by Ondokuz Mayıs University Rectorate, Scientific Research Projects (BAP) within the scope of the project numbered PYO.VET.1904.22.003 and produced from the doctoral thesis of Emine Çakırtaş.

Conflict of interest

There is no conflict of interest stated by the authors.

REFERENCES

Abd El-Razik, K.A., Abdelrahman, K.A., Ahmed, Y.F., Gomaa, A.M., and Eldebaky, H.A. (2010). Direct identification of major pathogens of the bubaline subclinical mastitis in Egypt using PCR. *The Journal of American Science*, 6(10), 652-660.

Adetoye, A., Pinloche, E., Adeniyi, B.A., & Ayeni, F.A. (2018). Characterization and anti-salmonella activities of lactic acid bacteria isolated from cattle faeces. *BMC Microbiology*, 18(1), 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1248-y>

Baker, S., Griffiths, C., & Nicklin, J. (2013). *Microbiology*. Nobel Akademik Yayıncılık. Ankara, 364 s.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174. DOI: <https://doi.org/10.1159/000342079>

Boyd, J., West, J.W., & Bernard, J.K. (2011). Effects of the addition of direct-fed microbials and glycerol to the diet of lactating dairy cows on milk yield and apparent efficiency of yield. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4616-4622. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3984>

Brashears, M.M., Jaroni, D., & Trimble, J. (2003). Isolation, selection, and characterization of lactic acid bacteria for a competitive exclusion product to reduce shedding of *Escherichia coli* O157: H7 in cattle. *Journal of Food Protection*, 66(3), 355-363. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.3.355>

CLSI. (2020). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests (Vol. M02)

De Jong, A., Simjee, S., El Garch, F., Moyaert, H., Rose, M., Youala, M., Dry, M., & EASSA Study Group. (2018). Antimicrobial susceptibility of *Enterococci* recovered from healthy cattle, pigs and chickens in nine EU countries (EASSA Study) to critically important antibiotics. *Veterinary Microbiology*, 216, 168-175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.010>

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., & Sauvant, D. (2009). Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1620-1632. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1414>

FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. Food and Agriculture Organization/World Health Organization.

Foulquié Moreno, M.R., Callewaert, R., Devreese, B., Van Beeumen, J., & De Vuyst, L. (2003). Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by *Enterococci* from different sources. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 214-229. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01823.x>

- Frizzo, L.S., Zbrun, M.V., Soto, L.P., & Signorini, M.L. (2011). Effects of probiotics on growth performance in young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), 147-156.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.06.009>
- Grajek, K., Sip, A., Foksoiewicz-Flaczyk, J., Dobrowolska, A., & Wita, A. (2016). Adhesive and hydrophobic properties of the selected LAB isolated from gastrointestinal tract of farming animals. *Acta Biochimica Polonica*, 63(2), 311-314.
DOI: https://doi.org/10.18388/abp.2015_1128
- Gupta, M., Raut, R., Manandhar, S., Chaudhary, A., Shrestha, U., Dangol, S., Sudarshan, G.S., Budha, K.R., Karki, G., Díaz-Sánchez, S., Gortazar, C., de la Fuente, J., Rajbhandari, P., Manandhar, P., Napit, R., & Karmacharya, D. (2023). Identification and characterization of probiotics isolated from indigenous chicken (*Gallus domesticus*) of Nepal. *PloS one*, 18(1), e0280412. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280412>
- He, W., Zeng, Y., Shen, J., Li, K., Zhou, Y., Zeng, X., & Pan, D. (2025). Enhanced bacteriocin production by lactic acid bacteria by co-culture of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Limosilactobacillus fermentum*. *Food Bioscience*, 68, 106358.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106358>
- Hossain, M.E., Ko, S. Y., Kim, G.M., Firman, J.D., & Yang, C.J. (2012). Evaluation of probiotic strains for development of fermented *Alisma canaliculatum* and their effects on broiler chickens. *Poultry Science*, 91(12), 3121–3131. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02333>
- Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., & Barrett, J.B. (2004). Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of *Enterococci*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8), 3558-3565. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.42.8.3558-3565.2004>
- Jatkauskas, J., & Vrotniakiene, V. (2010). Effects of probiotic dietary supplementation on diarrhoea patterns and faecal microbiota of early weaned calves. *Veterinari Medicina*, 55(10), 494-503. DOI: <https://doi.org/10.17221/2939-VETMED>
- Jobby, R., Flora, Y., Bora, A., Jha, P., Kawalkar, H., & Desai, N. (2020). Exploring probiotic activity of *Lactobacillus* sp. isolated from indigenous breeds of cattle milk and fecal samples in Bhatan Village, MH, IN. *Current Microbiology*, 77(7), 1184-1190.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01910-x>
- Kassa, G., Alemayehu, D., & Andualem, B. (2024). Isolation, identification, and molecular characterization of probiotic bacteria from locally selected Ethiopian free range chickens gastrointestinal tract. *Poultry Science*, 103(2), 103311.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103311>
- Lilly, D.M., & Stillwell, R.H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747>
- Lin, W.H., Yu, B., Jang, S.H., & Tsen, H.Y. (2007). Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. *Anaerobe*, 13(3-4), 107-113.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.04.006>

- Liu, Q., Ni, X., Wang, Q., Peng, Z., Niu, L., Xie, M., Lin, Y., Zhou, Y., Sun, H., Pan, K., Jing, B., & Zeng, D. (2019). Investigation of lactic acid bacteria isolated from giant panda feces for potential probiotics *in vitro*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(1), 85-91. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9381-8>
- Makita, K., Goto, M., Ozawa, M., Kawanishi, M., Koike, R., Asai, T., & Tamura, Y. (2016). Multivariable analysis of the association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from apparently healthy pigs in Japan. *Microbial Drug Resistance*, 22(1), 28-39. DOI: <https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0311>
- Mannu, L., Paba, A., Daga, E., Comunian, R., Zanetti, S., Duprè, I., & Sechi, L.A. (2003). Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic resistance between *Enterococcus faecium* strains of dairy, animal and clinical origin. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 291-304. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00191-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00191-0)
- Marchwińska, K., & Gwiazdowska, D. (2022). Isolation and probiotic potential of lactic acid bacteria from swine feces for feed additive composition. *Archives of Microbiology*, 204(1), 61. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02700-0>
- Marinho, C., Igrejas, G., Gonçalves, A., Silva, N., Santos, T., Monteiro, R., Gonçalves, D., Rodrigues, T., & Poeta, P. (2014). Azorean wild rabbits as reservoirs of antimicrobial resistant *Escherichia coli*. *Anaerobe*, 30, 116-119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.09.009>
- Markiewicz, L., & Biedrzycka, E. (2005). Identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species with PCR in fermented dairy beverages. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 14(4), 359-365.
- McFarland, L.V. (2006). Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 101(4), 812-822. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00465.x>
- Naeem, M., Ahmed, I., Ahmed, S., Ahmed, Z., Riaz, M.N., & Ghazanfar, S. (2018). Screening of cattle gut associated *Bacillus* strains for their potential use as animal probiotic. *Indian J. Anim. Res*, 10. DOI: <https://doi.org/10.18805/ijar.B-948>
- Nocek, J.E., & Kautz, W.P. (2006). Direct-fed microbial supplementation on ruminal digestion, health, and performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 260-266. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72090-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72090-2)
- Parker, R.B. (1974). Probiotics: The other half of the antibiotics story. *Animal Nutrition and Health*, 29, 4-8.
- Pasayo, R.A.G., Sanz, M.E., Padola, N.L., & Moreira, A.R. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves in Argentina. *Open Veterinary Journal*, 9(1), 65-73. DOI: <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.12>
- Puphan, K., Sornplang, P., Uriyapongson, S., & Navanukraw, C. (2015). Screening of lactic acid bacteria as potential probiotics in beef cattle. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(8), 474. DOI: <https://doi.org/10.3923/pjn.2015.474.479>

- Qin, S., Huang, Z., Wang, Y., Pei, L., & Shen, Y. (2022). Probiotic potential of *Lactobacillus* isolated from horses and its therapeutic effect on DSS-induced colitis in mice. *Microbial Pathogenesis*, 165, 105216. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105216>
- Reeves, P. (1965). The bacteriocins. *Bacteriological Reviews*, 29(1), 24-45. DOI: <https://doi.org/10.1128/br.29.1.24-45.1965>
- Reinhamier, J.A., Demkow, M.R., & Condioti, M.C. (1990). Inhibition of coliform bacteria by lactic acid cultures. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2, 5-9.
- Rodriguez-Palacios, A., Staempfli, H.R., Duffield, T., & Weese, J.S. (2009). Isolation of bovine intestinal *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* with inhibitory activity against *Escherichia coli* O157 and F5. *Journal of Applied Microbiology*, 106(2), 393-401. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03959.x>
- Sharma, K.K., Soni, S.S., & Meharchandani, S. (2006). Congo red dye agar test as an indicator test for detection of invasive bovine *Escherichia coli*. *Veterinarski Arhiv*, 76(4), 363-366.
- Victor, S.D., François, Z.N., Marie, K.P., Alberto, C., & Florence, F. (2011). Probiotic properties of *Lactobacilli* strains isolated from raw cow milk in the western highlands of Cameroon. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 9, 12-28.
- Sipahi, N. (2023). Tavuk kloakasında laktozu fermente edemeyen gram negatif bakteri türlerinin ve çoklu antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi. *Van Veterinary Journal*, 34(1), 7-13. DOI: <https://doi.org/10.36483/vanvetj.1184514>
- Strompfová, V., Lauková, A., & Ouwehand, A. C. (2004). Selection of *Enterococci* for potential canine probiotic additives. *Veterinary Microbiology*, 100(1-2), 107-114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.02.002>
- Tag, J., & McGiven, A. (1971). Assay system for bacteriocins. *Applied Microbiology*, 21(5), 943. DOI: <https://doi.org/10.1128/am.21.5.943-943.1971>
- Thal, L.A., Chow, J.W., Mahayni, R., Bonilla, H., Perri, M.B., Donabedian, S.A., Silverman, J., Taber, S., & Zervos, M.J. (1995). Characterization of antimicrobial resistance in *Enterococci* of animal origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(9), 2112-2115. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.39.9.2112>
- Timmerman, H.M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D.C., Van der Wal, E., Klaassen, G., & Beynen, A.C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2154-2165. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72891-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5)
- Vergin, F. (1954). Antibiotics and probiotics. *Hippokrates*, 25(4), 116-119.
- Wadstrom, T., Andersson, K., Sydow, M., Axelsson, L., Lindgren, S., & Gullmar, B. (1987). Surface properties of lactobacilli isolated from the small intestine of pigs. *Journal of Applied Bacteriology*, 62(6), 513-520. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1987.tb02683.x>
- Wu, Y., Yue, S., Yu, J., Bian, F., Chen, G., & Zhang, Y. (2025). Probiotic characterization of lactic acid bacteria from donkey feces in China. *Animals*, 15(2), 207. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani12020207>

Yu, B., & Tsen, H.Y. (1993). *Lactobacillus* cells in the rabbit digestive tract and the factors affecting their distribution. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(3), 269-275.

DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02776.x>



Zareba, T.W., Pascu, C., Hryniewicz, W., & Wadström, T. (1997). Binding of extracellular matrix proteins by enterococci. *Current Microbiology*, 34(1), 6-11.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s002849900135>

Zhang, J., McWhorter, A.R., Khan, S., Willson, N.L., & Chousalkar, K.K. (2025). Characterization of *Lactobacillus* spp. isolated from layer hens as probiotic candidates. *BMC Veterinary Research*, 21(1), 416. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04847-0>



Kedi ve Köpeklerde Çiğ Beslenme ve Kuru Mama (Konvansiyonel) Beslenme Arasında Farklar, Benzerlikler, Yararlar, Zararlar

Adem YÜCEL^{1*} , Gültekin YILDIZ² 

¹ Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

*Correspondence: ayucel_vet@hotmail.com

Received: 21.10.2025

Accepted: 01.12.2025

Published: 25.12.2025

Atf Yapmak İçin: Yücel, A., & Yıldız, G. (2025). Kedi ve Köpeklerde Çiğ Beslenme ve Kuru Mama (Konvansiyonel) Beslenme Arasında Farklar, Benzerlikler, Yararlar, Zararlar. *VZS 1(2)*, 201-214. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-19>
How to Cite: Yücel, A., & Yıldız, G. (2025). Differences, Similarities, Benefits, and Risks Between Raw Feeding and Dry Food Feeding (Conventional) in Cats and Dogs. *VZS 1(2)*, 201-214. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-19>

Özet: BARF (Biyolojik Olarak Uygun Çiğ Gıda), köpek ve kedilerin çiğ et, iç organlar, kemikler ve bazen de süt ürünleri veya yumurta gibi ısıtılmamış hayvansal ürünlerle beslenmesine dayanan bir beslenme yaklaşımıdır. Son yıllarda, özellikle Avrupa'da, bu diyet evcil hayvan sahipleri arasında popülerlik kazanmıştır; bazı ülkelerde bu oran %50'yi aşmaktadır. BARF diyetleri ticari alan bulmuş, dışarıdan da temin edilebilir olmuştur. Bunun yanında en yaygın evcil hayvan sahipleri tarafından tarifler kullanılarak hazırlananlardır. Ancak evde hazırlanan mamalar için riskler vardır. Evde hazırlanan mamalar genellikle resmi beslenme yönergelerine uymamaktadır. Bu nedenle besin dengesizlikleri ve ilgili hastalık riski oluşturmaktadırlar. Evcil hayvan sahibi BARF diyeti, kendi hazırladığı mama ile tarife göre uygulamayı seçerse, tarife dayalı dengeli beslemenin, evcil hayvan besleme alanında uzmanlar tarafından yapılmasına özen göstermesi, besin eksikliği veya fazlalığı (makro mineraller, eser elementler ve vitaminler) gibi besleme hatalarının önüne geçilmesi açısından önemlidir. BARF diyetleri yüksek sindirilebilirlik ve doğal içerikler sunsa da, besin dengesizliği, mikrobiyolojik kontaminasyon ve zoonotik bulaşma riski nedeniyle dikkatli ve bilimsel olarak sağlam bir değerlendirme gerektirir. Çiğ et bazlı diyetler, köpeklerin etçil atalarının diyetlerine daha yakın olduğu düşüncesi ile hazırlansa da evcil karnivor beslemede ekstrude hazırlanmış yiyeceklerle BARF yiyecekleri karşılaştırmak oldukça yanlış olacaktır. Hayvan sahipleri, evcil hayvanlarının sağlığı, beslenmesi konularında son yıllarda artan bir ilgi göstermektedirler. Evcil hayvanların hastalanmaları sahiplerinin de psikolojik olarak etkilenmesine yol açmaktadır. Bu nedenle beslenme sonuçları hayvan sahiplerinin yaşamını da ilgilendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: BARF, çiğ beslenme, kedi, köpek, kuru mama beslenme

Differences, Similarities, Benefits, and Risks Between Raw Feeding and Dry Food Feeding (Conventional) in Cats and Dogs

Abstract: BARF (Biologically Appropriate Raw Food) is a nutritional approach based on feeding dogs and cats raw meat, internal organs, bones, and sometimes non-heat-treated animal products such as dairy products or eggs. In recent years, this diet has gained popularity among pet owners, particularly in Europe; in some countries, this proportion exceeds 50%. BARF diets have become commercially available and are also available from the market. Furthermore, the most common are those prepared by pet owners using recipes. However, there are risks associated with homemade foods. Homemade foods often do not meet official nutritional guidelines, thus posing a risk of nutrient imbalances and related diseases. If pet owners choose to follow a BARF diet

with their own recipes, it is important to ensure that the balanced diet, based on the recipe, is prepared by a pet nutritionist. This is crucial to avoid feeding errors such as nutrient deficiencies or excesses (macrominerals, trace elements, and vitamins). Although BARF diets offer high digestibility and natural ingredients, they require careful and scientifically sound evaluation due to the risk of nutritional imbalance, microbiological contamination, and zoonotic transmission. While raw meat-based diets are designed with the idea that they more closely resemble the diets of dogs' carnivorous ancestors, it would be quite inaccurate to compare extruded foods to BARF foods in feeding pet carnivores. In recent years, pet owners have become increasingly concerned about their pets' health and nutrition. Pet illnesses can also have a psychological impact on their owners. Therefore, nutritional consequences also impact the lives of their pets.

Keywords: BARF, cat, dog, raw and dry feeding

GİRİŞ

Hayvanlar heterotrof canlılar olduğundan dolayı enerji kaynağı olarak çevrelerindeki besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. Hayvanların vücutlarına aldıkları besin maddelerinin enerji kaynağı olarak kullanılabilmesi ise, sindirim sistemi sayesinde gerçekleştirilir. Sindirim sisteminin fonksiyonu, vücuda alınan besin maddelerini mekaniksel ve kimyasal olarak parçalamak ve bunlardan ihtiyaç duyulanı vücuda absorbe etmektir.

Yüksek organizasyonlu hayvanlarda hücre dışı sindirim yapılır ve bu hayvanların sindirim sistemleri morfolojik olarak birbirine benzerlik gösterir. Sindirim sistemleri, besinlerin vücuda alındığı ağız ile başlayıp, bütün vücudu uzunlamasına kateden ve artık maddelerin dışarı atıldığı anüs ile sona eren bir gastrointestinal kanal ve buna bağlı sindirim salgı bezlerinden oluşmuştur. Gastrointestinal kanal başlıca üç ana bölüme ayrılmıştır. Bunlar; özofagus, mide ve bağırsaklardır (Noyan, 1980).

Hayvanlar doğal ortamdaki diyetlerine göre karnivor, omnivor ve herbivor olarak sınıflandırılır. Çoğunluğunu karnivorlar ve herbivorlar oluşturur. Hem et hem ot yiyenler omnivor hayvanlardır. Diyetin çeşitliliği nedeniyle, sindirim sisteminin bölümleri farklı şekillerde gelişmiş ve evrimsel süreç içerisinde, yapısal karmaşıklıklara paralel olarak, sindirim sistemleri de gelişmiş ve karmaşıklaşmıştır. Tüm omurgalı hayvanlarda sindirim sistemini oluşturan; ağız, özofagus, mide, karaciğer, safra kesesi, pankreas, bağırsaklar ve anüs yapıları ise ortaktır (Noyan, 1980).

Evcil Hayvanlarda Sindirim Sistemi

Ağız Boşluğu ve Yutak

Sindirim kanalının en ön bölümü olan ağız boşluğu, yemin alınıp parçalanmaya başlandığı ilk kısımdır. Ağız boşluğundaki sindirime yardımcı temel yapılar dişler ve

dildir. Dişler, yemin kimyasal sindirimi için yüzey alanını artırır ve mekanik parçalanmayı sağlar. Konum ve görevlerine göre dört tipe ayrılır: kesici dişler, köpek dişleri, premolarlar ve molarlar (Reece, 2012).

Dil kaslı bir organ olup yemi ağız içinde hareket ettirir, azı dişleri arasına yönlendirir ve yutma sırasında özofagusu iter. Dil yüzeyindeki papillalar (Papilla vallata ve papilla fungiformis) üzerindeki tat tomurcukları, zararlı ve uygun yemlerin ayırt edilmesini sağlayarak yem seçimini etkiler. Farenks (yutak), larinks, özofagus, ağız ve burun boşluğu ile bağlantılıdır. Yutma refleksi ve mekanik faktörler, bolusun glottis veya burun boşluğuna kaçmasını engeller (Reece, 2012).

Mide

Tek bölmeli olan nonruminant mide “basit mide” olarak adlandırılır. Özofagus, yutak ile mide arasında yer alan kaslı bir tüptür. Mideye girişteki kardiya, anatomik değil fonksiyonel bir sfinkterdir. Mide; kardiya, fundus, korpus ve pilorik antrum olmak üzere dört bölüme ayrılır. Mide iç yüzeyinde özofagal, kardiyak, fundik ve pilorik bez bölgeleri bulunur. Bu bezler mukus, hidroklorik asit (HCl), pepsinojen ve gastrin hormonu salgılar (Reece, 2012).

Bağırsaklar

Mideden çıkan asidik içerik kimus olarak adlandırılır ve bileşimi diyeteye bağlıdır. İnce bağırsak, duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç kısımdan oluşur. Duodenum, pankreas ve karaciğerle bağlantılıdır; pankreatik salgılar ve safra bu bölgeye açılır. İnce bağırsağın mukozası emilimi sağlayan villus ve mikrovilluslarla kaplıdır. Alt tabakalarda submukoza, damarlar, lenf damarları ve sinirler yer alır. İnce bağırsakta sindirilen besinler kapiller ve lenf damarlarıyla taşınır. İleumun son kısmındaki içerik köpek ve kedilerde kolona geçer. Kalın bağırsak sekum ve kolondan oluşur; su ve elektrolit emilimi burada gerçekleşir. Kolon sekumdan anüse kadar uzanır; çıkan, transvers ve inen bölümlerden oluşur. İnen kolon, pelviste rektuma dönüşür ve anüs, kaslardan oluşan sfinkterleriyle kapalı kalır (Reece, 2012).

Kedi ve Köpeklerde Beslenme

Kedi ve köpekler doğal ortamda yiyeceklerini seçebilirler; ancak insan gözetiminde beslenenler seçim şansına sahip değildir. Bu nedenle beslenme programları yanlış düzenlenirse hayvan sağlığı ve bazı durumlarda insan sağlığı olumsuz etkilenebilir. Besin maddesi ihtiyaçlarının doğru belirlenmesi, yem kaynağı ve içeriği sağlıklı beslemenin temelidir. NRC, AAFCO, FEDIAF ve ENPFMTA gibi kuruluşlar evcil kedilerin ve köpeklerin besin madde gereksinimlerini belirlemeye yönelik çalışmalar

yapmaktadır. Bu kuruluşlar tarafından verilen değerler yavru, genç, ergin ve yaşlı hayvanlar için alt sınırlardır; hasta hayvanlar değerlendirilmez (Baran, 2007; Budağ, 2016).

Kedi ve köpekler karnivor olarak sınıflandırılır; kediler daha bağımlı karnivordur, köpekler ise sınırlı şekilde omnivor davranabilir. Kediler avlarını tüketerek protein, enerji ve minerallerini karşılar; metabolizmaları hayvansal kaynaklara bağımlıdır. Bununla birlikte az miktarda ot ve bitkisel besinler (%0-3) de tüketirler. Evcil kedilerde kör bağırsak yabani kedilere göre daha büyüktür (Baran, 2007; Budağ, 2016).

Enerji Gereksinimleri

Kedi ve köpeklerin temel metabolizma için gereken enerji “yaşama payı” olarak tanımlanır; yavru büyütme veya süt verimi gibi durumlarda “verim payı” eklenir. Enerji ihtiyacı vücut ağırlığı, aktivite ve tüy yapısına bağlıdır (Baran, 2007).

Besin Maddeleri

Besin maddeleri, yem ve hayvan dokularında bulunan, fizyolojik işlevlerde rol oynayan organik ve inorganik bileşiklerdir. Yapı maddeleri (protein, yağ, mineraller, karbonhidrat), enerji kaynakları ve metabolik düzenleyiciler (vitaminler, mineraller) olarak sınıflandırılır. Kimyasal yapılarına göre altı grupta toplanırlar: su, protein, yağ, karbonhidrat, mineral ve vitamin. Esansiyel olanlar mutlaka diyetle alınmalıdır (Budağ, 2016).

Proteinler

Proteinler amino asitlerden oluşur ve tüy, deri, tırnak, tendon, enzim, hormon ve antikör yapısında yer alır. Kedilerin protein gereksinimi köpeklere göre yüksektir; rasyonlarında %30-35, doğal ortamda %50-60 civarındadır. Taurin yetersizliği göz, bağışıklık ve gelişimi etkiler; arginin eksikliği ise ciddi sağlık sorunlarına yol açar. Köpeklerde protein ihtiyacı yavrularda %22-25, erişkinlerde %8-15'tir (Oğuz, 2016).

Karbonhidratlar

Karbonhidratlar organik bileşiklerdir; bitkisel yemlerde bol, hayvansal yemlerde %1-1,5 oranındadır. Kediler doğal diyetlerinde karbonhidratlar %5-10 düzeyindedir. Fazla şeker ishal ve bağırsak florası bozukluğuna neden olabilir. Köpek diyetlerinde nişasta temel enerji kaynağıdır; tahıllar ekonomik ve sindirilebilir enerji sağlar. Pişirme ve ekstrüzyon nişasta sindirilebilirliğini artırır (Budağ, 2016; İnal ve ark., 2017).

Yağlar

Kediler diyet enerjisinin %50'sini yağdan sağlayabilir; linoleik, araşidonik ve DHA gibi esansiyel yağ asitleri gereklidir. Köpeklerde yağ sindirimi yüksek (%92) ve diyetlerde hem hayvansal hem bitkisel yağlar kullanılabilir (Budağ, 2016; Oğuz, 2016).

Vitaminler

Vitaminler metabolik süreçlerde koenzim veya kofaktör olarak görev yapar. Yağda çözünen (A, D, E, K) ve suda çözünen (B kompleks, C) olarak sınıflandırılır. Kediler çoğu vitamini sentezleyemez; D vitamini köpeklerde de dışarıdan sağlanmalıdır (Budağ, 2016; Baran, 2007).

Mineraller

Mineraller dokularda sentezlenemez ve %4–5 oranındadır. Makro (Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S) ve mikro (Fe, Cu, Zn) olarak ayrılır. Kalsiyum ve fosfor oranı ideal olarak 1.2/1.0 olmalıdır; kemik ve kemik unu en iyi kaynaktır. İz elementler (Fe, Cu, Zn) karaciğer ve ette bol bulunur; köpeklere haftada bir pişmiş kaburga kemiği verilmesi çene ve diş gelişimi için faydalıdır (Budağ, 2016; Baran, 2007).

Kedi ve Köpeklerde Besleme Tipleri

Tam ve dengeli bir yem için besleme yönergeleri, hayvanın yaşam evresi için birim zaman başına, hayvanın kilosuna göre en azından ne kadar miktar verileceğini belirtmelidir. Tüm yaşam evresi ürünleri, gebelik/emzirme, büyüme ve bakım için çeşitli beslenme yönlerine sahip olmalıdır. Bir evcil hayvan mamasının, evcil hayvanınızın besleme ihtiyaçlarını karşılayıp karşılamadığını, etiketindeki beslenme yeterliliği beyanına bakarak belirleyebilirsiniz. Bu ifade 'tam ve dengeli' ibaresini içeriyorsa, ürünün bir evcil hayvanın yegane diyeti olarak beslenmesi amaçlanır ve beslenme yönünden dengeli olmalıdır. İkramlar, atıştırma ve takviyeler tipik olarak bir evcil hayvanın tek diyeti olarak tasarlanmadığından dolayı bu ürünler genellikle tam ve dengeli değildir (McGrath ve ark, 2018; Jouanne ve ark., 2021).

Son zamanlarda insanlarla beraber yaşayan kedi ve köpek sayısında artış olması, özellikle evdeki bireylerin yoğunluğu ve hatta evcil hayvan sahiplerinin kendilerine dahi vakit ayıramamaları sonucu bakımını üstlendikleri evcil hayvanların beslenmesinde devamlı olarak kuru ve yaş mamaların kullanılması zorunluluğunu doğurmuştur (Dzaniş, 1994).

Katı - Kuru Mamalar

Kedi ve köpek maması formülasyonu oluşturulurken, mamanın NRC tarafından belirlenen beslenme ihtiyaçlarını karşıladığı sürece bu besin seviyelerini elde etmek için

kullanılan maddelere ya da içeriklere çok önem verilmemeye başlanmıştır. İlk defa 1968'de AAFCO kurulmasıyla hileli üretim süreçlerinde bir miktar azalma gözlenmiştir. Bu kar amacı beslemeyen organizasyon gönüllü olarak üreticiler için üretim ve etiketleme ile ilgili prensipleri oluşturmuştur (Dzaniş, 2014; Montes de Oca ve ark., 2017).

Kuru mamalar ekstruder ile üretilebildiği gibi ev tipi fırınlamayla da hazırlanabilir; %6–10 nem içerir ve genellikle tahıl, et, balık, tavuk, yağ, süt ürünleri, vitamin ve mineral takviyeleri içerir. Enerjileri 3000-4500 kcal ME/kg'dır. Kuru mamalar sulu mamalara göre ekonomiktir; dezavantajları ise düşük yağlıların daha az lezzetli ve yoğun işlem nedeniyle sindiriminin azalmış olmasıdır (Küçük, 2024).

Kedi ve köpek mamalarında temel tahıllar pirinç, mısır ve buğdaydır. Mısır corn meal, corn grit veya germ (ruşeym) formunda kullanılabilir; corn grit daha yüksek sindirilebilir nişasta, corn meal ise daha fazla fiber ve protein içerir. Buğdayın gluten içeriği bazı hayvanlarda alerjiye yol açabilir; süt, soya ve et proteinleri de alerjiye neden olabilir. Pirinç hipoalerjenik olup daha güvenlidir (Küçük, 2024).

Fiber kaynakları şeker pancarı posası, pirinç ve buğday kepeği, domates, elma ve narenciye posası, yer fıstığı kabukları, selüloz ve bezelyedir. Pirinç kepeği (%22 fiber, %20 yağ) ve şeker pancarı posası (%60-80 fiber) kedi ve köpek diyetlerinde ideal fiber kaynaklarıdır. Fiber bileşenleri hızlı ve yavaş fermente olabilen şekilde dengelenmelidir; hızlı fermentasyon dışkıyı sulandırırken, yavaş fermentasyon su tutarak ishal ve kabızlığı önler (Küçük, 2024).

Eser elementler organizma için esansiyel olup eksikliği veya fazlalığı ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Önemli eser elementler Cu, Fe, Mn, Zn ve Se'dir. ICP-OES yöntemi ile analiz yapılabilir (Or, 2019).

Bakır, tüm pet mamalarında bulunur; fazla bakır karaciğer birikimine ve hepatopatiye yol açabilir. Özellikle bazı köpek ırklarında (Bedlington Terrier, West Highland White Terrier, Skye Terrier, Dalmaçyalı) ve kedilerde genetik yatkınlık nedeniyle risk yüksektir (Or, 2019).

Demir, bakır gibi oksidatif hasar oluşturabilir; fazla alım hepatosit kaybı ve inflamasyona neden olur. Çinko, organik kaynaklardan (çinko metiyonin, propiyonat) daha yüksek biyoyararlanıma sahiptir. Eksikliği gastrointestinal hastalıklar, iştahsızlık ve deri sorunlarına yol açar; yüksek düzeyleri karaciğer hastalıkları ve bakır birikiminde koruyucudur (Or, 2019).

Selenyum eksikliği köpeklerde miyopati ve miyokardiyal dejenerasyona, erişkinlerde kas dejenerasyonuna yol açar; yeterli Se ise kıl gelişimi, eklem ve deri sağlığı ile antioksidan ve immün destek sağlar (Or, 2019).

Çiğ Mamalar

BARF (Biyolojik Olarak Uygun Çiğ Gıda), köpek ve kedilerin çiğ et, iç organlar, kemikler ve bazen de süt ürünleri veya yumurta gibi ısıtılmış işlem görmemiş hayvansal ürünlerden oluşur (Freeman ve ark., 2013). Son yıllarda Avrupa'da evcil hayvan sahipleri arasında bu diyet popülerlik kazanmaya başladı, bazı ülkelerde bu oran %50'yi aşmaktadır (Corbee ve ark., 2013). BARF diyetleri ticari olarak temin edilebilir veya evcil hayvan sahipleri tarafından tarifler kullanılarak hazırlanabilir (Dillitzer ve ark., 2011). Ancak evde hazırlanan mamalar genellikle resmi beslenme yönergelerine uymamakta (örneğin, NRC, 2006; FEDIAF, 2019), besin dengesizlikleri ve ilgili hastalıklar riski oluşturmaktadır (Taylor ve ark., 2009; Heinze ve ark., 2012).

Yabani veya çiftlik hayvanlarının pişmemiş dokularını içeren diyetler köpek ve kediler için taze ya da dondurulmuş şekilde ticari olarak üretilmekte ya da evde hazırlanmaktadır. Bu besleme şekli 'Biologically Appropriate Raw Food' veya 'Bones And Raw Food' (BARF) olarak isimlendirilmektedir.

Çeşitli çalışmalar, BARF diyetlerinin ısıtılmış ticari diyetlere kıyasla daha yüksek ham protein sindirilebilirliğine ve lezzetine sahip olduğunu göstermektedir (Crissey ve ark., 1997; Kerr ve ark., 2012). Ancak, bu diyetin uzun vadeli sağlık yararlarını veya belirli hastalık durumlarında kullanımını destekleyen bilimsel veriler sınırlıdır (Schlesinger ve Joffe, 2011). Bu diyetin savunucuları, iddialarını genellikle küçük örneklemlerle kısa süreli çalışmalara veya hakemli olmayan popüler yayınlara dayandırmaktadır (Morgan ve ark., 2017).

Özellikle kuru mamanın üretim süreci esnasında besin değerinin kaybolduğu düşüncesi, bazı hayvan sahiplerini 'daha sağlıklı' olduğu düşünülen BARF beslemeye yöneltmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), Dünya Küçük Hayvan Veterinerliği Birliği (WSAVA), American Veterinary Medical Association (AVMA) gibi kurumlar ise bu konuda yayınladıkları bilgi notlarında genellikle BARF beslenme şeklini hayvan sahipleri için hastalık riski taşımasından dolayı onaylamadıklarını ifade etmektedir.

BARF diyet modelinde yaygın olarak kullanılan çiğ kemikler, kabızlık, gastrointestinal perforasyon ve diş kırıkları gibi riskler taşımaktadır (Thompson ve ark.,

2012). Ayrıca, tiroid dokusu içeren etin kullanımı diyet kaynaklı hipertiroidizme yol açabilir (Kohler ve ark., 2012).

BARF beslemenin, veteriner hekimler ve sağlık uzmanları tarafından daha zorlayıcı olduğu ve kafa karıştırıcı olduğu ifade edilmesine rağmen, basit ve anlaşılabilir bir yol izleyerek, hayvan sahipleri arasında evcil hayvanlarının sağlığına özen gösterme ve iyileştirmeye yönelik psikolojik bir arzuya cevap verdiği fikri öne sürülmüştür (Davies ve ark., 2019).

Bu diyet yaklaşımının en önemli sınırlayıcı faktörlerinden biri mikrobiyolojik güvenlidir. Çiğ et ve yan ürünleri, Salmonella türleri, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter jejuni* ve Listeria türleri gibi zoonotik patojenlerle kontaminasyon riski taşır (Weese ve ark., 2005; Bohaychuk ve ark., 2006; Lenz ve ark., 2009). Bu patojenler hem hayvanlarda klinik enfeksiyonlara hem de hanelerde zoonotik bulaşmaya neden olabilir (Morley ve ark., 2006; Leonard ve ark., 2011). Risk, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler, çocuklar, yaşlılar ve hamile kadınlar için yüksektir (Finley ve ark., 2006; Kukanich, 2011).

Bu nedenle, üreticiler ve hayvan yetiştiricileri, BARF diyetlerini uygularken hijyen, depolama koşulları ve gıda güvenliği konusunda son derece dikkatli olmalıdır. Güvenilir ve kayıtlı üreticilerden ürün temin edilmesi ve evde hazırlanan tarifler için beslenme uzmanları tarafından önerilen dengeli tariflerin kullanılması önerilir. Ayrıca, zoonotik hastalık riskini azaltmak için beslenmeden sonra çevresel ve kişisel hijyene dikkat etmek çok önemlidir (Lejeune ve Hancock, 2001; Hellgren ve ark., 2019).

Bir metagenomik çalışmada, dışkı bakteri çeşitliliğinin, geleneksel olarak işlenmiş gıdalarla (örneğin, kuru mama) beslenen beş köpekle karşılaştırıldığında, çiğ beslenen altı köpekte dışkı bakteri çeşitliliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Kim ve ark. 2017). Tavşan bazlı çiğ diyetle büyütülen yavru kedilerin dışkı kalitesine bakıldığında, ticari diyetle beslenen akranlarına göre daha iyi olduklarını fakat benzer şekilde büyüdükleri gözlemlendi. Hamper ve ark. (2017) tarafından başka bir kedi besleme denemesinde, ticari bir çiğ diyet, takviye edilmiş bir çiğ tavuk diyeti ve konserve diyeti karşılaştırdı. Aynı ebeveynen ardışık yavruları, farklı üç diyetle de benzer şekilde büyüdü, sadece klinik patoloji analizleri küçük farklılıklar gösterdi ve hem çiğ hem de pişmiş ve işlem görmüş diyetlerde ishal ile karşılaşıldı. Bir yıl kadar süren benzer çalışma da, çiğ beslenen köpekler arasında önemli ölçüde daha az bağırsak dışı bulaşıcı hastalık epizodu kaydedildi, fakat bu, hayvan sahibi tarafından bildirilen verileri kullanarak ve az

sayıda (38) vakayla çalışıldı. Bulaşıcı olmayan hastalıklarda ise önemli bir fark gözlemlenmedi. (Davies ve ark., 2019).

Çiğ evcil hayvan mamaları (EC) No 1069/2009 Yönetmeliğine tabidir. Evcil hayvan mamalarında izin verilen bu yan ürünler 'Kategori 3' sınıflandırmasına girer (Shurson ve ark, 2023). Ayrıca, insan tüketimine uygun olmayan ürünlerin bir mezbahada kesilmesi ve ölüm sonrası incelemede bulaşıcı hastalık kanıtı bulunmaması gerekmektedir. 2011 tarihli Gıda Güvenliği Modernizasyon Yasası, tehlikeli olduğuna dair vurgu yaparak, evcil hayvan gıda sektörü için kademeli olarak daha fazla düzenleme getirmesine rağmen, ham evcil hayvan gıdaları, devletler tarafından çok az veya hiç düzenleyici gözetim olmaksızın üretilmektedir (Davies ve ark., 2019).

BARF diyetleri içeriğine göre 'klasik (tam) BARF' ve 'kısmi BARF' olarak ayrılır. Klasik BARF tahıl içermezken, kısmi BARF darı, makarna veya patates gibi karbonhidratlar içerir. Dengeli bir diyetin %50 karbonhidrat, %40 protein, %5-2 mineral ve lif içermesi önerilse de bazı araştırmalar diyetin %70'inin et ve sakatat, %30'unun sebze ve meyve olmasını tavsiye eder (Yıldız, 2021).

Ticari BARF ürünleri farklı hayvan kas ve iç organları, kemikler ve çeşitli meyve-sebzelerden oluşur. BARF tercihinin nedeni, kuru mamalara kıyasla sağlık açısından daha faydalı olduğunun düşünülmesidir. Kemik ve büyük et parçalarının diş sağlığını desteklediği, akciğer ve trakea dokularının plak ve diş eti iltihabını azalttığı bildirilmektedir. Ancak doğada çiğ beslenen kurtlarda da periodontit görülmesi, diş sağlığı avantajının kesin olmadığını gösterir. Kemik parçaları diş kırığı, kabızlık ve sindirim sistemi yaralanmalarına yol açabilir.

BARF diyetiyle beslenen hayvanlarda kalsiyum/fosfor dengesizlikleri ve vitamin eksiklikleri gözlenebilir. Yüksek kemik tüketimi yavru köpeklerde iskelet sorunları oluşturabilir, mineral eksiklikleri genellikle 18–24 ay sonra ortaya çıkar. Aşırı kalsiyum ve fosfor idrar kesesi taşlarına katkıda bulunabilir. Ayrıca kontrolsüz iyot alımı tiroid hastalıklarına yol açabilir, eksiklik ise büyüme, kıl dökülmesi, üreme ve performans sorunlarına neden olabilir (Yıldız, 2021).

Ev yapımı BARF diyetleri, beslenme uzmanlığı ve bilimsel verilerle desteklenmediğinde eksiklik ve dengesizlik riski taşır. Ticari çiğ diyetler de genellikle bilimsel çalışmalar olmadan formüle edilir. Biyoyararlanım eksiklikleri, örneğin tam ham tavşan diyetiyle birkaç aylık besleme sonrası taurin eksikliğine bağlı kardiyomiyopati olduğu çalışmalarda gözlemlenmiştir (Davies ve ark., 2019).

Diğer bir problem ise çiftlik hayvanlarının tiroid bezinin bulunduğu boyun kısmıyla hazırlanmış BARF diyetiyle beslenen köpeklerde gelişen Alimenter hipertiroidizm'dir. Fakat bu durum BARF besleme kesildiği zaman normale dönmektedir.

Tek hücreli (protozoon) ya da çok hücreli (helmin) bazı parazitler, çiftlik hayvanlarına ait et ve dokuların pişirilmeden yenilmesi ile kedi ve köpeklere bulaşabilir. Bu parazitler arasında zoonoz denilen ve insana bulaşma ihtimali olan türler de bulunmaktadır. Hayvana ait et ve dokuların çiğ yenilmesi halinde kedilere *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp., *Cystoisospora* spp., ve *Trichinella* spp., köpeklere *Sarcocystis* spp., *Neospora caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Cystoisospora* spp., *Cryptosporidium* spp., *Taenia hydatigena*, *Taenia multiceps*, *Taenia ovis*, *Trichinella* spp. ve *Toxocara canis* benzeri parazitler bulaşır. Türkiye'de bu parazitlerin büyük bir çoğunluğuna çiftlik hayvanlarında yüksek oranlarda rastlanmaktadır (Yıldız, 2021).

Patojenlerin konak organizmadan atılımının bir sonucu olarak çevresel kontaminasyon ile bulaş olması da mümkündür, bu sayede evcil hayvan asemptomatik bir taşıyıcı olabilir. Bağışıklığı baskılanmış kişiler, diğer bir deyişle evcil hayvanlar ile birlikte yaşayan çocuklar, yaşlılar ve hamile kadınlar için çok daha dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle, köpek ve kedileri BARF diyet ile beslemenin riskleri hakkında evcil hayvan sahiplerini uyarmak ve onları güvenli bir şekilde nasıl uygulayacakları hakkında bilgilendirmek gerekmektedir. BARF diyet ile beslenen evcil hayvanlarla temasta olan hayvan sahipleri kişisel hijyeninin sağlanması, su ve mama kaplarının düzenli olarak temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi için kişisel ve çevresel hijyenin öneminin vurgulanması çok önemlidir. Patojenin temas yoluyla bulaşma riskinin en yüksek olduğu durumlarda, temasın veya beslenmeden hemen sonraki temasın kesilmesi üzerinde özellikle durulmaktadır. Köpek ve kedinin paraziter hastalıklarını düzenli olarak kontrol edilmesi için evcil hayvan sahibi uyarılmalıdır (Brozic ve ark., 2020).

Evcil hayvanlarının BARF diyetine uygun olup olmadığını bilmek de hayati önem taşır. Örneğin; böbrek ve karaciğer patolojisi olan hayvanlar, pankreatit öyküsü olanlar, büyümenin erken evresindeki dev köpek ırkları, bozulmuş bağışıklık durumu olanlar ve formülasyona öğütülmüş kemiklerin eklenmesinden dolayı sindirim sistemi bozulmuş hayvanlar BARF diyetine uygun değildir (Brozic ve ark., 2020).

Üreticiler, ürünlerinin kullanım talimatlarında, yemeğin işlenmesi ve hazırlanması için uygun prosedürü belirtmelidirler. Örneğin; 10°C sıcaklıkta bir buz çözme prosedürü

ve diyetin bir kısmının buzunun çözülmesi için bir hazırlık prosedürü bulunmalıdır. Buzu çözülmüş bir BARF diyeti paketinin bir daha dondurulamayacağı hakkında sahiplerin bilgilendirilmesi gerekmektedir. Besleme yaparken mama kabındaki mama mümkün olduğu kadar kısa tutulmalı ve eğer hayvan yemeyi reddederse mama kaldırılmalıdır (Brozic ve ark., 2020).

SONUÇ

BARF diyetleri yüksek sindirilebilirlik ve doğal içerikler sunsa da, besin dengesizliği, mikrobiyolojik kontaminasyon ve zoonotik bulaşma riski nedeniyle dikkatli ve bilimsel olarak sağlam bir değerlendirme gerektirir. Bu beslenme modelinin güvenli ve dengeli bir şekilde uygulanmasını sağlamak için daha fazla araştırmaya, standartlaştırılmış üretim protokollerine ve veteriner beslenme kılavuzlarının geliştirilmesine ihtiyaç vardır. BARF diyetlerle beslenen hayvanlarımızı yılda bir kez sağlık taramasından geçirmek gerekir. Bu mamaları kullanan hayvan sahiplerinin veteriner hekim hayvan besleme uzmanından yardım alması hayvanın sağlığı açısından önemlidir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

Baran, M.S. (2007). Kedi ve Köpeklerin Beslenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 33(3), 89-99.

Bohaychuk, V.M., Gensler, G.E., King, R.K., Manninen, K.I., Sorensen, O., Wu, J.T., Stiles, M.E., & McMullen, L.M. (2006). Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. *Journal of Food Protection*, 69, 2176-2182. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.9.2176>

Brozic, D., Mikulec Z., Duricic, D., Samardzija, M., & Valpotic, H. (2020). Raw meat-based diet (BARF) in dogs and cats nutrition. *Ветеринарски журнал Републике Српске*, 19(2), 314-321. DOI: <https://doi.org/10.7251/VETJEN1902314B>

Budağ, C. (2016). Evcil kedi (*Felis silvestris catus*) ve evci kedilerin beslenmesi. *Türkiye Klinikleri Dergisi*, 1(1), 90-102.

Crissey S.D., Swanson J.A., Lintzenich B.A., Brewer B.A., & Slifka K.A. (1997). Use of a raw meat-based diet or a dry kibble diet for sand cats (*Felis margarita*). *Journal of Animal Science*, 75, 2154-2160. DOI: <https://doi.org/10.2527/1997.7582154x>

Davies, R., Lawes, J., & Galler, A. (2019). Raw diets for dogs and cats: a Review, with particular reference to microbiological hazards. *The Journal of Small Animal Practice*, 60(6), 329-339. DOI: <https://doi.org/10.1111/jsap.13000>

Dillitzer N., Becker N., & Kienzle E. (2011): Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. *British Journal of Nutrition*, 106, 53-56. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114511002765>

Dzanis D.A. (1994) The Association of American Feed Control Officials Dog and Cat Food Nutrient Profiles: substantiation of nutritional adequacy of complete and balanced pet foods in the United States. *The Journal of Nutrition*. 124 (12 Suppl). 2535-2539. DOI: https://doi.org/10.1093/jn/124.suppl_12.2535S

FEDIAF (2019) Code of Good Labelling Practice for Pet Food. 1-78 p.

Finley R., Reid-Smith R., Weese J.S., & Angulo F.J. (2006). Human health implications of Salmonella-contaminated natural pet treats and raw pet food. *Clinical Infectious Diseases*, 42, 686-691. DOI: <https://doi.org/10.1086/500211>

Freeman L.M., Chandler M.L., Hamper B.A., & Weeth L.P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243, 1549-1558. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.243.11.1549>

Hamper, B.A., Bartges, J.W. & Kirk, C.A. (2017). Evaluation of two raw diets vs a commercial cooked diet on feline growth. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19, 424-434. DOI: <https://doi.org/10.1177/1098612X16634388>

Heinze, C.R., Gomez, F.C., & Freeman, L. M. (2012). Assessment of commercial diets and recipes for home-prepared diets recommended for dogs with cancer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 241, 1453-1460. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.241.11.1453>

Hellgren, J., Håstö, L.S., Wikström, C., Fernström, L., & Hansson, I. (2019). Occurrence of Salmonella, Campylobacter, Clostridium and Enterobacteriaceae in raw meat-based diets for dogs. *Veterinary Record*, 184(14), 442. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.105199>

İnal, F., Özbilgin, A., Alataş, M.S., Kahraman, O., & Gürbüz, E. (2017). Köpek Mamalarında Kullanılan Tahıllarda Isıl İşlemin Nişastanın Jelatinize Olması ve Sindirilebilirliği Üzerine Etkisi. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 33(4), 214-221. DOI: <https://doi.org/10.15312/EurasianJVetSci.2017.163>

Jouanne M, Oddoux S, Noël A, Voisin-Chiret A.S. (2021). Nutrient Requirements during Pregnancy and Lactation. *Nutrients*, 13(2), 692. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13020692>

Kerr, K.R., Vester Boler, B.M., Morris, C.L., Liu, K.J., & Swanson, K.S. (2012). Apparent total tract energy and macronutrient digestibility and fecal fermentative end-product concentrations of domestic cats fed extruded, raw beef-based, and cooked beef-based diets. *Journal Animal Science*, 90(2), 515-522. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3266>

Kim, J., An, J.U., Kim, W., Lee, S, Cho, S. (2017). Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathogens*, 9(1), 68. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0218-5>

Kohler, B., Stengel, C., & Neiger, R. (2012). Dietary hyperthyroidism in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 53(3), 182-184.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01189.x>

Kukanich, K.S. (2011). Update on Salmonella spp contamination of pet food, treats, and nutritional products and safe feeding recommendations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1430- 1434.
DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.238.11.1430>

Küçük, O. (2024). Pratik Kedi ve Köpek Besleme-Beslenme Hastalıkları. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, Türkiye, 334s.

Lejeune J.T., & Hancock D.D. (2001). Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(9), 1222-25. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.2001.219.1222>

Lenz J., Joffe D., Kauffman M., Zhang Y., & Lejeune J. (2009). Perceptions, practices, and consequences associated with foodborne pathogens and the feeding of raw meat to dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(6), 637-643.

Leonard E.K., Pearl D.L., Finley R.L., Janecko N., Peregrine A. S., Reid-Smith R.J., & Weese J.S. (2011). Evaluation of pet-related management factors and the risk of Salmonella spp. carriage in pet dogs from volunteer households in Ontario (2005-2006). *Zoonoses Public Health*, 58(2), 140-149.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01320.x>

McGrath J, Duval S.M., Tamassia L.F.M., Kindermann M., Stemmler R.T., de Gouvea V.N., Acedo T.S., Immig I., Williams S.N., Celi P. (2018). Nutritional strategies in ruminants: A lifetime approach, *Research in Veterinary Science*, 116, 28-39.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.09.011>

Montes de Oca M.A.R., Ferreira L.G., Lima R.R., Gonçalves T.M., Saad, F.M.O.B., Zangeronimo M.G. (2017). Prediction equations for metabolizable and digestible energy in feline diets, *Animal Feed Science and Technology*, 228, 91-101.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.04.004>

Morgan S.K., Willis S., & Shepherd M.L. (2017). Survey of owner motivations and veterinary input of owners feeding diets containing raw animal products. *Peer Journals*, 5, e3031. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.3031>

Morley P.S., Strohmeyer R.A., Tankson J.D., Hyatt D.R., Dargatz D.A., & Fedorka-Cray P.J. (2006). Evaluation of the association between feeding raw meat and Salmonella enterica infections at a Greyhound breeding facility. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(10), 1524-1532.
DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.228.10.1524>

NRC (2006). Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press. Washington, DC. DOI: <https://doi.org/10.17226/10668>

Noyan, A. (1980). Sindirim sistemi. Fizyoloji Ders Kitabı. Eskişehir: Anadolu Üniversiteleri Yayınları, 2, 555-558s.

Oğuz, K. (2016). Kedi ve Köpeklerin Bakım ve Beslenmesi ile Beslenmeye Bağlı Bazı Problemler ve Davranışlar Arasındaki İlişkiler. Doktroa Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Hatay, Türkiye. 71s

Or, M.E. (2019). Köpek Beslenmesinde Kullanılan Kuru Mamalar ile Çeşitli Hastalıkların Tedavisinde Kullanılan Diyet Mamaların Element Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Edirne, Türkiye. 61s.

Reece, W.O. (2012). Sindirim ve Emilim. Ed: W.O. Reece, M. Özcan, Ü. Çötelioglu. Evcil hayvanların fonksiyonel anatomisi ve fizyolojisi, Nobel Akademik Yayıncılık, 360-373s.

Schlesinger D.P., & Joffe D.J. (2011). Raw food diets in companion animals: a critical review. *The Canadian Veterinary Journal*. 52(1), 50-54.

Shurson G.C., Dierenfeld E.S., Dou Z. 2023. Rules are meant to be broken - Rethinking the regulations on the use of food waste as animal feed, Resources, *Conservation and Recycling*, 199, 107273, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2023.107273>

Taylor M.B., Geiger D.A., Saker K.E., & Larson M.M. (2009). Diffuse osteopenia and myelopathy in a puppy fed a diet composed of an organic premix and raw ground beef. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(8), 1041-1048. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.234.8.1041>

Thompson, H.C., Cortes, Y., Gannon, K., Bailey, D., & Freer, S. (2012). Esophageal foreign bodies in dogs: 34 cases (2004-2009). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 22(2), 253-261. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2011.00700.x>

Weese, J.S., Rousseau, J., & Arroyo, L. (2005). Bacteriological evaluation of commercial canine and feline raw diets. *The Canadian Veterinary Journal*, 46(6), 513-516.

Yıldız, K. (2021). BARF Besleme: Köpek ve Kedilerde Parazit Hastalıkları Bakımından Taşıdığı Riskler. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 12(3), 142-144. DOI: <https://doi.org/10.38137/vftd.975514>



Dünyada Küçükbaş Hayvan Islahında Genomik Seleksiyon ve Genom Boyu İlişkilendirme (GWAS) Teknolojisi

Arzu ÖZDEMİR^{1*} , Berna BOZCA¹ 

¹Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü Mamak- ANKARA

*Correspondence: arzuozdem22@gmail.com

Received: 21.11.2025

Accepted: 08.12.2025

Published: 25.12.2025

Atf Yapmak İçin: Özdemir, A., & Bozca, B. (2025). Dünyada Küçükbaş Hayvan Islahında Genomik Seleksiyon ve Genom Boyu İlişkilendirme (GWAS) Teknolojisi. *VZS, 1*(2), 215–235. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-27>

How to Cite: Özdemir, A., & Bozca, B. (2025). Genomic Selection and Genome-Wide Association Analysis (GWAS) Technology in Small Ruminant Breeding Globally. *VZS, 1*(2), 215–235. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-27>

Özet: Küçükbaş hayvan ıslahında, uzun yıllar fenotipik veri ve pedigrî temelli seleksiyon yöntemlerine dayalı bir ıslah benimsenmiştir. Ancak bu yöntemler, kantitatif özelliklerde genetik ilerlemenin yavaş seyretmesine neden olmuştur. Moleküler teknolojilerdeki hızlı gelişmeler, genomik seleksiyon (GS) ve genom boyu ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), tüm türler gibi hayvancılık alanında da yıllarca uygulanan ıslah yöntemine çok farklı bir bakış açısı kazandırmıştır. GS, yüksek yoğunluklu tek nükleotid polimorfizmi (SNP) çipleri sayesinde materyalin genomik damızlık değer tahminini (GEBV) hesaplayarak, ekonomik özellikler bakımından iyi olan damızlığın erken yaşta belirlenmesine imkân sağlamıştır. GWAS teknolojisi ise, yalnızca hayvanın ekonomik verim özellikleri ve hastalık direnciyle ilişkili gen bölgelerini ortaya koymakla kalmayıp, aynı zamanda hayvanın bölgeye adaptasyon yeteneği, davranışsal özellikleri, çevresel faktörlere toleransı ve ilgili ekonomik verimin kalitesi gibi pek çok özelliğin genetik yapısını da ortaya çıkarmaktadır. Islah modelleri moleküler teknolojilere dayandırılmaya başladığı dönemlerde, öncelikli olarak, klasik tek lokus GWAS teknikleri kullanılmaktaydı, son dönemlerde ise çoklu lokus GWAS (ML-GWAS) yaklaşımları ile birden fazla lokus aynı anda analiz edilebilmektedir. Böylece poligenik yapıların daha doğru ve yüksek çözünürlükle çözümlenmesine olanak sağlamaktadır. Bu derlemenin amacı, dünyada kırmızı et üretiminde öncü küçükbaş hayvanların sağladıkları yüksek kaliteli protein ile insan beslenmesinde kritik bir rol üstlenmeleri nedeniyle, fenotip ve pedigrî temelli ıslah yöntemlerinden modern genomik seleksiyon ve farklı GWAS yaklaşımlarına geçiş sürecini, son yıllarda yapılan literatürler ışığında değerlendirmektir. Aynı zamanda verim, üreme performansı, hastalık direnci, adaptasyon ve çevresel tolerans gibi çok boyutlu özelliklerin genetik iyileştirilmesine odaklanmış çalışmaları sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Genetik ilerleme, genomik seleksiyon, GWAS, küçükbaş hayvan ıslahı, koyun ve keçi, omik tekniği

Genomic Selection and Genome-Wide Association Analysis (GWAS) Technology in Small Ruminant Breeding Globally

Abstract: In small ruminant breeding, selection programs were long based on phenotypic data and pedigree-based models. However, these methods led to slow genetic progress, especially for quantitative traits. Rapid advancements in molecular technologies—particularly genomic selection (GS) and genome-wide association studies (GWAS)—have introduced a fundamentally new perspective to livestock breeding, as in all other biological fields. GS enables the estimation of genomic breeding values (GEBVs) using high-density single nucleotide polymorphism (SNP)

chips, thereby shortening the generation interval and allowing the early identification of animals with superior economic traits. GWAS technology not only identifies genomic regions associated with economically important performance traits and disease resistance, but also reveals the genetic basis of a wide range of characteristics, including environmental tolerance, behavioral traits, adaptation ability, and the quality of relevant production traits. In the early stages of integrating genomic technologies into breeding programs, classical single-locus GWAS methods were primarily used; however, in recent years, multi-locus GWAS (ML-GWAS) approaches have enabled the simultaneous analysis of multiple loci, providing a more accurate and higher-resolution understanding of polygenic architectures. The aim of this review is to evaluate, in light of recent literature, the transition from traditional phenotypic and pedigree-based breeding approaches to modern genomic selection and various GWAS methodologies, considering that small ruminants play a critical role in human nutrition by contributing high-quality protein and are among the leading species in global red meat production. It also summarizes studies focusing on the genetic improvement of multidimensional traits such as production, reproductive performance, disease resistance, adaptation, and environmental tolerance.

Keywords: Genetic progress, genomic selection, GWAS, small ruminant breeding, sheep and goats, omic technique

GİRİŞ

İnsanlığın sağlıklı beslenmesini sürdürebilmesi ve kırmızı ete olan ihtiyacın arz talep dengesini korunması için önemli olan küçükbaş, dünya üzerinde her bölgede yaygın olarak yaşayabilen, birçok ırkının birbiriyle iç içe girdiği, çeşitliliğin çok yüksek olduğu ve en fazla popülasyona sahip, üretkenlik ve üreme potansiyelleri nedeniyle dünya çapında en önemli evcil türlerden biridir (Tobar ve ark., 2020). Hayvancılıkta genetik iyileştirmenin hedefi, genellikle süt verimi veya et kalitesi gibi kantitatif veya karmaşık özelliklerin artırılmasıdır. Geleneksel genetik iyileştirme, her hayvanın kayıtlı fenotipinin, soyağacı bilgisiyle birlikte kullanılmasıyla, üreme değerinin (BV) tahmin edilmesine dayanmakta ve çoğunlukla en iyi doğrusal tarafsız seçim (BLUP) olarak bilinen istatistiksel yöntem kullanılmaktadır (Henderson, 1984). Bu teknoloji o dönemlerde oldukça başarılı olmuş ve çoğu çiftlik türlerinde genetik kazanım sağlamıştır (Van Vleck ve ark., 1986; Havenstein ve ark., 1994). Bu başarıya rağmen, genetik kazanım oranını artırmak ve üreme hedeflerindeki özellikleri kontrol eden genleri ve polimorfizmleri belirlemek için basitçe kalıtılan genetik belirteçlerin kullanılmasına uzun zamandır ilgi duyulmaktadır (Dekkers & Hospital, 2002). Dekkers'a göre, nesnel bir özelliği etkileyen nedensel polimorfizmler belirlenmeli ve bunlar seleksiyon kriterlerine dahil edilmelidir (Dekkers, 2004). Ancak, bu bilinen nedensel polimorfizmler, yetiştirme hedefindeki genetik çeşitliliğin yalnızca küçük bir kısmını açıkladığı ve elde edilen genetik kazanıma çok küçük bir katkıda bulunduğu için, nesnel özellikleri etkileyen

nedensel polimorfizmlerin birçoğunun belirlenememesinden dolayı sınırlı kalmıştır (Goddard, 2010).

Araştırmacılar, yeni genetik belirteç teknolojileri keşfedildikçe, önceden bir bağlantı beklemese bile bazı genetik belirteçlerin (örneğin sığır kan grupları) süt verimi gibi kantitatif özelliklerle ilişkili olup olmadığını test etmişlerdir. Hatta bazı çalışmalarda, kan grupları ile süt verimi arasında ilişki bulmuşlar, ancak bu ilişkinin gerçek bir nedensel etki olmasından çok, kan grubu genleri ile süt verimi üzerinde etkili QTL'lerin genomda yakın noktada olmasından kaynaklanan bağlantıdan (linkage) olduğu düşünmüşlerdir (Neimann-Sorensen ve Robertson, 1961; Rendel, 1961). Genomu kaplayan ilk genetik belirteçlerden birisi mikrosatellitler olup, QTL tespitinde önemli bir teknolojik gelişme olarak bilinmektedir. Bir genomu kaplamak için genellikle 100–200 mikrosatellit kullanılmakta ve özellikle çekirdek ailelerde bağlantı analizleriyle QTL belirlenmesine yardımcı olmaktadır (Georges ve ark., 1995). Mikrosatellit teknolojisinde QTL'ler düşük hassasiyetle haritalanmakta (yaklaşık 50 cM güven aralığı) ve belirteç–QTL bağlantı fazı aileler arasında değişebilmektedir. Bu nedenle belirteçlerin seleksiyonda kullanılabilmesi için bağlantı fazının her ailede ayrı ayrı belirlenmesi gerekmektedir. Fernando ve Grossman, bu belirteç destekli seleksiyon yöntemini BV'leri tahmin etmek için genel bir yöntem olarak kullanmışlardır (Fernando ve Grossman, 1989). Bir diğer teknolojik gelişme ise QTL haritalama çalışmasıdır. QTL haritalama çalışmalarında, belirteç destekli seleksiyondaki kazanımın, belirteçlerin açıkladığı genetik varyans oranıyla neredeyse orantılı olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, tüm QTL'leri birlikte kullanan ve aile bazında bağlantı fazını belirlemeye gerek duymayan yeni bir belirteç destekli seleksiyon yaklaşımının gelişmesini sağlamıştır (Meuwissen, 2001; Goddard, 1996). Ek olarak, birçok QTL'nin tipik bir kantitatif özelliği etkilediğini göstermişlerdir (Hayes ve Goddard, 2001; Chamberlain ve ark., 2007). Meuwissen ve arkadaşları, simülasyonla, tüm genomu kapsayan ve QTL ile bağlantı dengesizliği (LD) içinde bulunan yoğun bir belirteç panelinin kullanılmasının, seleksiyona verilen yanıtta büyük artışlara yol açabileceğini göstermişlerdir (Meuwissen ve ark., 2001). Kısacası, bu tür belirteç destekli seleksiyon yöntemlerine genomik seleksiyon denilmekte ve makul bir maliyetle genotiplendirilebilen binlerce tek nükleotid polimorfizminden (SNP) oluşan panellerin kullanılmasıyla, bu yöntem pratikte süt sığırcılığı yetiştiriciliğinde hali hazırda yaygın olarak kullanılmaktadır (Dalton, 2009).

Küçükbaş hayvancılık, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kendine özgü fizyolojik yapısı ile protein ve kırsal nüfusun geçim kaynağı olarak kritik öneme sahiptir. Her açıdan bu kadar değerli olan küçükbaş türünün yetiştirilmesi ve ıslahı, hatta modern ıslah teknolojilerinin uygulanması elzem bir durumdur. Gerek her hayvanın kayıtlı fenotipinin, soyağacı bilgisiyle birlikte kullanılmasıyla olan geleneksel genetik iyileştirme, gerekse moleküler teknolojiler sayesinde oluşan GS ve GS'a yardımcı bir teknoloji olan GWAS, büyükbaştan sonra küçükbaşta da kullanılmaya başlamıştır. Son yıllarda Avustralya'da etçi koyunlarda (Daetwyler ve ark., 2010, 2012a, 2012b), Yeni Zelanda'da (Auvray ve ark., 2014), Fransa'da sütçü koyunlarda ve Fransa (Carillier ve ark., 2013, 2014) ile Birleşik Krallık'ta (Mucha ve ark., 2015) sütçü keçilerde bu teknoloji değerlendirilmiştir. Sığırlarla karşılaştırıldığında, küçükbaşlarda genotipleme maliyetinin hayvan değerine göre daha yüksek olması, bu teknolojinin koyun ve keçi ıslahında yaygın olarak benimsenmesini ekonomik açıdan zorlaştırmaktadır (Rupp ve ark., 2016). GS ile ilgili olarak moleküler teknolojilerinde içerisinde olduğu SNP'ler ile tahmin edilen genetik değerlere dayalı seleksiyonun, özellikle generasyonlar arası süreyi kısalttığı için üreme teknikleriyle birleştirildiğinde, hayvanlarda ve bitkilerde genetik kazanım oranını önemli ölçüde artırabileceğini bildirilmiştir (Meuwissen ve ark., 2001). Ayrıca, GS tüm genomu kaplayan genetik belirteçlerin kullanıldığı ve kantitatif özellik lokuslarının en az bir belirteçle LD olduğu bir belirteç destekli seleksiyon (MAS) biçimi olarak tanımlanabilmektedir. Bu yaklaşım, genom dizilimiyle keşfedilen çok sayıda SNP'yi, verimli bir şekilde genotiplemek için yeni yöntemler sayesinde uygulanabilir hale geldiği bildirilmiştir (Goddard, ve ark., 2007).

GWAS ise tanım olarak, genom çapında SNP ile fenotip – genotip ilişkisinin istatistiksel olarak tanımlanmasını sağlayan bir çalışmadır. Genom çapında ilişki çalışmaları, genetik bölgeler (lokuslar) ve özellikler (hastalıklar dahil) arasındaki ilişkileri belirlemek için hipotez içermeyen yöntemler olarak tanımlanmaktadır. GWAS genellikle yaygın SNP'leri analiz ettiği için doğrudan nedensel varyantları belirlemez; bunun yerine, nedensel varyantı içeren LD bölgelerini işaret eden SNP'leri tanımlamaktadır. Tipik bir GWAS çalışması, genom çapındaki SNP dizilimlerini kullanarak belirli bir özelliğe sahip olan ve olmayan bireylerdeki ortak genetik varyantları karşılaştırarak, bu ilişkiyi istatistiksel testlerle değerlendirmektedir. GWAS'ta p-değeri, test edilen alelin vakalar ve kontroller arasındaki frekans farkının istatistiksel önemini göstermektedir. GWAS

sonuçları genellikle SNP konumlarına karşı $-\log_{10}(p)$ değerlerinin çizildiği Manhattan grafikleriyle sunulmaktadır. Bu derlemenin amacı, insan beslenmesinde kritik bir rol üstlenen ve dünyada kırmızı et üretiminde öncü tür olan küçükbaş hayvanlarda, fenotip ve pedigrî temelli seleksiyon yöntemlerinden, genomik seleksiyona kadar uzanan gelişimi ve moleküler düzeyde yüksek bir teknoloji olan GWAS'ın GS'a katkılarını son yıllarda yapılan literatürler ışığında değerlendirmektir.

Dünyada ve Türkiye'de GS Uygulamaları

Dünyada GS, büyükbaşta olduğu gibi küçükbaş hayvan ıslahında da genetik ilerlemeyi hızlandırmak ve mümkün olan erken yaşta isabetli derecesi yüksek damızlık değer tahmini yapmak için en etkili yöntemlerden biri haline gelmiş olup, üzerinde çok yoğun çalışmalar ile her geçen gün geliştirilmeye ve referans popülasyona katkısını artmaya devam etmektedir. Genomik seleksiyonun temel amaçları arasında referans bir popülasyon oluşturulması bulunmaktadır. Bu referans popülasyonun oluşturulması içinde yoğun ve doğru bir fenotipleme yapılması gerekmektedir. Bu temel üstüne genotip - fenotip arasındaki ilişki kurulabilmektedir. Örneğin, Yeni Zelanda'da çoğunluğu Romney olan 13.420 saf ve melez koyun, Batı Pirene sütçü koyunlarından yaklaşık 1.900 baş koyun (Legarra ve ark., 2014); Birleşik Krallık ve Fransa keçi popülasyonlarında sırasıyla yaklaşık 2.400 ve 2.700 baş keçi; Lagune sütçü koyunlarında 4.800 baş koyun (Larroque ve ark., 2014) ve Avustralya'da çok ırklı etçi koyunlarda 8.000 baş koyun küçükbaş hayvan referans popülasyonuna dahil edilmiştir (Daetwyler ve ark., 2010, 2012a, 2012b). Bahsedilen ülkelerin referans popülasyonları genellikle çeşitli saf ve melez ırklardan oluşmaktadır. Saf ırklarda en yüksek popülasyon büyüklüğü Yeni Zelanda Romney koyunu (5.300 baş), Avustralya Merinosun koyunu (4.000 baş) ve Fransız Lagune koyunu (4.800 baş) olup, diğer ırkların popülasyon içindeki sayıları 100 ile 2.000 baş arasında değişmektedir (Rupp ve ark., 2016).

Türkiye'de küçükbaşlarda GS için referans popülasyon oluşturma çalışmaları üzerine bir literatüre rastlanılmamış olup, ülkesel düzeyde küçükbaşta halk elinde ıslah projeleri ile fenotip verilerin doğru ve etkin bir şekilde alınması sağlanmakta ve geleneksel ıslah modellerine dayalı bir seleksiyon uzun süredir yapılmaktadır. Türkiye'de moleküler düzeyde yapılan çalışmalar ise, babalık testi, hastalık direnci ve aday gen belirleme çalışmaları olup, GS ve referans popülasyonların oluşturulması için uygun zeminlerin oluşturulması sağlanmaktadır. Türkiye'de yapılan moleküler çalışmalara

örnek olarak aşağıdaki literatürler verilebilmektedir. Örneğin, Akkaraman ve İvesi gibi yerli ırklarda yapılan kalpastatin geni (CAST) polimorfizminin genomik veri altyapısının kurulmasına öncülük ettiği bildirilmiştir (Dokgöz ve ark., 2024). Diğer bir çalışmada ise, Akkaraman tipleri (Karakas, Kangal ve Savak) genetik yapıları ve aynı bölgede yaşayan diğer koyun ırklarıyla (Morkaraman, İvesi ve Norduz) ilişkileri açısından ilk kez 29 mikrosatelit lokusu kullanılarak değerlendirilmiş ve Akkaraman koyun çeşitlerinin genetik çeşitliliğine ilişkin ilk rapor yayınlanmıştır. Bu çalışma Türkiye’de yerli popülasyonlarda genetik varyasyonun korunması ve sürdürülebilir ıslah programlarının temellerinin atılmasında önemli rol oynamaktadır (Ozmen ve ark., 2020). Orta Anadolu merinosu kuzularında yapılan bir çalışmada ise, gastrointestinal parazit (GIP) enfeksiyonlarına karşı dirençli olan genetik faktörleri belirlemeye çalışılmış ve 13 önemli genetik belirteç (SNP) ile bağışıklık ile ilişkili 2 önemli gen olan CD79A ve MAP3K7 genlerinin, parazit direnciyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Arzik ve ark., 2025).

Günümüzde genomik seleksiyon tahminlerinde pek çok istatistiksel ve genetik modeller kullanılmaktadır. Örneğin; Hanwoo sığırlarının vücut ölçüm özelliği için genotiplenmiş hayvanlarda soyağacına dayalı BLUP (PBLUP-G), geleneksel soyağacına dayalı BLUP (PBLUP), genomik BLUP (GBLUP) ve tek adımlı genomik BLUP (ssGBLUP) yöntemlerinden elde edilen tahmin doğruluğunu karşılaştırmayı amaçlayan bir çalışmada, seleksiyonun tahmini doğruluğu, PBLUP-G, PBLUP, GBLUP ve ssGBLUP yöntemleri kullanılarak değerlendirildiğinde sırasıyla 0,02-0,19; 0,22-0,42; 0,21-0,44 ve 0,36-0,55 arasında değiştiği ve özellikler genelinde ortalama tahmin doğrulukları, PBLUP-G için 0,13; PBLUP için 0,34; GBLUP için 0,33 ve ssGBLUP için 0,45 olduğu tespit edilmiştir (Naserkheil ve ark., 2020). Bu çalışmada, GBLUP, SNP etkilerini sabit varyans varsayımıyla tahmin edilirken, single-step GBLUP (ssGBLUP) modeli pedigri, fenotip ve genomik bilgileri aynı anda değerlendirerek daha yüksek isabet derecesi doğruluğu sağladığı çalışmanın bulgusu olarak görülmektedir.

GS tahminlerinde kullanılan istatistiksel modellerden biriside Bayes modelleridir. Bayes modeli olan BayesA’da, her SNP için farklı varyans değeri varsayılmakta ve büyük etkiye sahip SNP’ler ön plana çıkarılmakta ve küçük etkilerde modelde kalmaktadır. BayesB’de çoğu SNP etkisi “0” ve az bir kısmında değişken varyans değeri varsayılmakta olup, oluşturulacak modelde önemli SNP’ler seçilerek, diğer SNP değerleri ihmal edilmektedir. BayesC π ’de ise, π oranının SNP etkisi sıfır olup, SNP varyansı

değerlendirilmeye alındığı için BayesC π daha esnektir ve etkisiz SNP'i tamamen dışı bırakıldığından genetik yapıya uyumu diğer modellere göre daha yüksek olmaktadır. Bayes modeller, SNP etkilerini değişken dağılımlar altında ele alarak karmaşık ve poligenik özelliklerin daha doğru tahmin edilmesine olanak sağlamaktadır.

Son yıllarda penalize regresyon yöntemleri de (örneğin; LASSO, Elastic Net) genomik tahmin doğruluğunu artırmak için kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin diğerlerinden temel farkı ise, büyük veri setlerinde ve yüksek LD durumunda stabil ve hızlı tahminli doğruluk oranı hesaplaması olduğu bildirilmiştir (Waldmann ve ark., 2013).

Dünya'da ve Türkiye'de GS uygulamaları tüm türlerde olduğu gibi küçükbaş hayvan ıslahında hızlı, ekonomik ve sürdürülebilir genetik ilerleme sağlamada önemli bir devrim niteliği taşıyacağı literatür çalışmaları neticesinde görülmektedir.

GS'de Çoklu Özellikli İyileştirme

Teknolojinin hızla ilerlemesiyle GS uygulamaları da boyut değiştirmiş ve yalnızca tek bir özelliğe odaklanmak yerine birden fazla ekonomik öneme sahip özelliğin aynı anda değerlendirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Çoklu özellikli genomik yöntemler, döler verimi, büyüme, et/süt verimi, karkas kalitesi ve adaptasyon/fitnes gibi özellikler arasındaki genetik korelasyonları dikkate alarak daha dengeli genetik ilerleme sağlamaktadır. Bu yaklaşımlar, bir özelliğin iyileştirilmesinin diğerine olumsuz etkide bulunmasının olumsuzluklarını da ortadan kaldırmış, optimum ekonomik kazancı hedeflemiştir.

Bu konuda yapılan bir çalışmada, 5726 Merinos ve Merinos melezi koyun için GEBV hesaplanırken BayesR ve GBLUP modeller kullanılmış, yün üretimi ve kalitesi ile ilişkili konformasyon özellikleri de dahil olmak üzere aralarında genetik korelasyonlarında olduğu 22 özellik için çoklu özellikli iyileştirme yapılmıştır. QTL'leri haritalamak için çoklu özellik yaklaşımı kullanılmış ve çoklu özellik yaklaşımı ile tek özellik yaklaşımı sonuçları arasında uyum olması, bunların pleiotropik QTL'yi tespit ettiği sonucunu desteklemiştir (Bolormaa ve ark., 2017). Birçok çalışmada 1 Mb'lik bölgede SNP etkilerinin benzer ve özellikler arası yüksek korelasyon olması, o bölgede tek bir ana QTL bulunduğunu düşündürmektedir. Örnekleme hatası nedeniyle en anlamlı SNP, özelliğe göre değişebilse de, çoklu özellik analizi bu hatayı azaltarak QTL'nin daha hassas konumlandırılmasını sağlamaktadır. Ancak koyun genomundaki uzun mesafeli LD, uzak SNP'lerin bile önemli ilişkilere sahip olabilesine yol açabileceği gibi, bir

QTL'e ait SNP'ler, yakın bölgelerdeki diğer QTL'lerle karışarak haritalama gücünü azaltabileceği bildirilmiştir (Kijas ve ark., 2012). Bu sorunu aşmak için tüm SNP'leri birlikte modelleyen BayesR gibi yöntemlerin QTL haritalaması için uygun olduğu belirtilmiştir (Erbe ve ark., 2012). Bu nedenle modern küçükbaş ıslah programları, genetik ilerlemeyi artırmak için çoklu özellikli genomik seleksiyon indekslerinin standart hale getirilmesini hedeflemelidir.

GS'de Referans Popülasyon ve İmputasyon

Genomik seleksiyon çalışmalarında referans popülasyon, genotip ve fenotip bilgileri bilinen hayvanlardan oluşan temel grup olarak tanımlanmaktadır. Bu popülasyonun kullanılmasının amacı, öncelikle genotip ile fenotip arasındaki ilişkiyi belirleyerek, genomik tahmin modellerinin uygulanmasını sağlamaktır. Böylece her SNP'nin hedef özellik üzerindeki etkisi istatistiksel olarak tahmin edilmektedir. Referans popülasyonunun büyüklüğü, çeşitliliği ve fenotip kalitesi arttıkça elde edilen genomik tahminlerin doğruluğu da yükselmektedir. Ayrıca referans popülasyon, hedef popülasyonun genetik yapısını temsil ettiği için geliştirilen modeller, genç hayvanlara doğru uygulanabilecektir. Bu sayede genç bireylerin fenotipleri ölçülmeden, yalnızca genotipleri kullanılarak genomik seleksiyon yapılabilecektir. Kısacası referans popülasyon, genomik seleksiyonun temelini oluşturan, SNP etkilerinin hesaplandığı ve tahmin doğruluğunu belirleyen kritik bir yapıdır.

Genomik seleksiyonda kullanılan bir diğer önemli kavram olan imputasyon, düşük yoğunluklu SNP paneli ile genotiplenmiş hayvanlarda eksik SNP bilgilerinin, yüksek yoğunluklu panelle genotiplenmiş referans popülasyon kullanılarak tahmin edilmesidir. İmputasyonun temel amacı, genotipleme maliyetini azaltırken aynı zamanda yüksek SNP yoğunluğunun sağladığı avantajlardan yararlanabilmektir. Düşük maliyetli panellerle genotiplenen genç hayvanların verileri imputasyon ile yüksek yoğunluklu panele dönüştürüldüğünde, genomik seleksiyon modellerinin doğruluğu artmakta ve tüm hayvanlar arasında panel uyumluluğu sağlanmaktadır. Böylece maliyet düşerken tahmin gücü yükselmektedir.

Özetle referans popülasyon, genomik seleksiyon modellerinin oluşturulmasında gerekli olan genotip-fenotip ilişkisinin öğrenildiği temel grubu ifade ederken; imputasyon, düşük yoğunluklu genotiplemenin sağladığı maliyet avantajını koruyup,

yüksek yoğunluklu SNP bilgisinin doğruluk oranına katkısını elde etmek amacıyla, kullanılan tamamlayıcı bir yöntemdir.

İmputasyon yöntemi konusunda Yeni Zelanda da 5K, 50K ve HD (600K) yoğunluğunda üç farklı SNP paneli kullanılarak genotiplendirilmiş çok-ırklı bir koyun popülasyonunda yapılan bir çalışmada, 5K panelinden HD paneline yapılan imputasyon, 5K'dan 50K paneline yapılan imputasyona göre % 0,6 daha iyi sonuç verdiği, iki aşamalı imputasyon stratejisinin doğrudan 5K → HD imputasyonundan daha yüksek doğruluk sağladığı bildirilmiştir (Ventura ve ark., 2016).

Aynı çalışmada, referans popülasyonunun yapısının da doğruluğu etkilediği, büyük ve sabit bir referans popülasyonu kullanıldığında, küçük ve ırk-içi (within-breed) referans popülasyona kıyasla bazı bireylerde çok küçük bir doğruluk kaybı gözlemlendiği bildirilmiştir (Ventura ve ark., 2016).

Dünyada ve Türkiye'de GWAS Uygulaması

GWAS'ın temelinde, yüksek kapasiteli algoritmaları ve teknolojik cihazlar kullanılarak, hayvandan alınan doku, kan veya benzeri örnekler üzerinden bir dizi laboratuvar analizleri yapılması sonucunda, tüm genom çapında binlerce SNP verisi taranmasıdır. Elde edilenden SNP verileri, genotip-fenotip ilişkilerini kapsamında değerlendirilmektedir. Böylece her materyal için taranan bu bilgiler, GS kapsamında GEV hesaplanmasında kullanılmaktadır. GWAS, SNP verileri ile fenotipik özellikler arasındaki ilişkiyi istatistiksel olarak test ederek, hedef özelliklerle ilişkili gen bölgelerini (lokus) tanımlamayı amaçlamaktadır. Bu yaklaşım, klasik kantitatif genetik yöntemlerinden farklı olarak, tüm genomu kapsayan geniş ölçekli taramalar sayesinde hem majör etkili genleri hem de küçük etkili poligenik varyantları ortaya çıkarmaktadır.

GWAS'ın uygulama alanlarının bazıları aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir.

Aday Gen Belirleme

GWAS'ın ilk teknolojik gelişmelerinden günümüze en temel uygulamalarından biri, büyüme, süt verimi, karkas kalitesi ve hastalık/parazit direnci gibi ekonomik öneme sahip özelliklerle ilişkili gen bölgelerini belirlemesidir. Etçi koyun ırklarında yapılan GWAS analizleri sonucunda, Yeni Zelanda'da Romney koyunun'da Myostatin geni ile et verimi arasında ilişki bulunmuştur (Hickford ve ark., 2010). İran ırkı koyunlarda LEP geni ile tüm vücut yağ ağırlığı arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Barzehkar ve ark., 2009). DGAT1 geninin, deri altı karkas yağ derinliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir

(Mohammadi ve ark., 2013). Calpastatin geninin de et kalitesini ve yağ asidi kompozisyonunu etkilediği tespit edilmiştir (Aali ve ark., 2017).

GWAS, fenotipik özelliklerle ilişkili hedef genler için, tüm genomu taramak yoluyla, daha yüksek alel frekansları, geniş kapsamlı genomik alanları ve çok sayıda kalıtsal rekombinasyon olaylarını tespit etme yeteneği sağlayarak hem daha güvenilir hem de gen haritalarına oranla daha kolay bir yaklaşım sunduğu bildirilmiştir (Üstün ve ark., 2023). Bu nedenle, GWAS, hayvancılıkta ekonomik kantitatif özellikler için aday genlerin belirlenmesinde önemli bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Lipkin ve ark., 1998; Zhang ve ark., 2012; Sharma ve ark., 2015; Sahito ve ark., 2024).

Hastalık Direnci

Kalıtsal hastalıklar, ebeveynlerden döllere aktarılan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmakta ve hayvan sağlığını, verimini ve fertilitasını olumsuz etkilemektedir. Bu mutasyonlar aminoasit kodonlarını değiştirerek ya bozuk protein sentezine ya da protein sentezinin durmasına yol açmaktadır. Sonuç olarak ta çiftlik hayvanlarında verim düşmekte ve ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Bu nedenle hastalık oluşturması muhtemel damızlığın moleküler düzeyde anlaşılması, zamanında sürüden uzaklaştırılması açısından önemli bir husus olmaktadır (Prajapati ve ark., 2017). Bu nedenle GWAS, küçükbaş hayvanlarda hastalık direnci ile ilişkili genlerin tanımlanmasında da etkin biçimde kullanılmaya başlanmıştır.

Küçükbaş ve büyükbaş hayvanlarda hastalık direnci konusunda da çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Örneğin, Türkiye’de Akkaraman koyun ırkında yapılan hastalık direnci çalışmasında, TNEM3 ve ATRNL1 genleriyle ilişkili genom çapında iki anlamlı SNP ve NELL1, ST6GALNAC3, HIPK1, SYT1, ALK, ZNF596, TMCO5A, PTH2R, LARGE1 ve SCG2 olmak üzere 10 genle ilişkili kromozom çapında 10 anlamlı SNP, parazit direnci özellikleri için aday gen olarak önerilmiştir (Arzik ve ark., 2022).

Mevcut çalışmaya benzer şekilde, Holstein sığırlarında GNA12 geninin (guanin nükleotid bağlayıcı protein a12), Johne hastalığına (paratüberküloz) toleransla ilişkili pozisyonel bir aday gen olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (Zanella ve ark., 2011). Elde edilen genetik belirteçler, gelecekte dayanıklı genotiplerin erken yaşta seçimi, antiparazit ilaç kullanımının azaltılması ve sürdürülebilir ıslah stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

Koyunlarda yapılan farklı çalışmalarla gastrointestinal parazit (GIP) enfeksiyonları sonucunda koyun yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara ve hayvan refahını azaltıcı zorlukları için GWAS ile tam genom bilgileri bir arada değerlendirilmiştir. GWAS'ın, hayvanlarda özellikle verim, üreme, adaptasyon ve hastalık direnci gibi kompleks özelliklerin genetik yapısının çözülmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Arzik ve ark., 2025; Cunha ve ark., 2024).

GS ile Entegrasyon

Son yıllarda GWAS bulgularının GS yöntemlerine entegre edilmesi ile popülasyonda yapılan seleksiyonda isabet derecesi doğruluğunu artırmada güçlü bir strateji olduğu bilinmektedir. GWAS'ta her SNP tek başına test edildiğinden, bir SNP birden fazla QTL'nin etkisini yansıtabilir ve en güçlü ilişki her zaman QTL'ye en yakın SNP olmayabilir. Bu nedenle GS'da tüm SNP'le aynı anda modele dahil ederek QTL'lerin daha hassas haritalanması sağlanmaktadır. Geleneksel yöntemlerde kullanılan ıslah verileri, BLUP modeli kullanıldığında birçok SNP'nin etkisini çok küçük tahmin edildiği için QTL'nin konumun tam olarak netleşmemesi söz konusu olmaktadır. Bu nedenle, araştırmacılar analiz yöntemlerinde weighted GBLUP (wGBLUP), Bayes C π ve Bayes R gibi modelleri kullanmakta ve GWAS ile tanımlanan önemli SNP'lere farklı farklı varyans değeri atayarak modellerini optimize etmektedirler. GS'un hesaplanmasında Bayes B gibi yöntemler, büyük etkiye sahip SNP'leri öne çıkararak QTL konumunun daha doğru belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Verbyla ve ark., 2009). Bu yaklaşımlar, düşük etkili SNP'in model üzerindeki görüntüsünü azaltırken, biyolojik olarak anlamlı gen bölgelerinin etkisini güçlendirmektedir. Örneğin; Alpine Merinos koyun ırkında yapılan bir çalışmada, Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP) modeli kullanılarak hesaplanan süttan kesim ağırlığı özelliğinin kalıtım derecesinin 0,122 ile 0,394 arasında değiştiği, buna karşılık gelen tahmini isabet derecesinin 0,075 ile 0,228 arasında olduğu, GWAS bilgilerinin modele dahil edilmesiyle birlikte tahmini kalıtım derecesinin 0,125 ile 0,407 aralığına çıktığı ve GEBV doğruluğunu artırma potansiyeli gösterdiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2024). Aynı çalışmada süttan kesme ağırlığı özelliği için genomik GBLUP yöntemi kullanılarak tahmin edilen GEBV doğruluğu ve GWAS belirteç bilgilerini içeren GEBV tahmin doğruluğu karşılaştırmış ve kesim ağırlığı ve karkas randımanı ile ilişkili çok sayıda SNP belirlenmiştir ve araştırmada kullanılan GBLUP/BayesB modelleri, klasik fenotip

seleksiyona kıyasla %20'ye varan daha yüksek genetik tahmin doğruluğu sağladığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2024).

Tibet koyunu ile küçük kuyruklu Han koyunu ve Hu koyunlarında üremeyle ilişkili genlerini belirleyen bir çalışmada, transkriptomik ve genomik verilerin modele entegre edilmesi ile tibet koyununda spermatogenez, embriyonik gelişim ve transkripsiyonel düzenleme yapılmış ve belirlenen genlerin yumurtlama oranı ve doğurganlıkla güçlü ilişkisi olduğu belirlenmiş ve çalışma sonuçlarına göre genomik düzeyde üreme performansını artırmaya yönelik seleksiyon stratejilerinin geliştirilmesine temel oluşturabileceği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2025).

Alpine Merinos koyun embriyolarında, genomik seleksiyonun uygulanabilirliğini değerlendiren çalışmada; erken embriyo döneminde GEBV tahmininin, yüksek genetik potansiyele sahip embriyoların in-vitro olarak seçilmesine olanak sağladığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2025).

Sonuç olarak GWAS tekniği desteğiyle kullanılan GS modelleri, GEBV tahmin doğruluğunu artırdığı pek çok çalışma sonucu olarak bilim dünyasında paylaşılmıştır (Wang ve ark., 2024). Dolayısıyla, GS kapsamında GWAS yönteminin kullanılması, fenotipik verilere dayalı seleksiyonla yıllarca süren genetik ilerleme, önemli ölçüde hızlanmakta ve özellikle ilkine damızlık seçim yaşı düşürülerek genetik kazanç oranını artırılmaktadır. Böylece genetik tahminlere dayalı popülasyonların oluşturulması sağlanmaktadır.

GS'de Gelecek Hedefler (Pangenom ve Çoklu-Omik Entegrasyon)

Pangenom, bir organizmanın veya bir türün tüm genetik çeşitliliğini temsil eden bir genom kavramıdır. Klasik referans genomlar, genetik çeşitliliğin yalnızca sınırlı bir bölümünü temsil ettiği için, özellikle farklı coğrafi bölgelerdeki yerel ırkların adaptasyon genlerini tam olarak yansıtmamaktadır. Bu nedenle pangenom teknolojisi, tür içindeki tüm genetik varyasyonları kapsayacak biçimde çoklu referans genomların oluşturulmasını sağlamaktadır.

Omik teknolojileri, biyolojik sistemlerdeki farklı moleküler düzeyleri yüksek kapasiteli ve sistematik olarak incelemektedir. Omik teknolojileri, Genomik, Epigenomik, Transkriptomik, Proteomik, Metabolomik, Lipidomik, Glikomik ve Mikrobiyomik olup, bu teknolojiler yoluyla alınan veriler, çoklu-omik entegrasyonu ile birleştirilerek sistem biyolojisi yaklaşımıyla analiz edilmektedir. Çoklu-omik ise, bir

materyalin DNA, RNA, protein, metabolit ve diğ er biyomoleküllerden elde edilen verilerinin, ortak veri matrisine, regresyon ya da Bayes gibi istatistiksel modeline, makina öğrenimine, biyolojik ağ a ya da biyolojik yolağ a entegre edilmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu yaklaşımlar, koyun genetiğ i ve ilgili işlevlerin incelenmesini kolaylaştırarak, hayvan yetiştiriciliğ inde, hastalık önleme ve tedavi stratejileri hakkında değ erli bilgiler sunmaktadır.

Küçükbaş hayvancılık doğ ası gereğ i farklı ekolojik koşullardan oluşmakta ve bu durum ise genotip–çevre etkileşimini ($G \times E$) önemli hale getirmektedir. Doğ al olarak aynı genotipin farklı çevre koşullarında farklı fenotipik tepkiler göstermesi, genetik tahminlerin doğ ruluğ unu sınırlamaktadır. Bu nedenle çevresel değ işkenlerin analize dahil edildiğ i panomiks modellerin kullanılması büyük önem arz etmektedir (Li ve ark., 2024). Dolayısıyla, omik teknolojileri, genetik mekanizmaların çok katmanlı düzeyde anlaşılmasını ve modellere entegrasyonunu mümkün kılmaktadır. Bu entegrasyon, fitnes, adaptasyon, üreme performansı ve her türlü verim özellikleri arasındaki karmaşık biyolojik ağ ların çözümlenmesini kolaylaştırmaktadır.

Küçükbaşta, omik yöntemler genellikle et kalitesi üzerine olan modellerde kullanılmaktadır. Et kalitesi, aynı ırk içinde farklı vücut bölgeleri arasında değ işiklik göstermektedir (Wei ve ark., 2019). Ayrıca, besleme yönetimi (Wang ve ark., 2021), taşıma, kesim süreçleri (Ivanov, 2020) ve işleme yöntemleri de et kalitesini etkilemektedir (Prache ve ark., 2022). Küçükbaşlarda, kas iç i yağ ın (IMF) kalıtım derecesi oldukça yüksek olup, et kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Bu durum ise, genomik çalışmalarda önemli bir odak noktası haline gelmesine neden olmaktadır. Kalıtım ve genetik ilişki tahminleri, IMF'nin koyunlarda yüksek düzeyde kalıtımsal olduğunu ve kuzu etinin yumuşaklığ ı, su tutma kapasitesi ve sertliğ i ile güçlü bir korelasyona sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Knight ve ark., 2020). Omik teknolojisi kullanılarak koyunlarda ve keçilerde et kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada, post-genomik teknolojilerin et kalitesindeki genlerin, proteinlerin ve metabolitlerin altında yatan varyasyonları keşfetmede güçlü olduğunu bildirmişlerdir (Wang ve ark., 2023).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, iklim değ işikliğ ine dayanıklı genlerin belirlenmesinde, DNA metilasyonu profilleri ve RNA dizileme verilerinin birlikte analiz edilmesi üzerine yoğunluk kazanmıştır. Global iklim krizlerinin yaşanacağı ön görülen gelecek için, yerli koyun ve keçi ırklarının, ısı stresi, paraziter hastalıklar, düşük kaliteli

yem kaynakları, içme suyu miktarı ve kalitesi ve kuraklık gibi çevresel zorluklara karşı dayanıklılığını destekleyen genetik varyantlar daha doğru şekilde belirlenebilecektir. Bu gelişmeler, iklim dostu, genetik olarak dayanıklı ve sürdürülebilir küçükbaş üretim sistemlerinin oluşturulmasına zemin hazırlamaktadır. Dolayısıyla pangenom ve çoklu-omik yaklaşımlar, yalnızca genetik ilerlemenin değil, aynı zamanda biyolojik esneklik ve çevresel sürdürülebilirliğinde temelini oluşturmaktadır. Hatta Çoklu Lokus GWAS (ML-GWAS) yaklaşımların pangenom verileri, epigenomik ve multi-omik entegrasyonlarla desteklenmesiyle, daha yüksek çözünürlükte gen-fenotip ilişkilerinin ortaya konmasında önem kazanacaktır.

Küçükbaş Hayvanlarda Genomik Seleksiyon ve GWAS'ın Zorlukları

Küçükbaş hayvanlarda GS ve GWAS'ın etkinliğini sınırlayan başlıca zorluklar, yetersiz referans popülasyonu, fenotip veri eksiklikleri, yüksek maliyet ve altyapı sorunları, uzman personel kaynağı ve veri yönetimidir. Bu zorlukların çözümü, ulusal ve uluslararası veri paylaşımı, modern fenotipleme teknolojileri, biyoinformatik altyapı yatırımları ve kapsamlı eğitim programlarıyla mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Referans Popülasyon Eksikliği

Genomik seleksiyonda GEBV doğruluğu, yeterli büyüklükte ve genetik olarak temsili referans popülasyonların varlığına doğrudan bağlıdır. Dünya genelinde ve özellikle Türkiye ile diğer gelişmekte olan ülkelerde, küçükbaş yerli ırklarda genotiplendirilmiş materyal sayısı yeterli seviyeye henüz ulaşamamıştır. Bu durum ise, GS uygulamalarında tahmin doğruluğunu düşürmekte ve genetik ilerlemenin hızını sınırlamaktadır. Sorunun çözümü için, ulusal ve uluslararası düzeyde veri konsorsiyumlarının kurulması, farklı ülkelerdeki veri setlerinin paylaşılması ve daha kapsamlı referans popülasyonların oluşturulması büyük önem taşımaktadır. Örneğin, Uluslararası Koyun Genomu Konsorsiyumu (ISGC), üretim, kalite ve hastalık özellikleriyle ilişkili genleri ortaya çıkarmada önemli bir model teşkil etmektedir.

Fenotipik Veri Eksikleri ve Çevresel Etkiler

Genotip verilerinde önemli ilerlemeler sağlanmış olmasına rağmen, birçok üretim özelliği için standartlaşmış ve doğru fenotip kayıtları hala tam anlamıyla tutulamamaktadır. Ayrıca çevresel faktörlerin kontrol edilememesi, özellikle doğal yetiştirme koşullarında GS için, GWAS teknikleri kullanılsa da, analizlerinin doğruluğunu olumsuz etkilemektedir. Fenotipik veri eksikliği, özellikle genç bireylerde

GEBV tahminlerinin güvenilirliğini düşürmektedir. Bu sorunun aşılabilmesi için modern sensör sistemleri, otomatik tartım cihazları ve dijital fenotipleme platformları gibi teknolojilerin kullanımını veri standartlarını artırarak analizin doğruluk oranı artırılması gerekmektedir.

Maliyet ve Altyapı Sınırları

Yüksek yoğunluklu SNP panelleri veya tam genom dizileme yöntemleri halen birçok gelişmekte olan ülke için yüksek maliyetli olup, büyük hacimli genomik verilerin, depolanması ve analiz edilmesi güçlü biyoinformatik altyapılar gerektirmektedir. Bu durum, hem GS hem de GS için GEBV hesaplamada kullanılan bir teknoloji olan GWAS çalışmalarının yaygın ve sürdürülebilir biçimde uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Maliyetleri düşürmek ve veri doğruluğunu korumak için, düşük yoğunluklu SNP panelleri ile imputasyon yöntemlerinin etkin kullanılması uygun görülmektedir. Bu yaklaşım, veri setlerini daha ulaşılabilir hâle getirirken referans popülasyon büyüklüğünü de artacağı öngörülmektedir.

İnsan Kaynağı ve Eğitim Eksikliği

GS için, GWAS teknolojisinin uygulanması, yüksek düzeyde genetik ve biyoinformatik uzmanlık gerektirmektedir. Bu nedenle, üniversiteler, araştırma enstitüleri ve yetiştirici birlikleri arasında iş birliği ile kapsamlı eğitim programlarının ve uygulamalı atölye çalışmalarının düzenlenmesi kritik önem göstermektedir. İnsan kaynağı eksikliği, modern omik teknolojilerden ve çoklu-omik entegrasyon yaklaşımlarından tam olarak yararlanmayı sınırlayan temel engellerden bir diğere zorluk olarak görülmektedir. Ayrıca, multidisipliner araştırma ekiplerinin oluşturulması, veri analizi ve yorumlama sürecinde verimliliği artıracak düşünülmemektedir.

SONUÇ

Bu derlemede küçükbaş hayvanlarda genomik seleksiyonun temel bileşenleri, yöntemsel yaklaşımlar ve uygulamayı sınırlayan faktörleri ile GWAS tekniği çok yönlü olarak ele alınmıştır. Küçükbaşta genomik ıslahın artan önemi doğrultusunda, hem verim özelliklerinin geliştirilmesi hem de hastalık direnci, adaptasyon ve üretim verimliliği gibi karmaşık özelliklerin iyileştirilmesi için genomik bilginin stratejik bir araç olduğu görülmüştür. GWAS ile aday gen belirleme çalışmalarının, hastalık direnci özellikleri açısından kritik rol oynadığı belirtilmiştir. QTL bölgelerinin daraltılması, fonksiyonel varyantların tanımlanması ve biyolojik mekanizmaların anlaşılması, genomik

seleksiyonun doğruluğunu destekleyen tamamlayıcı unsurlar olarak öne çıktığı ifade edilmiştir. Buna paralel olarak, çoklu özellikli iyileştirme yaklaşımlarının, pleiotropik QTL'lerin etkilerini dikkate alarak aynı anda birden fazla verim veya direnç özelliğinin optimize edilmesine imkân tanıdığı ve bunun küçükbaş türlerde seleksiyonun etkinliğini artırdığı belirtilmiştir. Derlemede, yer alan referans popülasyon ve imputasyon süreçleri de genomik seleksiyonun temel dayanak noktaları arasında yer aldığı açıklanmıştır. Genetik çeşitliliği temsil eden referans popülasyonlarının oluşturulması için düşük yoğunluklu paneller ile imputasyonlar sayesinde yüksek yoğunluklu verilere dönüştürülmesi, GEBV doğruluğunu doğrudan etkilediği ifade edilmiştir. Ancak küçükbaş hayvan popülasyonlarında referans popülasyonlarının sınırlı büyüklüğü, yetiştirme yapısının heterojenliği ve LD bloklarının kısalığı gibi faktörler algoritmik tahminlerin etkinliğini azalttığı vurgulanmıştır. Pangenom yaklaşımlarının ve çoklu-omik teknolojilerin tek referans genomun ötesine geçerek popülasyonda ki tüm yapısal ve fonksiyonel çeşitliliği yakalayabilme potansiyeli oluşturduğu hususuna değilmiş ve özellikle seleksiyon değerlerinin, nadir varyantların ve tür içi genomik çeşitliliğin daha kapsamlı şekilde ortaya konması; aday gen belirleme, hastalık direnci mekanizmalarının çözülmesi ve genomik tahmin modellerinin güçlendirilmesi açısından büyük katkı sağlayacağı bildirilmiştir. Derlemede vurgulandığı üzere GWAS'ın genomik seleksiyondaki rolü ve önemli açıklanmış ve genom çapında varyant-fenotip ilişkilerini sistematik olarak test ederek hangi SNP'lerin belirli özelliklerle ilişkili olduğunu ortaya çıkaran bir teknoloji olduğu belirtilmiştir. Elde edilen bu bilgi ile genomik seleksiyonda kullanılan marker setlerinin iyileştirilmesine, özelliklerle ilişkili bölgelerin daha doğru tanımlanmasına ve SNP etkilerinin daha güvenilir şekilde modellere entegre edilmesine katkı sağlayacağı belirtilmiştir. Ayrıca GWAS, poligenik özelliklerde çok sayıda küçük etkili QTL'in varlığını ortaya koyarak, Bayes modeller ve çoklu-SNP analiz yaklaşımlarının neden gerekli olduğunu ve GEBV tahminlerinin doğruluğunun artırılmasına önemli bir temel oluşturduğu ifade edilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde; GWAS ile aday gen belirleme, hastalık direnci genomikleri, çoklu özellikli iyileştirme yöntemleri, referans popülasyonu ve imputasyon stratejileri, pangenom çalışmaları, çoklu-omik teknolojilerin birlikte ele alınması, küçükbaş hayvanlarda genomik seleksiyonun doğruluğunu ve sürdürülebilirliğini önemli ölçüde artırma potansiyeline sahip olduğu görülmüştür. Bu nedenle gelecekteki çalışmaların hem

teknik yöntemleri geliştirmeye hem de uygulamada karşılaşılan yapısal engelleri azaltmaya odaklanması, genomik ıslah programlarının etkinliğini ve küçükbaş üretim sistemlerine katkısını belirgin biçimde güçlendireceği görüşüne varılmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

Aali, M., Moradi-Shahrbabak, H., Moradi-Shahrbabak, M., Sadeghi, M., & Yousefi, A.R. (2017). Association of the calpastatin genotypes, haplotypes, and SNPs with meat quality and fatty acid composition in two Iranian fat-and thin-tailed sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 149, 40-51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.12.026>

Arzik, Y., Kizilaslan, M., White, S.N., Piel, L.M.W., & Çınar, M.U. (2022). Genomic Analysis of Gastrointestinal Parasite Resistance in Akkaraman Sheep. *Genes*, 13, 2177. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes13122177>

Arzik, Y., Kizilaslan, M., Behrem, S., Piel, L.M., White, S.N., & Çınar, M.U. (2025). Exploring Genetic Factors Associated with *Moniezia* spp. Tapeworm Resistance in Central Anatolian Merino Sheep via GWAS Approach. *Animals*, 15(6), 812. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani15060812>

Auvray, B., J.C. McEwan, S.A.N. Newman, M. Lee., & K.G. Dodds. 2014. Genomic prediction of breeding values in the New Zealand sheep industry using a 50K SNP chip. *Journal of Animal Science*, 92(10), 4375–4389. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7801>

Barzehkar, R., Salehi, A., & Mahjoubi, F., 2009, Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds, *Iranian Journal of Biotechnology*, 7(24), 1–246.

Bolormaa, S., Swan, A.A., Brown, D.J., Hatcher, S., Moghaddar, N., Van Der Werf, J.H., Goddard, M.E., & Daetwyler, H.D. (2017). Multiple-trait QTL mapping and genomic prediction for wool traits in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 49(1), 62. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0337-y>

Carillier, C., Larroque, H., Palhiere, I., Clément, V., Rupp, R., & Robert-Granié, C. (2013). A first step toward genomic selection in the multi-breed French dairy goat population. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7294-7305. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6789>

Carillier, C., Larroque, H., & Robert-Granié, C. (2014). Comparison of joint versus purebred genomic evaluation in the French multi-breed dairy goat population. *Genetics Selection Evolution*, 46(1), 67. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12711-014-0067-3>

Chamberlain, A.J., McPartlan, H. & Goddard, M.E. (2007). The number of loci that affect milk production traits in dairy cattle. *Genetics*, 177(2), 1117–1123. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.107.077784>

Cunha, S.M.F., Lam, S., Mallard, B., Karrow, N.A., & Cánovas, Á. (2024). Genomic Regions Associated with Resistance to Gastrointestinal Nematode Parasites in Sheep—A Review. *Genes*, 15(2), 187. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes15020187>

Daetwyler, H.D., Hickey, J.M., Henshall, J.M., Dominik, S., Gredler, B., Van Der Werf, J.H.J., & Hayes, B. J. (2010). Accuracy of estimated genomic breeding values for wool and meat traits in a multi-breed sheep population. *Animal Production Science*, 50(12), 1004-1010.
DOI: <https://doi.org/10.1071/AN10096>

Daetwyler, H.D., Kemper, K.E., Van Der Werf, J.H.J., & Hayes, B.J. (2012). Components of the accuracy of genomic prediction in a multi-breed sheep population. *Journal of Animal Science*, 90(10), 3375-3384. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4557>

Daetwyler, H.D., Swan, A.A., van der Werf, J.H., & Hayes, B.J. (2012). Accuracy of pedigree and genomic predictions of carcass and novel meat quality traits in multi-breed sheep data assessed by cross-validation. *Genetics Selection Evolution*, 44(1), 33.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9686-44-33>

Dalton, R. (2009). No bull: genes for better milk. *Nature*, 457(7228), 369-370.
DOI: <https://doi.org/10.1038/457369a>

Dekkers, J.C. (2004) Commercial application of marker and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Science* 82, E313–E328.

Dekkers, J.C.M. & Hospital, F. (2002). Multifactorial genetics: the use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 3(1), 22–32.
DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg701>

Dokgöz, M., & Özcan, B.D. (2024). Relationship of Calpastatin Gene Polymorphism with Growth Traits in Some Locally Reared Awassi and Akkaraman Sheep Breeds. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(5), 2364-2373.
DOI: <https://doi.org/10.47495/okufbed.1462150>

Erbe, M., Hayes, B.J., Matukumalli, L.K., Goswami, S., Bowman, P.J., Reich, C.M., Mason, B.A., & Goddard, M.E. (2012). Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 4114-4129. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5019>

Fernando, R.L. & Grossman, M. (1989). Marker-assisted selection using best linear unbiased prediction. *Genetics Selection Evolution*, 21(4), 467-477.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9686-21-4-467>

Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M., Mishra, A., Okimoto, R., Pasquino, A.T., Sargeant, L. S., Sorensen, A., Steele, M.R., Zhao, X., Womack, J.E., & Hoeschele, I. (1995). Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139(2), 907-920. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/139.2.907>

Goddard, M.E. (1996). The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetics Selection Evolution*, 28(2), 161-176. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9686-28-2-161>

Goddard, M.E., & Hayes, B.J. (2007). Genomic selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(6), 323-330. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x>

Goddard, M.E., Hayes, B.J., & Meuwissen, T.H. (2010). Genomic selection in livestock populations. *Genetics Research*, 92(5-6), 413-421.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0016672310000613>

Havenstein, G.B., Ferket, P.R., Scheideler, S.E., & Larson, B.T. (1994). Growth, livability, and feed conversion of 1957 vs 1991 broilers when fed 'typical' 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Science*, 73(12), 1785-1794. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0731795>

Hayes, B.J., & Goddard, M.E. (2001). The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*, 33(3), 209-229. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9686-33-3-209>

Henderson, C.R. (1984). Applications of linear models in animal breeding, Guelph: University of Guelph Press, Canada, 462p.

Hickford, J.G.H., Forrest, R.H., Zhou, H., Fang, Q., Han, J., Frampton, C.M., & Horrell, A.L. (2010). Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney sheep. *Animal Genetics*, 41(1), 64-72. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01965.x>

Ivanov, N.T. (2020). Sheep welfare during transport and slaughter in Bulgaria-Impact of welfare on slaughter carcass and meat quality: a review. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44(2), 174-181. DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-1909-30>

Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., & Dalrymple, B. (2012). Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*, 10(2), e1001258. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258>

Knight, M.I., Butler, K.L., Linden, N.P., Burnett, V.F., Ball, A.J., McDonagh, M.B., & Behrendt, R. (2020). Understanding the impact of sire lean meat yield breeding value on carcass composition, meat quality, nutrient and mineral content of Australian lamb. *Meat Science*, 170, 108236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108236>

Larroque, H., Barillet, F., Baloche, G., Astruc, J.M., Buisson, D., Shumbusho, F., Clément, V., Lagriffoul, G., Palhière I., Rupp, R., Carillier, C., Robert-Granié, C., & Legarra, A. (2014). Toward genomic breeding programs in French dairy sheep and goats. 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 17.08.2014-22.08.2014, Vancouver, Canada, 31326

Legarra, A., Baloche, G., Barillet, F., Astruc, J.M., Soulas, C., Aguerre, X., Arrese, F., Mintegi, L., Lasarte, M., Maeztu, F., de Heredia, B., & Ugarte, E. (2014). Within-and across-breed genomic predictions and genomic relationships for Western Pyrenees dairy sheep breeds Latxa, Manech, and Basco-Béarnaise. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 3200-3212. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7745>

Li, M., Lu, Y., Gao, Z., Yue, D., Hong, J., Wu, J., Xi, D., Deng, W., & Chong, Y. (2024). Panomics in sheep: Unveiling genetic landscapes. *Animals*, 14(2), 273. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14020273>

Lipkin, E., Mosig, M.O., Darvasi, A., Ezra, E., Shalom, A., Friedmann, A., & Soller, M., 1998. Quantitative trait locus mapping in dairy cattle by means of selective milk DNA pooling using dinucleotide microsatellite markers: analysis of milk protein percentage. *Genetics*, 149(3), 1557-1567. DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/149.3.1557>

- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J., & Goddard, M.E. (2001). Prediction of total genetic value using genomewide dense marker maps. *Genetics*, 157(4), 1819–1829.
DOI: <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Mohammadi, H., Shahrehabak, M.M., & Sadeghi, M. (2013) Association between single nucleotide polymorphism in the ovine DGAT1 gene and carcass traits in two Iranian sheep breeds, *Animal Biotechnology*, 24(3), 159–167. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2013.763816>
- Mucha, S., Mrode, R., MacLaren-Lee, I., Coffey, M., & Conington, J. (2015). Estimation of genomic breeding values for milk yield in UK dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 8201-8208. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9682>
- Naserkheil, M., Lee, D.H., & Mehrban, H. (2020). Improving the accuracy of genomic evaluation for linear body measurement traits using single-step genomic best linear unbiased prediction in Hanwoo beef cattle. *BMC Genetics*, 21(1), 144.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00928-1>
- Neimann-Sorensen, A., & Robertson, A. (1961). The association between blood groups and several production characteristics in three Danish cattle breeds. *Acta Agriculturae Scandinavia*, 11(2), 163–196. DOI: <https://doi.org/10.1080/00015126109433054>
- Ozmen, O., Kul, S., & Gok, T. (2020). Determination of genetic diversity of the Akkaraman sheep breed from Turkey. *Small Ruminant Research*, 182, 37-45.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.009>
- Prache, S., Schreurs, N., & Guillier, L. (2022). Factors affecting sheep carcass and meat quality attributes. *Animal*, 16, 100330. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100330>
- Prajapati, B.M., Gupta, J.P., Pandey, D.P., Parmar, G.A., & Chaudhari, J.D. 2017. Molecular markers for resistance against infectious diseases of economic importance. *Veterinary World*, 10(1), 112. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.112-120>
- Rendel, J. (1961). Relationships between blood groups and the fat percentage of the milk in cattle. *Nature*, 189(4762), 408-409. DOI: <https://doi.org/10.1038/189408a0>
- Rupp, R., Mucha, S., Larroque, H., McEwan, J., & Conington, J.E. (2016). Genomic application in sheep and goat breeding. *Animal Frontiers*, 6(1), 39-44.
DOI: <https://doi.org/10.2527/af.2016-0006>
- Sahito, J.H., Zhang, H., Gishkori, Z.G.N., Ma, C., Wang, Z., Ding, D., Zhang, X., & Tang, J. 2024. Advancements and prospects of genome-wide association studies (GWAS) in maize. *International journal of Molecular Sciences*, 25, 1918.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25031918>
- Sharma, A., Lee, J.S., Dang, C.G., Sudrajad, P., Kim, H.C., Yeon, S.H., Kang, H.S., & Lee, S.H., 2015. Stories and challenges of genome wide association studies in livestock-a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(10), 1371.
DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0715>
- Tobar, K.C., Álvarez, D.L., & Franco, L.Á. (2020). Genome-wide association studies in sheep from Latin America. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(3), 859-883.
DOI: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5372>

- Üstün, M.F., & Koyun, H. (2023). Genetik belirteçler ve hayvan yetiştiriciliğinde uygulamaları. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 7(2), 166-184. DOI: <https://doi.org/10.51970/jasp.1524234>
- Van Vleck, L.D., Westall, R.A., & Schneider, J.C. (1986). Genetic change in milk yield estimated from simultaneous genetic evaluation of bulls and cows. *Journal of Dairy Science*, 69(11), 2963–2965. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80753-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80753-6)
- Ventura, R.V., Miller, S.P., Dodds, K.G., Auvray, B., Lee, M., Bixley, M., Clarke, S.M., & McEwan, J.C. (2016). Assessing accuracy of imputation using different SNP panel densities in a multi-breed sheep population. *Genetics Selection Evolution*, 48(1), 71. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0244-7>
- Verbyla, K.L., Bowman, P.J., Hayes, B.J., & Goddard, M. E. (2009). Accuracy of genomic selection using stochastic search variable selection in Australian Holstein Friesian dairy cattle. *Genetics Research*, 91(5), 307-311. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0016672309990243>
- Waldmann, P., Mészáros, G., Gredler, B., Fuerst, C., & Sölkner, J. (2013). Evaluation of the lasso and the elastic net in genome-wide association studies. *Frontiers in Genetics*, 4, 270. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00270>
- Wang, J., Fu, Y., Su, T., Wang, Y., Soladoye, O. P., Huang, Y., Zhao, Z., Zhao, Y., & Wu, W. (2023). A role of multi-omics technologies in sheep and goat meats: progress and way ahead. *Foods*, 12(22), 4069. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12224069>
- Wang, H., Li, C., Li, J., Zhang, R., An, X., Yuan, C., Guo, T., & Yue, Y. (2024). Genomic Selection for Weaning Weight in Alpine Merino Sheep Based on GWAS Prior Marker Information. *Animals*, 14(13), 1904. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14131904>
- Wang, Y., Qin, H., Li, K., Hao, J., Liu, X., Chen, D., Cheng, Lei., He, Huijie., Wu, Riga., Wu, Yingjie., Wang, Y., Guo, M., Li, Qin., An, Lei., Tian, J., Han, H., & Xi, G. (2025). The Establishment of a Sheep Embryo Genomic Selection System. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(19), 9738. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26199738>
- Wei Yan Chao, W.Y., Li Xin, L.X., Zhang DeQuan, Z.D., & Liu YongFeng, L.Y. (2019). Comparison of protein differences between high-and low-quality goat and bovine parts based on iTRAQ technology. *Food Chemistry*, 289, 240-249. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.052>
- Zanella, R., Settles, M.L., McKay, S. D., Schnabel, R., Taylor, J., Whitlock, R.H., Schukken, Y., Van Kessel, J.M., & Neibergs, H. L. (2011). Identification of loci associated with tolerance to Johne's disease in Holstein cattle. *Animal Genetics*, 42(1), 28-38. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02076.x>
- Zhang, H., Wang, Z., Wang, S., & Li, H., 2012. Progress of genome wide association study in domestic animals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 3(1), 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1186/2049-1891-3-26>
- Zheng, W., Ge, S., Zhang, Z., Li, Y., Li, Y., Leng, Y., & Wang, X. (2025). Molecular Genetic Basis of Reproductive Fitness in Tibetan Sheep on the Qinghai-Tibet Plateau. *Genes*, 16(8),909. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes16080909>



Veteriner Hekimlikte Biyomedikal Yaklaşımlar ve Kullanım Alanları

Kürşad Arda BAYKAYA^{1*} 

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Bölümü

*Correspondence: baykayaarfa@gmail.com

Received: 25.11.2025

Accepted: 10.12.2025

Published: 25.12.2025

Atf Yapmak İçin: Baykaya, K.A. (2025). Veteriner Hekimlikte Biyomedikal Yaklaşımlar ve Kullanım Alanları. *VZS, 1(2)*, 236–249. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-31>

How to Cite: Baykaya, K.A. (2025). Biomedical Approaches and Applications in Veterinary Medicine. *VZS, 1(2)*, 236-249.

DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-31>

Özet: Tıp ve sağlık bilimlerinde yaşanan hızlı teknolojik ilerlemeler, biyomedikal mühendisliğinin hem beşeri hekimlikte hem de veteriner hekimlikte önemini giderek artırmaktadır. Biyomedikal mühendisliği; mühendislik prensiplerini biyolojik sistemlerle birleştirerek tanı, tedavi ve rehabilitasyon süreçlerinde kullanılan yenilikçi araçların ve yöntemlerin geliştirilmesini sağlayan multidisipliner bir alandır. Beşeri hekimlikte birçok ileri teknoloji cihazın geliştirilmesi aşamasında hayvan modelleri temel araştırma aracı olarak kullanılmakta, bu da iki alan arasında doğal bir etkileşim ve bilgi akışı oluşturmaktadır. Benzer şekilde, veteriner hekimlikte de karmaşık klinik olguların yönetiminde biyomedikal mühendislik uygulamaları önemli katkılar sunmaktadır. Yapay zekâ destekli tanı sistemleri, doku ve kemik defektlerine yönelik bireye özgü implant üretimi, kök hücre ve rejeneratif tıp yaklaşımları, alana özgü sensör ve takip cihazları, nanoteknoloji tabanlı tedavi seçenekleri ile 3D yazıcı teknolojilerinin klinik ve cerrahi uygulamalarda kullanımı bu katkıların başlıca örnekleridir. Ayrıca gelişmiş görüntüleme yöntemleri, robotik cerrahi ve biyomalzeme araştırmaları veteriner sağlık hizmetlerinin kalitesini artıran diğer önemli alanlardır. Bununla birlikte, biyomedikal teknolojilerin sahaya entegrasyonunda bazı genel sınırlılıklar ve materyal temelli zorluklar da bulunmaktadır. Biyomedikal mühendisliğinin giderek gelişmesi ve yaygınlaşması sayesinde hayvan sağlığına yönelik pek çok konuda günümüzde imkânsız görünen olguların çözümüne yönelik daha etkili, güvenilir ve bireye özgü tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi mümkün hâle gelmektedir. Bu derlemenin amacı, biyomedikal mühendisliğinin veteriner hekimlikteki güncel kullanım olanaklarını, teknolojik gelişim sürecini ve karşılaşılan kısıtlamaları ortaya koyarak alanın geleceğine yönelik kapsamlı bir değerlendirme sunmaktır.

Anahtar Kelimeler: Biyomedikal mühendisliği, klinik uygulamalar, rejeneratif tıp, veteriner hekimlik

Biomedical Approaches and Applications in Veterinary Medicine

Abstract: Rapid technological advances in medicine and health sciences are increasingly emphasizing the importance of biomedical engineering in both human and veterinary medicine. Biomedical engineering combines engineering principles with biological systems to contribute to the development of innovative tools and methods used in diagnosis, treatment, and rehabilitation. Animal models are used as basic research tools in the development of many high-tech devices in human medicine, creating a natural interaction and flow of information between the two fields. Similarly, biomedical engineering applications make significant contributions to the management of complex clinical cases in veterinary medicine. Applications such as artificial intelligence-assisted diagnostic systems, personalized implant production for tissue and bone defects, stem cell and regenerative medicine approaches, field-specific sensors and tracking devices, nanotechnology-based treatment options, clinical research on 3D printing technologies, and

biomaterials studies are used in many areas of the veterinary field. The increasing development and widespread adoption of biomedical engineering makes it possible to develop more effective, reliable, and personalized treatment approaches to address seemingly impossible challenges in many areas of animal health. However, there are some general limitations and material-based challenges in integrating biomedical technologies into the field. The purpose of this review is to present a comprehensive assessment of the future of the field by presenting the current applications of biomedical engineering in veterinary medicine, the technological development process, and the limitations encountered.

Keywords: Biomedical engineering, clinical applications, regenerative medicine, veterinary medicine

GİRİŞ

Biyomedikal mühendisliği mühendislik canlı biyolojisi ve tıp alanını kapsayan bir bilim dalıdır. Biyomedikal mühendisliğinin veteriner hekimlikte daha az kullanıldığı bilinmekle birlikte bu alandaki bilgi ve tecrübelerin veteriner sahada kullanımı için uygun bir zemin oluşturabileceği ifade edilmiştir (Fernández-Parra ve ark., 2024). Biyomedikal mühendisliğinin veteriner hekimlikteki temel uygulama alanları arasında biyomekanik analizler, rejeneratif tıp uygulamaları, yapay zeka destekli görüntüleme, biyomalzeme geliştirme, sensör tabanlı izleme sistemleri ve nanoteknolojiye dayalı teşhis yaklaşımları yer almaktadır (Dilbaghi ve ark., 2013; Neethirajan, 2020). Veteriner hekimlikte biyomedikal uygulamaların sistematik biçimde benimsemek, hayvan sağlığında bilimsel ilerlemesinin sürdürülebilirliğini güvence alması bakımından önemlidir (Akinsulie ve ark., 2024). Ayrıca biyomekanik testler, yapay zeka destekli görüntüleme, yenileyici tedaviler ve hasta takibi uygulamalarında, hayvan sağlığı alanında bir dönüşüm yaratmaktadır (Akinsulie ve ark., 2024).

Biyomedikal Mühendisliğinin Kullanım Olanakları

Yapay Zeka Uygulamaları

Yapay zeka (YZ), bir sistemin dış verileri doğru biçimde yorumlama, bu verilerden öğrenme ve elde ettiği bilgileri esnek biçimde uyarlayarak belirli hedef ve görevleri yerine getirme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Kaplan ve Haenlein, 2019).

Yapay zeka ve makine öğrenmesi temelli yaklaşımlar, veteriner klinik uygulamalarda hızlı bir yükseliş göstermektedir (Burti ve ark., 2024; Akinsulie ve ark., 2024). Bu özel destekli sistemler sayesinde radyografi, ultrason, BT ve MR gibi tanısal görüntüleme yöntemlerinde hata oranları azaltılmakta ve dolayısıyla tanısal doğruluğu artırmaktadır (Burti ve ark., 2024). Yapay zeka algoritmaları, radyografik görüntülerin analizinde ve lezyonların zaman içindeki değişiminin takibinde kullanılmaktadır

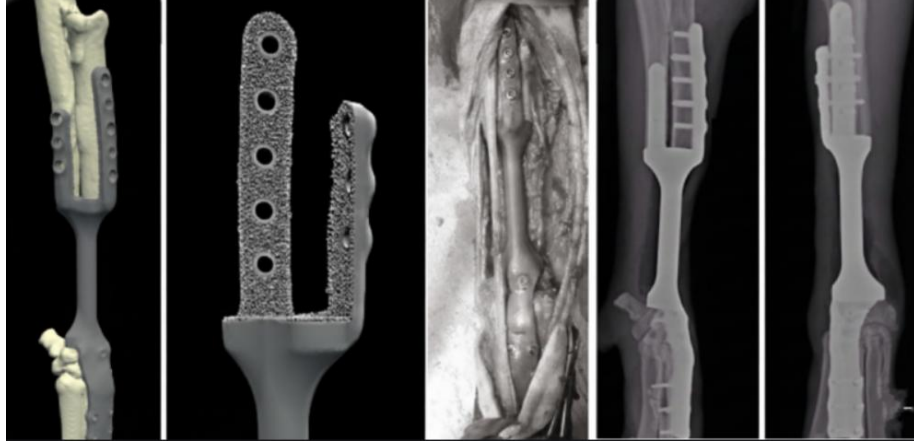
(Bouhali ve ark., 2022). Bu teknolojiler, insan gözünün kaçırabileceği ince detayları yakalayıp tanısal hataları azaltmayı hedeflemektedir (Hosny ve ark., 2018).

Yapay zeka, radyasyon onkolojisinde otomatik organ segmentasyonu ve tedavi planlamasının doğruluğunu artırarak hem klinik iş yükünü azaltma hem de zaman ve maliyet açısından önemli klinik kaynak kullanımını azaltmaktadır (Leary ve Basran, 2022). Ayrıca erken kanser teşhisi için sıvı biyopsiler ve yapay zeka destekli yeni nesil tanı araçları geliştirilmektedir (Alshammari ve ark., 2025). Genel olarak yapay zeka klinik uygulamalardan halk sağlığına kadar geniş bir yelpazede veteriner bilimlerine entegre olmaktadır (Akbarein ve ark., 2025).

Derin öğrenme ve çok modlu veri birleştirme tabanlı yapay zeka sistemleri, ortopedik cerrahide ameliyat öncesi planlama doğruluğunu artırmakta, kesi yönü ve implant yerleşimi gibi kritik kararların optimizasyonunu desteklemekte ve operasyon sonrası iyileşmenin kişiselleştirilmiş biçimde izlenmesine olanak tanımaktadır (Han ve ark., 2025). Bu teknolojilerin doğru biçimde uygulanması, hem veteriner kliniklerinin tanısal doğruluğunu artırmakta hem de araştırma verimliliğini güçlendirmektedir (Burti ve ark., 2024). Veteriner hekimlikte biyomedikal mühendisliği, modern cihaz tasarımı, protez ve implant üretimi, hücre bazlı tedaviler, nanoteknoloji, 3D yazıcı teknolojisi ve yapay zeka tabanlı analizleri bir araya getirerek hem klinik hem de araştırma süreçlerini dönüştürmektedir (Gonzalez ve ark., 2023). 3D yazıcı teknolojisiyle kişiye özel implant ve protez üretimi artık mümkün hale gelmiştir. Köpekler üzerinde yapılan ön uzuv protez çalışmaları, 3D modelleme ve yazılım simülasyonlarının hayvanın yük dağılımını desteklemede başarılı olduğunu göstermiştir (Gonzalez ve ark., 2023). Veteriner anatomisinde 3D görüntüleme ve yazıcı teknolojilerinin kullanımı hem eğitim hem de cerrahi planlamada büyük kolaylık sağlamaktadır (Kapoor, 2024). Bu teknoloji, anatomik modellerin doğru biçimde yeniden yapılandırılmasını ve karmaşık cerrahi operasyonların önceden simülasyonunu mümkün kılmasının yanında Veteriner sahada metal veya biyopolimer bazlı implantları hayvanın anatomisine özel olarak üretebilmektedir (Pawlik ve ark., 2025). Bu gelişmeler, veteriner ortopedi uygulamalarında insan tıbbındaki kalite standartlarının uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca üç boyutlu hücresel modeller, ilaç tarama çalışmalarında daha fizyolojik ve türlere özgü yanıtlar verebildiği için translasyonel araştırmalar açısından da değerlidir (Clevers, 2016).

İmplant Teknolojisi

Veteriner hekimlikte kemikte meydana gelen defektler ve parça kayıplı kemikler için çeşitli implant teknolojileri kullanılmaktadır (Şekil 1). Bu konuyla ilgili daha fazla çalışmanın yapılarak geliştirilmesi gelecek için umut vericidir (Popov ve ark., 2019).



Şekil 1. Veteriner klinik sahada kullanılan kemik implantı (Popov ve ark., 2019).

İnsan implant standartlarının yeni üretim teknolojileriyle birleştirilmesi, veteriner sahada hayvanlara yönelik ortopedik sorunların çözümüne önemli katkı sağlamaktadır (Pawlik ve ark., 2025). Ayrıca insan kaynaklı organoid teknolojilerinin gelişmesi, deneylerde kullanılan geleneksel hayvan modellerinin yerini alabilecek daha hassas ve insan biyolojisine özgü sistemlerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Organoidlerin genetik hastalıkların modellenmesi, enfeksiyonların incelenmesi ve ilaç testlerinin yapılması gibi alanlarda sunduğu avantajlar, bazı araştırma alanlarında hayvan kullanımını önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahiptir (Kim ve ark., 2020). Fakat hayvanlar üzerindeki yapılan çalışmaların bazı durumlarda insanlar için uygulanabilirliğiyle ilgili endişelerden dolayı elde edilen bulguların klinik uygulamalarda insanlara aktarılabilirliğini sınırlayabilmektedir. Çünkü hayvan deneyleri çok farklı birçok türü kapsamaktadır (Akhtar, 2015).

Kök Hücre Çalışmaları

Kök hücreler, hücre bölünmesi sayesinde yenileme, yaygın olarak çoğalma ve bir veya daha fazla hücre/doku tipine uyarlanabilme özelliği bulunan hücrelerdir (Amarpal ve ark., 2013). Kök hücre temelli tedaviler, veteriner rejeneratif tıbbın merkezinde yer alır. Mezenkimal stromal hücreler (MSC), köpek, at ve kedi gibi türlerde kas iskelet, kalp, deri ve nörolojik hastalıkların tedavisinde umut verici sonuçlar vermektedir. Ayrıca bu hücrelerin kendini yenileme ve farklılaşma kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (El-

Husseiny ve ark., 2022). Mezenkimal kök hücreler (MSC), rejeneratif tıpta en umut verici alanlardan biridir. Özellikle köpeklerde osteoartrit (OA) tedavisinde Yağ Dokusu Kaynaklı Kök Hücrelerin (ADMSC) kullanımı üzerine yapılan çalışmalar dikkat çekicidir (Vilar ve ark., 2014). şiddetli kalça OA'sı olan köpeklerde intraartiküler ADMSC uygulamasının, kuvvet platformu analizlerine göre ilk üç ayda uzuv fonksiyonlarını objektif olarak iyileştirdiğini, ancak etkinin zamanla azaldığını belirtmiştir. Benzer şekilde, allojenik kök hücrelerin plaseboya kıyasla köpeklerde ağrı ve klinik skorlarda anlamlı iyileşme sağladığını raporlamıştır (Harman ve ark., 2016). İntraartiküler allojenik yağ kök hücre tedavisi, osteoartritli köpeklerde plaseboya kıyasla hem hasta sonuç skorlarında hem de veteriner değerlendirme skorlarında anlamlı iyileşme sağlamıştır. Advers olay oranları açısından iki grup arasında fark görülmemiştir (Harman ve ark., 2016). Kalça osteoartriti olan köpeklerde AD-MSC tedavisi, özellikle tedaviden sonraki ilk 30 günde tepe dikey kuvvet ve dikey dürtüde belirgin artış sağlamış, etkinin 3 ay içinde kademeli olarak azaldığı gözlenmiştir (Vilar ve ark., 2014).

Sadece köpeklerde değil, atlarda da tendon rejenerasyonu için biyomühendislik yaklaşımları kullanılmakta olup, atlar insan tendinopatileri için uygun bir translasyonel model olarak kabul edilmektedir (Alves ve ark., 2025). Kedilerde ise kök hücrelerin sekretom profilleri incelenmiş ve eksozomların hücreler için potansiyel taşıdığı ortaya konmuştur (Villatoro ve ark., 2021). Ayrıca, Qinling dev pandalarında yapılan yenilikçi bir çalışmada, ADMSC kaynaklı hücre dışı veziküllerin yara iyileşmesini hızlandırdığı, kolajen birikimini artırdığı ve antiinflamatuvar etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Gong ve ark., 2025). Ancak, doğal yollarla oluşan hastalıklarda (indüklenmiş modellerin aksine) klinik çalışmaların sayısının hala sınırlı olduğunu ve düzenleyici eksikliklerin bulunduğunu vurgulamaktadır (Marx ve ark., 2015).

MSC'lerin kemik iliği, yağ dokusu veya diş dokusundan elde edilmesi, hayvanlarda kemik doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılmaktadır (Nantavisai ve ark., 2019). Biyomalzemeler, doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta tedavi edici çözümler sunarak hem beşeri hem de veteriner hekimliğinde giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Leonardi ve ark., 2024). Özellikle oftalmoloji alanında, doku bütünlüğünü koruyan kolajen ve hyaluronik asit bazlı yapıların yanı sıra, 3D baskı teknolojisi ile üretilen kişiye özel modellerin kullanımı yaygınlaşmaktadır (Leonardi ve ark., 2024). Bu çalışmalar, oftalmoloji ve ortopedik cerrahi dahil olmak üzere farklı alanlarda klinik başarı sağlamıştır. Bu malzemeler genel olarak yumuşak ve sert malzemeler olarak sınıflandırılabilir. Başlıca plastik, metal ve polimer malzeme

kullanılmaktadır (Leonardi ve ark., 2024). Ayrıca veteriner doku yenilenmesi alanında hayvanlar üzerinde denenen hücre terapisine bağlı sağaltım yöntemlerinin beşeri tıp alanında yapılan uygulamalar için önemli bir veri kaynağı sağladığı bilinmektedir. Dolayısıyla hücre biyolojisinin tam olarak anlaşılması ve üretim süreçlerinin standardize edilmesi, kök hücre terapilerinin etkinliğini artırmada kritik öneme sahiptir (Arzi ve ark., 2021).

Nanoteknoloji Alanı

Nanoteknoloji; fizik, kimya, biyoloji ve veteriner hekimliği kapsayan disiplinler arası bir bilimdir. Veterinerlikte nanomalzemeler, ilaç iletimi, hastalık teşhisi, doku mühendisliği ve hayvan kimlik doğrulaması gibi alanlarda kullanılmaktadır (Dilbaghi ve ark., 2013; Jafary ve ark., 2023). Metal nanopartiküller ve manyetik nanopartiküller, hedefe yönelik tedavilerde umut verici araçlar olarak öne çıkmıştır. Bununla birlikte, nanomalzemelerin uzun vadeli biyoyumluluk etkileri üzerine daha fazla çalışma gerekmektedir (Jafary ve ark., 2023). Nanomalzeme toksisitesinin değerlendirilmesinde kullanılan alternatif in vitro test yöntemleri, hayvan deneylerine duyulan ihtiyacı azaltmak amacıyla giderek daha fazla tercih edilmektedir; ancak bu yöntemlerin geçerliliği ve güvenilirliğinin dikkatli şekilde doğrulanması gerekmektedir (Griesinger ve ark., 2016). Nanoteknoloji, farklı hastalıkların tedavisinde önemli bir öneme sahip olan ve hızla gelişen bir teknoloji alanıdır. Nanoteknoloji, ilaçların hedef dokuya taşınmasını kolaylaştırarak çözünürlük, biyoyararlanım ve terapötik etkinliği artırmakta; aynı zamanda erken ilaç bozunmasını azaltarak daha kontrollü salım sağlamaktadır. Karbon nanotüpler, lipozomlar, polimerik nanopartiküller ve kuantum noktaları gibi nanosistemler, farklı kimyasal ve fiziksel özellikleri sayesinde ilaçların hücre içi geçirgenliğini artırmakta, dokuya daha etkin dağılım sağlamaktadır (Ashraf ve ark., 2025).

Nanopartiküller, biyolojik engelleri aşarak ilaçların tümör dokusuna seçici olarak ulaşmasını sağlamaktadır (Tran ve ark., 2017). Kanser tedavisinde kullanılan nanotabanlı yaklaşımlar giderek çeşitlenmekte olup, lipozomlar, polimerik nanopartiküller, dendrimerler, karbon nanotüpler ve altın nanopartiküller gibi farklı nanosistemler hem hedefe yönelik ilaç iletimi hem de biyolojik görüntüleme amacıyla geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Sell ve ark., 2023). Özellikle lipozomal, polimerik ve biyolojik nanosistemlerin (örneğin eksozomların) tümör mikroçevresini etkileyebilme kapasitesi terapötik etkinliği belirgin şekilde artırmıştır (Khan ve ark., 2025). Son dönemlerde bitki ve mikrop kaynaklı "yeşil nanoteknoloji" yaklaşımları öne çıkmaktadır (Karnwal ve ark.,

2024; Ammar ve ark., 2025). Bitki türevli nanopartiküller (PNP'ler), çevre dostu olmalarının yanı sıra doğal antimikrobiyal ve antioksidan özellikler sunmaktadır (Ammar ve ark., 2025). Ayrıca nanoteknoloji RNA gibi hassas moleküllerin hücre içine yüksek verimlilikle taşınmasında kritik bir rol oynamaktadır (Sher ve ark., 2024).

Hayvan sağlığı ve üretimiyle ilişkili birçok soruna yenilikçi çözümler sunabilmektedir. Özellikle nanopartikül tabanlı taşıyıcı sistemlerin antimikrobiyal ilaçlarla birlikte geliştirilmesi, hastalıkların tedavi etkinliği artırarak ve yan etkileri azaltarak mikrobiyal hastalıkların tedavisinde güçlü bir ilaç stratejisi olarak görülmektedir (Youssef ve ark., 2019). Ayrıca Nanoteknoloji, hayvan üretimi için hayvan yeminin lezzetini artırmak, büyüme performanslarını iyileştirmek ve yemden yararlanmayı optimize etmek gibi çoklu faydalar sağlamaktadır (Hill ve Li, 2017). Nanopartiküller, yüksek yüzey hacim oranları sayesinde benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler gösterir. Bu özellikler, nanoteknolojinin doğal biyolojik ürünlerin etkisine olanak tanımaktadır. Ayrıca nanoteknoloji, kümes hayvanı hastalıklarının tanı ve tedavisinde kullanılan biyomedikal mühendisliği uygulamalarına akıllı ve yenilikçi çözümler sunmaktadır. Bununla birlikte, nano ürünlerin kümes hayvanlarında kullanıma sunulmadan önce güvenliklerinin değerlendirilmesi amacıyla kapsamlı tehlike analizlerinin yapılması gerekmektedir. (Fesseha ve ark., 2020). Veteriner nanomedikal alanda çeşitli nanomalzemelerin geliştirilmesine rağmen, nanopartikül tabanlı tedavilerin etkinliği ve güvenliği konusunda daha fazla çalışma gerekmektedir (Jafary ve ark., 2023).

Sensör Sistemleri

Sensör tabanlı sistemler, hayvan davranışı, fizyolojik tepkiler ve çevresel değişkenlerin sürekli olarak izlenmesine olanak sağlar. Kalp atış hızı, solunum, vücut ısısı ve hareket ölçümleri gibi parametreler sensörlerle gerçek zamanlı izlenebilir (Neethirajan, 2020). Bu sistemler, üretim verimliliğini artırmakla birlikte, hayvan refahının korunmasına da katkı sağlar. Ayrıca, elde edilen sensör verilerinin veri analizleriyle birleştirilmesi, hastalık tahmini ve erken uyarı sistemlerinin geliştirilmesine olanak tanır (Ouyang ve ark., 2019). Hayvan refahının değerlendirilmesinde davranışsal biyo-belirteçlerin izlenmesi yaygın olarak kullanılsa da, yüz ifadelerinin analizi gibi daha derin fizyolojik göstergeler hâlâ yeterince kullanılmamaktadır. Bu nedenle yüz ifadesi analizine dayalı objektif ölçümler, özellikle ağrı gibi duygusal durumların değerlendirilmesinde mevcut sensör tabanlı sistemleri tamamlayıcı değer taşımaktadır (Descovich ve ark., 2017).

Görüntüleme Araçları

Elektriksel empedans tomografisi (EIT), vücut yüzeyine uygulanan elektriksel uyarım ve ölçümler aracılığıyla iç dokuların elektriksel özelliklerini görüntüleyen noninvaziv bir yöntemdir (Adler ve Boyle, 2017). Elektriksel empedans tomografisi (EIT) gibi biyomedikal görüntüleme yöntemleri, veteriner hekimlikte non invaziv torasik görüntüleme için kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle veteriner hekimlik alanında toraksın anestezi sırasında görüntülenmesi sayesinde solunum değerleri hakkında anlık bilgi sahibi olunabilmektedir. (Brabant ve ark., 2022). CVS (Computer Vision Systems) uygulamaları hızla gelişen bir araştırma alanıdır ve bazı ticari ürünler mevcut olsa da, önemli veriler sunabilecek kendi kendine çözümlerin geliştirilebilmesi için çözülmesi gereken önemli araştırma boşlukları bulunmaktadır. Bu yapılan çalışmalar, hayvan ve veteriner bilimlerinde CVS'nin kullanımında gelişmeleri ortaya koymakta ve teknolojinin yetiştirme programları ile ticari çiftliklerde yaygın biçimde uygulanabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu vurgulamaktadır (Fernandes ve ark., 2020). Çiftlik hayvanlarının solunumu genellikle abdominal hareket ile uyumlu olduğundan abdomenin gözlenmesi solunumun takibi açısından değerlendirmede kullanılmaktadır. Bu bağlamda temassız teknolojiler (bilgisayarlı görme, termografi ve ses analizi) solunum hızını izlemek için invaziv olmayan bir yöntem sunmaktadır (Handa ve Peschel, 2022).

Biyomedikal Uygulamalarda Karşılaşılan Olası Sorunlar

Biyomedikal teknolojiler son yıllarda büyük ilerlemeler göstermiş olsa da, farklı malzeme türleri ve mühendislik yaklaşımları belirli sınırlamalar, toksisite riskleri ve uygulama zorlukları nedeniyle dikkatle değerlendirilmelidir. Özellikle nanomalzemeler, serbest ilaçlara kıyasla farmakokinetik avantaj sağlasa da; inorganik nanopartiküllerde görülen birikimin ve kuantum noktalarının ağır metal içeriğinden kaynaklanan toksisite riskleri, biyoyumumluluğunu tehdit etmektedir (Roszkowski ve Durczynska, 2025). Benzer şekilde aşı teknolojilerinde, düşük immünojenisite ve uzun dönem güvenlik verilerinin eksikliğinin, önemli kısıtlamalar arasında yer almaktadır (Dey ve Singh, 2023). Polisakkarit temelli biyomalzemeler düşük dayanıklılık ve çözünürlük problemleri nedeniyle bazı klinik uygulamalarda yeterli performans göstermeyebilir (Souza ve ark., 2021). Biyomedikal uygulamalarda sıklıkla tercih edilen bazı polimerlerin doğal antimikrobiyal etkinlikten yoksun olması ise biyomedikal çalışmalarda kullanılan implant gibi cihazların bölgeye duyarlı mikrobiyal enfeksiyona sebep olabilir (Zare ve ark., 2021). Veteriner implantları için özgü düzenlemeler eksiktir. Patellar çıkıklık, küçük

hayvanlarda yaygın bir ortopedik sorundur. Ayrıca üretim kalitesi ve ekonomik uygulanabilirlik halen sınırlıdır (Pawlik ve ark., 2025). Nanokompozit hidrojeller iyi biyouyumluluklarına rağmen; zayıf anti-tümör etkinlik, sınırlı görüntüleme kapasitesi ve vücut içindeki difüzyon–metabolizma süreçlerinin tam açıklanamamış olması nedeniyle klinik uygulamalara geçişte önemli kısıtlamalar göstermektedir (Huang ve ark., 2022). Ayrıca hedef dışı ve uzun vadeli toksisite riskleri ile kompozit sistemlerin güvenlik profili, özellikle *in vivo* kullanımlarda ürün dönüşümünü zorlaştırmakta ve disiplinler arası daha kapsamlı iş birliği gerektirmektedir (Huang ve ark., 2022). Kemik doku mühendisliğinde standart olarak başvuru kimyasal sentezli hidroksiapatit (HAp), sergilediği düşük stabilite ve yetersiz mekanik dayanıklılık nedeniyle uzun dönemli klinik uygulamalarda kısıtlı bir performans sunmaktadır. Bu durumdan dolayı biyomedikal araştırmaları biyolojik atıklardan elde edilen doğal kaynaklı alternatiflere yönelmeye zorlamaktadır (Sathiyavimal ve ark., 2020). Veterinerlik tanısal görüntüleme veri kümelerinde çeşitli zorluklar bulunmaktadır. Tür ve ırk farklılıkları, yüksek hasta yükü ve nadir görülen hastalık örneklerinin eksikliği algoritma eğitimi için önemli sınırlamalar oluşturmaktadır (Akinsulie ve ark., 2024). Daha önce projeksiyon radyografisi, klinik durumların radyodiyagnozu için temel teknik olup üç boyutlu yapıların iki boyutlu görüntülerini sunarken dar bir pozlama aralığına sahipti. Modern ultrasonografi, BT, MR ve sintigrafi teknikleri bu sınırlılıkları önemli ölçüde azaltmış olsa da yüksek maliyet, uzman eksikliği ve cihaz bakımı gibi sorunlar nedeniyle veterinerlikte uygulama hala sınırlıdır (Gugjoo ve ark., 2014). Yağ dokusundan türetilmiş kök hücreler (ASC'ler), immunofenotip ve doku mühendisliği potansiyeli nedeniyle hem insan hem hayvan tedavilerinde kullanılmakta, ancak özellikle kedilerde klinik veri eksikliği ve kontrollü çalışmaların azlığı gerçek etkinliğin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Vilar ve ark., 2014).

SONUÇ

Biyomedikal mühendisliği, veteriner hekimlikte tanı, tedavi ve araştırma süreçlerini yeniden şekillendiren çok yönlü bir disiplin haline gelmiştir. Yapay zeka destekli görüntüleme, nanoteknolojik ilaç taşıyıcıları, hücre temelli tedaviler, biyomalzeme uygulamaları ve sensör tabanlı izleme teknolojileri gibi yenilikçi yaklaşımlar, hem klinik uygulamalarda hem de translasyonel araştırmalarda önemli kazanımlar sağlamaktadır. EIT, 3D biyoyazdırma, mezenkimal kök hücre tedavileri ve hedefe yönelik nanosistemler gibi alanlarda kaydedilen ilerlemeler, veteriner tıpta daha

hızlı, güvenilir ve kişiselleştirilmiş çözümlerin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, bu teknolojilerin klinik entegrasyonunda karşılaşılan bazı sınırlılıklar devam etmektedir. Türler arası biyolojik değişkenlik, uzun dönem güvenlik verilerinin sınırlı oluşu, nanoteknolojik ürünlerde toksisite belirsizlikleri ve yapay zeka modellerinde doğrulama gereklilikleri, güncel literatürde vurgulanan başlıca sorunlar arasındadır. Ayrıca sensör tabanlı sistemlerin saha koşullarına adaptasyonu ve kök hücre uygulamalarında etik ile üretim gibi konular gelecekte daha fazla çalışma yapılması gerektirmektedir. Sonuç olarak, biyomedikal mühendisliği ile veteriner hekimliğin entegrasyonu hayvan sağlığı, refahı ve translasyonel tıp açısından büyük potansiyellere sahiptir. Gelecek çalışmaların; yapay zeka algoritmalarının validasyonu, nanoteknolojik yapıların güvenlik analizleri, doku mühendisliği ürünlerinin uzun dönemli klinik takibi ve EIT gibi fonksiyonel görüntüleme yöntemlerinin optimize edilmesi üzerine yoğunlaşması önemli katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Adler, A., & Boyle, A. (2017). Electrical impedance tomography: Tissue properties to image measures. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 64(11), 2494-2504.

DOI: <https://doi.org/10.1109/TBME.2017.2728323>

Akbarein, H., Taaghi, M.H., Mohebbi, M., & Soufizadeh, P. (2025). Applications and Considerations of Artificial Intelligence in Veterinary Sciences: A Narrative Review. *Veterinary Medicine and Science*, 11(3), e70315.

Akhtar, A. (2015). The flaws and human harms of animal experimentation. *Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics*, 24(4), 407-419. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0963180115000079>

Akinsulie O.C., Idris I., Aliyu V.A., Shahzad S., Banwo O.G., Ogunleye S.C., Olorunshola M., Okedoyin D.O., Ugwu C., Oladapo I.P., Gbadegoye J.O., Akande Q.A., Babawale P., Rostami S., & Soetan K.O. (2024). The potential application of artificial intelligence in veterinary clinical practice and biomedical research. *Frontiers in Veterinary Science*, 11,1347550.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1347550>

Alshammari, A.H., Oshiro, T., Ungkulpasvich, U., Yamaguchi, J., Morishita, M., Khair, S.A., Hatakeyama, H., Hirotsu, T., & di Luccio, E. (2025). Advancing veterinary oncology: next-generation diagnostics for early cancer detection and clinical implementation. *Animals*, 15(3), 389. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani15030389>

Alves, A.L.G., Dudhia, J., Rosa, G.S., & Smith, R.K. (2025). The veterinarian perspective: Comparative anatomy, equine models and in vivo bioengineering of tendons. In *Tendon Regeneration* (359-380. p). Academic Press.

DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15916-9.00016-4>

Amarpal, A., Kuldeep Dhama, K.D., Sandip Chakraborty, S.C., Ruchi Tiwari, R.T., & Senthilkumar Natesan, S.N. (2013). Stem cells and their clinical/therapeutic applications in biomedical and veterinary science-the perspectives. *Research Opinions In Animal & Veterinary Sciences*, 3(9), 261-279.

Ammar, M.M., Ali, R., Abd Elaziz, N.A., Habib, H., Abbas, F.M., Yassin, M.T., Maniah, K., & Abdelaziz, R. (2025). Nanotechnology in oncology: advances in biosynthesis, drug delivery, and theranostics. *Discover Oncology*, 16(1), 1172.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s12672-025-02664-3>

Arzi B., Webb T.L., Koch T.G., Volk S.W., Betts D.H., Watts A., Godrich L., Kalos M.S., Kol A. (2021). Cell therapy in veterinary medicine as a proof-of-concept for human therapies: Perspectives from the north American veterinary regenerative medicine association. *Frontiers in Veterinary Science*, 8:779109. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.779109>

Ashraf, M., Zulfiqar, F., Rauf, U., Riaz, M., Arshad, S., Khan, M.J., & Sahin, T. (2025). Nanotechnology, nano-systems and applications of nanoparticles in novel drug delivery—a comprehensive review. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(2).

Bouhali, O., Bensmail, H., Sheharyar, A., David, F., & Johnson, J. P. (2022). A review of radiomics and artificial intelligence and their application in veterinary diagnostic imaging. *Veterinary Sciences*, 9(11), 620. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci9110620>

Brabant, O.A., Byrne, D.P., Sacks, M., Moreno Martinez, F., Raisis, A.L., Araos, J.B., Waldmann, A.D., Schramel, J.P., Ambrosio, A., Hosgood, G., Braun, C., Auer, U., Bleul, U., Herteman, N., Secombe, C.J., Schoster, A., Soares, J., Beazley, S., Meira, C., Adler, A., & Mosing, M. (2022). Thoracic electrical impedance tomography—the 2022 veterinary consensus statement. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 946911.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.946911>

Burti S., Banzato T., Coghlan S., Wodzinski M., Bendazzoli M., & Zotti A. (2024). Artificial intelligence in veterinary diagnostic imaging: perspectives and limitations. *Research in Veterinary Science*, 175, 105317. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2024.105317>

Clevers, H. (2016). Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 165(7), 1586-1597. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.082>

Descovich, K., Wathan, J.W., Leach, M.C., Buchanan-Smith, H.M., Flecknell, P., Farningham, D., & Vick, S.J. (2017). Facial expression: An under-utilized tool for the assessment of welfare in mammals. *Alternatives to Animal Experimentation*, 34(3), 409-429.

DOI: <https://doi.org/10.14573/altex.1607161>

Dey, S., & Singh, G.B. (2023). Green nanotechnology approaches in vaccinology: advantages and disadvantages in biomedical sciences. In *Nanovaccinology: Clinical application of nanostructured materials research to translational medicine*, 281-299p, Springer International Publishing. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-35395-6_16

Dilbaghi, N., Kaur, H., Kumar, R., Arora, P., & Kumar, S. (2013). Nanoscale device for veterinary technology: trends and future prospective. *Advanced Materials Letters*, 4(3), 175-184.

DOI: <https://doi.org/10.5185/amlett.2012.7399>

El-Husseiny, H.M., Mady, E.A., Helal, M.A., & Tanaka, R. (2022). The pivotal role of stem cells in veterinary regenerative medicine and tissue engineering. *Veterinary Sciences*, 9(11), 648.

DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci9110648>

Fernandes, A.F.A., Dórea, J.R.R., & Rosa, G.J.D.M. (2020). Image analysis and computer vision applications in animal sciences: an overview. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 551269.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.551269>

- Fernández-Parra R., Di Giancamillo A., Peham C., & Malvè M. (2024). Animal biomechanics: application of the biomedical engineering to the veterinary sciences for the animal healthcare. *Frontiers in Veterinary Science*, 11,1390136.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2024.112380>
- Fesseha, H., Degu, T., & Getachew, Y. (2020). Nanotechnology and its application in animal production: A review. *Veterinary Medicine*, 5(2), 43-50.
DOI: <https://doi.org/10.17140/VMOJ-5-148>
- Gong, S., Niu, H., Jia, Y., Liu, M., Ren, X., Zhang, D., Shen, J., Yang, C., Lei, Y., Zhao, P., & Lin, P. (2025). Repairing qinling giant panda skin wounds using adipose mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Animals*, 15(9), 1270. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani15091270>
- Gonzalez, A., Bermúdez, R., & Gamero-V, M.A. (2023). Biomedical engineering and veterinary: prototype of a prosthetic forelimb for canines. IEEE 41st Central America and Panama Convention. 08.11.2023-10.11.2023, Tegusigalpa, Honduras,1-6.
DOI: <https://doi.org/10.1109/CONCAPANXLI59599.2023.10517545>
- Griesinger, G., Verweij, P.J., Gates, D., Devroey, P., Gordon, K., Stegmann, B.J., & Tarlatzis, B.C. (2016). Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in patients treated with corifollitropin alfa or rFSH in a GnRH antagonist protocol. *PloS One*, 11(3), e0149615.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149615>
- Gugjoo, M.B., Amarpal, A., Prakash Kinjavdekar, P.K., Aithal, H.P., Pawde, A.M., & Kuldeep Dhama, K.D. (2014). An update on diagnostic imaging techniques in veterinary practice. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2, 64-77.
DOI: <https://doi.org/10.14737/journal.aavs/2014/2.4s.64.77>
- Han, F., Huang, X., Wang, X., Chen, Y.F., Lu, C., Li, S., Lu, L., & Zhang, D.W. (2025). Artificial intelligence in orthopedic surgery: Current applications, challenges, and future directions. *MedComm*, 6(7), e70260. DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.70260>
- Handa, D., & Peschel, J.M. (2022). A review of monitoring techniques for livestock respiration and sounds. *Frontiers in Animal Science*, 3, 904834.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.904834>
- Harman, R., Carlson, K., Gaynor, J., Gustafson, S., Dhupa, S., Clement, K., Hoelzler, M., McCharthy, T., Schwartz, P., & Adams, C. (2016). A prospective, randomized, masked, and placebo-controlled efficacy study of intraarticular allogeneic adipose stem cells for the treatment of osteoarthritis in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 81.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00081>
- Hill, E.K., & Li, J. (2017). Current and future prospects for nanotechnology in animal production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1-13.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0157-5>
- Hosny, A., Parmar, C., Quackenbush, J., Schwartz, L.H., & Aerts, H.J. (2018). Artificial intelligence in radiology. *Nature Reviews Cancer*, 18(8), 500-510.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0016-5>
- Huang, S., Hong, X., Zhao, M., Liu, N., Liu, H., Zhao, J., Shao, L., Xue, W., Zhang, H., Zhu, P., & Guo, R. (2022). Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. *Bioengineering & Translational Medicine*, 7(3), e10315. DOI: <https://doi.org/10.1002/btm2.10315>

- Jafary, F., Motamedi, S., & Karimi, I. (2023). Veterinary nanomedicine: Pros and cons. *Veterinary Medicine and Science*, 9(1), 494-506.
DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.1050>
- Kaplan, A., & Haenlein, M. (2019). Siri, Siri, in my hand: Who's the fairest in the land? On the interpretations, illustrations, and implications of artificial intelligence. *Business Horizons*, 62(1), 15-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bushor.2018.08.004>
- Kapoor, K. (2024). 3D visualization and printing: An “Anatomical Engineering” trend revealing underlying morphology via innovation and reconstruction towards future of veterinary anatomy. *Anatomical Science International*, 99(2), 159-182.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s12565-023-00755-1>
- Karnwal, A., Jassim, A.Y., Mohammed, A.A., Sharma, V., Al-Tawaha, A.R.M.S., & Sivanesan, I. (2024). Nanotechnology for healthcare: plant-derived nanoparticles in disease treatment and regenerative medicine. *Pharmaceuticals*, 17(12), 1711.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ph17121711>
- Khan, M., Ferdaus, J., Akter, K., Ahmed, H., Parvin, M., Kashif, S., & Arbab, A.S. (2025). A comprehensive review of cancer drug nanoparticles synthesis, processing technology and its effect in drug delivery. *Biomedical Technology*, 10, 100085.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmt.2025.100085>
- Kim, J., Koo, B.K., & Knoblich, J.A. (2020). Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(10), 571-584.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0259-3>
- Leary, D., & Basran, P. S. (2022). The role of artificial intelligence in veterinary radiation oncology. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 63, 903-912.
DOI: <https://doi.org/10.1111/vru.13162>
- Leonardi, F., Simonazzi, B., Martini, F.M., D'Angelo, P., Foresti, R., & Botti, M. (2024). Synthetic and natural biomaterials in veterinary medicine and ophthalmology: a review of clinical cases and experimental studies. *Veterinary Sciences*, 11(8), 368.
DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci11080368>
- Marx, C., Silveira, M.D., & Beyer Nardi, N. (2015). Adipose-derived stem cells in veterinary medicine: characterization and therapeutic applications. *Stem Cells and Development*, 24(7), 803-813. DOI: <https://doi.org/10.1089/scd.2014.0407>
- Nantavisai, S., Egusa, H., Osathanon, T., & Sawangmake, C. (2019). Mesenchymal stem cell-based bone tissue engineering for veterinary practice. *Heliyon*, 5(11), 1-7.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02808>
- Neethirajan, S. (2020). Transforming the adaptation physiology of farm animals through sensors. *Animals*, 10(9), 1512.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10091512>
- Ouyang, Z., Sargeant, J., Thomas, A., Wycherley, K., Ma, R., Esmailbeigi, R., Versluis, A., Stacey, D., Stone, E., Poljak, Z., & Bernardo, T.M. (2019). A scoping review of ‘big data’, ‘informatics’, and ‘bioinformatics’ in the animal health and veterinary medical literature. *Animal Health Research Reviews*, 20(1), 1-18.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S1466252319000136>

- Pawlik, M., Trębacz, P., Barteczko, A., Kurkowska, A., Piątek, A., Paszenda, Z., & Basiaga, M. (2025). Evaluation of patellar groove prostheses in veterinary medicine: review of technological advances, technical aspects, and quality standards. *Materials*, 18(7), 1652. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma18071652>
- Popov Jr, V.V., Muller-Kamskii, G., Katz-Demyanetz, A., Kovalevsky, A., Usov, S., Trofimcow, D., Dzhenzhera, G., & Koptyug, A. (2019). Additive manufacturing to veterinary practice: Recovery of bony defects after the osteosarcoma resection in canines. *Biomedical Engineering Letters*, 9(1), 97-108. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13534-018-00092-7>
- Roszkowski, S., & Durczynska, Z. (2025). Advantages and limitations of nanostructures for biomedical applications. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 34(3), 447-456. DOI: <https://doi.org/10.17219/acem/186846>
- Sathiyavimal, S., Vasantharaj, S., LewisOscar, F., Selvaraj, R., Brindhadevi, K., & Pugazhendhi, A. (2020). Natural organic and inorganic–hydroxyapatite biopolymer composite for biomedical applications. *Progress in Organic Coatings*, 147, 105858. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.105858>
- Sell, M., Lopes, A.R., Escudeiro, M., Esteves, B., Monteiro, A.R., Trindade, T., & Cruz-Lopes, L. (2023). Application of nanoparticles in cancer treatment: a concise review. *Nanomaterials*, 13(21), 2887. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano13212887>
- Sher, E.K., Alebić, M., Boras, M.M., Boškailo, E., Farhat, E.K., Karahmet, A., Pavlović, B., Sher, F., & Lekić, L. (2024). Nanotechnology in medicine revolutionizing drug delivery for cancer and viral infection treatments. *International Journal of Pharmaceutics*, 660, 124345. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124345>
- Souza, P.R., de Oliveira, A.C., Vilsinski, B.H., Kipper, M.J., & Martins, A.F. (2021). Polysaccharide-based materials created by physical processes: from preparation to biomedical applications. *Pharmaceutics*, 13(5), 621. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050621>
- Tran, S., DeGiovanni, P.J., Piel, B., & Rai, P. (2017). Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical and Translational Medicine*, 6(1), 44. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0175-0>
- Vilar, J.M., Batista, M., Morales, M., Santana, A., Cuervo, B., Rubio, M., Cugat, R., Sopena, J., & Carrillo, J.M. (2014). Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 143. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-143>
- Villatoro, A.J., Martín-Astorga, M.D.C., Alcoholado, C., Sánchez-Martín, M.D.M., & Becerra, J. (2021). Proteomic analysis of the secretome and exosomes of feline adipose-derived mesenchymal stem cells. *Animals*, 11(2), 295. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11020295>
- Youssef, F.S., El-Banna, H.A., Elzorba, H.Y., & Galal, A.M. (2019). Application of some nanoparticles in the field of veterinary medicine. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 7(1), 78-93. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1691379>
- Zare, M., Bigham, A., Zare, M., Luo, H., Rezvani Ghomi, E., & Ramakrishna, S. (2021). pHEMA: An overview for biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6376. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22126376>



Küçükbaş Hayvancılıkta Liflerin Analiz Yöntemleri ve Gelecek Perspektifleri

Berna BOZCA^{1*} , Arzu ÖZDEMİR¹ 

¹Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü Mamak- ANKARA

*Correspondence: bozca@hotmail.com

Received: 24.11.2025

Accepted: 12.12.2025

Published: 25.12.2025

Atf Yapmak İçin: Bozca, B., & Özdemir, A. (2025). Küçükbaş Hayvancılıkta Liflerin Analiz Yöntemleri ve Gelecek Perspektifleri. *VZS*, 1(2), 250-262. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-29>

How to Cite: Bozca, B., & Özdemir, A. (2025). Fiber Analysis Methods and Future Perspectives in Small Ruminant Farming. *VZS*, 1(2), 250-262. DOI: <https://doi.org/10.64614/vzs-29>

Özet: Küçükbaş hayvancılıktan elde edilen doğal lifler (yapağı, tiftik, kıl ve kaşmir) Türkiye' de ve dünyadaki tekstil temelli üretim endüstrisi ve biyoteknolojik potansiyeli açısından önemli kaynak oluşturmaktadır. Geleneksel olarak tekstil sanayisinin hammaddesi olarak kullanılan bu lifler, günümüzde gelişen analiz teknolojileri ve disiplinler arası yaklaşımlar sayesinde biyomedikal malzemelerden nanokompozit üretimine, kozmetik formülasyonlardan fonksiyonel gıdalara kadar geniş bir kullanım alanına sahip bir durumdadır. Bu çalışmada, küçükbaş hayvansal liflerde kullanılan analiz yöntemleri fiziksel, kimyasal ve moleküler olmak üzere üç ana başlıkta sınıflandırılmıştır. Fiziksel analizler; lif çapı, uzunluğu, elastikiyet ve mukavemet, kıvrım yapısı, parlaklık gibi tekstil kalitesinin temel belirleyicilerini kapsamaktadır. Kimyasal analizler ise liflerin ana yapısını oluşturan keratin proteininin amino asit bileşimi, elementel içeriği, termal davranışı ve moleküler yapı özelliklerini ortaya koymaktadır. Moleküler analizler, hayvansal lif araştırmalarında oldukça önem kazanmıştır. Türkiye'deki araştırmalar ağırlıklı olarak fiziksel ve kimyasal analizlere odaklanmış olsa da son yıllarda genetik çeşitlilik analizleri, ırk bazlı kalite haritaları ve folikül biyolojisine yönelik moleküler çalışmalar artış göstermektedir. Dünya literatüründe analiz yöntemleri daha çok disiplinler arası çerçevede ele alınmakta; nanokompozit üretimi, doku mühendisliği uygulamaları, biyoplastik geliştirme, keratin bazlı yara örtüleri, hidrojel ve biyobozunur kompozitler gibi alanlara yönelim göstermektedir. Hidrolize keratin peptitlerinin fonksiyonel gıda ve takviye edici besin ürünlerinde kullanımı da önemli gelişmelerdendir. Bu derleme genel olarak, küçükbaş hayvansal liflerin analizinde kullanılan geleneksel ve modern yöntemleri açıklamakta, disiplinler arası araştırmalar için bir yol haritası sunmaya çalışmaktadır. Türkiye'nin zengin küçükbaş hayvan kaynakları, lif analizlerinde geleceğe yönelik yenilikçi yaklaşımlar için büyük potansiyel taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Keratin, küçükbaş hayvan lifleri, moleküler analiz, tiftik, yapağı

Fiber Analysis Methods and Future Perspectives in Small Ruminant Farming

Abstract: Natural fibers obtained from sheep farming (wool, mohair, hair, and cashmere) constitute a significant resource for the textile-based production industry and biotechnological potential in Turkey and globally. Traditionally used as raw materials for the textile industry, these fibers now have a wide range of applications, from biomedical materials to nanocomposite production, from cosmetic formulations to functional foods, thanks to development analysis technologies and interdisciplinary approaches. In this study, the analysis methods used on sheep fibers are classified under three main headings: physical, chemical, and molecular. Physical analyses cover the fundamental determinants of textile quality, such as fiber diameter, length, elasticity and strength, crimp structure, and luster. Chemical analyses reveal the amino acid composition, elemental content, thermal behavior, and molecular structure of keratin, the primary structure of fibers. Molecular analyses have gained significant importance in animal fiber

research. While research in Turkey has primarily focused on physical and chemical analyses, genetic diversity analyses, breed-based quality maps, and molecular studies on follicle biology have increased in recent years. In the world literature, analysis methods are often addressed within an interdisciplinary framework, focusing on areas such as nanocomposite production, tissue engineering applications, bioplastic development, keratin-based wound dressings, hydrogels, and biodegradable composites. The use of hydrolyzed keratin peptides in functional foods and nutritional supplements is also a significant development. This review generally describes traditional and modern methods used in the analysis of small ruminant fibers and attempts to provide a roadmap for interdisciplinary research. Turkey's rich small ruminant resources hold great potential for innovative approaches to fiber analysis.

Keywords: Keratin, small animal fibers, molecular analysis, mohair, wool

GİRİŞ

Küçükbaş hayvan, dünya ekonomisi ve kırsal kalkınması açısından stratejik öneme sahip bir türdür. Koyun ve keçi yetiştiriciliği, et ve süt üretiminin yanı sıra doğal liflerin (yapağı, tiftik, kıl, kaşmir vb.) elde edilmesi yönünden değerli bir biyolojik kaynak olup, yapağı liflerinin fiziksel ve kimyasal yapısıyla ilgili çok çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen tiftik lifleri üzerine yapılan çalışmalar sınırlı kalmıştır (Atav ve Öktem, 2006). Türkiye’de tekstil üretimi, koyun yününden elde edilen doğal liflere öncelik vermiş olup, keçe ise büyük olasılıkla yünlü kumaşın en eski şeklini temsil etmektedir (Yaman ve ark., 2025). Koyun ırklarından elde edilen yapağı, dünya tekstil sektörüne hammadde sağlamaktadır. Yapağı, termo-higrometrik ve akustik özelliklerinden dolayı, performatif yalıtım sağlayan doğal liflerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle hem termal hem de akustik yalıtım için önemlidir (Korjenic ve ark., 2015). Yapağı yapısındaki keratin sayesinde, nem çekme özelliğine sahiptir. Havanın etkili bir şekilde hapsedilmesini sağlayarak ısı iletkenliğini azaltarak yalıtım performansını arttırmaktadır. Geleneksel yalıtım malzemelerine kıyasla yün, ortamın bağıl nem seviyelerini düzenleyerek yoğuşma ve küf oluşumu riskini azaltarak iç mekân hava kalitesini de iyileştirmektedir (Saaidia ve ark., 2025). Yapağının alev geciktirici özelliği de bulunmaktadır. Yapağının yapısındaki nitrojen ve su içeriğinden dolayı, ateş direnci yüksek bir lifdir. Bu sebeple yangına ve patlayıcılara maruz kalan herkesi korumak için kişisel koruyucu ekipmanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Kozłowski ve ark., 2014). Yapağı, tekstil haricinde, tarımda organik gübre üretiminde de önemli bir alternatif oluşturmaktadır. Yakın zamanlı bir çalışmada, yapağından elde edilen keratin hidrolizatın, marul, ıspanak ve turp bitkilerindeki büyümesi ve mineral beslenmesi üzerine olumlu etkileri rapor edilmiştir (Sahin ve ark., 2025). Bunlara ek olarak, yapağından elde edilen lanolin, yapısal bir mum olan lipodir. Lanolin yağı, mumu,

alkolü, asetillenmiş ve hidrojene lanolin dahil olmak üzere çeşitli türevleri, kişisel bakım ürünlerinde, kozmetikte ve tropikal ilaçlarda kullanılmaktadır (Lyapina ve ark., 2025).

Hayvansal lifler, en fazla tekstil endüstrisinde kullanım alanı bulmuştur. Ancak son yıllarda, yeni analiz tekniklerinin gelişmesiyle birlikte biyomedikal ve nanoteknolojik uygulamalarda da kullanımı artmaktadır (Feroz ve ark., 2020). Bu liflerin morfolojik ya da moleküler analizlerinde ve kalite değerlendirmesinde çeşitli parametreler söz konusudur (Heliopolulos ve ark., 2024). Örneğin, lif inceliği, uzunluğu, elastikiyet ve mukavemeti gibi fiziksel parametreler tekstil kalitesini belirlemektedir. Doğal liflerin ana bileşenini oluşturan keratin, kompleks bir proteindir (Banasaz ve Ferraro, 2024). Keratin yapısındaki disülfid bağlarının yoğunluğu, amino asit kompozisyonu ve elementel bileşimi gibi kimyasal özellikler lifin dayanıklılığı ile yakından ilişkilidir (Wang ve ark., 2016). Son yıllarda, hayvansal liflerin yapısal proteini olan keratin üzerine çalışmalar yoğunlaşmış olup; bu sayede keratin gen ekspresyonu, proteomik analizler ve DNA temelli çalışmalar ile lif kalitesi ile ilişkili moleküler mekanizmaların anlaşılması kolaylaşmıştır (Vineis ve ark., 2019).

Türkiye’de yürütülen araştırmaların büyük bir kısmı, yapağı ve tiftik liflerinin fiziksel, kimyasal analizleri üzerinden yapılmakta olup, (Başkan-Bayrak ve Karakaş, 2024) son dönemde de genetik analizlerine odaklandığı bildirilmiştir (Yaman ve ark., 2025). Bu çalışmalarda, lif uzunluğu, incelik, elastikiyet, mukavemet, nem tutma kapasitesi ve mikroskopik ölçümlerine ağırlık verilmiş olmakla birlikte, kimyasal bileşim parametreleri de değerlendirilmiştir (Odabaşoğlu ve ark., 2009). Hayvansal lif araştırmalarında, FTIR, taramalı elektro mikroskop (SEM), OFDA marka lif inceliği ölçen cihaz ve mekanik testler gibi yöntemlerle lif yapısı fiziksel olarak değerlendirilmiştir (Sarıçiçek, 2021). Ancak bu araştırmaların büyük bölümü hala geçerliliği olan ve geleneksel yöntemlerle sınırlı kalmıştır. Uluslararası düzeyde yapılan çalışmalara bakıldığında, ileri analiz teknolojilerin dahil olduğu ve disiplinler arası yaklaşımlar dikkati çekmektedir. Bu çalışmalarda, proteomik gen ekspresyon analizleri, spektroskopik yöntemler ve nanoteknolojik yüzey karakterizasyonu gibi yöntemler, liflerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına olanak tanımaktadır (Mattiello ve ark., 2022; Banasaz ve Ferraro, 2024). Çalışmalarda lif analizleri daha geniş bir perspektifle ele alınmakta; biyoteknolojik modifikasyonlar, nanokompozit üretimler öne çıkmaktadır (Feroz ve ark., 2020). Hayvansal lif analizine ilişkin yöntemlerin sistematik biçimde sınıflandırılması yalnızca bilimsel değil, aynı zamanda endüstriyel kalite açısından da büyük önem taşımaktadır.

Bu derleme, Türkiye ve dünyada küçükbaş hayvancılıktan elde edilen liflerin analizinde kullanılan yöntemleri, fiziksel, kimyasal ve moleküler başlıkları altında inceleyerek mevcut bilgi birikimini özetlemeyi ve gelecekteki araştırmalar için yönlendirici bir perspektif sunmayı amaçlamaktadır.

Analiz Yöntemleri

Liflerin analiz yöntemlerinin sınıflandırılması bakımından birçok araştırmada analiz yöntemleri fiziksel ve kimyasal olarak iki başlıkta toplanmıştır. Bu derlemede ise, analiz yöntemleri fiziksel, kimyasal ve moleküler olarak üç ana başlıkta değerlendirilmiştir.

Fiziksel Analiz Yöntemleri

Küçükbaş hayvancılıkta, liflerin kalite değerlendirmesinde fiziksel analizler en temel yöntemler arasında yer almaktadır. Lifin ticari değeri, kullanım alanı ve tekstil kalitesi, büyük ölçüde fiziksel özellikleriyle ilişkilidir (Hearle ve Morton, 2008). Hayvansal liflerin fiziksel analizi yapılırken bakılan parametreler, lif uzunluğu, incelik, elastikiyet, mukavemet, lüle yapısı, renk ve parlaklık olarak adlandırılmaktadır. Bunların yanı sıra liflerin nem çekme kapasitesi, yoğunluk ve özgül ağırlık ölçümleri ve mikroskopik incelemeleri de fiziksel analiz içerisinde parametre olarak değerlendirilmektedir. Bu parametrelere ait fiziksel analiz yöntemleri aşağıda sırayla açıklanmıştır.

Lif Çapı ve İncelik Ölçümü

Lif çapı hem yapağı hem de tiftikte en önemli kalite parametresidir. İncelik azaldıkça lifin yumuşaklığı, esnekliği dokuma ya da örme kalitesi artmaktadır (Franck, 2001). Ölçüm için günümüzde OFDA ve Lanometre kullanılmaktadır. Bu cihazlarla, yapağı ve tiftik liflerinde yüksek doğrulukla hızlı ölçüm sağlanabilmektedir. OFDA cihazıyla kısa zamanda büyük örnekler çalışılabilirken, OFDA cihazının maliyetinin yüksek olması ve kirli yapağı ve tiftikte hata verme olasılığı dezavantaj olarak görülmektedir.

Lif Uzunluğu

Lif uzunluğu, iplik mukavemetini ve eğirme verimini etkileyen önemli bir parametredir. Uzun lifler, iplik üretiminde tercih edilen bir özelliktir ve mekik veya elyaf makinelerinde performansı belirlemektedir (Atav ve Öktem, 2006). Yapağı lifleri, 5-35 cm uzunluğuna, tiftik lifleri ise genellikle 12-15 cm uzunluğuna ulaşabilmektedir (Hearle ve Morton, 2008). Uzun lifler, eğirmede yüksek performans sağlamaktadır.

Lüle (Crimp) ve Lüle Yoğunluğu

Yapağı ve tiftik liflerinin kıvrım özellikleri, iplik yapımında tutunmayı ve dolgunluğu etkilemektedir. Liflerin kıvrım sayısı fazlalaştıkça lifin uzunluğu da artmaktadır (Hearle ve Morton, 2008). Yapağı liflerinde dalgalanma önemli kalite göstergesidir. Az kıvrımlı yün daha yumuşak olurken, çok kıvrımlı yün keçeleşmeye karşı daha dayanıklı olmaktadır. Tiftik de daha az crimp vardır; bu da life parlaklık ve düzgünlük sağlamaktadır (Atav ve Öktem, 2006). Lüle yoğunluğu manuel olarak ölçülebildiği gibi, OFDA cihazı ile yüksek doğrulukta ve kısa zamanda ölçüm yapılabilmektedir. Ancak lif numunesinin kirli olması durumunda hata verebilme ihtimali göz ardı edilmemelidir.

Mukavemet ve Elastikiyet

Liflerin dayanıklılığı ve esneme kapasitesi, özellikle tekstil üretiminde lifin performansını belirlemektedir. Lif çapı, yani incelik arttıkça nisbi mukavemet azalmaktadır (Daşkiran ve Koluman, 2015). Yapağı ve tiftikte, mukavemet ve elastikiyet ölçümleri tensile ve demet testleri ile yapılmaktadır. Yapağı lifleri, ince, yumuşak ve esnek lif profili ile avantaj sağlarken; tiftik daha hacimli, sert ve dayanıklı lif özellikleriyle kompozit ve teknik uygulamalarda avantaj sağlamaktadır (Stipo ve ark., 2025).

Renk ve Parlaklık

Hayvansal liflerde parlaklık, kalite sınıflamasında önemli bir parametredir. Tiftik lifleri renk ve parlaklık bakımından yapağı liflerine oranla büyük bir üstünlük göstermektedir. Tiftik lifleri genellikle beyaz, yapağı lifleri ise kahverengi veya siyah olarak tanımlanmaktadır (Atav ve ark., 2022). Günümüzde liflerin rengini belirlemede, kolorimetre ve spektrofotometre cihazları kullanılmaktadır.

Kimyasal Analiz Yöntemleri

Hayvansal liflerin esas ana yapı bileşeni keratin olup, protein içerikli keratin yapının yanı sıra az miktarda iç lipit ihtiva etmektedir. Kimyasal analizler, protein yapının ve iç lipitlerin elementel bileşimlerini, amino asit yapısını ve içerdiği disülfid bağlarını tanımlamıza olanak sağlamaktadır (Zoccola ve ark., 2023).

Amino Asit Analizi

Küçükbaş hayvan liflerinin temel yapısını oluşturan keratin, on sekiz amino asitten oluşmaktadır. Keratinin yapısını oluşturan disülfür bağları ve sistein amino asidinin çokluğu, life yüksek kimyasal direnç kazandırmaktadır (Sparrow ve ark., 1989). Bu ana yapı bileşenleri Gaz Kromatografisi (GS) ile belirlenmektedir. Hayvansal liflerde

amino asit bileşimi; lif kalitesi, işlenebilirlik, biyobozunurluk, biyomalzeme potansiyeli gibi parametreleri de belirlemektedir. Örneğin, yakın zamanlı yapılan bir çalışmada, yün keratinin içeriğinde bulunan amino asit yapısının, besin hammaddesi olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (Dias ve ark., 2022). Tiftik ve kaşmir gibi ince yapılı lifler, az miktarda örnekle çalışıldığı zaman, yetersiz protein ve düşük amino asit miktarı nedeniyle, analiz hassasiyeti düşebileceğinden hata verebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Spektroskopik Analizler

Spektroskopik yöntemler, yapağı, tiftik ve diğer hayvansal liflerde kimyasal yapı, yüzey özellikleri analizlerinde ve lif türü tanımlamasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Chen ve ark., 2024). Hayvansal liflerin kimyasal yapısının tanımlanması için, yakın kızılötesi alanda (NIR), Raman spektroskopileri ve amino asit varyasyonuna duyarlı Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) kullanılmaktadır (Notayi ve ark., 2022; McGregor ve ark., 2018). Spektroskopik analiz yöntemleri, endüstriyel kalite kontrolünde ve liflerin tanımlanmasında büyük avantaj sağlamaktadır. Ancak amaç, lifin mekanik performansı veya biyomalzeme potansiyeli ise amino asit analizi ve mikroskobik analiz gibi diğer yöntemlerle desteklenmelidir.

Termal Analizler

Termal analizler genel olarak hayvansal liflerin ısıya karşı vermiş olduğu tepkiler olarak tanımlanmaktadır. Hayvansal liflerin (yapağı, tiftik, kaşmir) temel yapısı keratin proteindir. Keratinin ısıya karşı verdiği tepki lifin kalitesini, dayanıklılığını ve işlemeye uygunluğunu belirlemektedir. Termal analiz yöntemleri, liflerin bozulma sıcaklığı, denatürasyon noktası, ısı kararlılığı ve nem içeriği gibi parametrelerin belirlenmesini sağlamaktadır (Gray ve ark., 2011).

TGA (Termogravimetrik Analysis) ile liflerin sıcaklığa bağlı bozulma davranışı ortaya çıkmaktadır. Yapağı lifleri 230-350 °C aralığında bozulma davranışı göstermektedir. Tiftik lifleri daha düzenli yapısı nedeniyle daha yüksek termal stabilite göstermektedir (Zoccola ve ark., 2023). Bu yöntemle lifin termal kararlılığı belirlenmektedir; ancak tek başına kimyasal yapıyı açıklamakta yeterli değildir.

DSC (Differential Scanning Calorimetry) ile keratin denatürasyon sıcaklığı, özgül ısı kapasitesi, termal ayrışma özelliklerini incelemek için kullanılmaktadır (Wortmann ve Deutz, 1993). DSC ile keratinin ısı yapısal bütünlüğü değerlendirilmekte ve kimyasal işlem öncesi ve sonrası karşılaştırmalar yapılmaktadır.

Moleküler Analiz Yöntemleri

Hayvansal liflerin yapısal temelini oluşturan keratin proteinleri, genetik düzeyde düzenlenen geniş bir protein ailesine aittir. Başka bir ifade ile keratin sentezi genetik kontrol altında olup, sadece o türe özgüdür (Zoccola ve ark., 2023). Lif kalitesini belirleyen biyolojik mekanizmaların, moleküler düzeyde çalışılması, büyük önem arz etmektedir. Yapağı ve tiftik gibi keratin yapıları liflerde moleküler analizler, liflerin genetik yapısını, protein kompozisyonunu, lif folikülünün gelişim süreçlerini ve genetik çeşitliliğini ortaya koymayı amaçlamaktadır. Moleküler analizler, canlıdan alınan folikül hücrelerinin incelenmesiyle olabildiği gibi genetik materyal örnekleriyle de yapılabilmektedir. Son yıllarda yoğunluk kazanan başlıca moleküler analiz yöntemleri, proteomik ve keratin profil analizleri ve DNA tabanlı moleküler analizler olarak görülmektedir.

Proteomik ve Keratin Profil Analizleri

Hayvansal lifler, keratin (KRT) ve keratinle ilgili proteinler (KRTAP)'den meydana gelen geniş bir protein ailesinin bütünüdür (Mutlu ve Dinçel, 2024). Keratin proteinlerinin çeşitliliği, lifin mekanik özellikleriyle doğrudan ilişkilidir. LC- MS/MS (Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry) gibi proteomik teknikler lif karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2024). Bu yöntem keratin ve keratinle ilgili proteinlerin tanımlanmasını ve kalite parametreleriyle ilişkilendirilmesini sağlamaktadır. Farklı türler arasında proteomik karşılaştırmalar yapılmasında da etkili bir yöntemdir. LC- MS/MS tabanlı analizlerle kaşmir liflerinde keratin ve KAP (Keratin-Associated Proteins)'ın, lif inceliği ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2025). Bu yöntem, ayrıntılı keratin karakterizasyonu sağlamakta olup, maliyetli ve ileri düzeyde uzmanlık gerektiren bir yöntem olması dezavantaj olarak görülebilmektedir.

DNA Tabanlı Moleküler Analizler

DNA tabanlı moleküler analizlerin amacı, lif kalitesini etkileyen genetik bileşenleri ortaya koymaktır. Keratinin bu genetik yapısını belirlemede gen ekspresyon yöntemi ve RT- qPCR (Real-Time Quantitative PCR) cihazı kullanılmaktadır (Zhou ve ark., 2024). Lifin moleküler gelişimi esnasında keratin genlerinin (KRT, KAP) ekspresyon değişimleri izlenmektedir. Bu yöntemle farklı tür ve ırkların lif kalitesi ve gen ekspresyon temeli de araştırılmakta olup, hızlı ve hassas bir sonuç sağlanmaktadır.

Liflerin temel yapı ve kalite özelliklerinin genetik alt yapısını incelemek için; Genom Boyu İlişkilendirme (GWAS) tekniği ile tek çekirdek polimorfizimi (SNP)

tanımlanması ve Mikrosatellit analizleri kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2014). GWAS ve Mikrosatellit yöntemleri ile liflerin, lif inceliği, uzunluğu, parlaklığı gibi kantitatif özelliklere etki eden ilgili gen(ler) çalışmaları yapılmaktadır. Türkiye’de akkaraman koyunlarının yapağı kalitesini etkileyen SNP bölgelerinin GWAS tekniğiyle belirlenmesi adlı çalışmada birçok ilgili SNP noktası bildirilmiştir (Arzık ve ark., 2023).

Fibroblast büyüme faktörü 5 (FGF5) geni, küçükbaş hayvanlarda kıl folikülünün uzunluğundan sorumlu olup, kıl folikülünün uzama dönemini (anagen) kısaltmakla görevli bir gen olarak bilinmektedir. Yapağı üzerine yapılan bir çalışmada ise, CRISPR/Cas9 aracılı FGF5 aktivite kaybının yapağı lifinin büyümesini desteklediği ve lif verimini artırabileceği bildirilmiştir (Li ve ark., 2017). Son yıllarda genomik seleksiyon çalışmalarında ön plana çıkan DNA tabanlı yaklaşımlar biyoinformatik uzmanlığı gerektirmektedir.

Gelecek Perspektifi

Dünya üzerinde küçükbaş hayvancılıktan elde edilen liflerin kullanım alanı geleneksel tekstil endüstrisinin ötesine geçerek biyomedikal, nanoteknolojik, kozmetik ve beslenme gibi çok farklı disiplinleri kapsamaktadır. Örneğin; yeni nesil moleküler teknolojiler, lif analizini biyoteknolojik modifikasyonlarla birleştirmektedir. Bu çalışmalar, keratin yapısının daha iyi tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, rekombinant keratin üretimi ve enzimatik yüzey modifikasyonu, çevre dostu üretim ve nanokompozit malzeme geliştirme açısından büyük potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir (Feroz ve ark., 2020). Keratin bazlı polimerler, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyoyumluluk ve mekanik dayanıklılık gibi belirgin özelliklerinden dolayı modern biyomalzeme geliştirme alanında dikkat çekmektedir (McLellan ve ark., 2018).

Günümüzde lifler, keratin temelli yarı geçirgen yara örtüleri, doku mühendisliği iskeleleri (Aluigi ve ark., 2015; Kakkar ve ark., 2014; Wang ve ark., 2017), biyoemilebilir dikiş materyalleri ve hidrojeller (McLellan ve ark., 2019) biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yapılar, hücre tutunması ve doku yenilenmesini destekleyen biyoyumlu özellikler taşımaktadır. Hayvansal lifler nanoteknolojik ve kompozit uygulamalarda da kullanılmaktadır. Örneğin; özellikle keratin katkılı biyoplastikler, çevre dostu malzeme üretiminde değerlendirilmektedir (Fernández-d'Arlas, 2019).

Ayrıca, küçükbaş hayvansal liflerden elde edilen hidrolize keratin ürünleri, besin takviyesi olarak kullanılması bakımından da öne çıkmaktadır. Keratin yapısı gereği doğrudan sindirilemediği için hidrolize edilerek içeriğindeki biyoaktif peptitler serbest amino asitlere dönüştürülerek sindirilebilirliği sağlanmaktadır (Giteru ve ark., 2023). Bu biyopeptitler, saç, tırnak ve cilt sağlığını destekleyici oral takviyelerde veya fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanılmaktadır.

Bütün bu gelişmeler, küçükbaş hayvansal liflerin yalnızca tekstil ürünü değil, aynı zamanda biyoteknolojik, nanokompozit alanlar, yara iyileşmesi, doku mühendisliği iskeleleri ve besin takviyesi olabilecek peptitler olarak kullanılmasına imkan sağlamış olup, bu gelişme liflere stratejik değer kazandırmıştır. Gelecekte ise, liflerden türetilen bu biyoaktif moleküller ilaç, gıda ve çevre dostu malzeme üretiminde ana rol oynayacağı görülmektedir.

SONUÇ

Küçükbaş hayvancılıktan elde edilen doğal liflerin analizi yöntemlerinin iyileştirilmesi ve moleküler alt yapılar ile desteklenmesi, sadece tekstil ham maddesinin kalitesini artırmakla sınırlı kalmayarak, biyoteknoloji, malzeme bilimi ve sürdürülebilir üretim teknolojileriyle entegre hâle geleceği ön görülmektedir. Fiziksel, kimyasal ve moleküler analizlerin birlikte yürütülmesi, lif kalitesinin çok boyutlu olarak değerlendirilmesine imkan tanıyacaktır. Günümüzde, NIR, FTIR ve RT-qPCR gibi ileri tekniklerin kullanıldığı cihazlar sayesinde liflerin, protein yapısı, gen ekspresyon profili ve kimyasal dayanıklılığı yüksek doğrulukta ortaya konulmaktadır. Ayrıca, yapay zekâ destekli görüntüleme sistemleri, nano-ölçekli lif modifikasyonları ve biyoteknolojik üretim yaklaşımları lif analizlerinde daha yenilikçi araştırmaların yapılmasına imkan sağlayacaktır. Hatta bu teknolojiler, hayvansal liflerin sadece tekstil malzemesi olarak değil; biyomedikal implantlar, yara örtüleri, doku mühendisliği iskeleleri, biyopolimer kompozitler ve besin takviyesi üretiminde değerlendirilebilecek yeni bir biyokaynak sınıfı oluşturacağı ön görülmektedir. Sonuç olarak, küçükbaş liflerinin analizinde disiplinler arası, yenilikçi ve sürdürülebilir yaklaşımların benimsenmesi, yalnızca bilimsel ilerlemeye değil, aynı zamanda dünya ve Türkiye’de biyoteknolojik üretim kapasitesinin artırılmasına da katkı sağlayacaktır. Bu nedenle hayvansal liflerin kaliteli üretimine ve üretimi destekleyecek teknolojik analiz yöntemlerine gereken değerin verilmesi önem arz etmektedir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKÇA

Aluigi, A., Sotgiu, G., Torreggiani, A., Guerrini, A., Orlandi, V.T., Corticelli, F., & Varchi, G. (2015). Methylene blue doped films of wool keratin with antimicrobial photodynamic activity. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(31), 17416-17424.

DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.5b04699>

Arzik, Y., Kizilaslan, M., Behrem, S., White, S.N., Piel, L.M., & Cinar, M.U. (2023). Genome-wide scan of wool production traits in Akkaraman sheep. *Genes*, 14(3), 713.

DOI: <https://doi.org/10.3390/genes14030713>

Atav, R., & Öktem, T. (2006). Structural properties of Mohair (Angora goat) fibres. *Textile and Apparel*, 16(2), 105-109.

Atav, R., Ünal, G.P., & Soysal, M.I. (2022). Investigation of the quality characteristics of wool obtained from Karacabey Merino sheep grown in Thrace region-Turkey. *Journal of Natural Fibers*, 19(3), 1107-1114. DOI: <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1795777>

Banasaz, S., & Ferraro, V. (2024). Keratin from animal by-products: structure, characterization, extraction and application-a review. *Polymers*, 16(14), 1999.

DOI: <https://doi.org/10.3390/polym16141999>

Baskan-Bayrak, H., & Karakas, H. (2024). Morphology and chemical structure of a wool fiber. In *The Wool Handbook* (pp. 181-194). Woodhead Publishing.

DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99598-6.00020-7>

Chen, X., Lan, Q., & Zhu, Y. (2024). Non-destructive identification of wool and cashmere fibers based on improved LDA using NIR spectroscopy. *AUTEX Research Journal*, 24(1), 20230017.

DOI: <https://doi.org/10.1515/aut-2023-0017>

Daşkıran, İ., & Koluman, N. (2015). Ankara İli Tiftik (Ankara) keçisi işletmelerinin güncel analizi ve sürdürülebilir yetiştiriciliğe ilişkin yaklaşımlar. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1), 25-38.

Dias, G.J., Haththotuwa, T.N., Rowlands, D.S., Gram, M., & Bekhit, A.E.D.A. (2022). Wool keratin—A novel dietary protein source: Nutritional value and toxicological assessment. *Food Chemistry*, 383, 132436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132436>

Feroz, S., Muhammad, N., Ratnayake, J., & Dias, G. (2020). Keratin-based materials for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 5(3), 496-509.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.04.007>

Fernández-d'Arlas, B. (2019). Tough and functional cross-linked bioplastics from sheep wool keratin. *Scientific Reports*, 9(1), 14810. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51393-5>

Franck, R.R. (2001). *Silk, Mohair, Cashmere and Other Luxury Fibres*, 1st ed., Woodhead Publishing, England, 10-12p,

Giteru, S.G., Ramsey, D.H., Hou, Y., Cong, L., Mohan, A., & Bekhit, A.E.D.A. (2023). Wool keratin as a novel alternative protein: A comprehensive review of extraction, purification, nutrition, safety, and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 643-687. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13087>

- Gray, F.M., Smith, M.J., & Silva, M.B. (2011). Identification and characterization of textile fibers by thermal analysis. *Journal of Chemical Education*, 88(4), 476-479.
DOI: <https://doi.org/10.1021/ed1004068>
- Heliopoulos, N.S., Komporozos, G.A., & Papageorgiou, S.K. (2024). Quality evaluation of wool: methods of evaluation of quality of wool, parameters, and important standards. In *The Wool Handbook*, 195-237p, Woodhead Publishing.
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99598-6.00013-X>
- Hearle, J.W., & Morton, W.E. (2008). *Physical properties of textile fibres*. 4th ed, Woodhead Publishing, England, 134-162p.
- Kakkar, P., Verma, S., Manjubala, I., & Madhan, B. (2014). Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 343-347. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.09.021>
- Korjenic, A., Klarić, S., Hadžić, A., & Korjenic, S. (2015). Sheep wool as a construction material for energy efficiency improvement. *Energies*, 8(6), 5765-5781.
DOI: <https://doi.org/10.3390/en8065765>
- Kozłowski, R.M., Muzyczek, M., & Walentowska, J. (2014). Flame retardancy and protection against biodeterioration of natural fibers: State-of-Art and Future Prospects. In *Polymer Green Flame Retardants*, 801-836p. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53808-6.00023-8>
- Li, W.R., Liu, C.X., Zhang, X.M., Chen, L., Peng, X.R., He, S.G., Lin, J.P., Han, B., Wang, L.Q., Huang, J.C. & Liu, M.J. (2017). CRISPR/Cas9-mediated loss of FGF5 function increases wool staple length in sheep. *The FEBS Journal*, 284(17), 2764-2773.
DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.14144>
- Lyapina, M., Shkondrov, A., Vizeva, M., Alakidi, A., Nikolova, M., Krasteva, I., & Petkova, V. (2025). Lanolin as a contact sensitizer among cosmetology students and cosmeticians: A pilot study. *Pharmacia*, 72, 1-5. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.72.e151521>
- Mattiello, S., Guzzini, A., Del Giudice, A., Santulli, C., Antonini, M., Lupidi, G., & Gunnella, R. (2022). Physico-chemical characterization of keratin from wool and chicken feathers extracted using refined chemical methods. *Polymers*, 15(1), 181.
DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15010181>
- McGregor, B.A., Liu, X., & Wang, X.G. (2018). Comparisons of the Fourier Transform Infrared Spectra of cashmere, guard hair, wool and other animal fibres. *The Journal of The Textile Institute*, 109(6), 813-822. DOI: <https://doi.org/10.1080/00405000.2017.1372057>
- McLellan, J., Thornhill, S.G., Shelton, S., & Kumar, M. (2018). Keratin-based biofilms, hydrogels, and biofibers. In *Keratin as a Protein Biopolymer: Extraction from Waste Biomass and Applications*, 187-200p, Cham. Springer International Publishing.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-02901-2_7
- Mutlu, E., & Dinçel, D. (2024). Derleme: Koyunlarda yapağı özelliklerine etkili olan keratin ile ilişkili protein genleri. *Kadirli Uygulamalı Bilimler Fakültesi Dergisi*, 4(1), 285-302.
- Notayi, M., Hunter, L., Engelbrecht, J.A., Botha, A.F., Minnaar, E.G., Lee, M.E., & Erasmus, R. (2022). The application of Raman spectroscopic ratiometric analysis for distinguishing between wool and mohair. *Journal of Natural Fibers*, 19(15), 11536-11546.
DOI: <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2028212>

- Odabaşıoğlu, F., Küçük, M., & Yılmaz, O. (2009). Investigation of Mohair production, clean yield, and fibre characteristics in Coloured Mohair goat and F₁ cross-bred kids of Angora goat x Coloured Mohair goat. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 33(1), 7-13. DOI: <https://doi.org/10.3906/vet-0702-11>
- Saaidia, R., Othmane, A.B., Ayed, L., Boumediene, N., & Bouabidi, A. (2025). Thermal, Acoustic, and mechanical characterization of sheep Wool-Based Bio-Composites for sustainable construction. *Energy and Buildings*, 116602. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2025.116602>
- Sahin, O., Yagcioglu, K.D., Kadioglu, Y.K., Ozturk, H.S., & Gunes, A. (2025). Valorization of Sheep Wool: Impact of Keratin Hydrolysate on the Growth and Mineral Nutrition of Lettuce, Spinach, and Radish Plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 25(2), 2642-2652. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42729-025-02289-z>
- Sarıçiçek, B.Z. (2021). The effect of rangeland quality on the mohair quality of Angora goats fed on the natural rangelands. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 45(4), 678-690. DOI: <http://doi.org/10.3906/vet-2103-113>
- Sparrow, L.G, Dowling, L.M., Loke, V.Y., & Strike, P.M. (1989). Amino acid sequences of wool. *The Biology of Wool and Hair*, 1st ed., 145-155p, New York, USA. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-011-9702-1>
- Stipo, G., Alecci, V., De Stefano, M., Galassi, S., Salvatici, M.C., & Satta, M.L. (2025). Mechanical performances of natural textiles for eco-friendly composite materials: A comparative assessment. *Fibers*, 13(11), 148. DOI: <https://doi.org/10.3390/fib13110148>
- Vineis, C., Varesano, A., Varchi, G., & Aluigi, A. (2018). Extraction and characterization of keratin from different biomasses. In *Keratin as a Protein Biopolymer: Extraction from Waste Biomass and Applications*, Cham: Springer International Publishing, England, 35-76p. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-02901-2_3
- Wang, B., Yang, W., McKittrick, J., & Meyers, M.A. (2016). Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Progress in Materials Science*, 76, 229-318. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001>
- Wang, J., Hao, S., Luo, T., Zhou, T., Yang, X., & Wang, B. (2017). Keratose/poly (vinyl alcohol) blended nanofibers: Fabrication and biocompatibility assessment. *Materials Science and Engineering: C*, 72, 212-219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.071>
- Wang, Z., Zhang, H., Yang, H., Wang, S., Rong, E., Pei, W., Li, H., & Wang, N. (2014). Genome-wide association study for wool production traits in a Chinese Merino sheep population. *PLoS One*, 9(9), e107101. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107101>
- Wortmann, F.J., & Deutz, H. (1993). Characterizing keratins using high-pressure differential scanning calorimetry (HPDSC). *Journal of Applied Polymer Science*, 48(1), 137-150. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.1993.070480114>
- Yaman, Y., Önalı, A.T., Doğan, Ş., Kirbaş, M., Behrem, S., & Kal, Y. (2025). Exploring the polygenic landscape of wool traits in Turkish Merinos through multi-locus GWAS approaches: middle Anatolian Merino. *Scientific Reports*, 15(1), 10611. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-95099-3>
- Zoccola, M., Bhavsar, P., Anceschi, A., & Patrucco, A. (2023). Analytical methods for the identification and quantitative determination of wool and fine animal fibers: a review. *Fibers*, 11(8), 67. DOI: <https://doi.org/10.3390/fib11080067>

Zhang, C., Qin, Q., Wang, Y., Wang, Z., & Liu, Z. (2024). Identification of key proteins related to cashmere fiber diameter by integrated proteomics and bioinformatic analyses in the Alpas and Alxa goat breeds. *Genes*, 15(9), 1154. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes15091154>

Zhang, C., Wang, Y., Xing, A., Xu, B., Wang, M., Wang, Z., & Liu, Z. (2025). Integrating proteomics revealed the key targets for molecular breeding of fine cashmere traits in cashmere goats. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1696953.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1696953>

Zhou, H., Bai, L., Li, S., Li, W., Wang, J., Tao, J., & Hickford, J.G. (2024). Genetics of wool and cashmere fibre: progress, challenges, and future research. *Animals*, 14(22), 3228.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14223228>