T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

TERE TOHUMU (*Lepidium sativum*) YAĞI VE POSA ÖZÜTÜ İLE BESLENEN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAĞIŞIKLIK YANITLARININ BELİRLENMESİ

MABROKAH ADREES RAFALLAH SAED

DOKTORA TEZİ

DOÇ. DR. SONER BİLEN

TEMMUZ - 2026
KASTAMONU

TEZ ONAYI

MABROKAH ADREES RAFALLAH SAED tarafından hazırlanan "**TERE TOHUMU (*Lepidium sativum*) YAĞI VE POSA ÖZÜTÜ İLE BESLENEN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAĞIŞIKLIK YANITLARININ BELİRLENMESİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **20.07.2026** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Soner BİLEN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Derya GÜROY Yalova Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Volkan KIZAK Munzur Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Keriman YÜRÜTEN ÖZDEMİR Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Veysel DOĞAN Kastamonu Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Selahattin KAYMAKCI .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Mabrokah Adrees Rafallah SAED

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TERE TOHUMU (*Lepidium sativum*) YAĞI VE POSA ÖZÜTÜ İLE BESLENEN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAĞIŞIKLIK YANITLARININ BELİRLENMESİ

MABROKAH ADREES RAFALLAH SAED

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:DOÇ. DR. SONER BİLEN

Bu tez çalışmasında tere tohumu (*Lepidium sativum*) soğuk pres yağı ile yağ çıkarımı sonrasında elde edilen posanın etanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, hematolojik yapı, doğal bağışıklık yanıtları, bağışıklıkla ilişkili gen ekspresyonu, sindirim enzimleri ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı direnç üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, ortalama başlangıç ağırlıkları yaklaşık 5 g olan gökkuşağı alabalıkları, 21 gün süreyle katkı içermeyen kontrol yemi ile tere tohumu yağı (LS) veya tere tohumu posası etanolik özütünün (LSE) 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} düzeylerinde ilave edildiği deneme yemleriyle beslenmiştir. Gruplar sırasıyla Kontrol, LS01, LS05, LS1, LSE01, LSE05 ve LSE1 olarak düzenlenmiş; çalışma her grup için üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Örneklemeler 7., 14. ve 21. günlerde gerçekleştirilmiş olup, deneme sonunda sindirim enzimleri değerlendirilmiş ve ardından balıklar 10 gün süreyle *Y. ruckeri* deneysel enfeksiyonuna tabi tutulmuştur. Elde edilen bulgular, özellikle LS1 uygulamasının büyüme performansını belirgin şekilde iyileştirdiğini göstermiştir. Solunum patlama aktivitesi ve lizozim düzeyleri deney gruplarında genel olarak kontrol grubundan yüksek bulunmuş, myeloperoksidaz aktivitesinde ise özellikle posa özütü gruplarında daha düşük değerler tespit edilmiştir. Bağışıklıkla ilişkili sitokin genlerinin ekspresyonu dokuya, zamana ve katkı tipine bağlı olarak değişmiş; LSE gruplarında pro-inflamatuvar ve düzenleyici sitokin yanıtları daha belirgin olmuştur. Deneysel enfeksiyon sonrasında en yüksek yaşama oranının LSE1 grubunda gözlenmesi, tere tohumu posası etanolik özütünün fonksiyonel yem katkısı olarak güçlü bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

ANAHTAR KELİMELER:*Lepidium sativum, Oncorhynchus mykiss*, tere tohumu, bağışıklık, sitokin, *Yersinia ruckeri*

Temmuz 2026, 74 Sayfa

ABSTRACT

PH.D THESIS

DETERMINATION OF IMMUNE RESPONSES IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) FED WITH GARDEN CRESS (*Lepidium sativum*) SEED OIL AND PULP EXTRACT

MABROKAH ADREES RAFALLAH SAED

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF AQUACULTURE
SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. SONER BİLEN

In this thesis, the effects of cold-pressed garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil and the ethanolic extract obtained from the pulp remaining after oil extraction were evaluated in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in terms of growth performance, hematological profile, innate immune responses, immune-related gene expression, digestive enzyme activities, and resistance to *Yersinia ruckeri* infection. For this purpose, rainbow trout with an average initial body weight of approximately 5 g were fed for 21 days with either an additive-free control diet or experimental diets supplemented with garden cress seed oil (LS) or garden cress seed pulp ethanolic extract (LSE) at levels of 0.1, 0.5, and 1 g kg^{-1}. The experimental groups were designated as Control, LS01, LS05, LS1, LSE01, LSE05, and LSE1, and the trial was conducted in triplicate for each group. Sampling was performed on days 7, 14, and 21. At the end of the feeding period, digestive enzyme activities were assessed, after which the fish were subjected to an experimental *Y. ruckeri* challenge for 10 days. The findings showed that growth performance was particularly improved in the LS1 group. Respiratory burst activity and lysozyme levels were generally higher in the supplemented groups than in the control group, whereas myeloperoxidase activity tended to be lower, especially in the pulp extract groups. The expression of immune-related cytokine genes varied depending on tissue, sampling time, and additive type, with more pronounced pro-inflammatory and regulatory cytokine responses observed in the LSE groups. Following the experimental challenge, the highest survival rate was recorded in the LSE1 group, indicating that the ethanolic extract of garden cress seed pulp has considerable potential as a functional feed additive.

KEYWORDS:*Lepidium sativum*, *Oncorhynchus mykiss*, cress seed, immunity, cytokine, antioxidant, *Yersinia ruckeri*,

July 2026, 74 Page

TEŞEKKÜR

Bu doktora tez çalışmasının planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi sürecinde bilimsel yönlendirmeleri, sabrı ve katkılarıyla destek olan danışmanım Doç. Dr. Soner BİLEN 'e, deneylerin ve analizlerin gerçekleştirilmesinde yardım eden Arş. Gör. Dr. Osman Nezih KENANOĞLU 'na içten teşekkürlerimi sunarım. Deneme sürecinde laboratuvar ve tüm bilimsel aşamalarında katkı sağlayan Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü ve çalışanlarına teşekkür ederim. Çalışma süresince manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve akademik gelişimime katkı sağlayan hocalarıma teşekkür ederim.

MABROKAH ADREES RAFALLAH SAED

Kastamonu, 2026

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **xi**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xii**
1. GİRİŞ **1**
2. ANA BÖLÜM BAŞLIĞI **4**
2.1 Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Hakkında Genel Bilgiler 4
2.1.1 Gökkuşağı Alabalığının Biyolojisi ve Yetiştiricilik Özellikleri 5
2.1.2 Gökkuşağı Alabalıklarında Görülebilen Bakteriyel Hastalıklar 5
2.1.2.1 Yersiniosis ve *Yersinia ruckeri* hakkında genel bilgiler 6
2.2 Balıklarda Büyüme Performansı ve Beslenme İlişki 7
2.3 Balıklarda Hematolojik Analizler ve Önemi 8
2.4 Bağışıklık Sisteminde Görev Alan Organlar 9
2.5 Balıklarda Bağışıklık Sistemi 10
2.6 Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi 10
2.7 Doğal Bağışıklığın Humoral ve Enzimatik Göstergeleri 11
2.8 Araştırmada İncelenen Sitokinler ve İlişkili Genler 11
2.8.1 İnterlökin-1β (*il-1β*) 12
2.8.2 Tümör Nekroz Faktör-α (*tnf-α*) 12
2.8.3 İnterferon-1 (*ifn-1*) 12
2.8.4 Siklooksijenaz-2 (*cox-2*) 13
2.8.5 İnterlökin-6 (*il-6*) 13
2.8.6 Transforming Growth Factor-β (*tgf-β*) 13
2.8.7 İnterlökin-10 (*il-10*) 13
2.8.8 İnterlökin-4 (*il-4*) 14
2.9 Sindirim Enzimleri ve Yem Katkılarıyla İlişkisi 14
2.10 Tıbbi Bitkiler ve Fitogenik Yem Katkıları 15
2.11 Tere Tohumu (*Lepidium sativum*) ve Fonksiyonel Bileşenleri 16
2.12 Literatürün Genel Değerlendirilmesi 16
3. MATERYAL VE YÖNTEM **18**
3.1 Deneme Alanı ve Etik İzin 18
3.2 Kullanılan Materyaller ve Deneme Dizaynı 18
3.2.1 Tere Tohumu Yağı ve Posa Özütünün Hazırlanması 19
3.2.2 Tere Tohumu Yağı ve Etanolik Özütlerinin GC-MS Analiz Sonuçları 19
3.2.3 Deneme Yemlerinin Hazırlanması 20
3.2.4 Balık Materyali ve Yetiştirme Koşulları 20
3.3 Su Kalitesi Fizikokimyasal Analizleri 21
3.4 Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanmanın Hesaplanması 21

3.5 Örnekleme Protokolü ... 22
3.6 Kan Örneklerinin Alınması ve Hematolojik Analizler ... 22
3.7 İmmunolojik Analizler ... 23
3.7.1 Solunum Patlaması Aktivitesi ... 23
3.7.2 Lizozim Aktivitesi ... 23
3.7.3 Myeloperoksidaz Aktivitesi ... 24
3.8 Sitokin Gen Ekspresyon Analizleri ... 24
3.8.1 RNA Saflaştırması ... 25
3.8.2 Komplementer DNA (cDNA) Sentezi ... 25
3.8.3 RT-qPCR Analizleri ve Gen Ekspresyonları ... 26
3.9 Sindirim Enzim Aktiviteleri ... 26
3.10 *Yersinia ruckeri* ile Kontrol Testi ... 27
3.11 İstatistiksel Analizler ... 27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ... 29
4.1 GC-MS Bulguları ... 29
4.2 Büyüme Performansı Bulguları ... 31
4.3 Hematolojik Bulgular ... 33
4.4 İmmünolojik Bulgular ... 34
4.5 Gen Ekspresyonu Bulguları ... 36
4.6 Sindirim Enzim Bulguları ... 52
4.7 *Yersinia ruckeri* Kontrol Testi Bulguları ... 54
5. TARTIŞMA ... 55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER ... 64
KAYNAKLAR ... 67
ÖZGEÇMİŞ ... 74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Gökkuşağı alabalığı 4
Şekil 4.1 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında solunum patlaması aktivitesindeki değişiklikler (mg NBT mL^{-1}). Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 35
Şekil 4.2 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında lizozim aktivitesindeki değişiklikler (µg mL^{-1}). Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)..... 35
Şekil 4.3 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında miyeloperoksidaz aktivitesindeki değişiklikler (U L^{-1}). arklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)..... 36
Şekil 4.4 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-1β*'nin göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 37
Şekil 4.5 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *tnf-α*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 39
Şekil 4.6 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *ifn-1*'in göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 41
Şekil 4.7 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *cox-2*'nin göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 43
Şekil 4.8 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-6*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 45
Şekil 4.9 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *tgf-β*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). 47

Şekil 4.10 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-10*'un göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)..... 49
Şekil 4.11 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-4*'ün göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)..... 51
Şekil 4.12 Tere tohumu yağı (LS) veya etanol özütü (LSE) ile besin takviyesi uygulandıktan sonra *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna maruz kalan gökkuşağı alabalığının hayatta kalma oranı. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)..... 54

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1 Deneme grupları ve yem katkı düzeyleri 19
Tablo 3.2 qRT-PCR için kullanılan gen spesifik primerleri, dizileri ve kayıt numaraları. 24
Tablo 4.1 Tere tohumundan elde edilen soğuk pres yağının GC-MS ile analiz edilen kimyasal bileşimi 29
Tablo 4.2 Tere tohumundan etanolik ekstraktının GC-MS ile analiz edilen kimyasal bileşimi 30
Tablo 4.3 Tere tohumu yağı ve posa özütü ağırlıklı kimyasal bileşimleri 31
Tablo 4.4 Kereviz tohumu (*Lepidium sativum*) yağı ve posası özütlerinin gökkuşağı alabalığı yavrularının büyüme performansı üzerindeki etkisi. 32
Tablo 4.5 21 gün boyunca farklı dozlarda tere tohumu (*Lepidium sativum*) yağı ve özütü ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının hematolojik profilleri 33
Tablo 4.6 21 gün boyunca farklı dozlarda bahçe teresi tohumu yağı ve özütü ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularındaki sindirim enzim aktiviteleri. 53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

β : Beta
α : Alfa

Kısaltmalar

CAT : Katalaz
COX-2 : Siklooksijenaz-2
FCR : Yem değerlendirme oranı
FW : Son ağırlık
GC-MS : Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
GPx : Glutatyon peroksidaz
Hb : Hemoglobin
Hct : Hematokrit
IFN-1 : İnterferon-1
IL : İnterlökin
IW : Başlangıç ağırlığı
LS : Tere tohumu soğuk pres yağı
LSE : Tere tohumu posası etanolik özütü
MCH : Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC : Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV : Ortalama eritrosit hacmi
MDA : Malondialdehit
MPO : Myeloperoksidaz
qRT-PCR : Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
RBA : Respiratuvar patlama aktivitesi
RBC : Kırmızı kan hücresi
SGR : Spesifik büyüme oranı
SOD : Süperoksit dismutaz
TGF-β : Transforme edici büyüme faktörü beta
TNF-α : Tümör nekroz faktörü alfa
WG : Ağırlık artışı

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, artan hayvansal protein gereksinimini karşılamada giderek daha stratejik bir üretim alanı haline gelmiştir. Yetiştiricilik sistemlerinin kontrollü çevre koşullarında yüksek verim sağlaması önemli bir avantajdır; ancak üretim hacminin büyümesi, stok yoğunluğunun artması, yem maliyetleri, çevresel stres ve enfeksiyöz hastalıklar gibi sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle modern yetiştiricilikte yalnızca büyüme performansının artırılması değil, balıkların bağışıklık kapasitesinin korunması, hastalık baskısına karşı daha dayanıklı sürülerin oluşturulması ve üretimde kullanılan girdilerin sürdürülebilir hale getirilmesi öncelikli hedefler arasında yer almaktadır (Reverter vd., 2014; Verdegem vd., 2023).

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), hızlı büyüme göstermesi, yapay yeme kolay adapte olabilmesi, farklı yetiştiricilik koşullarına ve el ile müdahaleye toleranslı olması, yoğun üretim sistemlerinde yaygın olarak yetiştirilebilmesi ve ticari değer taşıyan başlıca salmonid türlerden biri olması nedeniyle soğuk su balıkları yetiştiriciliğinde önemli bir türdür (D'Agaro vd., 2022). Bununla birlikte türün yoğun yetiştiricilik koşullarında bakteriyel hastalıklara karşı duyarlı hale gelebilmesi, üretim başarısını sınırlayan önemli faktörlerden biridir. Özellikle *Yersinia ruckeri* tarafından oluşturulan enterik kırmızı ağız hastalığı, salmonid yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açabilen, stres ve çevresel koşullarla etkisi artabilen bakteriyel enfeksiyonlardan biridir (Bilen vd., 2021; Yılmaz vd., 2018).

Balık hastalıklarıyla mücadelede antibiyotik ve kemoterapötiklerin kullanımı geçmişte yaygın bir yaklaşım olmuştur. Bununla birlikte antibiyotik kalıntıları, antimikrobiyal direnç gelişimi, çevresel yük ve tüketici güvenliği gibi nedenlerle bu uygulamalara yönelik çekinceler artmıştır. Aşılama bazı hastalıklar için etkili bir korunma stratejisi olmakla birlikte, uygulama başarısının patojen ve uygulama yöntemine bağlı olarak değişebilmesi, maliyet ve iş gücü gereksinimi ile özellikle küçük balıklarda görülen pratik sınırlılıklar nedeniyle destekleyici alternatif yaklaşımlara ihtiyaç devam etmektedir (Tammas vd., 2024). Bu noktada, balıkların doğal savunma

mekanizmalarını destekleyen yem katkıları hem koruyucu hem de sürdürülebilir bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Reverter vd., 2014; Sakai, 1999; Van Hai, 2015).

Fitogenik yem katkıları, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktlar, uçucu yağlar, tohum yağları veya bitkisel yan ürünlerden hazırlanan bileşenleri kapsayan geniş bir grubu ifade etmektedir. Bu bileşenler fenolikler, flavonoidler, izotiyosiyanatlar, yağ asitleri ve diğer sekonder metabolitler yoluyla antimikrobiyal, sindirim düzenleyici ve immünomodülatör etkiler gösterebilmektedir. Balıklarda fitogenik ürünlerin kullanımı, doğrudan patojeni baskılamak kadar, konak savunmasını hazırlamak, inflamatuvar yanıtı düzenlemek ve yemden yararlanmayı iyileştirmek gibi çok yönlü etkiler üzerinden değerlendirilmelidir (Bilen vd., 2016; Reverter vd., 2014; Van Hai, 2015).

Tere tohumu (*Lepidium sativum*), besinsel ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle insan beslenmesi ve geleneksel uygulamalar açısından bilinen bir bitkidir (Tufail vd., 2024). Tohumlarının yağ fraksiyonu, çeşitli yağ asitleri ve lipofilik bileşenler içerirken (Diwakar vd., 2010); yağ üretiminden sonra geriye kalan posa, çoğu zaman yan ürün olarak görülmesine rağmen hâlâ biyolojik açıdan aktif bileşenler taşıyabilmektedir. Bu durum, tere tohumu posasının yalnızca atık veya düşük değerli bir materyal olarak değil, sürdürülebilir yem katkısı geliştirme bakımından katma değerli bir kaynak olarak ele alınabileceğini düşündürmektedir (Bilen vd., 2018; Jain ve Grover, 2018).

Bu çalışmanın özgün yönlerinden biri, tere tohumu soğuk pres yağı ile arta kalan posasının etanolik özütünün aynı deneysel çerçevede karşılaştırılmasıdır. Böylece yalnızca bitkinin birincil ürünü olan yağın değil, üretim sürecinde ortaya çıkan posanın da balık sağlığı açısından kullanılıp kullanılamayacağı değerlendirilmiştir. Bu yaklaşım, fonksiyonel yem geliştirme ile tarımsal/bitkisel yan ürünlerin sürdürülebilir değerlendirilmesini bir araya getirmektedir.

Tere tohumu, besinsel içeriği ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda ve geleneksel kullanım alanları açısından dikkat çeken bir bitkidir. Tohum, yağ ve toz formlarının protein, yağ, mineral, lif ve çeşitli fitokimyasal bileşenler içerdiği; ayrıca fonksiyonel gıda geliştirme çalışmalarında değerlendirilebildiği bildirilmektedir (Singh ve Paswan,

2017). Tohum özütlerinde flavonoidler, terpenoidler, tanenler, alkaloidler, fenoller, fitosteroller ve saponinler gibi farklı fitokimyasal grupların varlığı da rapor edilmiştir (Berehe ve Boru, 2014). Bu tez çalışmasında, söz konusu bitkisel katkıların gökkuşağı alabalıklarında büyüme performansına, hematolojik parametrelere, doğal bağışıklık yanıtlara, sitokin gen ekspresyonuna, sindirim enzim aktivitelerine ve *Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı direnç üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu yönüyle çalışma, bitkisel kökenli doğal yem katkılarının balık sağlığı ve fonksiyonel yem geliştirme açısından kullanım potansiyelini değerlendirirken, yağ üretiminden arta kalan bitkisel posanın sürdürülebilir alabalık yetiştiriciliğinde katma değerli bir ürün olarak ele alınmasına da katkı sunmaktadır.

2. ANA BÖLÜM BAŞLIĞI

2.1 Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Hakkında Genel Bilgiler

Gökkuşağı alabalığı, Salmonidae familyasının yetiştiricilik bakımından en önemli türlerinden biridir (Şekil 2.1). Doğal yayılım alanı Kuzey Amerika olmakla birlikte, yüksek adaptasyon kapasitesi ve yetiştiricilikteki başarısı nedeniyle farklı coğrafyalarda üretime alınmıştır. Türün kontrollü koşullarda hızlı büyümesi, yem tüketimine kısa sürede uyum sağlaması ve tüketici tarafından kabul görmesi, ticari önemini artırmaktadır (Yilmaz vd., 2024).



Şekil 1.1 Gökkuşağı alabalığı

Gökkuşağı alabalığının yetiştiriciliğinde su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, stok yoğunluğu, yem kalitesi ve biyogüvenlik uygulamaları üretim başarısını doğrudan etkiler. Soğuk ve oksijence zengin sularda daha iyi performans gösteren bu tür, çevresel değişikliklere ve özellikle su kalitesindeki ani bozulmalara karşı duyarlıdır. Bu nedenle bağışıklık yanıtını destekleyebilecek besleme stratejileri, yoğun yetiştiricilik koşullarında önem kazanmaktadır (Bilen vd., 2021).

Yetiştiricilik koşullarında balığın fizyolojik durumu yalnızca ağırlık artışıyla değil, kan parametreleri, bağışıklık göstergeleri ve sindirim kapasitesi gibi çok sayıda değişkenle izlenmelidir. Bu kapsamda gökkuşağı alabalığı, immunolojik ve besleme çalışmaları için uygun bir model tür olarak kabul edilmektedir (Bilen vd., 2016).

2.1.1 Gökkuşağı Alabalığının Biyolojisi ve Yetiştiricilik Özellikleri

Gökkuşağı alabalığı, doğal yayılışında hızlı akan, temiz ve oksijence zengin su ortamlarında yaşayan bir salmonid türüdür. Kültür koşullarında kolay üretilebilmesi, hızlı büyümesi, farklı çevresel koşullara ve elle müdahaleye belirli düzeyde tolerans göstermesi ayrıca yapay yeme kolay adapte olması, bu türün soğuk su balıkları yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Alpbaz ve Hoşsucu, 2002; Pennell ve Barton, 1996). Bununla birlikte yetiştirme başarısı, özellikle su sıcaklığı ve çözünmüş oksijen düzeyiyle yakından ilişkilidir. Nitekim gökkuşağı alabalığında sıcaklık ve çözünmüş oksijenin birlikte değerlendirilmesi gerektiği; yüksek sıcaklığın büyüme, yem tüketimi, sindirim ve bazı bağışıklık göstergeleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturabildiği, yüksek çözünmüş oksijen düzeyinin ise bu etkileri kısmen azaltabildiği bildirilmiştir (Jiang vd., 2021).

Beslenme yönünden gökkuşağı alabalığı, büyüme ve fizyolojik işlevlerini sürdürebilmek için dengeli protein, lipid, esansiyel aminoasit, yağ asidi, vitamin ve mineral içeriğine sahip yemlere ihtiyaç duyar. Bu nedenle yem formülasyonu yalnızca canlı ağırlık artışını değil, sindirim kapasitesi, metabolik denge, bağırsak sağlığı ve hastalıklara karşı direnç gibi birçok fizyolojik süreci de etkileyebilmektedir (Chen vd., 2023). Son yıllarda bu çerçevede fonksiyonel yem katkıları, balıkların temel besin gereksinimlerini karşılamanın ötesinde büyüme, yemden yararlanma, bağırsak mikrobiyotası, sindirim enzimleri ve bağışıklık yanıtları üzerindeki olası katkıları nedeniyle yetiştiricilik çalışmalarında daha fazla değerlendirilmektedir (Onomu ve Okuthe, 2024).

2.1.2 Gökkuşağı Alabalıklarında Görülebilen Bakteriyel Hastalıklar

Yoğun yetiştiricilik koşullarında bakteriyel hastalıklar, gökkuşağı alabalığı üretiminin sürdürülebilirliğini etkileyen başlıca sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Salmonidlerde *Aeromonas salmonicida, Flavobacterium psychrophilum* ve *Yersinia ruckeri* gibi bakteriler uzun süredir önemli patojenler olarak tanımlanmakta; bunun yanında son yıllarda gökkuşağı alabalığı işletmelerinde farklı Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin de salgınlarla ilişkilendirildiği bildirilmektedir (del Cerro vd.,

2002; Duman vd., 2025). Bu hastalıkların ortaya çıkışı yalnızca patojenin varlığıyla açıklanamaz; su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, su kalitesi, stok yoğunluğu, stres ve balığın bağışıklık durumu gibi faktörler de enfeksiyon sürecinin şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır (Duman vd., 2025).

Bakteriyel hastalıkların üretim üzerindeki etkisi çoğu zaman doğrudan ölümlerle görünür hale gelse de, ekonomik kayıp yalnızca mortaliteyle sınırlı değildir. Hastalık sürecinde yem alımının azalması, büyümenin yavaşlaması, tedavi ve iş gücü maliyetleri, ürün kalitesinin düşmesi ve üretim planının aksaması da işletme düzeyinde kayıplara yol açabilmektedir (Maezono vd., 2025). Özellikle *Y. ruckeri*'nin neden olduğu enterik redmouth hastalığı, salmonid yetiştiriciliğinde geniş yayılıma sahip, ekonomik önemi yüksek bakteriyel hastalıklardan biri olarak kabul edilmektedir (Kumar vd., 2015). Bu nedenle gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde hastalığın ortaya çıkmasından sonra uygulanacak tedavi yaklaşımlarının yanında, balığın bağışıklık kapasitesini ve hastalıklara karşı direncini destekleyebilecek besleme stratejilerinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Fonksiyonel yem katkıları bu noktada, büyüme performansı, bağırsak sağlığı, bağışıklık yanıtı ve hastalık direncini destekleme potansiyelleri nedeniyle sürdürülebilir yetiştiricilik uygulamaları içinde giderek daha fazla ele alınmaktadır (Gruber vd., 2025; Zuberi vd., 2024).

2.1.2.1 Yersiniosis ve *Yersinia ruckeri* hakkında genel bilgiler

Y. ruckeri, gökkuşağı alabalığı başta olmak üzere salmonidlerde enterik kırmızı ağız hastalığına neden olan Gram negatif bir enterobakteridir. Hastalık sistemik ve septisemik karakter gösterebilmekte; özellikle genç balıklarda önemli kayıplara yol açabilmektedir. Klinik tabloda ağız çevresi, diş eti ve dil bölgesinde kanamalar hastalığa adını veren en belirgin bulgular arasında yer almakla birlikte, deri renginde koyulaşma, yüzgeçlerde hemorajiler, ekzoftalmus, dalakta büyüme ve bağırsak yangısı gibi bulgular da görülebilmektedir (Kumar vd., 2015). Gökkuşağı alabalıklarında *Y. ruckeri* enfeksiyonunun yalnızca klinik belirtilerle sınırlı kalmadığı; hematolojik değişimler, inflamatuvar yanıt ve bağışıklıkla ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerinde belirgin değişikliklerle birlikte seyrettiği de bildirilmiştir (Fajardo vd., 2022).

Y. ruckeri enfeksiyonlarının kontrolünde aşılama, biyogüvenlik önlemleri, su kalitesi yönetimi ve gerektiğinde tedavi uygulamaları birlikte değerlendirilmektedir. Özellikle immersiyon aşıları gökkuşağı alabalığında enterik kırmızı ağız hastalığına karşı koruyucu etki sağlayabilmekte, ancak aşının etkinliği kullanılan bakteri suşu, biyotip, uygulama dozu ve yetiştiricilik koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir (Yang vd., 2021). Bunun yanında, antibiyotik kullanımının çevresel ve direnç gelişimi açısından taşıdığı sınırlılıklar nedeniyle, *Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı balığın genel sağlık durumu ve bağışıklık kapasitesini destekleyebilecek yem temelli yaklaşımlar da son yıllarda daha fazla önem kazanmıştır (Abdel-Latif vd., 2025). Bu tez çalışmasında yürütülen deneysel enfeksiyon testi de, tere tohumu yağı ve posa özütünün yalnızca hematolojik ve immünolojik göstergeler üzerindeki etkilerini değil, *Y. ruckeri* maruziyeti sonrasında balıkların yaşama oranına yansıyan koruyucu katkısını değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır.

2.2 Balıklarda Büyüme Performansı ve Beslenme İlişki

Balıklarda büyüme performansı, yetiştiricilik uygulamalarının başarısını değerlendirmede kullanılan temel göstergelerden biridir. Canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve yem dönüşüm oranı gibi parametreler; balığın verilen yemden ne ölçüde yararlandığını, çevresel koşullara uyumunu ve besleme programının üretim açısından etkinliğini ortaya koyar.

Fitogenik katkılar, balıklarda büyüme ve yemden yararlanma üzerine doğrudan ya da dolaylı etkiler gösterebilen biyoaktif bileşenler içermektedir. Bu bileşenlerin bazıları sindirim enzim aktivitelerini ve besin maddelerinin kullanımını destekleyebilirken, bazıları bağırsak ortamı, mikrobiyota dengesi ve doğal bağışıklık yanıtları üzerinde etkili olabilmektedir (Awad ve Awaad, 2017; Banu vd., 2025). Bununla birlikte bitkisel yem katkılarından elde edilen yanıt; kullanılan bitkinin türüne, işleme ya da ekstraksiyon yöntemine, yeme katılma düzeyine, uygulama süresine, balık türüne ve gelişim dönemine bağlı olarak değişebilmektedir. Bu nedenle fitogenik katkıların etkisi, yalnızca büyüme parametreleri üzerinden değil, sindirim ve bağışıklık göstergeleriyle birlikte değerlendirildiğinde daha anlaşılır hale gelmektedir (Gruber vd., 2025).

Bu tez çalışmasında büyüme performansının 21 günlük kısa bir besleme periyodu sonunda değerlendirilmesi, tere tohumu yağı ve posa özütünün erken dönem etkilerinin ortaya konulması açısından önem taşımaktadır. Başlangıç ağırlığı yaklaşık 5 g olan gökkuşağı alabalıklarında elde edilen büyüme bulguları, aynı dönemde değerlendirilen hematolojik, immünolojik ve sindirim enzimi sonuçlarıyla birlikte ele alınarak katkı maddelerinin genel fizyolojik yanıt üzerindeki etkisi yorumlanmıştır.

2.3 Balıklarda Hematolojik Analizler ve Önemi

Hematolojik parametreler, balıklarda genel fizyolojik durumun ve sağlık profilinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli göstergeler arasında yer almaktadır. Kan hücreleri ve eritrosit indeksleri; oksijen taşıma kapasitesi, dolaşım sistemi, beslenme durumu ve çevresel koşullara verilen yanıt hakkında bilgi sağlayabilmektedir. Kırmızı kan hücresi sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit oranı daha çok kanın oksijen taşıma kapasitesiyle ilişkilendirilirken; ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin ve eritrosit hemoglobin konsantrasyonu gibi indeksler eritrositlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin yorumlanmasına yardımcı olmaktadır (Fazio, 2019; Witeska, 2013).

Balıklarda hematolojik değerler sabit değildir; tür, yaş, cinsiyet, aktivite düzeyi, beslenme durumu, üreme dönemi, su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, stres, hastalık ve örnekleme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Bu nedenle besleme denemelerinde hematolojik parametrelerin izlenmesi, uygulanan yem katkısının balıkta istenmeyen bir fizyolojik yük, stres ya da sağlık bozukluğu oluşturup oluşturmadığını değerlendirmek açısından önemlidir. Enfeksiyonlar, çevresel koşullar, yetiştirme uygulamaları ve beslenmeye bağlı değişimler balıklarda hematolojik tabloda belirgin farklılıklara yol açabildiğinden, bu parametreler bağışıklık ve büyüme bulgularıyla birlikte ele alındığında daha anlamlı sonuçlar vermektedir (Clauss vd., 2008; Fazio, 2019).

Bu tez çalışmasında hematolojik parametrelerin 7., 14. ve 21. günlerde izlenmesi, tere tohumu yağı ve posa özütünün kısa süreli besleme sürecinde oluşturabileceği zamana bağlı fizyolojik yanıtların değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Özellikle LS ve LSE

uygulamalarının eritrosit sayısı, hemoglobin, hematokrit ve eritrosit indeksleri üzerindeki etkilerinin büyüme, doğal bağışıklık ve enfeksiyon sonrası yaşama oranı bulgularıyla birlikte yorumlanması, söz konusu katkıların gökkuşağı alabalığı açısından fizyolojik uygunluğunun belirlenmesine katkı sunmaktadır.

2.4 Bağışıklık Sisteminde Görev Alan Organlar

Balıklarda bağışıklık sistemi, memelilerdeki kemik iliği ve lenf düğümü organizasyonundan farklı bir yapılanma gösterir. Teleostlarda kan hücrelerinin gelişimi ve bağışıklık yanıtlarının şekillenmesi başta böbrek, timus ve dalak olmak üzere farklı lenfoid dokular tarafından yürütülmektedir (Bjørgen ve Koppang, 2021; Zapata vd., 2006). Bu organlar yalnızca savunma hücrelerinin bulunduğu yapılar değil, aynı zamanda antijen tanınması, hücre farklılaşması, kan filtrasyonu ve sistemik bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde görev alan temel dokulardır.

Baş böbrek, teleost balıklarda hematopoetik aktivitenin yoğun olduğu ve bağışıklık hücrelerinin önemli bir kısmını barındıran başlıca organlardan biridir. Bu nedenle enfeksiyon, stres, aşılama veya yem katkısı uygulamaları sonrasında ortaya çıkan sistemik bağışıklık değişimlerinin değerlendirilmesinde sık kullanılan dokular arasındadır. Dalak ise kan filtrasyonu, antijenlerin tutulması ve bağışıklık hücrelerinin organizasyonu açısından önemli olup, sistemik yanıtların izlenmesinde baş böbrekle birlikte değerlendirilebilen bir diğer temel organdır (Bjørgen ve Koppang, 2021).

Bağırsak, sindirim ve emilim işlevlerinin yanında balığın dış ortamla en yoğun temas eden mukozal yüzeylerinden birini oluşturur. Yemle alınan bileşenler, bağırsak epiteli ve mukozal bağışıklık hücreleriyle doğrudan karşılaştığından, bu dokuda meydana gelen değişimler özellikle besleme çalışmalarında ayrı bir önem taşır. Teleostlarda bağırsak mukozasının patojenlere, kommensal mikroorganizmalara ve yem kaynaklı uyaranlara karşı aktif bir bağışıklık yüzeyi olarak görev yaptığı bildirilmektedir (Gomez vd., 2013; Salinas, 2015). Bu tez çalışmasında dalak, baş böbrek ve bağırsak dokularının birlikte incelenmesi, tere tohumu yağı ve posa özütünün hem sistemik hem de mukozal bağışıklık yanıtları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

2.5 Balıklarda Bağışıklık Sistemi

Balıkların bağışıklık sistemi doğal ve kazanılmış bağışıklık olmak üzere iki ana bileşenden oluşur. Doğal bağışıklık hızlı, geniş kapsamlı ve antijene özgüllüğü sınırlı bir yanıt oluştururken; kazanılmış bağışıklık daha spesifik, daha geç gelişen ve immunolojik hafıza ile ilişkili bir savunma mekanizmasıdır. Balıklarda özellikle erken yaşam dönemlerinde ve düşük su sıcaklıklarında doğal bağışıklık mekanizmaları daha baskın rol oynar (Magnadóttir, 2006; Secombes ve Wang, 2012).

Doğal bağışıklık bariyer dokular, mukus, kompleman sistemi, lizozim, fagositik hücreler, sitokinler ve antimikrobiyal moleküller gibi çok sayıda unsur içerir. Bu sistemin uygun düzeyde uyarılması, patojenlerle karşılaşma öncesinde balığın hazırlıklı hale gelmesini sağlayabilir. Ancak aşırı veya kontrolsüz inflamasyon, doku hasarı ve enerji kaybı oluşturabileceğinden immünostimülasyon kavramı dengeli bir yanıt olarak ele alınmalıdır (Bricknell ve Dalmo, 2005; Sakai, 1999).

2.6 Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi

Spesifik olmayan bağışıklık sistemi, balıklarda patojenlerle ilk temas sonrasında hızla devreye giren temel savunma mekanizmalarını kapsar. Deri, solungaç ve bağırsak mukozası gibi dış çevreyle temas eden yüzeyler ilk bariyer hattını oluştururken; fagositik hücreler, doğal sitotoksik hücreler, kompleman sistemi, antimikrobiyal peptitler ve lizozim gibi humoral bileşenler bu savunmanın devamında görev alır (Magnadóttir, 2006; Mokhtar vd., 2023). Balıklarda özellikle makrofaj ve nötrofil benzeri fagositik hücreler, mikroorganizmaların tanınması, yutulması ve hücre içi öldürme mekanizmalarının başlatılması açısından doğal bağışıklığın önemli hücresel elemanları arasında yer almaktadır.

Respiratuvar patlama aktivitesi, fagositik hücrelerin uyarılma sonrasında reaktif oksijen türleri oluşturma kapasitesini yansıtan ve balıklarda hücresel doğal bağışıklığın değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Bu yanıt, özellikle patojenle karşılaşma durumunda fagositik hücrelerin mikrobisidal potansiyeli hakkında bilgi vermesi bakımından önemlidir (Chettri vd., 2010). Bununla birlikte bağışıklık yanıtı tek bir ölçümle açıklanabilecek basit bir süreç değildir. Bu nedenle

bu tez çalışmasında respiratuvar patlama aktivitesi; lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri, hematolojik bulgular, bağışıklıkla ilişkili gen ekspresyonları ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonu sonrası yaşama oranı ile birlikte değerlendirilmiştir.

2.7 Doğal Bağışıklığın Humoral ve Enzimatik Göstergeleri

Lizozim, balıklarda doğal bağışıklığın önemli çözünür savunma bileşenlerinden biridir. Bakteriyel hücre duvarındaki peptidoglikan yapılar üzerinde etkili olabilmesi nedeniyle özellikle bakteriyel etkenlere karşı erken savunma mekanizmaları içinde değerlendirilir. Serum, mukus ve farklı dokularda belirlenebilen lizozim aktivitesi, balığın enfeksiyon etkenlerine karşı oluşturduğu doğal savunma kapasitesi hakkında bilgi vermektedir. Bununla birlikte lizozim yanıtı balık türüne, yaşa, çevresel koşullara, örnekleme zamanına ve uygulanan yem katkısının yapısına bağlı olarak değişebileceğinden, tek başına mutlak bir bağışıklık göstergesi olarak yorumlanmamalıdır (Mokhtar vd., 2023; Saurabh ve Sahoo, 2008).

Myeloperoksidaz, balıklarda özellikle nötrofil/granülosit benzeri fagositik hücrelerin antimikrobiyal savunma süreçleriyle ilişkili bir enzimdir. Fagositik hücrelerde bulunan peroksidaz sistemleri, mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesinde rol alan oksidatif mekanizmaların bir parçası olarak değerlendirilmektedir. Balıklarda MPO'nun moleküler düzeyde tanımlanmış olması ve son yıllarda ekstraselüler tuzak oluşumu gibi antimikrobiyal süreçlerdeki rolünün gösterilmesi, bu enzimin doğal bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesindeki önemini desteklemektedir (Castro vd., 2008; Gan vd., 2023). Bu tez çalışmasında MPO aktivitesi, lizozim ve respiratuvar patlama aktivitesiyle birlikte ele alınmış; elde edilen bulgular bağışıklıkla ilişkili gen ekspresyonları ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonu sonrası yaşama oranı sonuçlarıyla birlikte yorumlanmıştır.

2.8 Araştırmada İncelenen Sitokinler ve İlişkili Genler

Sitokinler, balıklarda bağışıklık hücreleri arasındaki iletişimin düzenlenmesinde görev alan temel moleküllerdir. Enfeksiyon, aşılama, stres veya yem katkısı uygulamaları sonrasında sitokin genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler, bağışıklık sisteminin hangi yönde yanıt verdiğinin anlaşılmasına katkı sağlar. Bu

nedenle bu tez çalışmasında pro-inflamatuvar, antiviral ve düzenleyici özellikteki bazı sitokinler ile inflamasyonla ilişkili *cox*-2 ekspresyonu birlikte değerlendirilmiştir (Sakai vd., 2021; Zou ve Secombes, 2016).

2.8.1 İnterlökin-1β (*il-1β*)

il-1β, teleost balıklarda inflamasyonun erken döneminde görev alan başlıca pro-inflamatuvar sitokinlerden biridir. Balıklarda *il-1β* yanıtı lökosit göçü, fagositik aktivite, lizozim aktivitesi ve *tnf-α, il-6, il-8* ve *cox-2* gibi inflamasyonla ilişkili genlerin düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir (Zou ve Secombes, 2016). Bu nedenle *il-1β* ekspresyonu, yem katkısı uygulamalarında erken bağışıklık uyarımının değerlendirilmesinde yararlı bir gösterge olarak ele alınmıştır.

2.8.2 Tümör Nekroz Faktör-α (*tnf-α*)

tnf-α, balıklarda enfeksiyon ve inflamasyon sürecinde erken yanıt veren sitokinlerden biridir. Fagositik hücrelerin aktivasyonu, mikrobisidal yanıtın güçlenmesi ve diğer pro-inflamatuvar genlerin uyarılmasıyla ilişkilidir. Bununla birlikte *tnf-α* artışı tek başına olumlu ya da olumsuz bir yanıt olarak değerlendirilmemeli; *il-10* ve *tgf-β* gibi düzenleyici moleküllerle birlikte yorumlanmalıdır (Grayfer ve Belosevic, 2012; Zou ve Secombes, 2016).

2.8.3 İnterferon-1 (*ifn-1*)

Tip I interferonlar, balıklarda özellikle antiviral savunma mekanizmalarıyla ilişkilendirilen önemli mediyatörlerdir. Bununla birlikte interferon yanıtı yalnızca viral enfeksiyonlarla sınırlı değildir; patojen tanıma reseptörleri ve interferon düzenleyici faktörler ile geniş bir doğal bağışıklık ağı içinde değerlendirilmektedir (Zou ve Secombes, 2011). Bu çalışmada *ifn-1* ekspresyonunun incelenmesi, tere tohumu yağı ve posa özütünün bağışıklık yanıtının antiviral/düzenleyici kolu üzerindeki olası etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlamıştır.

2.8.4 Siklooksijenaz-2 (*cox-2*)

cox-2, prostaglandin sentezinde görev alan ve inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak artabilen indüklenebilir bir enzimdir. Balıklarda *cox-2* ekspresyonunun inflamasyonla ilişkili sinyal yolaklarıyla bağlantılı olduğu ve pro-inflamatuvar uyaranlarla artabildiği gösterilmiştir (Wang vd., 2016a). Bu nedenle *cox-2* ekspresyonu, bu tezde *il-1β, tnf-α* ve *il-6* gibi pro-inflamatuvar göstergelerle birlikte değerlendirilmiştir.

2.8.5 İnterlökin-6 (*il-6*)

il-6, teleost balıklarda akut faz yanıtı, hematopoetik süreçler, inflamasyon ve B hücresi yanıtlarıyla ilişkilendirilen çok yönlü bir sitokindir. Balıklarda *il-6* ailesine ait moleküllerin hem pro-inflamatuvar hem de düzenleyici özellikler gösterebildiği bildirilmektedir (Mokhtar vd., 2023; Sakai vd., 2021). Bu nedenle *il-6* ekspresyonundaki değişimler, bağışıklık sisteminin uyarılma düzeyini ve inflamatuvar yanıtın seyrini anlamak için değerlendirilmiştir.

2.8.6 Transforming Growth Factor-β (*tgf-β*)

tgf-β, balıklarda bağışıklık yanıtının düzenlenmesi, inflamasyonun sınırlandırılması ve doku homeostazının korunmasıyla ilişkilendirilen pleiotropik bir sitokindir. Teleostlarda *tgf-β*'nın timus, baş böbrek ve dalak gibi bağışıklıkla ilişkili dokularda ifade edilebildiği ve pro-inflamatuvar sitokinlerin düzenlenmesinde rol oynayabildiği gösterilmiştir (Qi vd., 2016). Bu çalışmada *tgf-β* ekspresyonu, pro-inflamatuvar sitokinlerdeki değişimlerin düzenleyici yanıtlarla birlikte değerlendirilmesi amacıyla incelenmiştir.

2.8.7 İnterlökin-10 (*il-10*)

il-10, omurgalılarda evrimsel olarak korunmuş ve anti-inflamatuvar/düzenleyici özellikleriyle bilinen önemli bir sitokindir. Teleost balıklarda *il-10* ve reseptörlerine ilişkin çalışmalar, bu sitokinin inflamatuvar yanıtların kontrolü ve mukozal homeostazın korunması açısından önemli olduğunu göstermektedir (Bottiglione vd.,

2020; Piazzon vd., 2016). Bu tezde *il-10*ekspresyonu, özellikle *il-1β, tnf-α* ve *il-6* gibi pro-inflamatuvar yanıtlarla birlikte yorumlanmıştır.

2.8.8 İnterlökin-4 (*il-4*)

Balıklarda *il-4* benzeri sitokinler, tip 2 bağışıklık yanıtı, mukozal homeostaz ve inflamasyonun dengelenmesiyle ilişkilendirilmektedir. Salmonidlerde yapılan çalışmalar, *il-4* ailesi üyelerinin farklı ekspresyon örüntülerine sahip olduğunu ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir (Wang vd., 2016b). Bu nedenle *il-4* ekspresyonu, tere tohumu yağı ve posa özütünün yalnızca pro-inflamatuvar yanıtı değil, düzenleyici/adaptif bağışıklık yönünü de etkileyip etkilemediğini değerlendirmek amacıyla incelenmiştir.

2.9 Sindirim Enzimleri ve Yem Katkılarıyla İlişkisi

Balıklarda sindirim enzimleri, yemle alınan besin maddelerinin parçalanarak emilebilir forma dönüştürülmesinde görev alan temel fizyolojik bileşenlerdir. Amilaz karbonhidratların, tripsin ve pepsin proteinlerin, lipaz ise lipidlerin sindiriminde rol oynar. Bu enzimlerin aktivitesi balık türüne, gelişim dönemine, yem kompozisyonuna, beslenme alışkanlığına ve çevresel koşullara bağlı olarak değişebilmektedir. Gökkuşağı alabalığında sindirim enzimlerinin değerlendirilmesi, yem bileşenlerinin sindirim kapasitesiyle ne ölçüde uyumlu olduğunu ve balığın yemi fizyolojik olarak nasıl kullandığını anlamak açısından önem taşımaktadır (Furné vd., 2005; Nolasco-Soria, 2025).

Yem katkılarının sindirim enzimleri üzerindeki etkisi, büyüme performansı ve yemden yararlanma bulgularının yorumlanmasında tamamlayıcı bilgi sağlayabilmektedir. Bitkisel kökenli katkılar; içerdikleri fenolik bileşikler, uçucu bileşenler, terpenoidler, alkaloidler veya kükürtlü bileşikler aracılığıyla sindirim salgılarını, bağırsak ortamını ve besin maddelerinin kullanımını etkileyebilmektedir. Bununla birlikte enzim aktivitesindeki artışın her zaman doğrudan büyüme artışıyla sonuçlanması beklenmemelidir. Öyle ki büyümenin; sindirim kapasitesinin yanı sıra yem tüketimi, metabolik enerji kullanımı, bağışıklık yanıtı ve çevresel koşulların birlikte etkilediği çok yönlü bir süreç olduğu rapor edilmiştir (Awad ve Awaad, 2017; Banu vd., 2025).

Bu tez çalışmasında amilaz, lipaz, pepsin ve tripsin aktivitelerinin değerlendirilmesi, tere tohumu yağı ve posa özütünün yalnızca bağışıklık yanıtları üzerindeki etkilerini değil, sindirim fizyolojisiyle ilişkili olası değişimleri de ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Böylece büyüme performansı bulguları, sindirim enzim aktiviteleri ve bağışıklık parametreleriyle birlikte daha bütüncül biçimde yorumlanmıştır.

2.10 Tıbbi Bitkiler ve Fitogenik Yem Katkıları

Tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen özütler, su ürünleri yetiştiriciliğinde balık sağlığını desteklemek ve antibiyotik kullanımına olan gereksinimi azaltmak amacıyla değerlendirilen doğal yem katkıları arasında yer almaktadır. Bitkisel ürünler; büyüme performansı, yemden yararlanma, bağışıklık yanıtı, stres toleransı, bağırsak sağlığı ve hastalık direnci üzerinde etkili olabilecek farklı biyoaktif bileşenler içerebilir (Awad ve Awaad, 2017; Dadras vd., 2023).

Fitogenik katkıların etkisi çoğu zaman tek bir bileşenle açıklanamaz. Bitkisel materyalde bulunan fenolik bileşikler, flavonoidler, terpenoidler, alkaloidler, saponinler, yağ asitleri ve kükürtlü bileşikler birlikte veya birbirini tamamlayıcı şekilde biyolojik etki gösterebilir. Bu nedenle bitkisel ürünlerin kimyasal karakterizasyonu, elde edilen büyüme, bağışıklık veya sindirim enzimi bulgularının yorumlanması açısından önemlidir. Özellikle ekstraksiyon yöntemi, çözücü tipi ve kullanılan bitki kısmı, elde edilen özütün kimyasal profilini ve biyolojik etkisini değiştirebilmektedir (Painuli vd., 2022; Reverter vd., 2014).

Balıklarda bitkisel yem katkılarının etkisi; kullanılan bitkinin türüne, katkı düzeyine, uygulama süresine, balık türüne, gelişim dönemine ve yetiştirme koşullarına göre değişebilir. Bu nedenle düşük, orta ve yüksek katkı düzeylerini içeren doz denemeleri, hem biyolojik etkinin hem de pratik kullanım aralığının belirlenmesi açısından önemlidir. Çok düşük dozlarda belirgin yanıt alınamayabilirken, yüksek dozlarda yem tüketimi, sindirim veya fizyolojik denge üzerinde istenmeyen etkiler görülebilir (Banu vd., 2025; Van Hai, 2015).

2.11 Tere Tohumu (*Lepidium sativum*) ve Fonksiyonel Bileşenleri

Tere tohumu (*Lepidium sativum*), Brassicaceae familyasına ait olup besinsel içeriği ve fonksiyonel özellikleri nedeniyle farklı alanlarda araştırılan bir bitkidir. Tohumlarının protein, lif, yağ, mineral ve çeşitli fitokimyasal bileşenler bakımından dikkat çektiği; flavonoidler, alkaloidler, tanenler, saponinler, fenolik bileşikler ve glukozinolat türevleri gibi biyoaktif gruplar içerebildiği bildirilmektedir (Painuli vd., 2022; Tufail vd., 2024).

Tere tohumundan soğuk pres yöntemiyle elde edilen yağ, yağ asidi profili ve lipofilik bileşenleri bakımından ayrıca önem taşımaktadır. Önceki çalışmalarda tere tohumu yağında α-linolenik, oleik ve linoleik asit gibi yağ asitlerinin yanı sıra tokoferoller, fitosteroller ve karotenoidler gibi lipofilik bileşenlerin bulunduğu rapor edilmiştir (Diwakar vd., 2010; Rezig vd., 2022). Bu bileşenler, yemle alındığında balıklarda enerji metabolizması, hücre membranı yapısı ve inflamasyonla ilişkili fizyolojik süreçler üzerinde dolaylı etkiler oluşturabilecek niteliktedir.

Yağ üretimi sonrasında geriye kalan posa ise çoğu zaman ikincil ürün olarak görülse de, uygun çözücülerle ekstrakte edildiğinde biyolojik açıdan değerli bileşenler içerebilir. Bu tez çalışmasında tere tohumu posasından elde edilen etanolik özütün ayrıca değerlendirilmesi, hem bitkisel kökenli fonksiyonel yem katkısı geliştirilmesi hem de yağ üretiminden arta kalan materyalin katma değerli bir ürüne dönüştürülmesi açısından önem taşımaktadır. Nitekim bu çalışmada LSE materyalinde benzyl nitrile ve izotiyosiyanat türevleri gibi bileşenlerin yüksek oranlarda belirlenmesi, posanın yalnızca atık/yan ürün olarak değil, biyolojik potansiyeli olan bir kaynak olarak ele alınabileceğini göstermektedir.

2.12 Literatürün Genel Değerlendirilmesi

Su ürünleri yetiştiriciliğinde bitkisel kökenli ürünlerin yem katkısı olarak kullanımı üzerine yürütülen çalışmalar, bu materyallerin balıklarda büyüme performansı, yemden yararlanma, doğal bağışıklık yanıtları, sindirim fizyolojisi ve hastalık direnci üzerinde farklı düzeylerde etkiler oluşturabildiğini göstermektedir. Ancak bu etkiler sabit ve tek yönlü değildir; kullanılan bitkinin türü, bitkinin hangi kısmının

değerlendirildiği, ekstraksiyon yöntemi, katkı dozu, uygulama süresi, balık türü ve balığın gelişim dönemi elde edilen sonuçların yönünü değiştirebilmektedir (Awad ve Awaad, 2017; Reverter vd., 2014; Van Hai, 2015). Bu nedenle bitkisel yem katkılarını yalnızca tür üzerinden değerlendirmek yeterli değildir. Aynı bitkiden elde edilen yağ, toz, sulu özüt, etanolik özüt veya üretim sonrası kalan posa fraksiyonları kimyasal bileşim ve biyolojik etki bakımından birbirinden ayrılabilmektedir.

Tere tohumu (*Lepidium sativum*) bu açıdan dikkat çekici bir bitkidir. Literatürde tere tohumunun protein, yağ, lif, mineral ve çeşitli fitokimyasal bileşenler içeren besinsel ve fonksiyonel bir materyal olduğu bildirilmektedir (Painuli vd., 2022). Ayrıca *L. sativum*'un fenolik bileşikler, flavonoidler, alkaloidler, tanenler, saponinler, glukozinolat türevleri ve farklı sekonder metabolitler bakımından araştırmaya değer bir bitki olduğu belirtilmiştir (Tufail vd., 2024). Tohumdan elde edilen yağ fraksiyonu ise özellikle yağ asidi profili, tokoferoller, fitosteroller ve diğer lipofilik bileşenler bakımından ayrıca önem taşımaktadır (Diwakar vd., 2010; Rezig vd., 2022). Buna karşılık yağ çıkarımı sonrasında geriye kalan posa materyalinin balık beslemede fonksiyonel katkı olarak değerlendirilmesine ilişkin bilgiler oldukça sınırlıdır. Oysa bu posa, uygun çözücüyle ekstrakte edildiğinde biyolojik yönden aktif olabilecek bileşenler taşıyabilir ve yağ üretim sürecinin yan ürünü olmaktan çıkarak katma değerli bir yem katkısı niteliği kazanabilir.

Mevcut literatürde bitkisel yem katkıları çoğu zaman tek bir ürün formu üzerinden değerlendirilmektedir. Bir bitkinin yağı ile aynı bitkinin yağ üretiminden arta kalan posa özütünün aynı balık türünde, aynı doz aralığında ve aynı deneysel koşullarda karşılaştırılması ise daha sınırlı çalışılmış bir konudur. Bu yönüyle mevcut tez çalışması, tere tohumu soğuk pres yağı ile tere tohumu posası etanolik özütünü aynı deneysel çerçevede değerlendirmesi bakımından özgün bir yaklaşım sunmaktadır. Çalışmada 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} düzeyleri kullanılarak hem düşük hem orta hem de yüksek katkı düzeylerinin etkileri izlenmiş; böylece iki farklı ürün fraksiyonunun gökkuşağı alabalığı üzerindeki yanıtları karşılaştırmalı olarak ortaya konulmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Deneme Alanı ve Etik İzin

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi bünyesinde bulunan Akuatik Toksikoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen, günlük olarak multiparametre ile (Hach Lange HQ 40D) kaydedilmiştir. Denemede kullanılan tüm uygulamalar, hayvan refahı ve deneysel etik ilkeler dikkate alınarak planlanmıştır. Çalışma protokolü Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından KUHADYEK 2016-16 karar numarası ile onaylanmıştır. Deneme süresince balıkların gereksiz strese maruz kalmaması için örnekleme öncesinde uygun anestezi prosedürleri uygulanmıştır.

3.2 Kullanılan Materyaller ve Deneme Dizaynı

Denemede, ortalama başlangıç ağırlığı yaklaşık 5 g olan gökkuşağı alabalıkları kullanılmıştır. Balıklar deneme öncesinde iki hafta süreyle adaptasyona alınmış; bu süreçte genel sağlık durumları ve yem alma davranışları takip edilmiştir. Adaptasyon sürecinin ardından balıklar, başlangıç ağırlıkları gruplar arasında dengeli olacak şekilde rastgele dağıtılmıştır.

Çalışma; katkı içermeyen kontrol grubu, tere tohumu soğuk pres yağı ilave edilen gruplar (LS01, LS05 ve LS1) ve tere tohumu posası etanolik özütü ilave edilen gruplar (LSE01, LSE05 ve LSE1) olmak üzere toplam yedi gruptan oluşmuştur (Tablo 3.1). Deneme, her grup üç tekerrürlü olacak şekilde planlanmış ve her akvaryuma 40 balık stoklanmıştır. Böylece çalışma toplam 21 akvaryumda yürütülmüştür.

Tablo 3.1 Deneme grupları ve yem katkı düzeyleri

Grup	Yem katkısı	Doz	Açıklama
Kontrol	Katkı yok	0	Ticari bazal yem
LS01	Tere tohumu soğuk pres yağı	0,1 g kg^{-1}	Düşük doz yağ grubu
LS05	Tere tohumu soğuk pres yağı	0,5 g kg^{-1}	Orta doz yağ grubu
LS1	Tere tohumu soğuk pres yağı	1 g kg^{-1}	Yüksek doz yağ grubu
LSE01	Tere tohumu posası etanolik özütü	0,1 g kg^{-1}	Düşük doz posa özütü grubu
LSE05	Tere tohumu posası etanolik özütü	0,5 g kg^{-1}	Orta doz posa özütü grubu
LSE1	Tere tohumu posası etanolik özütü	1 g kg^{-1}	Yüksek doz posa özütü grubu

3.2.1 Tere Tohumu Yağı ve Posa Özütünün Hazırlanması

Çalışmada kullanılan tere tohumu materyali yerel aktar kaynaklarından temin edilmiştir. Tohumlardan yağ elde etmek amacıyla soğuk pres yağ çıkarım cihazı (OZERGRUP Öz-10) kullanılmış ve elde edilen soğuk pres tere tohumu yağı, LS gruplarının hazırlanmasında değerlendirilmiştir. Yağ çıkarımı sonrasında geriye kalan posa materyali ise çalışma kapsamında ayrıca kullanılmış; posa özütünün hazırlanmasında ekstraksiyon işlemi, ilgili yönteme göre gerçekleştirilmiş ve çözücü olarak %96 etanol kullanılmıştır. Böylece çalışma, tere tohumunun ana ürünü olan yağ fraksiyonu ile yağ üretimi sonrasında elde edilen posa özütünün gökkuşağı alabalıklarında fonksiyonel yem katkısı olarak karşılaştırmalı biçimde değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

3.2.2 Tere Tohumu Yağı ve Etanolik Özütlerinin GC-MS Analiz Sonuçları

Tere tohumu (*Lepidium sativum*) soğuk pres yağı (LS) ile yağ çıkarımı sonrasında elde edilen tere tohumu posası etanolik özütünün (LSE) kimyasal bileşimini belirlemek amacıyla gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) analizi yapılmıştır. Analizler, deneme yemlerine ilave edilmeden önce yağ ve posa özütünde bulunan başlıca bileşenlerin tanımlanması ve bu bileşenlerin göreli pik alanı yüzdelerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

GC-MS analizi sonucunda bileşikler ve bunlara ait göreli pik alanı yüzdeleri, tere tohumu soğuk pres yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü için tespit edilmiştir. Elde edilen kimyasal profil, LS ve LSE materyallerinin bileşim bakımından

birbirinden farklı özellikler taşıdığını göstermiştir. LS materyalinde aldehit, yağ asidi ve uzun zincirli hidrokarbon türevleri öne çıkarken; LSE materyalinde benzyl nitrile ve izotiyosiyanat ilişkili bileşenlerin daha yüksek göreli pik alanlarıyla temsil edildiği belirlenmiştir.

3.2.3 Deneme Yemlerinin Hazırlanması

Deneme yemlerinin hazırlanmasında bazal yem olarak ticari bir alabalık yemi kullanılmıştır. Katkı içermeyen kontrol grubu için Moyfeed™ ticari yemi kullanılmış olup, bu yemin yaklaşık %42 ham protein ve %18 ham yağ içerdiği bildirilmiştir. Tere tohumu soğuk pres yağı (LS) ve tere tohumu posası etanolik özütü (LSE), bazal yeme 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} düzeylerinde ilave edilmiştir. Bu düzeyler, tere tohumu yağı ve posa özütünün gökkuşağı alabalıklarındaki etkilerini düşük, orta ve yüksek katkı seviyeleri üzerinden değerlendirmek amacıyla seçilmiştir.

Katkı maddelerinin yeme homojen şekilde aktarılması için sprey kaplama yöntemi uygulanmıştır. Bu doğrultuda tere tohumu yağı ilave edilen yem grupları LS01, LS05 ve LS1; tere tohumu posası etanolik özütü ilave edilen yem grupları ise LSE01, LSE05 ve LSE1 olarak düzenlenmiştir. Katkı uygulamasından sonra yemler oda sıcaklığında kurutulmuş ve kullanım zamanına kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4 Balık Materyali ve Yetiştirme Koşulları

Yaklaşık 5 g ortalama başlangıç ağırlığına sahip yaklaşık 550 gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) deneme ünitesine getirilmiş ve besleme denemesi başlamadan önce iki hafta süreyle deneme koşullarına adapte edilmiştir. Adaptasyon sürecinde balıklar adaptasyon tanklarında tutulmuş, genel sağlık durumları ve yem alma davranışları takip edilmiştir. Adaptasyonun ardından balıklar, vücut ağırlıkları dikkate alınarak her tankta 40 birey olacak şekilde rastgele deneme gruplarına dağıtılmıştır. Besleme denemesi 150 L hacimli cam akvaryumlarda yürütülmüş; her diyet grubu üç tekerrürlü olacak şekilde planlanmış ve toplam 21 akvaryum kullanılmıştır. Balıklar 21 gün boyunca günde iki kez, saat 09.00 ve 17.00'de, elle görünür doygunluğa kadar beslenmiştir. Her tanka verilen yem miktarı günlük olarak kaydedilmiş ve yem

dönüşüm oranının hesaplanmasında tank bazlı yem tüketimi esas alınmıştır. Deneme başlamadan önce tüm balıklar 24 saat süreyle aç bırakılmıştır.

3.3 Su Kalitesi Fizikokimyasal Analizleri

Deneme süresince su sıcaklığı, çözünmüş oksijen ve pH gibi temel su kalite parametreleri günlük olarak takip edilmiştir. Su sıcaklığı 16,5 ± 0,05 °C, çözünmüş oksijen 8,7 ± 0,07 mg L^{-1} ve pH 8,23 ± 0,14 olarak kaydedilmiştir. Bu değerler gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği için uygun aralıkta olup, deneme süresince su kalitesi kaynaklı belirgin bir stres faktörü oluşmaması hedeflenmiştir.

Su kalitesinin düzenli takip edilmesi, yem katkılarının etkilerinin çevresel değişkenlerden bağımsız şekilde yorumlanabilmesi açısından önemlidir. Özellikle bağışıklık ve oksidatif stres parametreleri su kalitesinden etkilenebildiği için, deneme boyunca stabil koşulların korunmasına dikkat edilmiştir.

3.4 Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanmanın Hesaplanması

Büyüme performansı, deneme başlangıcında ve sonunda yapılan toplu tartımlar üzerinden değerlendirilmiştir. Her tanktaki balıklar toplu olarak tartılmış ve elde edilen ortalama vücut ağırlığı değerleri ile canlı ağırlık artışı (3.1), spesifik büyüme oranı (3.2) ve yem dönüşüm oranı (3.3) gibi büyüme performansı hesaplamalarında kullanılmıştır. Bu nedenle büyüme ve yemden yararlanma parametreleri tank bazında değerlendirilmiştir.

Canlı ağırlık artışı (CAA, %) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{CAA (\%)} = [(\text{son vücut ağırlığı (g)} - \text{başlangıç vücut ağırlığı (g)}) / \text{başlangıç vücut ağırlığı (g)}] \times 100 \quad (3.1)$$

Spesifik büyüme oranı (SBO, % $gün^{-1}$) ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{SBO (\% gün}^{-1}\text{)} = [(\ln \text{son vücut ağırlığı} - \ln \text{başlangıç vücut ağırlığı}) / \text{deneme süresi (gün)}] \times 100 \quad (3.2)$$

Yem dönüşüm oranı (YDO), tüketilen yem miktarının ağırlık kazanımına bölünmesiyle hesaplanmıştır:

YDO = tüketilen yem miktarı (g) / ağırlık kazanımı (g) (3.3)

3.5 Örnekleme Protokolü

Denemenin 7., 14. ve 21. günlerinde her tekerrür tankından üç balık rastgele seçilerek örneklenmiştir. Böylece her diyet grubu, her örnekleme döneminde toplam dokuz balıkla temsil edilmiştir. Her örnekleme zamanında yeni bireyler kullanılmış ve aynı balıktan tekrar örnekleme yapılmamıştır. Örnekleme öncesinde balıklar, Alagöz vd. (2021) tarafından bildirilen yönteme göre sütleğen (*Euphorbia* sp.) kullanılarak anesteziye alınmıştır. Anestezi sonrasında balıklardan kan örnekleri toplanmış; ardından dalak, baş böbrek, bağırsak, mide ve karaciğer dokuları diseksiyonla alınmıştır.

Gen ekspresyonu analizleri için alınan dalak, baş böbrek ve bağırsak dokuları hemen RNAlater™ çözeltisine (Invitrogen, Cat. No. AM7020) aktarılmış ve ileri analizlere kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Sindirim enzimi analizleri için alınan ilgili dokular ise kriyotüplere yerleştirilmiş ve analiz zamanına kadar -80 °C'de saklanmıştır. Tüm örnekleme işlemleri, gruplar arasında uygulama birliğini sağlamak amacıyla her örnekleme döneminde aynı prosedür izlenerek gerçekleştirilmiştir.

3.6 Kan Örneklerinin Alınması ve Hematolojik Analizler

Kan örnekleri, anestezi altındaki balıklardan uygun örnekleme prosedürüne göre alınmıştır. Kırmızı kan hücresi sayısı (RBC), hemoglobin konsantrasyonu (Hb) ve hematokrit değeri (Hct), Hrubec vd. (2000) tarafından bildirilen standart prosedürler esas alınarak otomatik hematoloji analizörü (Mindray BC-3000 Plus) ile belirlenmiştir. Eritrosit indeksleri ise elde edilen RBC, Hb ve Hct değerleri kullanılarak hesaplanmıştır.

Ortalama eritrosit hacmi (MCV, fL) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$MCV = (Hct \times 10) / RBC \quad (IV)$$

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH, pg) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$MCH = (Hb \times 10) / RBC \quad (V)$$

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC, g dL^{-1}) ise aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir:

$$MCHC = (Hb \times 100) / Hct \quad (VI)$$

3.7 İmmunolojik Analizler

Doğal bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesi amacıyla, her örnekleme döneminde alınan kan örneklerinde respiratuvar patlama aktivitesi, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz aktivitesi belirlenmiştir.

3.7.1 Solunum Patlaması Aktivitesi

Respiratuvar patlama aktivitesi, periferik kan örneklerinde nitroblue tetrazolium (NBT) indirgeme testi kullanılarak belirlenmiştir. Analiz, Siwicki vd. (1994) tarafından bildirilen yönteme göre gerçekleştirilmiş ve fagositik hücrelerin oksidatif aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Ölçümler spektrofotometrik olarak yapılmış ve sonuçlar optik yoğunluk değerleri üzerinden değerlendirilmiştir.

3.7.2 Lizozim Aktivitesi

Lizozim aktivitesi, Ellis (1990) tarafından bildirilen türbidimetrik yönteme göre ölçülmüştür. Analizde, lizozimin substrat olarak kullanılan bakteri hücre süspansiyonu üzerindeki etkisine bağlı absorbans değişimi esas alınmıştır. Elde edilen sonuçlar lizozim aktivitesi olarak ifade edilmiştir.

3.7.3 Myeloperoksidaz Aktivitesi

Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, Sahoo vd. (2005) tarafından bildirilen yönteme göre belirlenmiştir. Analiz, kan örneklerinde MPO aktivitesine bağlı renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayandırılmıştır. Tüm immunolojik analizler, 7., 14. ve 21. günlerde alınan kan örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.8 Sitokin Gen Ekspresyon Analizleri

Gen ekspresyonu analizleri dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularında gerçekleştirilmiştir. Bu dokular, bağışıklık yanıtlarının farklı doku düzeylerinde değerlendirilebilmesi amacıyla kullanılmıştır. Çalışmada bağışıklıkla ilişkili *il-1β, tnf-α, ifn-1, cox-2, il-6, tgf-β, il-10* ve *il-4* genlerinin relatif ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Kullanılan hedef genlere ait primer dizileri ve ilgili kaynaklar Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2 qRT-PCR için kullanılan gen spesifik primerleri, dizileri ve kayıt numaraları.

Gene	Primer	Primer sequence (5'-3')	Accession No.
β-actin	F:	ATGGAAGGTGAAATCGCC	AF157514
	R:	TGCCAGATCTTCTTCATG	
il-1β	F:	CGTCACTGACTCTGAGAACAAGT	NM001124347
	R:	TGGCGTGCAGCTCCATAG	
tnf-α	F:	GGATGACGGCCAGGCTTTT	AJ278085
	R:	TGTGTGGGATGAGGATTTGGTT	
ifn1	F:	AGAATGCCCCAGTCCTTTTCC	AJ580911
	R:	GACTTTGTCCTCAAACTCAGCATCA	
cox-2	F:	ACAAAGGGTTGTGGAACGTC	AJ238307
	R:	CCAAATGTGAGCGGGGTGTC	
il-6	F:	TGAGGCACAAAGCTTCTC	DQ866150
	R:	TCTTCAGCACGTTAAGGC	
tgf-β	F:	GGAAGAAACGACAAACCACTACTGA	NM001124347
	R:	GTTTTCGCACACAGCAACTCT	
il-10	F:	GCTGGACGAAGGGATTCTACA	AB118099
	R:	AACTTCAGGATGCTGTCCATAGC	
il-4	F:	ATGTTTCTATTGATTATTATATTCACAAC	KY421676.1
	R:	TCACACACAATGATAAGAGCTGT	

3.8.1 RNA Saflaştırması

Toplam RNA izolasyonu; dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularından Tissue Total RNA Extraction Kit (FavorPrep™, Cat. No. FATRK 001-1) kullanılarak üretici firma protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA örneklerinin miktarı ve saflığı, Epoch™ mikroplaka okuyucu (Epoch™,Agilent) kullanılarak 260 ve 280 nm absorbans değerleri üzerinden spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. RNA örnekleri daha sonra 15 ng nihai konsantrasyona seyreltilmiş ve cDNA sentezinde kullanılmıştır.

3.8.2 Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularından elde edilen toplam RNA örnekleri, tamamlayıcı DNA sentezinde kullanılmadan önce spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. RNA örneklerinin miktar ve saflıkları, mikroplaka okuyucu cihazı kullanılarak 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbans ölçümü ile belirlenmiştir. Kalite kontrolü yapılan RNA örnekleri, nükleaz içermeyen su ile 15 ng/µL son konsantrasyona seyreltilmiş ve cDNA sentezinde kalıp RNA olarak kullanılmıştır. cDNA sentezi, High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanılarak üretici firma protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir (Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific, ABD). Her örnek için reaksiyon hacmi toplam 20 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı; 10 µL RNA örneği ve 10 µL 2X RT master mix içerecek şekilde düzenlenmiştir. Buna göre her reaksiyonda yaklaşık 150 ng total RNA kullanılmıştır. Kit protokolüne göre High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, 20 µL'lik reaksiyon hacminde 0,02–2 µg total RNA'dan tek iplikli cDNA sentezi için uygundur. Her reaksiyon için 2X RT master mix; 2,0 µL 10X RT Buffer, 0,8 µL 25X dNTP Mix, 2,0 µL 10X RT Random Primers, 1,0 µL MultiScribe™ Reverse Transcriptase ve 4,2 µL nükleaz içermeyen su olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan master mix, RNA örnekleri ile karıştırıldıktan sonra tüpler kısa süre santrifüj edilerek reaksiyon karışımının tüp dibinde toplanması sağlanmıştır. Reverse transkripsiyon reaksiyonu termal döngü cihazında 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve ardından 4°C'de bekletme koşullarında yürütülmüştür. Üretici protokolünde, optimum dönüşüm için reverse transkripsiyon basamağının 37°C'de

120 dk uygulanması önerilmektedir. Sentezlenen cDNA örnekleri, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizlerinde kullanılıncaya kadar −20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.8.3 RT-qPCR Analizleri ve Gen Ekspresyonları

Gen ekspresyon analizleri Bio-Rad gerçek zamanlı PCR sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. qPCR reaksiyonları toplam 20 µL hacimde hazırlanmıştır. Her reaksiyon karışımı 10 µL SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (2×), 1 µL ileri primer, 1 µL geri primer, 6 µL nükleaz içermeyen su ve 2 µL cDNA içerecek şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyonlarda primerlerin son konsantrasyonu 250 nM olarak ayarlanmış ve her reaksiyonda 15 ng cDNA kullanılmıştır.

Amplifikasyon koşulları; 95 °C'de 30 saniye başlangıç denatürasyonu, ardından 40 döngü olacak şekilde 95 °C'de 15 saniye denatürasyon ve 60 °C'de 30 saniye bağlanma/uzama basamaklarından oluşmuştur. Tüm reaksiyonlar üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. qRT-PCR analizlerinden sonra erime eğrisi analizi yapılarak amplifikasyon özgüllüğü kontrol edilmiştir. Gen ekspresyon analizlerinden önce primer etkinlikleri değerlendirilmiş ve relatif kantifikasyon için uygun amplifikasyon performansı gösteren primerler kullanılmıştır. Relatif gen ekspresyon düzeyleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle hesaplanmış, referans gen olarak β-aktin (*β-act*) kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001).

3.9 Sindirim Enzim Aktiviteleri

Sindirim enzim analizleri besleme denemesinin sonunda gerçekleştirilmiştir. Örnekleme öncesinde balıklar 24 saat süreyle aç bırakılmıştır. Daha sonra balıklara 0,2–0,4 mL L^{-1} konsantrasyonda 2-fenoksietanol (Sigma-Aldrich™, Cat. No. 7699) içeren anestezik solüsyon kullanılarak ötenazi uygulanmıştır. Analizler için her tanktan rastgele seçilen üç balıktan bağırsak ve mide dokuları alınmıştır. Alınan dokular, Yılmaz vd. (2018) tarafından bildirilen yönteme göre distile su ile on kat seyreltilmiş, homojenize edilmiş ve 4 °C'de 20.000 × g'de 45 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantlar dikkatlice toplanmış ve enzim analizleri yapılıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Sindirim enzim

aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılacak protein miktarı Bradford yöntemine göre belirlenmiştir (Bradford, 1976).

Amilaz, tripsin, pepsin ve lipaz aktiviteleri spektrofotometrik olarak mikroplaka okuyucu (Thermo Scientific Multiskan™ GO) kullanılarak belirlenmiştir. Amilaz aktivitesi Bernfeld (1955) ve Worthington (1991) tarafından bildirilen yöntemlere göre, tripsin aktivitesi Erlanger vd. (1961) yöntemine göre, pepsin aktivitesi Worthington (1991) yöntemine göre ve lipaz aktivitesi Furné vd. (2005) yöntemine göre hesaplanmıştır. Enzim aktiviteleri birim protein miktarına göre hesaplanarak U mg^{-1} protein olarak ifade edilmiştir.

3.10 *Yersinia ruckeri* ile Kontrol Testi

Deneme sonunda balıkların *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı direncini değerlendirmek amacıyla 10 günlük deneysel enfeksiyon testi uygulanmıştır. Çalışmada daha önce tanımlanmış olan *Y. ruckeri* bakteri suşu kullanılmıştır. Bakteri suşu TSB besiyerine inoküle edilmiş ve 28 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspansiyonu, daha önce belirlenen LD_{50} düzeyine göre 1×10^8 CFU mL^{-1} konsantrasyonda ayarlanmıştır. Deneysel enfeksiyon yaklaşımı, gökkuşağı alabalığında *Y. ruckeri* direncinin değerlendirilmesine yönelik önceki çalışmalar dikkate alınarak planlanmıştır (Bilen vd., 2021; Yılmaz vd., 2018).

Balıklara intraperitoneal yolla, balık başına 0,1 mL *Y. ruckeri* süspansiyonu enjekte edilmiştir. Kontrol uygulamasında ise balıklara aynı hacimde, yani 0,1 mL steril fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) verilmiştir. Enfeksiyon sonrası ölümler 10 gün boyunca günlük olarak kaydedilmiş ve deneme sonunda kümülatif yaşama oranları hesaplanmıştır.

3.11 İstatistiksel Analizler

Tüm veriler SPSS paket programı kullanılarak analiz edilmiştir (version 22.0). Elde edilen veriler ortalama ± standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. Deneme, her diyet grubu için üç tekerrür tank olacak şekilde yürütülmüştür. Büyüme performansı verilerinde her tanktaki balıklar toplu olarak tartılmış ve tank deneysel birim olarak

kabul edilmiştir. Hematolojik, immunolojik, enzimatik ve gen ekspresyon analizlerinde ise her örnekleme döneminde her tekerrür tanktan üç balık örneklenmiş; böylece her grup için toplam dokuz balık değerlendirilmiştir.

Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Önemli farklılık tespit edildiğinde Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. İstatistiksel önem düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. ANOVA öncesinde veriler normallik ve varyans homojenliği açısından değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 GC-MS Bulguları

GC-MS analizleri, tere tohumu soğuk pres yağı (LS) ile tere tohumu posası etanolik özütünün (LSE) kimyasal kompozisyon bakımından belirgin şekilde farklı profillere sahip olduğunu göstermiştir. Tere tohumu soğuk pres yağında başlıca tespit edilen bileşikler oleik asit (%26,61), 2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl- (%25,11), pentacosane (%6,38), 1,13-tetradecadien-3-one (%6,16), palmitik asit (%4,22) ve 1-eicosanol (%3,14) olmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Tere tohumundan elde edilen soğuk pres yağının GC-MS ile analiz edilen kimyasal bileşimi

	R, Time (Min)	Peak Area%	Name of the compound
1	4,611	0,09	Tanımlanamayan pik
2	4,911	0,48	2-Hexanone (CAS)
3	9,919	0,25	Hydroperoxide, 1-methylpentyl (CAS)
4	10,141	0,08	Hexane, 2-nitro-
5	10,296	0,21	Hept-2(E)-enal
6	11,715	0,30	2-Pentanone, 3-ethyl-3-methyl-
7	12,893	0,07	Heptandienal <2,4-trans,trans->
8	21,836	0,38	D-Limonene
9	22,721	0,07	Dec-2(E)-enal
10	22,882	0,12	Anethole <(E)->
11	22,997	0,07	1,11-Dodecadiyne
12	23,398	0,05	2,4-Decadienal, (E,E)- (CAS)
13	23,806	0,30	Carvacrol
14	25,845	0,04	endo-Dicyclopentadiene dioxide
15	27,332	0,10	Copaene <alpha->
16	29,363	0,04	Caryophyllene
17	30,370	0,54	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-
18	30,675	0,05	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-
19	31,916	0,07	Cedrene <beta->
20	32,037	0,19	Lauric acid
21	32,900	0,05	Acetophenone <3',4'-dimethoxy->
22	35,835	0,04	Diethyl Phthalate
23	37,634	0,29	Tridecanal
24	41,915	0,18	Tetradecanoic acid
25	42,380	0,27	Hexadecanoic acid, methyl ester
26	42,968	6,16*	1,13-Tetradecadien-3-one
27	43,119	4,22*	Palmitic acid
28	45,155	6,38*	Pentacosane
29	46,081	0,28	Tanımlanamayan pik
30	46,224	0,79	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)
31	46,523	0,12	8,11,14-Docosatrienoic acid, methyl ester
32	47,346	25,11*	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)

Tablo 4.1'in devamı

33	47,766	5,23	7-Tetradecenal, (Z)-
34	48,195	1,72	Octadecanoic acid
35	48,454	2,89	Tanımlanamayan pik
36	48,823	2,35	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dinonyl ester (CAS)
37	49,143	1,41	9-Octadecenoic acid, (E)-
38	49,570	1,97	Geranyl Lınalool Isomer B
39	49,836	2,20	Tanımlanamayan pik
40	50,170	0,76	Hexadecanoic acid, tetradecyl ester
41	50,395	0,77	Tanımlanamayan pik
42	50,720	1,47	Tanımlanamayan pik
43	50,899	3,14*	1-Eicosanol (CAS)
44	51,642	1,50	Hexacosane (CAS)
45	52,437	26,61*	Oleic Acid
46	52,770	0,61	Tetracosanal
		100,00	Heneicosane

Tere tohumu posası etanolik özütünde ise baskın bileşikler benzyl nitrile (%52,05), benzene (isothiocyanatomethyl)- (%13,92), acetophenone <3′,4′-dimethoxy-> (%10,13), cis-vaccenic acid (%1,82), palmitik asit (%1,07) ve 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (%0,96) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Tere tohumundan etanolik ekstraktının GC-MS ile analiz edilen kimyasal bileşimi

	R. Time (Min)	**Peak Area%**	**Name of the compound**
1	3,697	0,77	2,2-dimethoxybutane
2	6,571	0,33	Tanımlanamayan pik
3	8,625	0,25	Tanımlanamayan pik
4	9,050	0,39	Tanımlanamayan pik
5	9,209	0,21	Tanımlanamayan pik
6	10,966	0,25	2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one
7	11,740	0,38	Decane
8	12,928	0,23	Tanımlanamayan pik
9	15,015	0,74	Cyclopentane, 1-acetyl-1,2-epoxy-
10	15,383	0,28	Tanımlanamayan pik
11	16,173	0,28	Tanımlanamayan pik
12	17,121	0,31	Tanımlanamayan pik
13	17,278	52,05*	Benzyl nitrile
14	17,407	0,96*	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one
15	17,525	0,62	Tanımlanamayan pik
16	17,585	0,25	Tanımlanamayan pik
17	18,389	0,88	Benzoic acid
18	20,468	0,45	Benzeneacetonitrile, 4-chloro-
19	20,773	0,42	Hydroxy methyl furfural
20	22,913	0,29	Tanımlanamayan pik
21	25,519	13,92*	Benzene, (isothiocyanatomethyl)-
22	26,279	0,22	Tanımlanamayan pik
23	27,531	0,32	Tanımlanamayan pik
24	27,925	0,55	Tanımlanamayan pik
25	27,970	0,45	Tanımlanamayan pik
26	28,069	1,15	Tanımlanamayan pik

Tablo 4.2'nin devamı

27	28,105	0,21	Tanımlanamayan pik
28	29,279	0,70	Benzoic acid, 2-(dimethylamino)ethyl ester
29	30,160	0,32	Tanımlanamayan pik
30	30,353	0,97	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS)
31	32,032	10,13*	Acetophenone <3',4'-dimethoxy->
32	32,680	0,29	Tanımlanamayan pik
33	33,921	0,22	Tanımlanamayan pik
34	38,414	0,27	Tanımlanamayan pik
35	41,479	0,75	Lidocaine
36	42,073	0,30	Tanımlanamayan pik
37	42,820	1,07*	Palmitic acid
38	45,839	0,41	Tanımlanamayan pik
39	46,577	0,22	Tanımlanamayan pik
40	46,988	0,53	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)
41	47,099	1,82*	cis-Vaccenic acid
42	47,248	0,78	mic acid, 1-(4,7-dihydro-2-methyl-7-oxopyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)-, methyl e
43	47,520	0,63	Tanımlanamayan pik
44	47,569	0,32	Tanımlanamayan pik
45	47,633	0,89	9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS)
46	48,685	0,34	Tanımlanamayan pik
47	49,273	0,55	Tanımlanamayan pik
48	49,767	0,34	Tanımlanamayan pik
49	49,908	0,52	Tanımlanamayan pik
50	52,475	0,48	Tanımlanamayan pik
		100,00	

Bu bulgular, deneme yemlerinde kullanılan iki farklı tere tohumu ürününün kimyasal bileşim bakımından birbirinden ayrıldığını ortaya koymuştur (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Tere tohumu yağı ve posa özütü ağırlıklı kimyasal bileşimleri

Materyal	Başlıca tespit edilen bileşenler	Miktar (%)
Tere tohumu soğuk pres yağı (LS)	Oleic Acid	26,61
Tere tohumu soğuk pres yağı (LS)	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)	25,11
Tere tohumu soğuk pres yağı (LS)	Pentacosane	6,38
Tere tohumu soğuk pres yağı (LS)	1,13-Tetradecadien-3-one	6,16
Tere tohumu posası etanolik özütü (LSE)	Benzyl nitrile	52,05
Tere tohumu posası etanolik özütü (LSE)	Benzene, (isothiocyanatomethyl)-	13,92
Tere tohumu posası etanolik özütü (LSE)	Acetophenone <3',4'-dimethoxy->	10,13
Tere tohumu posası etanolik özütü (LSE)	cis-Vaccenic acid	1,82

4.2 Büyüme Performansı Bulguları

Büyüme performansı parametreleri, deneme süresince vücut ağırlığındaki değişimler ve yemden yararlanma düzeyleri üzerinden değerlendirilmiştir (Tablo 4.4). İncelenen büyüme parametreleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($p < 0,05$). Final vücut ağırlığı gruplar arasında önemli

düzeyde değişmiş; en yüksek final ağırlık LS1 grubunda, en düşük değer ise LS05 grubunda kaydedilmiştir.

Ağırlık kazanımı değerleri de final ağırlık bulgularına benzer bir dağılım göstermiştir. LS1 grubu, kontrol ve diğer deneme gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek ağırlık kazanımı sergilerken, LS05 grubunda ağırlık kazanımının belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Yem dönüşüm oranı (FCR) da yem uygulamalarından önemli ölçüde etkilenmiştir ($p < 0,05$). En düşük FCR değeri LSE05 grubunda belirlenmiş ve bu grup yemden yararlanma bakımından en olumlu sonucu göstermiştir. Buna karşılık en yüksek FCR değeri kontrol grubunda kaydedilmiştir.

Spesifik büyüme oranı (SGR) bakımından da gruplar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır ($p < 0,05$). En yüksek SGR değeri LS1 grubunda belirlenmiş ve bu sonuç LS1 grubunda gözlenen yüksek final ağırlık ve ağırlık kazanımı bulgularıyla uyum göstermiştir. En düşük SGR değeri ise LS05 grubunda kaydedilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü ilavesi büyüme performansını etkilemiş; final ağırlık, ağırlık kazanımı ve SGR bakımından en belirgin olumlu sonuçlar LS1 grubunda elde edilmiştir.

Tablo 4.4 Kereviz tohumu (*Lepidium sativum*) yağı ve posası özütlerinin gökkuşağı alabalığı yavrularının büyüme performansı üzerindeki etkisi.

	Büyüme Performansı						
	Kontrol	**LS01**	**LS05**	**LS1**	**LSE01**	**LSE05**	**LSE1**
Başlangıç Ağırlığı (g)	5,17±0,52	5,14±0,18	5,31±0.24	5,48±0,17	5,49±0,11	5,46±0,29	5,79±0,13
Son Ağırlık (g)	10,44±0,65^{b}	11,14±0,79^{b}	10,22±0,42^{b}	14,24±1,21^{a}	11,47±0,23^{b}	12,81±0,59^{ab}	12,88±1,38^{ab}
CAA (%)	101,82±2,22^{de}	116,59±4,08^{cd}	92,45±6,34^{e}	160,01±12,41^{a}	108,99±4,34^{d}	134,58±0,22^{b}	122,39±0,11^{c}
YDO	1,30±0,33^{c}	1,14±0,22^{b}	1,22±0,14^{bc}	1,06±0,05^{ab}	1,18±0,13^{b}	0,95±0,87^{a}	1.10±0,20^{b}
SBO (% day^{-1})	3.34±0,28^{b}	3.68±0,95^{ab}	3.12±0,12^{b}	4,55±0,03^{a}	3.51±0,24^{ab}	4.06±0,44^{a}	3.81±0,14^{ab}

Değerler ortalama ± SE olarak sunulmuştur. Aynı sütun içindeki farklı küçük harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Diyetlere 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ilave edilmiştir; kontrol grubu ise ilave yapılmamış temel diyeti almıştır. CAA, canlı ağırlık artışı; YDO, yem dönüşüm oranı; SBO, spesifik büyüme oranı.

4.3 Hematolojik Bulgular

Hematolojik parametreler, tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü ilavesinden önemli düzeyde etkilenmiştir. Kırmızı kan hücresi sayısı (RBC) bakımından deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 4.5). Hemoglobin (Hb) konsantrasyonlarında da benzer bir eğilim görülmüş ve bazı katkılı yem gruplarında Hb değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Hematokrit (Hct) değerleri LS01 grubunda anlamlı düzeyde artmış, ancak bu artış yalnızca 7. gün örneklemesinde belirgin olmuştur ($p < 0,05$). Ortalama eritrosit hacmi (MCV) değerleri deneme sürecinin sonuna doğru anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p < 0,05$). Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) değerleri de yem uygulamalarından etkilenmiş, ilk ve son örnekleme dönemlerinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p < 0,05$). Ayrıca ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri, LSE ilaveli yemlerle beslenen balıklarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Genel olarak hematolojik bulgular, tere tohumu yağı ve posa etanolik özütü ilavesinin gökkuşağı alabalıklarında kan parametreleri üzerinde örnekleme zamanına ve katkı tipine bağlı değişiklikler oluşturduğunu göstermiştir.

Tablo 4.5 21 gün boyunca farklı dozlarda tere tohumu (*Lepidium sativum*) yağı ve özütü ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının hematolojik profilleri.

Day		RBC (10^6/mm^3)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (µm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
7	Kontrol	0,36±0,03^{b}	13,50±0,87^{b}	7,47±0,82^{c}	208,17±3,76	378,07±25,78^{c}	183,40±15,55^{b}
	LS01	0,56±0,11^{a}	15,00±1,57^{ab}	11,63±2,46^{a}	209,40±1,00	283,70±34,70^{d}	136,37±17,64^{b}
	LS05	0,45±0,06^{ab}	16,10±0,25^{a}	9,53±1,16^{b}	210,20±1,47	374,33±50,52^{c}	179,47±23,66^{b}
	LS1	0,18±0,01^{c}	13,90±1,06^{b}	3,50±0,15^{d}	194,74±3,04	779,93±86,52^{a}	399,32±38,42^{a}
	LSE01	0,18±0,03^{c}	11,17±0,77^{c}	3,47±0,62^{d}	192,06±2,44	646,73±91,45^{b}	336,99±47,90^{a}
	LSE05	0,16±0,01^{c}	11,10±1,16^{c}	3,20±0,23^{d}	195,56±4,44	690,74±103,75^{b}	355,29±59,13^{a}
	LSE1	0,21±0,05^{c}	13,10±0,21^{bc}	4,17±1,07^{d}	196,89±3,17	647,30±53,45^{b}	329,70±31,73^{a}
14	Kontrol	0,39±0,04^{ab}	12,10±0,00^{b}	7,90±0,82^{a}	205,43±0,12	320,13±35,56^{b}	156,80±17,82^{b}
	LS01	0,43±0,05^{a}	11,67±0,77^{b}	8,67±1,14^{a}	203,97±0,59	278,60±21,56^{b}	137,53±11,54^{b}
	LS05	0,42±0,04^{a}	13,30±0,81^{ab}	8,67±0,87^{a}	207,80±2,37	323,17±29,18^{b}	155,70±14,60^{b}
	LS1	0,42±0,08^{a}	14,40±1,05^{a}	8,63±1,79^{a}	205,20±3,40	362,47±55,01^{ab}	178,12±29,31^{ab}
	LSE01	0,28±0,03^{c}	11,00±0,40^{bc}	5,67±0,55^{b}	201,23±0,63	396,67±45,27^{ab}	198,33±22,64^{a}

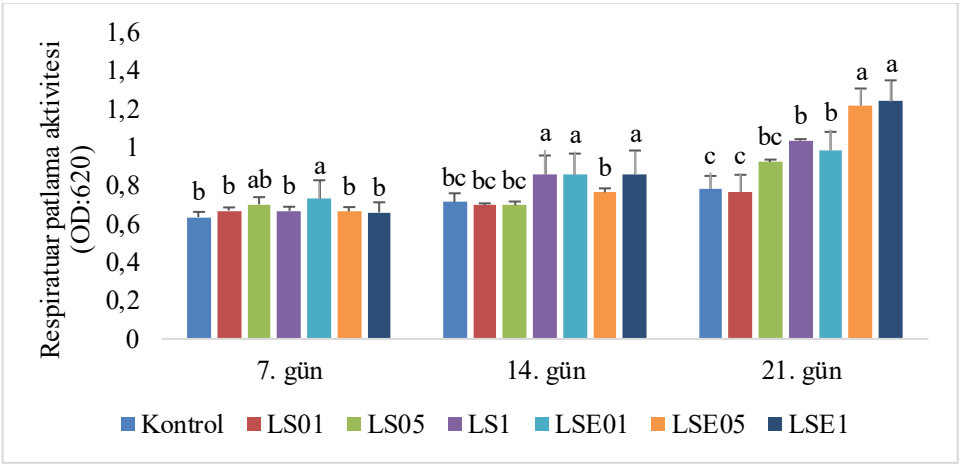
Tablo 4.5'in devamı

14	**LSE05**	0,25±0,04^{c}	11,43±2,27^{b}	4,83±0,84^{b}	196,07±5,11	457,63±27,46^{a}	234,63±8,42^{a}
	LSE1	0,28±0,07^{c}	13,73±2,33^{ab}	5,57±1,34^{b}	200,70±2,12	386,75±90,10^{ab}	192,60±42,78^{a}
21	**Kontrol**	0,52±0,05^{ab}	12,10±0,36^{bc}	10,57±0,96^{a}	145,17±6,01^{b}	238,20±21,71^{c}	139,17±27,99^{c}
	LS01	0,58±0,11^{a}	14,50±0,29^{ab}	11,97±2,11^{a}	209,07±2,37^{a}	271,23±53,83^{c}	129,57±24,37^{c}
	LS05	0,32±0,01^{b}	13,57±1,47^{b}	6,40±0,25^{b}	143,67±6,18^{b}	427,07±35,01^{b}	211,43±18,52^{b}
	LS1	0,16±0,05^{c}	14,47±0,35^{ab}	3,20±1,01^{bc}	205,77±1,33^{a}	622,71±1,87^{a}	305,61±0,40^{a}
	LSE01	0,26±0,05^{bc}	15,13±0,45^{a}	5,13±0,92^{b}	201,00±1,22^{a}	499,70±13,39^{b}	251,90±8,41^{ab}
	LSE05	0,27±0,06^{bc}	14,63±1,84^{ab}	5,57±1,43^{b}	206,95±0,53^{a}	497,75±41,19^{b}	241,45±19,23^{ab}
	LSE1	0,10±0,01^{c}	11,70±0,82^{c}	1,63±0,23^{c}	201,75±1,22^{a}	509,44±3,28^{b}	252,25±1,72^{ab}

Veriler, üç tekrardan elde edilen ortalama ± SE olarak sunulmuştur (n = 3). Belirli bir örnekleme zamanındaki, aynı satırda farklı üst simge harfleriyle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($P < 0,05$). LS01, LS05 ve LS1 grupları, tere tohumu yağı ile takviye edilmiş diyetleri temsil ederken, LSE01, LSE05 ve LSE1 grupları ise tere tohumunun etanol ekstresi ile takviye edilmiş diyetlere karşılık gelmektedir. Kontrol grubundan (C) başlayarak, bu diyetler ilgili katkı maddelerinden sırasıyla 0, 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} içermektedir. RBC: kırmızı kan hücreleri, Hb: hemoglobin, Hct: hematokrit değeri, MCV: ortalama korpüsküler hacim, MCH: ortalama korpüsküler hemoglobin, MCHC: ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu.

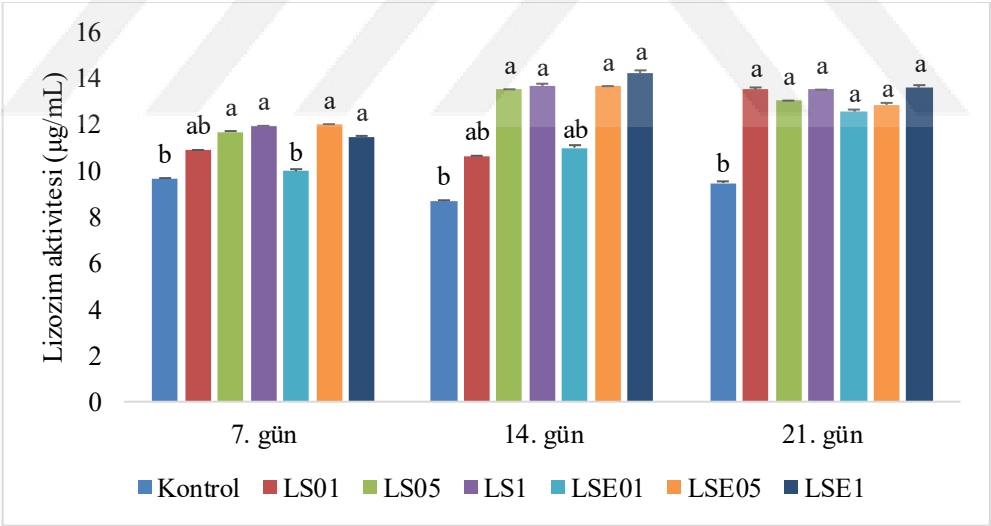
4.4 İmmünolojik Bulgular

Respiratuvar patlama aktivitesi, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, doğal bağışıklık yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Respiratuvar patlama aktivitesi bakımından diyet grupları arasında anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p < 0,05$). Erken örnekleme döneminde LSE01 grubunda artış gözlenirken, ilerleyen örnekleme zamanlarında özellikle tere tohumu posası etanolik özütü içeren gruplarda daha belirgin yanıtlar ortaya çıkmıştır. Deneme sonunda respiratuvar patlama aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla LSE05 ve LSE1 gruplarında anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında solunum patlaması aktivitesindeki değişiklikler (mg NBT mL^{-1}). Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

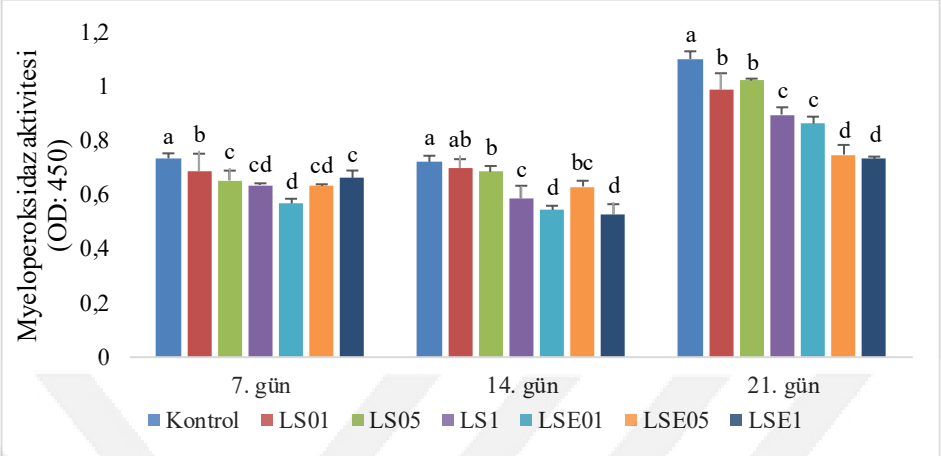
Lizozim aktivitesi de deneme süresince diyet uygulamalarından önemli düzeyde etkilenmiştir ($p < 0,05$). Tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü ilave edilen yemlerle beslenen balıklarda lizozim aktivitesindeki artış erken örnekleme dönemlerinden itibaren belirginleşmiştir (Şekil 4.2). Deneme sonunda ise lizozim aktivitesi, tüm katkılı gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.2 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında lizozim aktivitesindeki değişiklikler (µg mL^{-1}). Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

MPO aktivitesi gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü ilavesi, MPO aktivitesinde genel olarak

düşüşe neden olmuştur (Şekil 4.3). Bu düşüş, özellikle posa etanolik özütü içeren gruplarda daha belirgin şekilde gözlenmiştir. Deneme sonunda MPO aktivitesi tüm katkılı gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuş; en düşük değerler ise LSE05 ve LSE1 gruplarında kaydedilmiştir ($p < 0,05$).



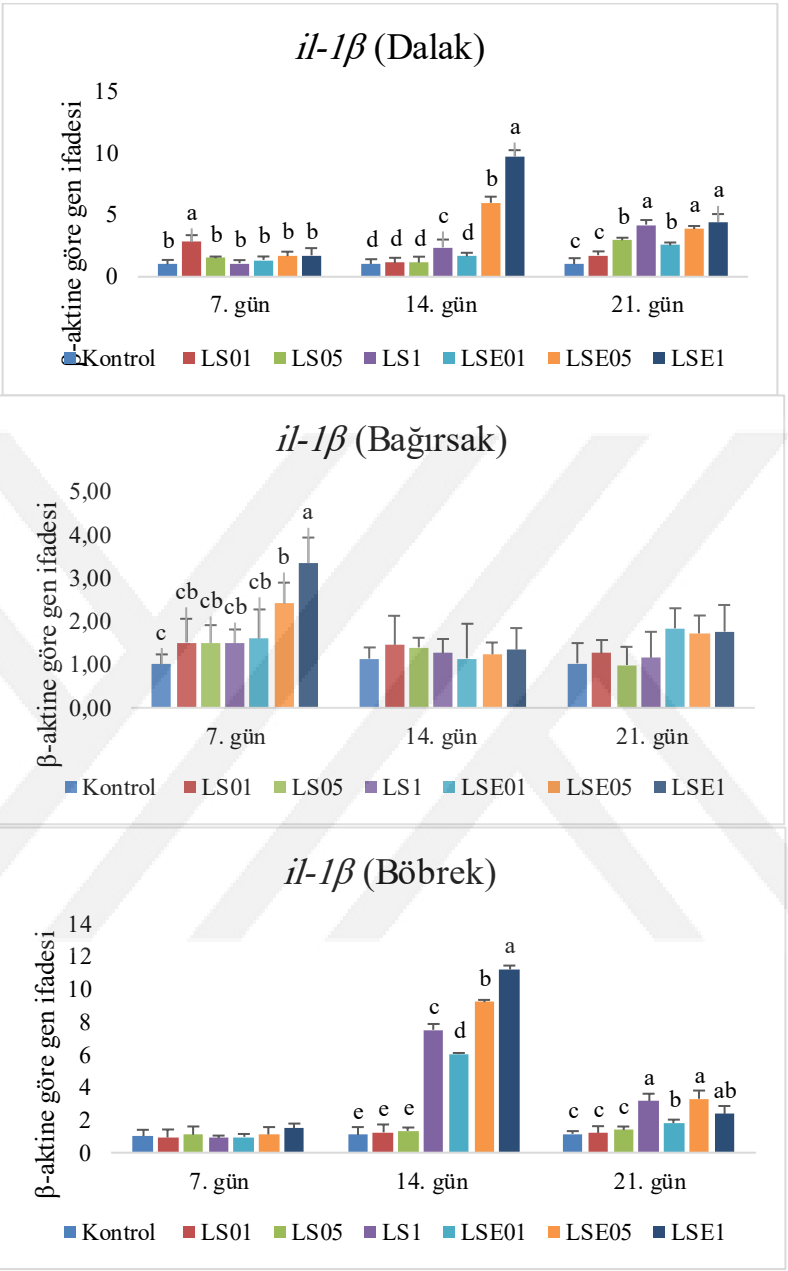
Şekil 4.3 Tere tohumu yağı (LS) veya etanolik ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığında miyeloperoksidaz aktivitesindeki değişiklikler (U L^{-1}). Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

4.5 Gen Ekspresyonu Bulguları

Gen ekspresyonu bulguları, tere tohumu yağı ve özellikle tere tohumu posası etanolik özütünün bağışıklıkla ilişkili genleri dokuya, zamana ve doza bağlı olarak modüle ettiğini göstermiştir. Genel olarak dalak ve baş böbrek dokularında daha belirgin yanıtlar kaydedilmiş, bağırsak dokusunda ise bazı genlerde daha sınırlı değişimler gözlenmiştir.

il-1β ekspresyonunda en belirgin değişimler dalak ve baş böbrek dokularında gözlenmiştir. Dalakta 7. günde yalnızca LS01 grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış belirlenirken ($p < 0,05$), 14. günde bu artış LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında belirginleşmiştir ($p < 0,05$). Denemenin 21. gününde ise LS01 grubu dışındaki tüm uygulama gruplarında İl-1β ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bağırsak dokusunda daha sınırlı bir yanıt ortaya çıkmış; yalnızca 7. günde LSE05 ve LSE1 gruplarında diğer gruplara göre anlamlı artış saptanmış ($p < 0,05$), 14. ve 21. günlerde ise gruplar arasında istatistiksel farklılık

belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Baş böbrekte ise 7. günde anlamlı bir değişim gözlenmezken ($p > 0,05$), 14. ve 21. günlerde LS1 grubu ile tüm LSE gruplarında İl-1β ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,05$) (Şekil 4.4).



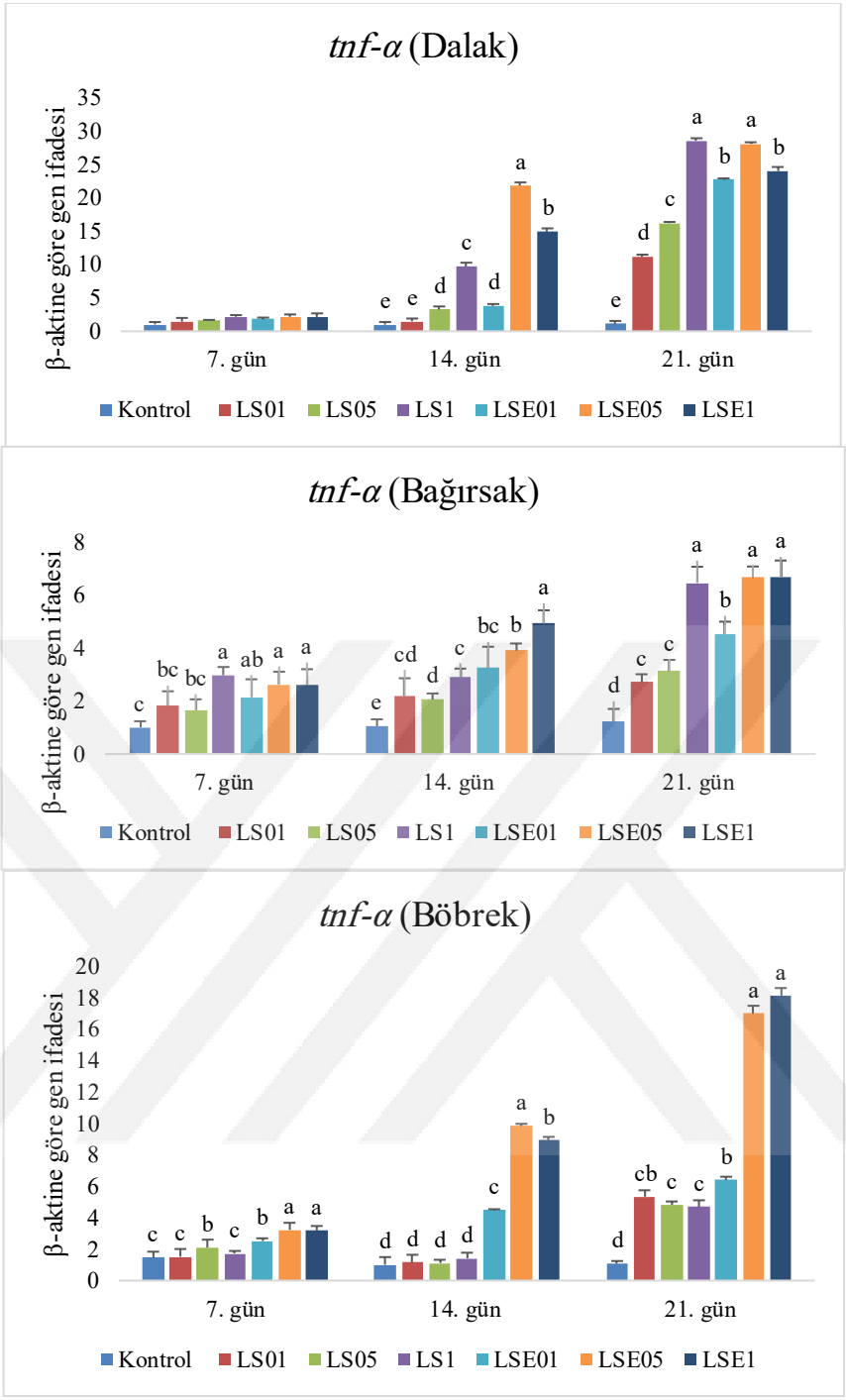
Şekil 4.4 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-1β*'nin göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Genel olarak *il-1β* bulguları, tere tohumu posası etanolik özütünün özellikle orta ve yüksek dozlarda proinflamatuvar sitokin yanıtını daha belirgin şekilde etkilediğini

göstermektedir. Bu etki bağırsakta erken dönemle sınırlı kalırken, dalak ve baş böbrekte daha güçlü ve süreklilik gösteren bir ekspresyon yanıtı oluşturmuştur.

tnf-α ekspresyonu, özellikle denemenin ilerleyen dönemlerinde belirginleşen bir artış göstermiştir (Şekil 4.5). Dalak dokusunda 7. günde tüm uygulama gruplarında kontrole göre sayısal bir artış eğilimi görülmesine rağmen, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Buna karşılık 14. ve 21. günlerde tüm deneme gruplarında *tnf-α* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p < 0,05$). Bu artış, özellikle LSE ilaveli gruplarda daha belirgin olmuş; 14. günde LSE05 ve LSE1, 21. günde ise LS1, LSE05 ve LSE1 grupları yüksek ekspresyon düzeyleriyle öne çıkmıştır.

Bağırsak dokusunda *tnf-α* ekspresyonu tüm örnekleme dönemlerinde katkılı yem gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu durum, *tnf-α* yanıtının bağırsak dokusunda erken dönemden itibaren aktive olduğunu ve deneme sonuna kadar devam ettiğini göstermektedir. Baş böbrek dokusunda ise en dikkat çekici yanıt LSE gruplarında ortaya çıkmıştır. Tüm örnekleme zamanlarında LSE01, LSE05 ve LSE1 gruplarında *tnf-α* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış ($p < 0,05$), özellikle 14. ve 21. günlerde LSE05 ve LSE1 gruplarında daha yüksek ekspresyon seviyeleri kaydedilmiştir.

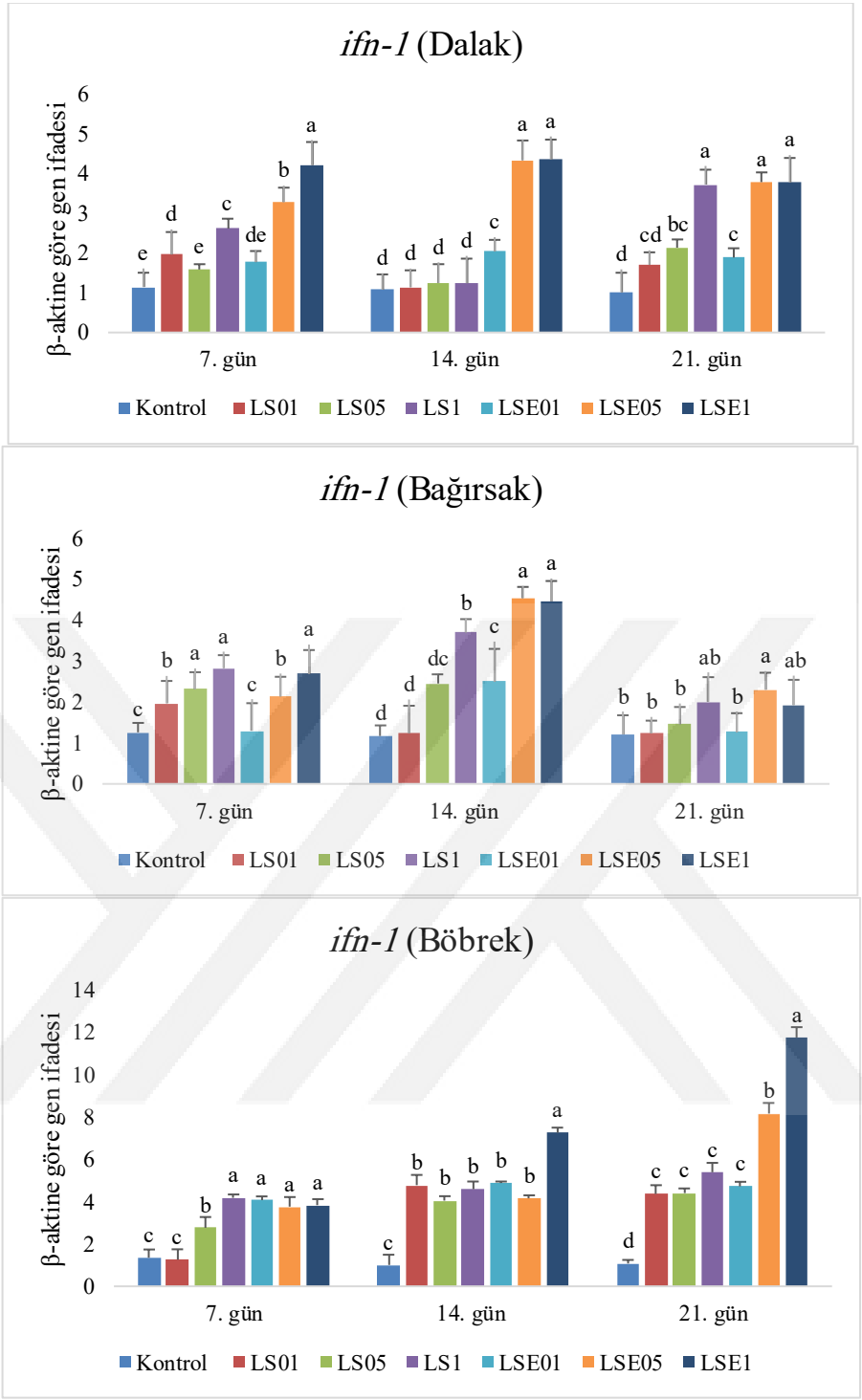


Şekil 4.5 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *tnf-α*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Genel olarak *tnf-α* bulguları, tere tohumu yağı ve özellikle tere tohumu posası etanolik özütünün proinflamatuvar yanıtı uyarabildiğini göstermektedir. Bu yanıt dalakta zamanla güçlenirken, bağırsakta tüm örnekleme dönemlerine yayılan daha sürekli bir

artış şeklinde ortaya çıkmış; baş böbrekte ise posa etanolik özütü uygulamaları daha baskın bir etki oluşturmuştur.

ıfn-1 ekspresyonunda en dikkat çekici bulgu, LSE gruplarındaki artışın birçok doku ve örnekleme zamanında korunması olmuştur (Şekil 4.6). Dalakta tüm örnekleme dönemlerinde LSE01, LSE05 ve LSE1 gruplarında *ıfn-1* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu artış 7. günden itibaren görülmüş, 14. ve 21. günlerde özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında daha belirgin bir görünüm kazanmıştır. Bağırsak dokusunda da 7. günde LSE01 dışında tüm uygulama gruplarında anlamlı artış saptanmış ($p < 0,05$); 14. ve 21. günlerde ise artışın özellikle LS1 ve LSE gruplarında devam ettiği belirlenmiştir. Baş böbrekte IFN-1 yanıtı daha yaygın bir profil göstermiş; LS01 grubu dışında tüm deneme gruplarında, tüm örnekleme zamanlarında kontrol grubuna göre anlamlı yükselme kaydedilmiştir ($p < 0,05$).



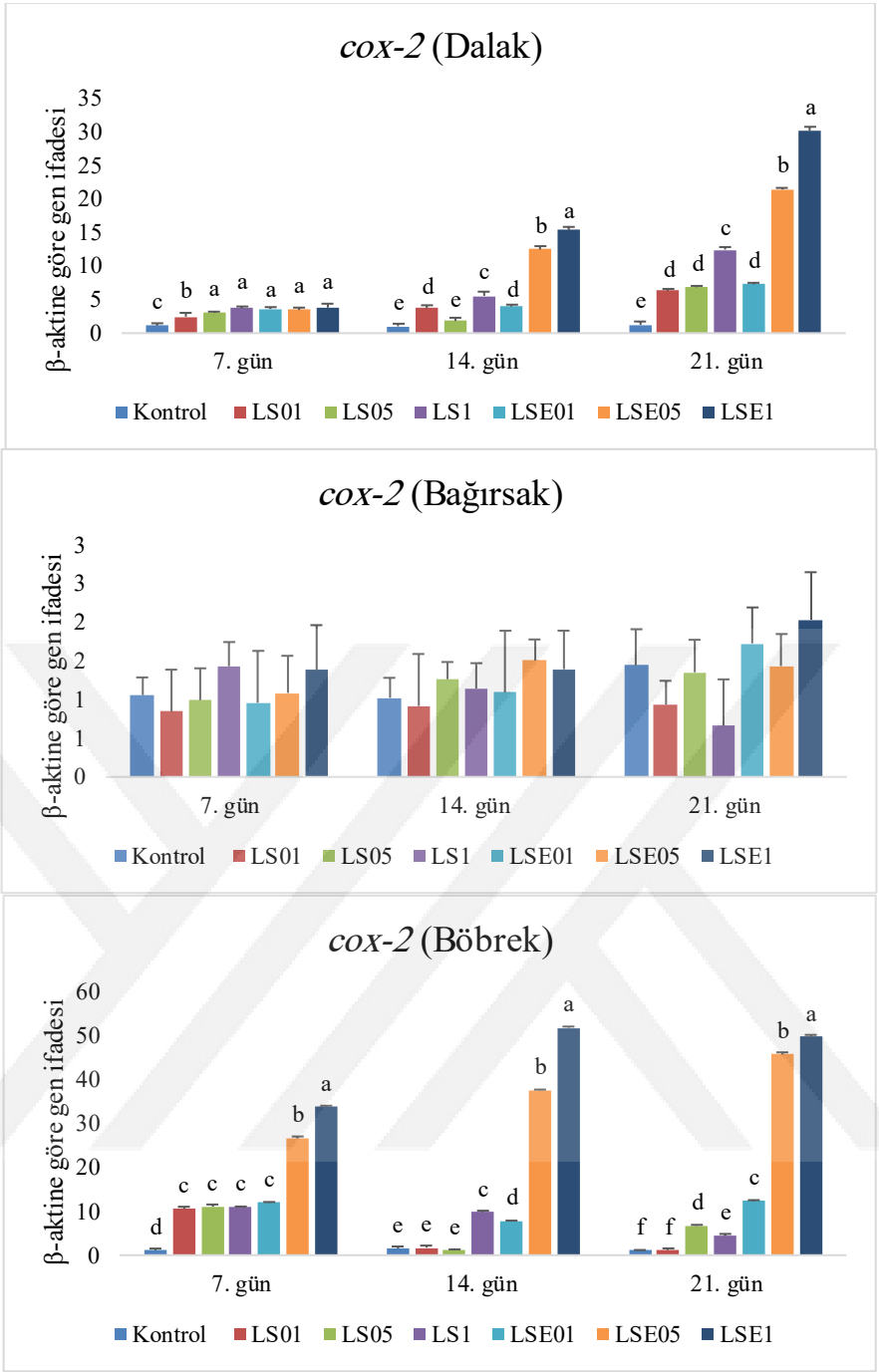
Şekil 4.6 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *ifn-1*'in göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Bu bulgular, *ifn-1* ekspresyonunun tere tohumu ürünlerine karşı oldukça duyarlı bir yanıt verdiğini göstermektedir. Dalakta LSE uygulamalarının süreklilik gösteren etkisi, bağırsakta LS1 ve LSE gruplarında devam eden artışlar ve baş böbrekte geniş

gruplu yükselme birlikte değerlendirildiğinde, posa etanolik özütünün antiviral/immün düzenleyici yanıtla ilişkili *ifn-1* ekspresyonunu tere tohumu yağına göre daha belirgin biçimde desteklediği görülmektedir.

cox-2 ekspresyonunda yanıt daha çok dalak ve baş böbrek dokularında belirginleşmiştir. Dalakta 7. ve 21. günlerde tüm uygulama gruplarında *cox-2* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,05$). 14. günde ise LS05 grubu kontrol grubundan farklı bulunmazken, diğer deneme gruplarında anlamlı artış devam etmiştir ($p < 0,05$). Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında yüksek ekspresyon düzeylerinin kaydedilmesi, posa etanolik özütünün *cox-2* yanıtı üzerindeki etkisinin dalak dokusunda daha belirgin olduğunu göstermektedir.

Bağırsak dokusunda *cox-2* ekspresyonu bakımından hiçbir örnekleme döneminde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Buna karşılık baş böbrek dokusunda güçlü bir yanıt ortaya çıkmış; 7. ve 21. günlerde tüm uygulama gruplarında *cox-2* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p < 0,05$). Bu dokuda özellikle LSE05 ve LSE1 grupları belirgin şekilde öne çıkmış, 14. günde de artışın en yüksek düzeylere yine bu gruplarda ulaştığı görülmüştür.



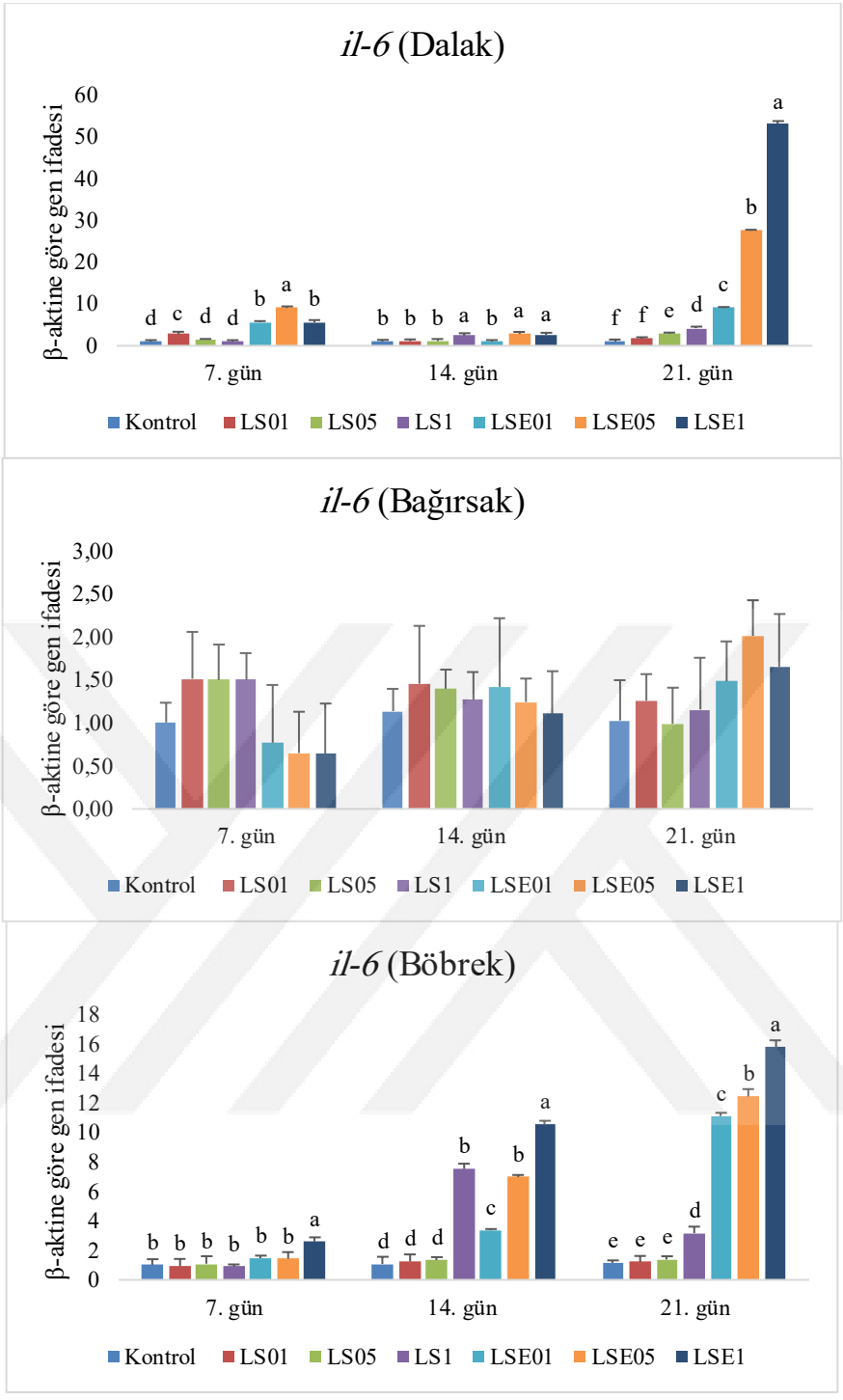
Şekil 4.7 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *cox-2*'nin göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Bu sonuçlar, *cox-2* ekspresyonunun bağırsakta sınırlı kalmasına karşın dalak ve baş böbrekte daha aktif bir yanıt oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında gözlenen yüksek ekspresyon düzeyleri, tere tohumu posası etanolik

özütünün *cox-2* ilişkili inflamatuvar yanıtı yağ uygulamasına göre daha güçlü biçimde etkilediğini göstermektedir.

il-6 ekspresyonunda en belirgin yanıt dalak ve baş böbrek dokularında ortaya çıkmıştır. Dalakta *il-6* ekspresyonu özellikle LSE gruplarında artış göstermiş; bu etki 7. günden itibaren izlenmiş ve deneme sonunda daha belirgin hâle gelmiştir (Şekil 4.8). Özellikle 21. günde LSE05 ve LSE1 gruplarında yüksek ekspresyon düzeyleri kaydedilmiş, en yüksek yanıt LSE1 grubunda belirlenmiştir ($p < 0,05$). LS gruplarında ise *il-6* yanıtı daha sınırlı kalmış ve LSE gruplarındaki düzeye ulaşmamıştır.

Bağırsak dokusunda *il-6* ekspresyonu bakımından örnekleme dönemlerinin hiçbirinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Buna karşılık baş böbrek dokusunda *il-6* yanıtı daha belirgin bir seyir göstermiştir. Denemenin 7., 14. ve 21. günlerinde *il-6* ekspresyonu uygulama gruplarından etkilenmiş; özellikle LSE gruplarında kontrol ve LS gruplarına göre daha yüksek ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bu dokuda LSE1 grubu tüm örnekleme dönemlerinde öne çıkarken, 14. ve 21. günlerde LSE05 grubunda da belirgin artış kaydedilmiştir.



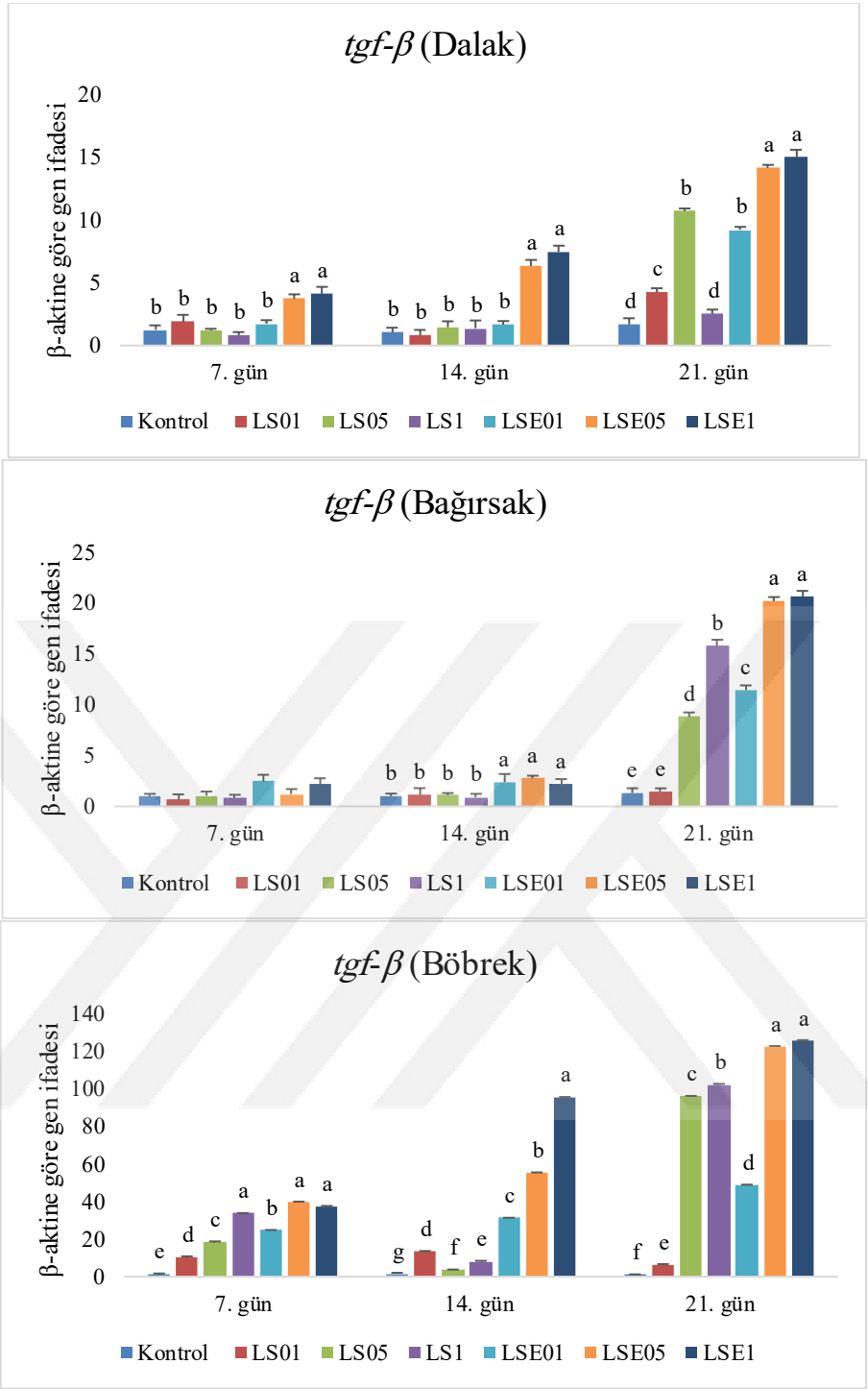
Şekil 4.8 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-6*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Genel olarak *ıl-6* bulguları, tere tohumu posası etanolik özütünün bu sitokin üzerindeki etkisinin bağırsaktan çok dalak ve baş böbrekte belirginleştiğini göstermektedir. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında gözlenen artışlar, posa özütünün *ıl-6* ilişkili

proinflamatuvar yanıtı yüksek dozlarda daha güçlü biçimde etkilediğini ortaya koymaktadır.

tgf-β ekspresyonu, özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında belirginleşen güçlü bir yanıt sergilemiştir. Dalak dokusunda 7. ve 14. günlerde *tgf-β* ekspresyonu LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.9). Denemenin 21. gününde ise LSE01 grubu dışında tüm uygulama gruplarında anlamlı artış saptanmış, en yüksek ekspresyon düzeyleri yine LSE05 ve LSE1 gruplarında kaydedilmiştir ($p < 0,05$). Bağırsak dokusunda 7. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken ($p > 0,05$), 14. ve 21. günlerde LS01 grubu hariç tüm uygulama gruplarında *tgf-β* ekspresyonu kontrol grubuna göre artmıştır ($p < 0,05$). Bu artış özellikle 21. günde daha belirgin hâle gelmiş ve LSE05 ile LSE1 grupları en yüksek değerleri göstermiştir.

Baş böbrek dokusunda *tgf-β* yanıtı diğer dokulara göre daha güçlü bir görünüm sunmuştur. Bu dokuda tüm örnekleme zamanlarında, tüm uygulama gruplarında *tgf-β* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Özellikle 14. ve 21. günlerde LSE05 ve LSE1 gruplarında oldukça yüksek ekspresyon düzeylerinin oluşması, posa etanolik özütünün baş böbrekte *tgf-β* aracılı düzenleyici yanıtı belirgin biçimde etkilediğini ortaya koymaktadır. Genel olarak *tgf-β* bulguları, tere tohumu ürünlerinin yalnızca proinflamatuvar genlerde değil, bağışıklık yanıtının dengelenmesiyle ilişkili düzenleyici sitokinlerde de etkili olduğunu; bu etkinin özellikle posa etanolik özütünün orta ve yüksek dozlarında daha güçlü gerçekleştiğini göstermektedir.

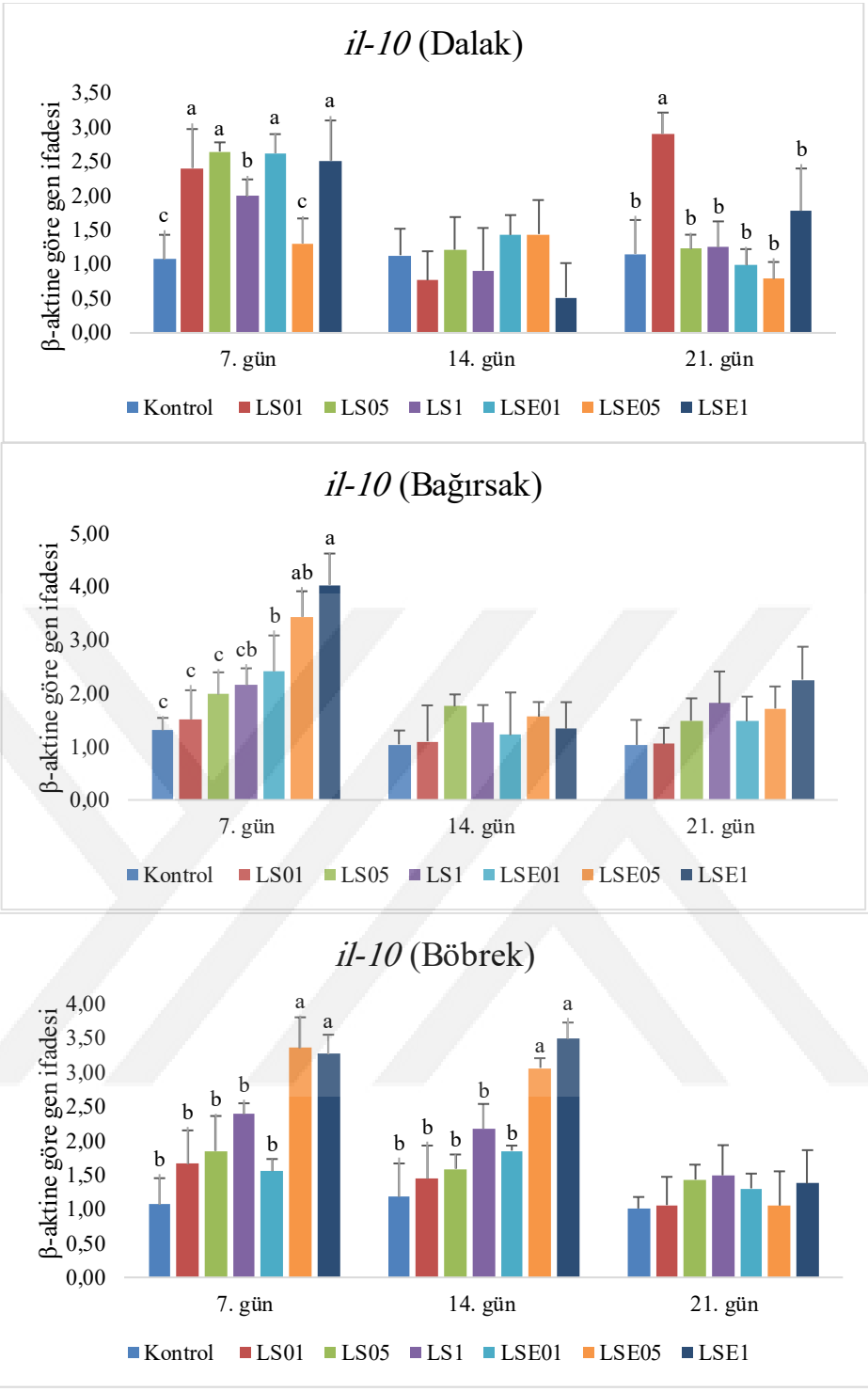


Şekil 4.9 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *tgf-β*'nın göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

il-10 ekspresyonu, proinflamatuvar genlerden farklı olarak daha çok erken dönem yanıtı şeklinde ortaya çıkmıştır. Dalak dokusunda 7. günde LS01, LS05, LS1, LSE01 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış belirlenirken ($p < 0,05$),

LSE05 grubu kontrolle benzer düzeyde kalmıştır (Şekil 4.10). Aynı dokuda 14. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiş, 21. günde ise yalnızca LS01 grubunda belirgin bir artış kaydedilmiştir ($p < 0,05$). Bağırsakta *il-10* yanıtı daha net biçimde LSE gruplarında ortaya çıkmış; 7. günde LSE01, LSE05 ve LSE1 gruplarında ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre yükselmiş, en yüksek değer LSE1 grubunda belirlenmiştir ($p < 0,05$). Buna karşın 14. ve 21. günlerde bağırsak dokusunda gruplar arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Baş böbrekte ise erken ve orta dönemde özellikle LSE05 ve LSE1 grupları öne çıkmış; 7. ve 14. günlerde bu gruplarda *il-10* ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Deneme sonunda baş böbrekte sayısal artışlar devam etse de gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Bu bulgular, *il-10* yanıtının özellikle LSE uygulamalarında erken dönemde aktive olduğunu, ancak bu etkinin *ıl-1β, tnf-α* veya *cox-2* gibi proinflamatuvar genlerde görülen kadar sürekli bir artış göstermediğini ortaya koymaktadır. Tere tohumu posası etanolik özütünün, özellikle LSE05 ve LSE1 düzeylerinde, erken dönemde düzenleyici sitokin yanıtını desteklediği; ilerleyen dönemde ise bu yanıtın daha sınırlı seyrettiği görülmektedir.

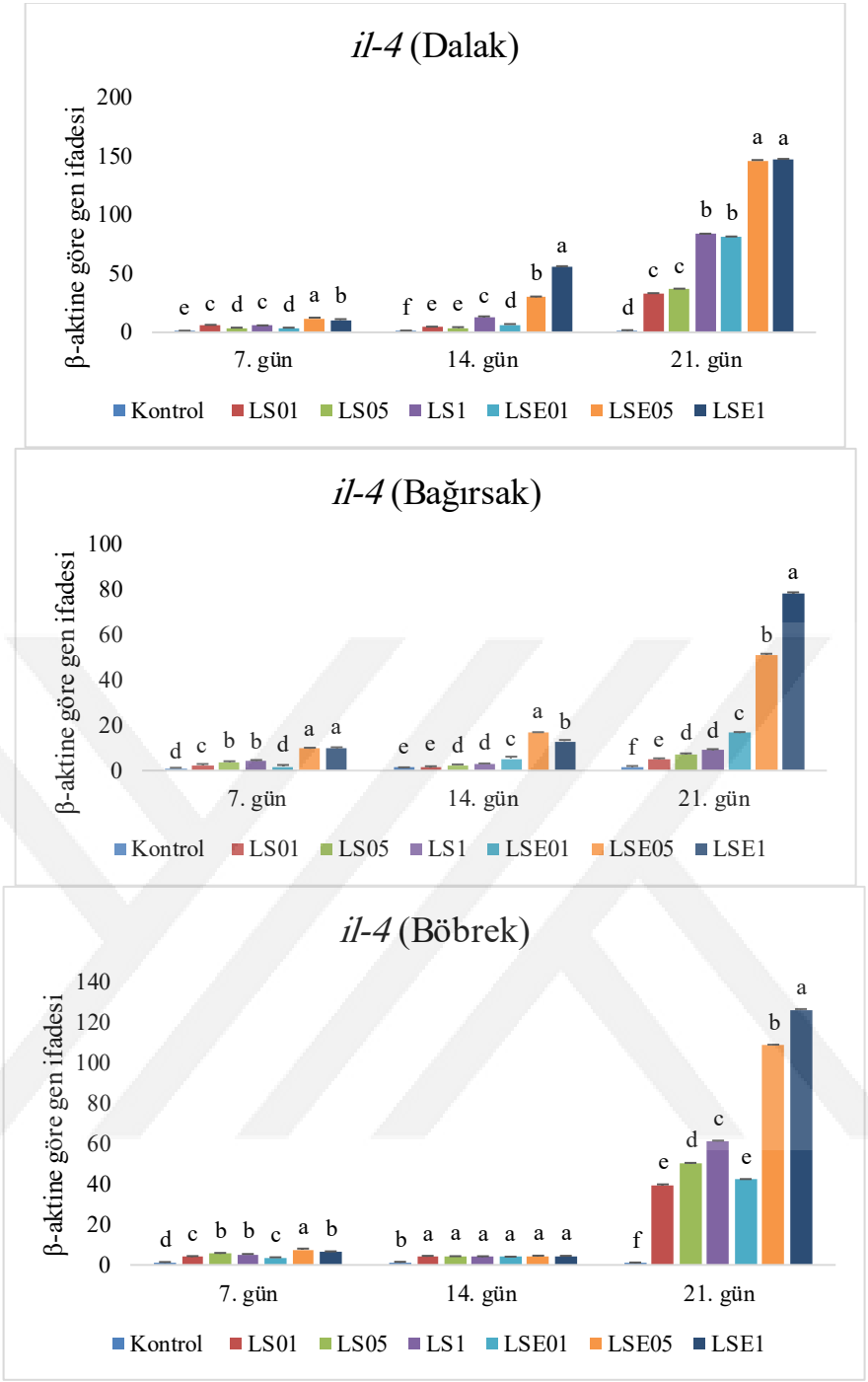


Şekil 4.10 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-10*'un göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

ıl-4 ekspresyonu, çalışmada değerlendirilen genler içinde özellikle deneme sonuna doğru en belirgin artış gösteren düzenleyici sitokinlerden biri olmuştur. Dalak dokusunda 7. günden itibaren LSE05 ve LSE1 gruplarında belirgin yükseliş

gözlenmiş, 14. günde bu artış daha da netleşmiştir ($p < 0,05$). Denemenin 21. gününde ise *ıl-4* ekspresyonu tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artmış; en yüksek değerler LSE05 ve LSE1 gruplarında kaydedilmiştir ($p < 0,05$). Bağırsak dokusunda da benzer şekilde LSE grupları öne çıkmış, özellikle 14. ve 21. günlerde LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna kıyasla oldukça yüksek ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Baş böbrekte ise yanıt 21. günde daha çarpıcı hâle gelmiş; tüm uygulama gruplarında artış görülmekle birlikte, en yüksek *ıl-4* ekspresyonu LSE1 grubunda, bunu takiben LSE05 grubunda saptanmıştır ($p < 0,05$).

Bu bulgular, tere tohumu posası etanolik özütünün *ıl-4* ekspresyonu üzerindeki etkisinin hem doku hem de zaman açısından oldukça belirgin olduğunu göstermektedir. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında dalak, bağırsak ve baş böbrekte tekrarlayan yüksek ekspresyon düzeyleri, posa özütünün yalnızca proinflamatuvar yanıtları değil, aynı zamanda bağışıklık yanıtının düzenlenmesiyle ilişkili sitokinleri de güçlü biçimde etkilediğini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.11 21 gün boyunca 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya etanol ekstresi (LSE) ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının dalak, bağırsak ve baş böbrek dokularındaki *il-4*'ün göreceli ekspresyonu. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Gen ekspresyon bulguları birlikte değerlendirildiğinde, tere tohumu posası etanolik özütünün tere tohumu yağına kıyasla daha belirgin ve daha geniş kapsamlı bir immunomodülatör etki oluşturduğu görülmektedir. Bu etki özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında öne çıkmış; *il-1β, tnf-α, cox-2* ve *il-6* gibi proinflamatuvar genlerin

yanında *tgf-β, il-10* ve *il-4* gibi düzenleyici sitokinlerin ekspresyonunda da değişimler meydana gelmiştir. Bu nedenle elde edilen bulgular, posa özütünün bağışıklık yanıtını yalnızca uyarıcı yönde değil, aynı zamanda düzenleyici mekanizmalarla birlikte etkileyebildiğini göstermektedir.

Doku düzeyinde incelendiğinde, dalak ve baş böbrek dokularının bağırsak dokusuna göre daha belirgin yanıt verdiği dikkat çekmektedir. Baş böbrekte özellikle *cox-2, il-6, tgf-β* ve *il-4* ekspresyonlarında yüksek artışlar gözlenirken, dalakta da birçok proinflamatuvar ve düzenleyici sitokin bakımından anlamlı değişimler saptanmıştır. Bağırsak dokusunda ise *il-1β, cox-2* ve *il-6* gibi bazı genlerde yanıt daha sınırlı kalmış veya belirli örnekleme dönemleriyle sınırlı olmuştur. Bu durum, çalışmada kullanılan yem katkılarının gen ekspresyonu üzerindeki etkisinin dokuya bağlı olarak değiştiğini ve sistemik bağışıklıkla ilişkili dokularda daha güçlü yansıdığını göstermektedir.

Zamana bağlı değişimler de gen ekspresyon yanıtının değerlendirilmesinde önemli bir unsur olarak öne çıkmıştır. *il-10*yanıtı daha çok erken dönemle ilişkili görünürken, *tgf-β* ve *il-4* gibi düzenleyici sitokinlerde özellikle deneme sonuna doğru belirgin artışlar meydana gelmiştir. Benzer şekilde *cox-2* ve *il-6* ekspresyonlarındaki güçlü yükselişler, özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında geç dönemde daha belirgin hâle gelmiştir. Bu genel tablo, tere tohumu posası etanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarında bağışıklık yanıtını dokuya, zamana ve doza bağlı olarak şekillendirdiğini ortaya koymaktadır.

4.6 Sindirim Enzim Bulguları

Deneme sonunda belirlenen sindirim enzim aktiviteleri, tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü uygulamalarının enzim tipine bağlı farklı etkiler oluşturduğunu göstermiştir (Tablo 4.6). Lipaz aktivitesi bakımından en yüksek değer LSE1 grubunda belirlenmiş ve bu grup kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). LS05 grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptanırken, LS01, LS1, LSE01 ve LSE05 gruplarında lipaz aktivitesi kontrol grubundan istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir ($p > 0,05$).

Amilaz aktivitesi LS01, LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,05$). Buna karşılık LS05 ve LSE01 gruplarında amilaz

aktivitesi kontrol grubuyla benzer düzeyde bulunmuştur. Bu sonuç, amilaz yanıtının tüm katkı gruplarında aynı yönde gelişmediğini, ancak özellikle LS01, LS1 ve orta-yüksek doz LSE uygulamalarında daha belirgin olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.6 21 gün boyunca farklı dozlarda bahçe teresi tohumu yağı ve özütü ile takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularındaki sindirim enzim aktiviteleri.

	Lipaz	**Amilaz**	**Tripsin**	**Pepsin**
Kontrol	0,039±0,007^{c}	0,008±0,006^{b}	0,133±0,51^{a}	2,565±0,466^{b}
LS01	0,040±0,003^{c}	0,016±0,000^{a}	1,052±0,783^{a}	4,047±0,163^{b}
LS05	0,056±0,029^{b}	0,011±0,002^{b}	2,990±0,307^{a}	6,655±0,677^{b}
LS1	0,041±0,007^{c}	0,016±0,000^{a}	5,976±0,244^{a}	11,54±0,727^{a}
LSE01	0,050±0,003^{c}	0,012±0,002^{b}	0,191±0,132^{a}	5,907±0,592^{b}
LSE05	0,039±0,002^{c}	0,014±0,001^{a}	2,319±0,125^{a}	11,835±0,76^{a}
LSE1	0,083±0,003^{a}	0,019±0,000^{a}	2,579±0,269^{a}	10,494±0,14^{a}

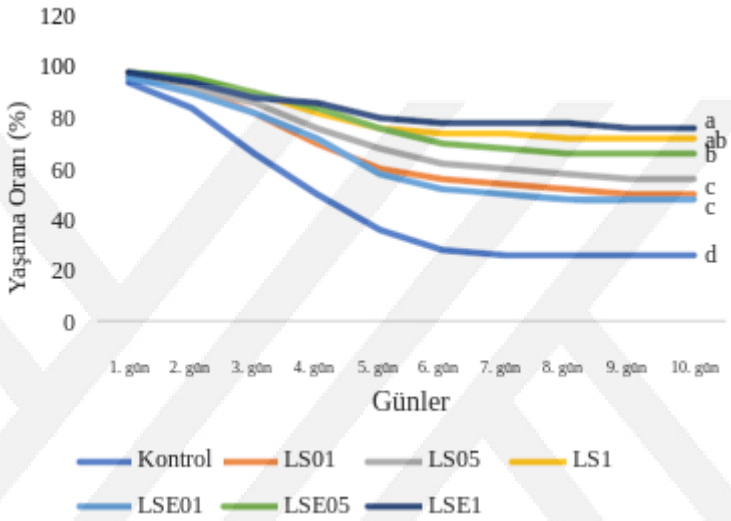
Değerler, 9 balığın ortalaması ± standart hatı (SE) olarak sunulmuştur. Aynı sütun içindeki farklı küçük harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$). Yemlere 0,1, 0,5 ve 1 g kg^{-1} oranlarında tere tohumu yağı (LS) veya bunun etanol ekstresi (LSE) ilave edilmiştir; kontrol grubu (C) ise ilave yapılmamış temel yemi almıştır.

Proteolitik enzimlerden pepsin aktivitesi LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). En yüksek pepsin aktivitesi LSE05 grubunda kaydedilmiş, bunu LS1 ve LSE1 grupları izlemiştir. LS01, LS05 ve LSE01 gruplarında ise pepsin aktivitesi kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Tripsin aktivitesinde ise özellikle LS1 grubunda sayısal bir artış eğilimi görülmesine rağmen, gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Genel olarak sindirim enzimi bulguları, tere tohumu ürünlerinin sindirim fizyolojisi üzerindeki etkisinin tüm enzimlerde eşit düzeyde gerçekleşmediğini ortaya koymaktadır. Lipazda LSE1 ve LS05, amilazda LS01, LS1, LSE05 ve LSE1, pepsinde ise LS1, LSE05 ve LSE1 grupları öne çıkmıştır. Bununla birlikte tripsin aktivitesinde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Bu nedenle elde edilen bulgular, özellikle yüksek doz tere tohumu yağı ile orta ve yüksek doz posa etanolik özütü uygulamalarının bazı sindirim enzimlerini artırabildiğini göstermekte; ancak bu enzim değişimlerinden tek başına doğrudan büyüme performansı sonucu çıkarılmaması gerekmektedir.

4.7 *Yersinia ruckeri* Kontrol Testi Bulguları

Deneysel *Y. ruckeri* enfeksiyonu sonrasında yaşama oranları gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir. On günlük enfeksiyon testi sonunda en düşük yaşama oranı kontrol grubunda kaydedilmiş, tüm katkılı yem gruplarında ise kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek yaşama oranları belirlenmiştir ($p < 0,05$). Yaşama oranındaki düşüş kontrol grubunda özellikle enfeksiyonun erken-orta döneminde daha belirgin olmuş, katkılı yemlerle beslenen gruplarda ise bu düşüş daha sınırlı seyretmiştir.



Şekil 4.12 Tere tohumu yağı (LS) veya etanol özütü (LSE) ile besin takviyesi uygulandıktan sonra *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna maruz kalan gökkuşağı alabalığının hayatta kalma oranı. Farklı harfler, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Deneme sonunda en yüksek yaşama oranı LSE1 grubunda gözlenmiştir. Bununla birlikte LSE1 ve LS1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. LSE05 grubu da kontrol grubuna göre daha yüksek yaşama oranı göstermiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, tere tohumu yağı ve özellikle tere tohumu posası etanolik özütü ilavesi, *Y. ruckeri* enfeksiyonu sonrasında yaşama oranlarını olumlu yönde etkilemiştir. Bu bulgular, özellikle LSE gruplarında daha belirgin olmak üzere, çalışmada kullanılan yem katkılarının enfeksiyon baskısı altında balıkların direnç düzeyini destekleyebildiğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında tere tohumu (*Lepidium sativum*) soğuk pres yağı ve yağ çıkarımı sonrasında elde edilen tere tohumu posası etanolik özütü, gökkuşağı alabalığında büyüme performansı, hematolojik durum, doğal bağışıklık yanıtları, sitokin gen ekspresyonu, sindirim enzim aktiviteleri ve *Y. ruckeri* enfeksiyonuna karşı yaşama oranı bakımından değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, her iki tere tohumu ürününün de balık fizyolojisi ve bağışıklık sistemi üzerinde etkiler oluşturduğunu, ancak bu etkilerin katkı formuna, doza, dokuya ve örnekleme zamanına göre değiştiğini göstermiştir. Bu durum, bitkisel kökenli yem katkılarının balıklarda tek yönlü bir "uyarıcı" olarak değil, kimyasal bileşimi ve uygulama düzeyine bağlı olarak farklı fizyolojik yanıtlar oluşturabilen fonksiyonel katkılar şeklinde ele alınması gerektiğini desteklemektedir. Nitekim bitkisel ekstraktlar ve fitogenik yem katkıları üzerine yapılan derlemelerde de bu ürünlerin etkilerinin bitki türü, ekstraksiyon yöntemi, doz, balık türü, gelişim dönemi ve uygulama süresine bağlı olarak değişebildiği vurgulanmaktadır (Awad ve Awaad, 2017; Reverter vd., 2014; Van Hai, 2015).

GC-MS sonuçları, tere tohumu yağı ve posa etanolik özütünün kimyasal profillerinin birbirinden belirgin şekilde ayrıldığını göstermiştir. Tere tohumu yağı fraksiyonunda yağ asidi ve lipofilik bileşenler öne çıkarken, posa etanolik özütünde benzyl nitrile ve izotiyosiyanat ilişkili bileşiklerin yüksek düzeyde bulunması dikkat çekmiştir. *L. sativum*, Brassicaceae familyasına ait bir bitki olup fitokimyasal bileşimi, glukozinolat türevleri ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle fonksiyonel gıda ve tıbbi bitki literatüründe önemli bir yere sahiptir (Painuli vd., 2022; Tufail vd., 2024). Ayrıca soğuk pres tere tohumu yağının biyolojik aktivite gösterebilecek çeşitli lipofilik bileşenler içerdiği bildirilmiştir (Diwakar vd., 2010; Rezig vd., 2022). Mevcut çalışmada LSE gruplarında daha belirgin immun yanıtlar gözlenmesi, posa özütünün yağ fraksiyonundan farklı biyoaktif bileşenler taşımasıyla ilişkili olabilir. Bununla birlikte, GC-MS verileri göreli pik alanı yüzdelerine dayandığından, tek tek bileşiklerin doğrudan biyolojik etkiyle ilişkilendirilmesi için saf bileşik çalışmaları ve doz-yanıt analizlerine ihtiyaç vardır.

Büyüme performansı bakımından en dikkat çekici sonuç, LS1 grubunda final ağırlık, ağırlık kazanımı ve spesifik büyüme oranının diğer gruplara göre daha yüksek bulunmasıdır. Bu sonuç, tere tohumu yağının 1 g kg^{-1} düzeyinde kısa süreli kullanımda büyüme performansını destekleyebileceğini göstermektedir. Tere tohumu yağı lipofilik bileşenler ve yağ asitleri bakımından dikkat çekici bir fraksiyondur; önceki çalışmalarda *L. sativum* tohum yağının yağ asidi profili, tokoferoller ve diğer biyoaktif bileşenler açısından önemli bir bitkisel kaynak olduğu bildirilmiştir (Diwakar vd., 2010; Rezig vd., 2022). Bununla birlikte LS05 grubunda büyüme performansının düşük seyretmesi, tere tohumu yağının etkisinin doğrusal bir doz-cevap ilişkisi göstermediğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, bitkisel yem katkılarında en yüksek veya ara dozun her zaman en olumlu sonucu vermeyebileceğini, optimum etkinin katkı formu ve dozuna bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, farklı bitkisel ürünlerle yapılan çalışmalarda da büyüme yanıtının doza bağlı olarak değiştiği ve bazı dozlarda olumlu etki görülürken bazı dozlarda etkinin sınırlı kalabildiği bildirilmiştir (Altunoğlu vd., 2017; Bilen vd., 2016; Salem vd., 2021; Yılmaz vd., 2024).

Yem dönüşüm oranı bakımından LSE05 grubunun öne çıkması, posa etanolik özütünün yemden yararlanma üzerinde de etkili olabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, sindirim enzim aktiviteleriyle birlikte değerlendirildiğinde daha anlamlı hâle gelmektedir. Deneme sonunda pepsin aktivitesi LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmıştır. Pepsin, mide ortamında protein sindiriminde görev alan önemli bir proteolitik enzimdir ve özellikle karnivor/omnivor balıklarda protein kullanım kapasitesinin değerlendirilmesinde dikkate alınan temel enzimlerden biridir (Furné vd., 2005). Bu nedenle pepsin aktivitesindeki artış, özellikle LS1 ve LSE gruplarında protein sindiriminin desteklenmiş olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, enzim aktivitesindeki artışın tek başına büyüme performansını açıklamak için yeterli olmadığı da görülmektedir. Nitekim LSE05 grubunda FCR olumlu yönde etkilenmesine rağmen, büyüme performansındaki en belirgin artış LS1 grubunda ortaya çıkmıştır. Bu durum, büyüme performansının yalnızca sindirim enzimleriyle değil, yem tüketimi, besin madde değerlendirme kapasitesi, metabolik durum ve bağışıklık aktivasyonu gibi birden fazla faktörün ortak etkisiyle şekillendiğini göstermektedir.

Hematolojik bulgular, tere tohumu yağı ve posa etanolik özütünün kan parametreleri üzerinde zamana ve uygulama grubuna bağlı değişiklikler oluşturduğunu göstermiştir. RBC, Hb, Hct ve eritrosit indekslerinde bazı gruplarda anlamlı farklılıklar gözlenmiş; ancak bu değişimler sürekli ve tek yönlü olumsuz bir fizyolojik tablo oluşturmamıştır. Balıklarda hematolojik parametreler beslenme, stres, su kalitesi, sıcaklık, hastalık durumu ve örnekleme zamanı gibi birçok faktörden etkilenebilmektedir (Fazio, 2019). Bu nedenle hematolojik verilerin tek başına toksisite veya fizyolojik bozulma göstergesi olarak değerlendirilmesi doğru değildir. Bu çalışmada hematolojik değişimlerin büyüme, bağışıklık ve enfeksiyon sonrası yaşama oranı bulgularıyla birlikte ele alınması daha uygun görünmektedir. Özellikle katkılı gruplarda yaşama oranlarının kontrol grubundan yüksek olması ve belirgin bir klinik hastalık tablosu bildirilmemesi, hematolojik dalgalanmaların daha çok yem katkılarına verilen fizyolojik uyum yanıtları kapsamında değerlendirilmesini desteklemektedir.

Doğal bağışıklık parametreleri bakımından respiratuvar patlama aktivitesi, lizozim aktivitesi ve MPO aktivitesi birlikte değerlendirildiğinde, tere tohumu ürünlerinin bağışıklık sistemi üzerinde seçici bir modülasyon oluşturduğu görülmektedir. Respiratuvar patlama aktivitesi denemenin sonunda özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Respiratuvar patlama aktivitesi, fagositik hücrelerin patojenlere karşı oksidatif yanıt kapasitesini yansıtan önemli bir göstergedir ve balıkların doğal bağışıklık değerlendirmelerinde sık kullanılan parametrelerden biridir (Magnadóttir, 2006; Siwicki vd., 1994). Bu artış, posa etanolik özütünün özellikle orta ve yüksek dozlarda fagositik hücre yanıtını destekleyebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde farklı bitkisel ekstraktlarla yapılan çalışmalarda da respiratuvar patlama aktivitesinde artışlar bildirilmiştir. Örneğin (Altunoğlu vd., 2017), çörek otu (*Nigella sativa*) ekstraktının gökkuşağı alabalığında respiratuvar patlama ve lizozim aktivitesi üzerinde uyarıcı etkiler oluşturduğunu; (Bilen vd., 2016) ise kapari (*Capparis spinosa*) ekstraktının büyüme ve doğal bağışıklık parametrelerini olumlu etkilediğini bildirmiştir.

Lizozim aktivitesindeki artışlar, bu çalışmanın bağışıklıkla ilgili en güçlü destekleyici bulgularından biridir. Deneme sonunda tüm katkılı gruplarda lizozim aktivitesinin kontrol grubundan yüksek olması, tere tohumu yağı ve posa özütünün humoral doğal

savunmayı destekleyebildiğini göstermektedir. Lizozim, balıklarda doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni olup bakteriyel hücre duvarı üzerine etkisi, opsonik özellikleri ve fagositik yanıtlarla ilişkisi nedeniyle hastalık direnci çalışmalarında önemli bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Saurabh ve Sahoo, 2008). Bu çalışmada lizozim aktivitesindeki artışın, *Y. ruckeri* enfeksiyonu sonrasında katkılı gruplarda gözlenen daha yüksek yaşama oranlarıyla uyumlu olduğu söylenebilir. Bununla birlikte MPO aktivitesinin özellikle LSE gruplarında düşmesi, bağışıklık yanıtının bütün parametrelerde aynı yönde artmadığını göstermektedir. MPO fagositik hücrelerin oksidatif öldürme mekanizmalarıyla ilişkili olmakla birlikte, aşırı veya kontrolsüz aktivasyonu doku düzeyinde istenmeyen inflamatuvar sonuçlara da katkı sağlayabilir. Bu nedenle mevcut çalışmada RBA ve lizozim artışına karşılık MPO aktivitesinin azalması, genel bir bağışıklık artışından ziyade parametreye özgü ve dengelenmiş bir bağışıklık düzenlenmesine işaret etmektedir.

Gen ekspresyonu bulguları, tere tohumu ürünlerinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini daha ayrıntılı biçimde ortaya koymuştur. Genel olarak LSE gruplarında, özellikle LSE05 ve LSE1 düzeylerinde, proinflamatuvar ve düzenleyici sitokinlerde belirgin değişimler görülmüştür. *il-1β* ve *tnf-α* gibi proinflamatuvar sitokinler, teleost balıklarda patojen tanıma, lökosit aktivasyonu, fagositik yanıt ve inflamatuvar sinyal yollarının başlatılmasında önemli görevler üstlenmektedir (Kono vd., 2002; Secombes vd., 2001; Zou ve Secombes, 2016). Bu çalışmada *il-1β* ekspresyonu özellikle dalak ve baş böbrek dokularında belirginleşmiş, bağırsakta ise daha sınırlı ve erken dönemle ilişkili bir yanıt göstermiştir. *tnf-α* ekspresyonu ise tüm dokularda daha yaygın bir artış profili sergilemiş, özellikle LSE gruplarında daha yüksek düzeylere ulaşmıştır. Bu durum, posa etanolik özütünün erken inflamatuvar sinyal yollarını tere tohumu yağına göre daha güçlü etkilediğini göstermektedir.

Bununla birlikte *il-1β, tnf-α, il-6* ve *cox-2* ekspresyonlarındaki artışların doğrudan patolojik inflamasyon olarak yorumlanmaması gerekir. Çünkü bu ölçümler enfeksiyon öncesi dönemde yapılmış, besleme süresince balıklarda belirgin klinik hastalık bulgusu bildirilmemiş ve aynı zamanda düzenleyici sitokinlerde de artış gözlenmiştir. Benzer şekilde (Yılmaz vd., 2024), *Capsicum annuum* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında immun ilişkili gen ekspresyonlarının değişebildiğini;(Güroy vd., 2022)

ise deniz kaynaklı sülfatlı polisakkaritlerin bağışıklık yanıtı ve hastalık direnci üzerinde etkiler oluşturabildiğini bildirmiştir. Bu nedenle mevcut çalışmadaki proinflamatuvar gen artışları, daha çok besinsel immun uyarım veya immun hazırlık yanıtı kapsamında değerlendirilmelidir. *cox-2* ekspresyonunun özellikle baş böbrekte LSE05 ve LSE1 gruplarında belirgin şekilde yükselmesi de inflamatuvar sinyal kaskatlarının aktive olduğunu göstermektedir. *cox-2*, prostaglandin sentezi ve inflamasyonla ilişkili bir enzim olup balık makrofajlarında aktivasyon sonrası ekspresyonu artabilen önemli bir moleküldür (Zou vd., 1999). Ancak bu aktivasyonun düzenleyici sitokinlerle birlikte seyretmesi, yanıtın kontrolsüz bir inflamasyon şeklinde gelişmediğini düşündürmektedir.

ifn-1 ekspresyonu da bu çalışmada dikkat çeken genlerden biridir. LSE gruplarında birçok doku ve örnekleme zamanında *ifn-1* ekspresyonunun kontrol grubuna göre yüksek bulunması, posa etanolik özütünün yalnızca klasik proinflamatuvar yolları değil, interferon ilişkili doğal bağışıklık yanıtlarını da etkileyebildiğini göstermektedir. İnterferonlar balıklarda antiviral savunma, immun gözetim ve erken doğal bağışıklık yanıtlarında önemli rol oynayan moleküllerdir (Zou ve Secombes, 2011). Bu çalışmada viral bir enfeksiyon modeli kullanılmamış olsa da *ifn-1* ekspresyonundaki artış, LSE uygulamasının daha geniş kapsamlı bir bağışıklık hazırlığı oluşturabileceğini düşündürmektedir. (Sönmez vd., 2022), geven otu *Astragalus caudiculosus* ilavesinin gökkuşağı alabalığında bağışıklık yanıtlarını etkileyebildiğini bildirmiştir. Bu yönüyle mevcut çalışmadaki *ıfn-1* yanıtı, bitkisel kökenli katkıların farklı immun yolakları aynı anda etkileyebileceği görüşünü desteklemektedir.

Düzenleyici sitokinler açısından *tgf-β, il-10*ve *il-4* ekspresyonlarında görülen değişimler, proinflamatuvar yanıtların tek başına değerlendirilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır. *tgf-β*, bağışıklık yanıtının dengelenmesinde, inflamatuvar süreçlerin kontrolünde ve doku düzeyinde homeostazın korunmasında rol oynayan çok yönlü bir sitokindir (Secombes, 2022; Zou ve Secombes, 2016). Bu çalışmada *tgf-β* ekspresyonunun özellikle baş böbrekte ve LSE05/LSE1 gruplarında belirgin artış göstermesi, posa özütünün yalnızca uyarıcı değil, aynı zamanda düzenleyici bağışıklık mekanizmalarını da etkileyebildiğini göstermektedir. *il-10* ise balıklarda

proinflamatuvar yanıtların baskılanması, fagositik hücre aktivitesinin düzenlenmesi ve bağışıklık homeostazının korunmasıyla ilişkili önemli bir anti-inflamatuvar sitokindir (Grayfer vd., 2012; Piazzon vd., 2016). Mevcut çalışmada *il-10* ekspresyonunun özellikle erken dönemde LSE gruplarında artması, yem katkısına verilen ilk immun yanıtın düzenleyici mekanizmalarla birlikte geliştiğini göstermektedir.

il-4 ekspresyonu ise özellikle deneme sonuna doğru LSE05 ve LSE1 gruplarında oldukça güçlü artışlar göstermiştir. *il-4*, balıklarda makrofaj aktivasyonu ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesiyle ilişkilendirilen sitokinlerden biridir (Forlenza vd., 2011). Bu çalışmada *il-4* ekspresyonunun dalak, bağırsak ve baş böbrekte özellikle LSE gruplarında yüksek seyretmesi, posa etanolik özütünün bağışıklık yanıtının yalnızca erken proinflamatuvar basamaklarını değil, daha geç dönemde düzenleyici ve hücresel yanıtlarla ilişkili mekanizmaları da etkilediğini göstermektedir. Nitekim, çörek otu, geven otu, siyah hardal yağı ve Astragalus gibi farklı bitkisel katkılarla yapılan çalışmalarda da proinflamatuvar ve düzenleyici sitokinlerin birlikte değişebildiği bildirilmiştir (Altunoğlu vd., 2017; Lakwani vd., 2022; Sönmez vd., 2022; Yılmaz vd., 2024). Bu nedenle mevcut tez bulguları, LSE uygulamasının bağışıklık sisteminde tek yönlü inflamatuvar aktivasyon yerine daha kapsamlı bir immunomodülasyon oluşturduğunu desteklemektedir.

Doku düzeyinde değerlendirildiğinde dalak ve baş böbrek dokularının bağırsak dokusuna göre daha belirgin yanıt verdiği görülmektedir. Baş böbrek, teleost balıklarda hematopoietik ve immunolojik işlevleri nedeniyle doğal bağışıklık yanıtlarının şekillenmesinde merkezi öneme sahiptir. Dalak ise dolaşımdaki antijenlere ve sistemik immun yanıtlara duyarlı önemli bir lenfoid organdır. Bu çalışmada *ıl-1β, tnf-α, cox-2, ıl-6, tgf-β* ve *ıl-4* gibi birçok genin özellikle dalak ve baş böbrekte daha güçlü yanıt vermesi, tere tohumu ürünlerinin sistemik bağışıklıkla ilişkili dokularda daha belirgin etki oluşturduğunu göstermektedir. Bağırsak dokusunda bazı genlerde erken veya sınırlı yanıtlar gözlenmiş, *cox-2* ve *ıl-6* gibi genlerde ise anlamlı değişim saptanmamıştır. Bu bulgu, bağırsak mukozasının yem katkılarına duyarsız olduğu anlamına gelmemekle birlikte, mevcut deneysel koşullarda gen ekspresyon yanıtının sistemik immun dokulara göre daha sınırlı kaldığını göstermektedir.

Sindirim enzimleri açısından sonuçlar enzim tipine özgü bir yanıt ortaya koymuştur. Lipaz aktivitesi LSE1 ve LS05 gruplarında artarken, amilaz aktivitesi LS01, LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Buna karşılık tripsin aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Bu tablo, tere tohumu ürünlerinin sindirim sistemi üzerindeki etkisinin tüm enzimlerde aynı yönde ve aynı düzeyde gerçekleşmediğini göstermektedir. Benzer şekilde *L. sativum* ve diğer tıbbi bitki katkılarının sindirim enzimleri üzerindeki etkilerinin enzim tipine ve katkı dozuna göre değişebildiği daha önce de bildirilmiştir (Bilen vd., 2018; Lakwani vd., 2022). Özellikle Bilen vd. (2018), dereotu ve tere tohumu ilavesinin sazan yavrularında büyüme performansı, sindirim enzimleri ve bağışıklık yanıtlarını etkileyebildiğini göstermiştir. Bu yönüyle mevcut tez çalışması, tere tohumu ürünlerinin yalnızca tohum formunda değil, yağ ve posa özütü gibi farklı fraksiyonlar hâlinde de sindirim fizyolojisi üzerinde farklı yanıtlar oluşturabileceğini ortaya koymaktadır.

Deneysel *Y. ruckeri* enfeksiyonu sonrasında tüm katkılı gruplarda yaşama oranının kontrol grubundan yüksek bulunması, laboratuvar parametrelerinde gözlenen değişimlerin pratik hastalık direnci bakımından da karşılık bulduğunu göstermektedir. *Y. ruckeri*, özellikle salmonidlerde enterik redmouth hastalığına neden olan önemli bir bakteriyel patojendir ve gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Kumar vd., 2015). Bu çalışmada en yüksek yaşama oranı LSE1 grubunda gözlenmiş, ancak LSE1 ve LS1 grupları arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Bu bulgu, hem tere tohumu yağının yüksek dozunun hem de posa etanolik özütünün enfeksiyon baskısı altında direnç düzeyini destekleyebildiğini göstermektedir. Ancak LSE gruplarında gen ekspresyonu ve bazı doğal bağışıklık parametrelerinin daha belirgin şekilde etkilenmesi, posa özütünün bağışıklık modülasyonu açısından daha güçlü bir profil oluşturduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde, gökkuşağı alabalığında *Y. ruckeri*'ye karşı bitkisel katkıların koruyucu etkileri farklı çalışmalarda da bildirilmiştir (Bilen vd., 2021; Terzi vd., 2021). Ayrıca Avrupa levreğinde kereviz ekstraktının *Vibrio anguillarum* enfeksiyonuna karşı yaşama oranını artırması, bitkisel katkıların farklı balık türlerinde bakteriyel enfeksiyonlara karşı direnç üzerinde destekleyici rol oynayabileceğini göstermektedir (Güroy vd., 2023).

Bu çalışmanın önemli yönlerinden biri, tere tohumu yağının yanı sıra yağ üretimi sonrasında ortaya çıkan posa materyalinin de fonksiyonel yem katkısı olarak değerlendirilmesidir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilir yem katkıları geliştirilirken yalnızca ana ürünlerin değil, bitkisel üretim yan ürünlerinin de değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Bu tezde posa etanolik özütünün özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında bağışıklıkla ilişkili birçok parametreyi etkilemesi, bu materyalin atık veya düşük değerli yan ürün olarak değil, biyolojik potansiyeli olan bir kaynak olarak ele alınabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, posa özütünün farklı çözücülerle hazırlanması, biyoaktif bileşenlerinin kantitatif olarak belirlenmesi ve saflaştırılmış bileşenlerle doğrulama çalışmaları yapılması gerekmektedir.

Çalışmanın bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Öncelikle besleme süresi 21 günle sınırlıdır. Bu süre erken fizyolojik ve bağışıklık yanıtlarını görmek açısından yararlı olmakla birlikte, uzun dönem büyüme performansı, yem tüketimi, karaciğer ve bağırsak sağlığı, üretim koşullarındaki uygulanabilirlik ve olası adaptasyon yanıtlarını değerlendirmek için yeterli değildir. İkinci olarak, sindirim enzimleri ve gen ekspresyonu bulguları önemli bilgiler sağlasa da bağırsak mikrobiyotası, histopatoloji, mukozal bağışıklık belirteçleri ve metabolomik/lipidomik analizler yapılmadığı için mekanizmanın tüm yönleri açıklanamamaktadır. Üçüncü olarak, GC-MS sonuçları bileşiklerin göreli bolluklarını ortaya koymuş olsa da, bu bileşiklerin her birinin balık bağışıklığı üzerindeki doğrudan etkisi ayrı deneylerle doğrulanmalıdır. Bu nedenle ilerleyen çalışmalarda daha uzun süreli besleme denemeleri, ara dozlar, farklı ekstraksiyon yöntemleri, saf bileşik uygulamaları ve saha koşullarına yakın enfeksiyon modelleri kullanılmalıdır.

Genel olarak bu tez çalışması, tere tohumu ürünlerinin gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde fonksiyonel yem katkısı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Tere tohumu yağı özellikle yüksek dozda büyüme performansı bakımından daha belirgin bir etki oluştururken, tere tohumu posası etanolik özütü bağışıklık gen ekspresyonu, doğal bağışıklık yanıtları ve enfeksiyon sonrası yaşama oranı bakımından daha güçlü bir profil sergilemiştir. Bu ayrım, aynı bitkiden elde edilen farklı fraksiyonların aynı biyolojik etkiye sahip olmayabileceğini ve her fraksiyonun kendi kimyasal bileşimi, dozu ve hedef fizyolojik yanıtı içinde

değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında gözlenen bulgular, tere tohumu posası etanolik özütünün gökkuşağı alabalığında bağışıklık yanıtını dokuya, zamana ve doza bağlı olarak modüle edebilen umut verici bir bitkisel yem katkısı olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında tere tohumu soğuk pres yağı ve tere tohumu posası etanolik özütü, gökkuşağı alabalıklarında büyüme performansı, hematolojik durum, doğal bağışıklık yanıtları, sitokin gen ekspresyonu, sindirim enzim aktiviteleri ve *Yersinia ruckeri* enfeksiyonuna karşı yaşama oranı bakımından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, her iki katkının da balık fizyolojisi ve bağışıklık sistemi üzerinde ölçülebilir etkiler oluşturduğunu göstermiştir. Büyüme performansı bakımından en belirgin olumlu sonuçlar LS1 grubunda elde edilmiştir. Bu grupta final ağırlık, ağırlık kazanımı ve spesifik büyüme oranının yüksek bulunması, tere tohumu soğuk pres yağının 1 g kg^{-1} düzeyinde kısa süreli uygulamada büyüme performansını destekleyebileceğini göstermektedir. Yem dönüşüm oranı bakımından ise LSE05 grubunun öne çıkması, tere tohumu posası etanolik özütünün özellikle 0,5 g kg^{-1} düzeyinde yemden yararlanma üzerinde olumlu etki oluşturabileceğini ortaya koymuştur. Sindirim enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde, katkıların etkisinin enzim tipine göre değiştiği belirlenmiştir. Lipaz aktivitesi LSE1 ve LS05 gruplarında, amilaz aktivitesi LS01, LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında, pepsin aktivitesi ise LS1, LSE05 ve LSE1 gruplarında artış göstermiştir. Tripsin aktivitesinde ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Bu bulgular, tere tohumu ürünlerinin sindirim fizyolojisi üzerindeki etkisinin tüm enzimlerde aynı düzeyde gerçekleşmediğini, özellikle yüksek doz tere tohumu yağı ile orta-yüksek doz posa özütünün bazı sindirim enzimleri üzerinde daha belirgin etki oluşturduğunu göstermektedir. Doğal bağışıklık parametreleri bakımından respiratuvar patlama aktivitesi ve lizozim aktivitesinde katkılı gruplarda artışlar gözlenmiştir. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında respiratuvar patlama aktivitesinin yükselmesi, posa etanolik özütünün fagositik hücre yanıtını destekleyebileceğini göstermiştir. Deneme sonunda tüm katkılı gruplarda lizozim aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek bulunması, tere tohumu yağı ve posa özütünün humoral doğal bağışıklık yanıtı üzerinde olumlu etki oluşturduğunu ortaya koymuştur. MPO aktivitesinde görülen düşüş ise bağışıklık yanıtının tüm parametrelerde aynı yönde artmadığını, katkıların daha seçici ve dengeli bir immunomodülasyon oluşturduğunu düşündürmektedir. Sitokin gen ekspresyonu sonuçları, tere tohumu posası etanolik özütünün tere tohumu yağına göre daha belirgin

ve daha geniş kapsamlı bir immunomodülatör etki oluşturduğunu göstermiştir. Özellikle LSE05 ve LSE1 gruplarında *ıl-1β, tnf-α, cox-2* ve *ıl-6* gibi proinflamatuvar genlerin yanında *tgf-β, il-10*ve *ıl-4* gibi düzenleyici sitokinlerde de değişimler meydana gelmiştir. Bu durum, posa özütünün bağışıklık yanıtını yalnızca uyarıcı yönde değil, aynı zamanda düzenleyici mekanizmalarla birlikte etkilediğini göstermektedir. Doku düzeyinde ise dalak ve baş böbrek dokularının bağırsak dokusuna göre daha belirgin yanıt verdiği belirlenmiştir. Deneysel *Yersinia ruckeri* enfeksiyonu sonrasında tüm katkılı gruplarda yaşama oranları kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. En yüksek yaşama oranı LSE1 grubunda gözlenmiş, bununla birlikte LSE1 ve LS1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç, tere tohumu yağı ve özellikle tere tohumu posası etanolik özütünün enfeksiyon baskısı altında balıkların direnç düzeyini destekleyebileceğini göstermektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, tere tohumu soğuk pres yağı büyüme performansı bakımından, tere tohumu posası etanolik özütü ise bağışıklık modülasyonu ve hastalık direnci bakımından daha belirgin sonuçlar vermiştir. Özellikle LSE05 grubunun immunolojik yanıtlar ve yemden yararlanma açısından daha dengeli bir profil sunması, LSE1 grubunun ise enfeksiyon sonrası yaşama oranında öne çıkması dikkat çekicidir. Bu bulgular, yağ üretiminden arta kalan tere tohumu posasının fonksiyonel yem katkısı olarak değerlendirilebileceğini ve sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği açısından katma değerli bir yan ürün niteliği taşıyabileceğini göstermektedir.

Tere tohumu yağı ve tere tohumu posası etanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarında daha uzun süreli besleme denemelerinde değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu kapsamda büyüme performansı, yem tüketimi, doku sağlığı, karaciğer fonksiyonları ve üretim performansı gibi parametrelerin uzun dönemli olarak izlenmesi yararlı olacaktır. LSE05 ve LSE1 gruplarında elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, tere tohumu posası etanolik özütü için özellikle 0,5–1 g kg^{-1} aralığında daha ayrıntılı doz-cevap çalışmaları yapılmalıdır. Bu aralıkta daha düşük ara dozların denenmesi, optimum katkı düzeyinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Tere tohumu posası etanolik özütünün sindirim sistemi üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı anlaşılabilmesi için bağırsak histolojisi, mukozal bağışıklık belirteçleri ve bağırsak mikrobiyotası gibi parametreler ilerleyen çalışmalara dahil edilmelidir. Böylece posa özütünün yalnızca

sistemik bağışıklık değil, bağırsak sağlığı üzerindeki etkileri de daha net ortaya konulabilir. Posa özütünün farklı ekstraksiyon çözücüleri ve yöntemleri kullanılarak hazırlanması ve elde edilen ekstraktların kimyasal kompozisyonlarının karşılaştırılması önerilmektedir. Ayrıca GC-MS analizlerinde öne çıkan bileşenlerin kantitatif olarak belirlenmesi ve saf bileşik düzeyinde biyolojik etkilerinin test edilmesi, etki mekanizmasının daha iyi açıklanmasına yardımcı olacaktır. Deneysel enfeksiyon çalışmalarının yalnızca *Yersinia ruckeri* ile sınırlı kalmaması, farklı bakteriyel patojenlerle de doğrulama çalışmalarının yapılması önerilmektedir. Bu sayede tere tohumu ürünlerinin hastalık direnci üzerindeki etkilerinin patojene özgü mü yoksa daha genel bir bağışıklık desteği mi sağladığı daha net değerlendirilebilir. Son olarak, kontrollü laboratuvar koşullarında elde edilen bu bulguların ticari üretim koşullarında test edilmesi önemlidir. Farklı büyüklükteki balıklar, farklı yem formülasyonları ve saha koşulları dikkate alınarak yapılacak uygulamalı çalışmalar, tere tohumu yağı ve özellikle tere tohumu posası etanolik özütünün alabalık yetiştiriciliğinde pratik kullanım potansiyelini ortaya koyacaktır.

KAYNAKLAR

Abdel-Latif, H. M. R., Citarasu, T., Turgay, E., Yilmaz, E., Yousefi, M., Hosseini Shekarabi, P., Ahmadifar, E., Nowosad, J., Kucharczyk, D., & Yilmaz, S. (2025). Control of yersiniosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: Innovative non-antibiotic feed-based strategies – A review. *Annals of Animal Science*, 25(3), 793–814.

Alagöz, K., Paruğ, Ş., Taştan, Y., Bilen, S., & Sönmez, A. Y. (2021). Spurge (*Euphorbia rigida*) exhibits anaesthetic effect in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) without altering plasma cortisol levels. *Aquaculture Research*, 52(11), 5441-5451.

Alpbaz, A., & Hoşsucu, H. (2002). İç su balıkları yetiştiriciliği. Ege Üniversitesi.

Altunoğlu, Y. Ç., Bilen, S., Ulu, F., & Biswas, G. (2017). Immune responses to methanolic extract of black cumin (*Nigella sativa*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 103–109.

Awad, E., & Awaad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 40–54.

Banu, M. S., Yadav, N. K., Saha, H., & Patel, A. B. (2025). Culinary spices as functional feed additives in aquaculture: Growth, immunity, and health perspectives. *Comparative Immunology Reports*, 9, 200256.

Berehe, S. G., & Boru, A. D. (2014). Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativium* seeds grown in Ethiopia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 4182–4187.

Bernfeld, P. (1955). Amylases, α and β. *Methods Enzym*. 1 (1955) 149–158.

Bilen, S., Altunoğlu, Y. C., Ulu, F. ve Biswas, G. (2016). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 57, 206-212.

Bilen, S., Ispir, S., Kenanoğlu, O. N., Taştan, Y., Güney, K. ve Terzi, E. (2021). Effects of Greek juniper (*Juniperus excelsa*) extract on immune responses and disease resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Diseases*, 44(6), 729-738.

Bilen, S., Özkan, O., Alagöz, K. ve Özdemir, K. Y. (2018). Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 495, 611-616.

Bjørgen, H., & Koppang, E. O. (2021). Anatomy of teleost fish immune structures and organs. *Immunogenetics*, 73, 53–63.

Bottiglione, F., Dee, C. T., Lea, R., Zeef, L. A. H., Badrock, A. P., Wane, M., Bugeon, L., Dallman, M. J., Allen, J. E., & Hurlstone, A. F. L. (2020). Zebrafish il-4-like cytokines and il-10 suppress inflammation but only il-10 is essential for gill homeostasis. *The Journal of Immunology*, 205(4), 994–1008.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Bricknell, I. ve Dalmo, R. A. (2005). The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 19, 457-472.

Castro, R., Piazzon, M. C., Noya, M., Leiro, J. M., & Lamas, J. (2008). Isolation and molecular cloning of a fish myeloperoxidase. *Molecular Immunology*, 45(2), 428–437.

Chen, Y.-F., Cao, K.-L., Huang, H.-F., Li, X.-Q., & Leng, X.-J. (2023). Dietary effects of lipid and protein levels on growth, feed utilization, lipid metabolism, and antioxidant capacity of triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 2023, Article 8325440.

Chettri, J. K., Holten-Andersen, L., & Buchmann, K. (2010). Factors influencing in vitro respiratory burst assays with head kidney leucocytes from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 33(7), 593–602.

Clauss, T. M., Dove, A. D. M., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 11(3), 445–462.

D'Agaro, E., Gibertoni, P. P., & Esposito, S. (2022). Recent trends and economic aspects in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sector. *Applied Sciences*, 12(17), 8773.

Dadras, F., Mohammadi, G., Soltani, M., & Hoseinifar, S. H. (2023). An update about beneficial effects of medicinal plants in aquaculture: A review. *Veterinarni Medicina*, 68(12), 449–463.

del Cerro, A., Márquez, I., & Guijarro, J. A. (2002). Simultaneous detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, three major fish pathogens, by multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 5177–5180.

Diwakar, B. T., Dutta, P. K., Lokesh, B. R., & Naidu, K. A. (2010). Physicochemical properties of garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 87, 539–548.

Duman, M., Altun, S., Saticioglu, I. B., & Romalde, J. L. (2025). A review of bacterial disease outbreaks in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reported from 2010 to 2022. *Journal of Fish Diseases*, 48(9), e13886.

Ellis, A. E. (1990). Lysozyme assays. Techniques in fish immunology, 1, 101-103.

Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 95(2), 271-278.

Fajardo, C., Santos, P., Passos, R., Vaz, M., Azeredo, R., Machado, M., Fernández-Boo, S., Baptista, T., & Costas, B. (2022). Functional and molecular immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following challenge with *Yersinia ruckeri*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3096.

Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture,* 500, 237–242.

Forlenza, M., Fink, I. R., Raes, G., & Wiegertjes, G. F. (2011). Heterogeneity of macrophage activation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1246–1255.

Furné, M., Hidalgo, M. C., López, A., García-Gallego, M., Morales, A. E., Domezain, A., Domezain, J., & Sanz, A. (2005). Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: A comparative study. *Aquaculture,* 250(1–2), 391–398.

Gan, Q., Chi, H., Dalmo, R. A., Meng, X., Tang, X., Xing, J., Sheng, X., & Zhan, W. (2023). Characterization of myeloperoxidase and its contribution to antimicrobial effect on extracellular traps in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Frontiers in Immunology,* 14, 1124813.

Gomez, D., Sunyer, J. O., & Salinas, I. (2013). The mucosal immune system of fish: The evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish & Shellfish Immunology,* 35(6), 1729–1739.

Grayfer, L., & Belosevic, M. (2012). Cytokine regulation of teleost inflammatory responses. In H. Turker (Ed.), *New Advances and Contributions to Fish Biology*. IntechOpen.

Grayfer, L., Hodgkinson, J. W., Hitchen, S. J., & Belosevic, M. (2011). Characterization and functional analysis of goldfish (*Carassius auratus* L.) interleukin-10. *Molecular Immunology*, 48(4), 563–571.

Gruber, C., Ocelova, V., Kesselring, J. C., & Wein, S. (2025). Phytogenic feed additives as a sustainable alternative to antibiotics: Enhancing growth and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 15(3), 380.

Güroy, B., Güroy, D., Bilen, S., Kenanoğlu, O. N., Şahin, I., Terzi, E., ... & Mantoğlu, S. (2022). Effect of dietary spirulina (*Arthrospira platensis*) on the growth performance, immune-related gene expression and resistance to *Vibrio anguillarum* in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Research,* 53(6), 2263-2274.

Güroy, D., Güroy, B., Bilen, S., Kenanoğlu, O. N., Şahin, İ., Terzi, E., Karadal, O., & Mantoğlu, S. (2023). Effect of dietary celery (*Apium graveolens*) on the growth performance, immune responses, and bacterial resistance against *Vibrio*

anguillarum of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 49(1), 75–95.

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., & Smith, S. A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary clinical pathology*, 29(1), 7-12.

Jain, T. ve Grover, K. (2018). A comprehensive review on the nutritional and nutraceutical aspects of garden cress (*Lepidium sativum* Linn.). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 88(3), 829-836.

Jiang, X., Dong, S., Liu, R., Huang, M., Dong, K., Ge, J., Gao, Q., & Zhou, Y. (2021). Effects of temperature, dissolved oxygen, and their interaction on the growth performance and condition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Thermal Biology*, 98, 102928.

Kono, T., Fujiki, K., Nakao, M., Yano, T., Endo, M., & Sakai, M. (2002). The immune responses of common carp, *Cyprinus carpio* L., injected with carp interleukin-1 β gene. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 22(4), 413-419.

Kumar, G., Menanteau-Ledouble, S., Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2015). *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research,* 46, 103.

Lakwani, M. A. S., Kenanoğlu, O. N., Taştan, Y., & Bilen, S. (2022). Effects of black mustard (*Brassica nigra*) seed oil on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 53(1), 300–313.

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. methods, 25(4), 402-408.

Maezono, M., Nielsen, R., Buchmann, K., & Nielsen, M. (2025). The current state of knowledge of the economic impact of diseases in global aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 17(3), e70039.

Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish & shellfish immunology,* 20(2), 137-151.

Mokhtar, D. M., Fink, I. R., & Boshra, H. (2023). Main components of fish immunity: An overview of the fish immune system. *Fishes,* 8(2), 93.

Mokhtar, D. M., Zakaria, G., Abbas, A., Kamel, M., Hassanin, M. T., & Sirri, R. K. A. (2023). Main components of fish immunity: An overview of the fish immune system. *Fishes,* 8(2), 93.

Nolasco-Soria, H. (2025). Fish digestive capacity: Definition and methods. *Fishes*, 10(11), 546.

Onomu, A. J., & Okuthe, G. E. (2024). The role of functional feed additives in enhancing aquaculture sustainability. *Fishes,* 9(5), 167.

Painuli, S., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Semwal, P., Martorell, M., Almarhoon, Z. M., Seilkhan, A., Ydyrys, A., Rad, J. S., Alshehri, M. M., Taheri, Y., Daştan, S. D., Calina, D., Cho, W. C., & Sharifi-Rad, J. (2022). Nutraceutical profiling, bioactive composition, and biological applications of *Lepidium sativum* L. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2910411.

Pennell, W., & Barton, B. A. (Eds.). (1996). Principles of salmonid culture (Vol. 29). Elsevier.

Piazzon, M. C., Lutfalla, G., & Forlenza, M. (2016). IL10, a tale of an evolutionarily conserved cytokine across vertebrates. *Critical Reviews in Immunology*, 36(2), 99–129.

Piazzon, M. C., Savelkoul, H. F. J., Pietretti, D., Wiegertjes, G. F., & Forlenza, M. (2015). Carp Il10 has anti-inflammatory activities on phagocytes, promotes proliferation of memory T cells, and regulates B cell differentiation and antibody secretion. *The Journal of Immunology*, 194(1), 187–199.

Qi, P., Xie, C., Guo, B., & Wu, C. (2016). Dissecting the role of transforming growth factor-β1 in topmouth culter immunobiological activity: A fundamental functional analysis. *Scientific Reports*, 6, 27179.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. ve Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy. *Fish & Shellfish Immunology*, 38, 40-50.

Rezig, L., Chemkhi, H., Gharsallah, K., Mokbli, S., B'chir, F., Ben Achour, N., Bourgou, S., & Chouaibi, M. (2022). Profile characterization and biological activities of cold pressed garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), 103958.

Salem, M. O. A., Salem, T. A., Yürüten Özdemir, K., Sönmez, A. Y., Bilen, S., & Güney, K. (2021). Antioxidant enzyme activities and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with dandelion (*Taraxacum officinalis*) and lichen (*Usnea barbata*) extracts. *Fish Physiology and Biochemistry,* 47(4), 1053–1062.

Sahoo, P. K., Kumari, J., & Mishra, B. K. (2005). Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2), 151-155.

Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63-92.

Sakai, M., Hikima, J., & Kono, T. (2021). Fish cytokines: Current research and applications. *Fisheries Science*, 87, 1–9.

Salinas, I. (2015). The mucosal immune system of teleost fish. *Biology*, 4(3), 525–539.

Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: An important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research*, 39(3), 223–239.

Secombes, C. J. (2022). Cytokines and immunity. In Principles of Fish Immunology: From Cells and Molecules to Host Protection (pp. 301-353). Cham: Springer International Publishing.

Secombes, C. J., Wang, T., Hong, S., Peddie, S., Crampe, M., Laing, K. J., Cunningham, C., & Zou, J. (2001). Cytokines and innate immunity of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8–9), 713–723.

Secombes, C. J. ve Wang, T. (2012). The innate and adaptive immune system of fish. In: Infectious Disease in Aquaculture. Woodhead Publishing, 3-68.

Singh, C. S., & Paswan, V. K. (2017). The potential of garden cress *(Lepidium sativum* L.) seeds for development of functional foods. In J. C. Jimenez-Lopez (Ed.), Advances in Seed Biology. IntechOpen.

Siwicki, A. K., Anderson, D. P., & Rumsey, G. L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 41(1-2), 125-139.

Sönmez, A. Y., Bilen, S., Taştan, Y., Kenanoğlu, O. N., & Terzi, E. (2022). Effects of dietary *Astragalus caudiculosus* supplementation on growth, hematology, antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 122, 366–375.

Tammas, I., Bitchava, K., & Gelasakis, A. I. (2024). Transforming aquaculture through vaccination: A review on recent developments and milestones. *Vaccines,* 12(7), 732.

Terzi, E., Kucukkosker, B., Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Corum, O., Özbek, M., & Parug, S. S. (2021). A novel herbal immunostimulant for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 110, 55–66.

Tufail, T., Khan, T., Bader Ul Ain, H., Morya, S., & Shah, M. A. (2024). Garden cress seeds: a review on nutritional composition, therapeutic potential, and industrial utilization. *Food Science & Nutrition*, 12(6), 3834-3848.

Van Hai, N. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. *Aquaculture,* 446, 88-96.

Verdegem, M., Buschmann, A. H., Latt, U. W., Dalsgaard, A. J. ve Lovatelli, A. (2023). The contribution of aquaculture systems to global aquaculture production. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54(2), 206-250.

Wang, T., Johansson, P., Abós, B., Holt, A., Tafalla, C., Jiang, Y., Wang, A., Xu, Q., Qi, Z., Huang, W., Costa, M. M., Diaz-Rosales, P., Holland, J. W., & Secombes, C. J. (2016b). First in-depth analysis of the novel Th2-type cytokines in salmonid

fish reveals distinct patterns of expression and modulation but overlapping bioactivities. *Oncotarget*, 7(10), 10917–10946.

Wang, T., Yan, J., Xu, W., Ai, Q., & Mai, K. (2016a). Characterization of cyclooxygenase-2 and its induction pathways in response to high lipid diet-induced inflammation in *Larmichthys crocea*. *Scientific Reports*, 6, 19921.

Witeska, M. (2013). Erythrocytes in teleost fishes: A review. *Zoology and Ecology*, 23(4), 275–281.

Worthington, C. C. (1991). Pepsin and amylase. Worthington CC enzyme manual: enzymes and related bio chemicals. Worthington Biochemical Corporation, Freehold, New Jersey, NJ, USA, 179-180.

Yang, H., Ding, Z., Marana, M. H., Dalsgaard, I., Jaafar, R., Mathiessen, H., Karami, A. M., Kania, P. W., & Buchmann, K. (2021). Immersion vaccines against *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout: Comparative effects of strain differences. *Journal of Fish Diseases,* 44(12), 1937–1950.

Yılmaz, S., Ergün, S., Çelik, E. Ş. ve Yiğit, M. (2018). Effects of dietary humic acid on growth performance, haemato-immunological and physiological responses and resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* to *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture Research*, 49(10), 3338-3349.

Yilmaz, S., Kenanoğlu, O. N., Ergün, S., Çelik, E. Ş., Gürkan, M., Mehana, E. E., & Abdel-Latif, H. M. (2024). Immunological Responses, Expression of Immune-Related Genes, and Disease Resistance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Diets Supplied with Capsicum (*Capsicum annuum*) Oleoresin. *Animals*, 14(23), 3402.

Zapata, A., Diez, B., Cejalvo, T., Gutiérrez-de Frías, C., & Cortés, A. (2006). Ontogeny of the immune system of fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 126–136.

Zou, J., Neumann, N. F., Holland, J. W., Belosevic, M., Cunningham, C., Secombes, C. J., & Rowley, A. F. (1999). Fish macrophages express a cyclo-oxygenase-2 homologue after activation. *Biochemical Journal,* 340(1), 153–159.

Zou, J., & Secombes, C. J. (2011). Teleost fish interferons and their role in immunity. *Developmental and Comparative Immunology*, 35(12), 1376–1387.

Zou, J., & Secombes, C. J. (2016). The function of fish cytokines. *Biology*, 5(2), 23.

Zuberi, A., Kamran, M. K., Younus, N., & Abdel-Tawwab, M. (2024). Editorial: Functional feed additives: Current trends. *Frontiers in Aquaculture*, 3, 1385508.