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

ÇEMEN OTU *(Trigonella foenum-graecum* L.*)* VE SİYAH HARDAL *(Brassica nigra)* TOHUMLARI İLE DEFNE *(Laurus nobilis)* YAPRAĞI ÖZÜTLERİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAĞIŞIKLIK YANITI VE BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİ

MUSTAFA KARGA

DOKTORA TEZİ

DR. ÖĞR. ÜYESİ SONER BİLEN

HAZİRAN - 2022
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Mustafa KARGA tarafından hazırlanan "**Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve Siyah Hardal (*Brassica nigra*) Tohumları ile Defne (*Laurus nobilis*) Yaprağı Özütlerinin Gökkuşağı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Bağışıklık Yanıtı ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **24.06.2022** 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	Dr. Öğr. Üyesi Soner BİLEN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Hünkar Avni DUYAR Sinop Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ertuğrul Terzi Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Gökhan ARSLAN Atatürk Üniversitesi	.....

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

Enstitü Müdürü V. Prof. Dr. İzzet ŞENER

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.

Mustafa KARGA

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ÇEMEN OTU *(Trigonella foenum-graecum* L.*)* VE SİYAH HARDAL *(Brassica nigra)* TOHUMLARI İLE DEFNE *(Laurus nobilis)* YAPRAĞI ÖZÜTLERİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BAĞIŞIKLIK YANITI VE BÜYÜME PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİLERİ

MUSTAFA KARGA

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

Bu çalışmada, çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumları ile defne (*Laurus nobilis*) yaprağının sulu metanolik özütlerinin gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansına etkileri, bazı bağışıklık sistemi parametrelerine etkileri ile IL-1β, IFN-1, TGF-β ve TNF-α gen ekspresyon seviyelerine olan tesirleri ile *Vibrio anguillarum, Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas salmonicida* patojenlerine maruz bırakıldıklarında yaşama oranına etkileri araştırılmıştır. Çalışmada her bir tanka 25 adet balık stoklanmış ve her bir doz için 3 ayrı tekerrür kullanılmıştır. Çalışma süresince balıklar spreyleme yoluyla yeme ilave edilmiş olan her bitki özütü için 3 ayrı doz içeren yem grubu (0,1 g/kg; 1 g/kg; 5 g/kg) ve kontrol (0 g/kg) ile 45 gün boyunca günde 3 defa doyana kadar beslenmişlerdir. Her 15 günde bir örnekleme yapılarak öncelikle tüketilen yemler ile balık ağırlık tartımları yapılmış ve yem değerlendirme oranı (YDO), spesifik büyüme oranı (SBO) ve ağırlık kazanımları (AK) tespit edilmiştir. Akabinde kan ve doku örnekleri alınarak süperoksit radikal salınımları (NBT), lizozim (LYS) ve myelopreksidaz (MPO) aktiviteleri gibi humoral bağışıklık yanıtları ile sitokin gen ekspresyonları araştırılmıştır. Çalışmanın sonunda balıklara intraperitonal olarak *Vibrio anguillarum, Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas salmonicida* enjekte edilmiş ve 10 gün boyunca balıkların hayatta kalma oranları (HKO) tespit edilmiştir. Sonuç olarak, kontrole grubuna kıyasla özüt içeren grupların tümünde büyüme performansı parametrelerinde önemli ölçüde farklılık görülmemiştir ($P>0,05$). NBT sonuçlarına bakıldığında 15. günde en fazla artış D5 grubunda görülmüş fakat sadece Ç0,1 grubu ile önemli istatistiksel fark bulunmuştur ($P<0,05$). Bununla birlikte 30. günde SH5 gruplarında en yüksek artış görüldüğü ($P<0,05$) fakat 45. günde kontrole kıyasla hiçbir grupta artış görülmediği belirlenmiştir ($P>0,05$). Lizozim aktivitesinde tüm örnekleme zamanlarında gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Myeloperoksidaz aktivitesinde ise 15. günde SH1 grubu sadece SH5 ve D5 gruplarıyla benzerlik gösterirken diğer gruplara kıyasla önemli derecede artış göstermiş ($P<0,05$) ve diğer örnekleme günlerinde ise gruplar arasında farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). IL-1β, IFN-1, TGF-β ve TNF-α gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında böbrek ve dalaklarda farklı örnekleme

günlerinde farklı gruplarda kontrole kıyasla dikkat çekici artış tespit edilirken yine farklı örnekleme günlerinde farklı gruplarda kontrol grubuna kıyasla gen ekspresyon seviyelerinin kayda değer şekilde daha düşük çıktığı belirlenmiştir (P<0,05). Kontrol testleri sonuçlarına bakıldığında *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı en yüksek hayatta kalma oranını SH0,1 grubu gösterirken, SH1 ve SH5 grupları da SH0,1 grubuyla benzer sonuçlar vermiştir (P>0,05). En düşük hayatta kalma oranı ise diğer gruplardan önemli derecede farklı şekilde D0,1 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). *Vibrio anguillarum* ile yapılan kontrol testlerinde en yüksek hayatta kalma oranını diğer gruplardan önemli derecede farklı olarak Ç1 ve SH5 grupları göstermiştir (P<0,05). En düşük hayatta kalma oranını ise kayda değer farkla yine D0,1 grubu göstermiştir. *Yersinia ruckeri* patojenine karşı ise en yüksek hayatta kalma oranı ciddi derecede farkla Ç5 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). En düşük hayatta kalma oranı ise SH1 ve SH5 gruplarında görülmüş ve bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05). Tüm bu sonuçlara bakıldığında defne yaprağının (*Laurus nobilis*) metanolik özütünün yeme 0,1 g/kg oranında eklenmesinin bağışıklık uyarıcı olarak etkili olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte farklı oranlarda kullanılan bazı bitki özütlerinin bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. Gen ekspresyon seviyelerinin yüksek olarak bulunmasıyla birlikte düşük ölüm oranları göstermesi çemen tohumunun metanolik özütünün 1 g/kg ve 5 g/kg oranlarında yemlere ilave edilmesinin bağışıklığı artırdığı sonuçlarına varılabilir.

ANAHTAR KELİMELER: GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI, ÇEMEN OTU, SİYAH HARDAL, DEFNE YAPRAĞI, BÜYÜME PERFORMANSI, BAĞIŞIKLIK PARAMETRELERİ, GEN EKSPRESYONLARI

Haziran 2022, 113 Sayfa

ABSTRACT

PH.D THESIS

EFFECTS OF FENUGREEK (*Trigonella foenum graecum* L.), BLACK MUSTARD (*Brassica nigra*) SEEDS AND LAUREL (*Laurus nobilis*) LEAVES EXTRACT ON IMMUNE RESPONSE AND GROWTH PERFORMANCE IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

MUSTAFA KARGA

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

In this study, the effects of aqueous methanolic extracts of seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and black mustard (*Brassica nigra*), and leaves of laurel (*Laurus nobilis*) on growth performance, some immune parameters, IL-1β, IFN-1, TGF-β ve TNF-α gene expressions levels, and survival rate after challenging with *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas salmonicida* pathogens were investigated in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In the study, 25 fish were reared in each tank and each dose consisted of three replicates. During the study, the fish were fed 3 times a day *ad libitum* with feeds that contain 3 different doses for each plant extract (0.1 g/kg; 1 g/kg; 5 g/kg) which were added into the feed by spraying and control feed (0 g/kg) for 45 days. Sampling was carried out every 15 days and during the sampling, first, the fish along with the feed were weighed, and feed conversion ratio (FCR), specific growth rate (SGR), and weight gains (WG) were determined. Subsequently, humoral immune responses such as superoxide radical releases (NBT), lysozyme (LYS), and myeloperoxidase (MPO) activities and cytokine gene expressions were investigated by taking blood and tissue samples. At the end of the study, the fish were injected intraperitoneally with *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, and *Aeromonas salmonicida*, and the survival rates (SR) of the fish for 10 days were determined. As a result, there was no significant difference in growth performance parameters in all extract-containing groups compared to the control group ($P>0.05$). Considering the NBT results, the highest increase was observed in the D5 group on the 15th day, but a statistically significant difference was found only with the Ç0.1 group ($P<0.05$). On the other hand, it was determined that the highest increase was in the SH5 group on the 30th day ($P<0.05$) however, there was no difference in any group compared to the control on the 45th day ($P>0.05$). There was no significant difference between groups in terms of lysozyme activity in all sampling times ($P>0.05$). Regarding the myeloperoxidase activity, on the 15th day, while the SH1 group showed similarity only with SH5 and D5 groups, it showed a significant increase compared to other groups ($P<0.05$), and there was no difference between groups in other sampling times ($P>0.05$). When the gene expression levels of IL-1β, IFN-1,

TGF-β, and TNF-α were examined, it was observed that there were remarkable increases in kidney and spleen in different groups compared to the control group in different sampling times, while the gene expression levels were also determined to be significantly lower in different groups compared to the control group in different sampling times ($P<0.05$). The challenge test SH0.1 group showed the highest survival rate against the *Aeromonas salmonicida* pathogen, whereas the SH1 and SH5 groups exhibited similar results with the SH0.1 ($P>0.05$). The lowest survival rate, on the other hand, was found to be in the D0.1 group which was significantly different from other groups ($P<0.05$). In the challenge test performed with *Vibrio anguillarum*, Ç1 and SH5 groups showed the highest survival rate by exhibiting significantly different results from other groups ($P<0.05$). Again, the D0.1 group showed the lowest survival rate with a significant difference. Against the *Yersinia ruckeri* pathogen, the highest survival rate was found in the Ç5 group with a significant difference ($P<0.05$). The lowest survival rates were observed in the SH1 and SH5 groups, and the results of these groups were similar to the result obtained from the control group ($P>0.05$). All these results suggest that the addition of aqueous methanolic extract of laurel (*Laurus nobilis*) leaf into the feed at the rate of 0.1 g/kg is not effective as an immunostimulant. However, it was determined that some plant extracts used at different rates can be used as immunostimulants. It can be concluded that the addition of aqueous methanolic extract of fenugreek seeds to the feed at the rates of 1 and 5 g/kg increases the immunity, based on the high gene expression levels and low mortality rates determined in this study.

KEYWORDS:RAINBOW TROUT, FENUGREEK, BLACK MUSTARD, LAUREL LEAF, GROWTH PERFORMANCE, IMMUNE PARAMETERS, GENE EXPRESSIONS

June 2022, 113 Page

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Soner BİLEN'e, canlı kaynakların kullanımı ve analizlerin gerçekleştirilmesi aşamalarında bilgilerini ve tecrübelerini paylaşan Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ'ye, çalışmanın her aşamasında yardımcı olan Arş. Gör. Osman Nezih KENANOĞLU'na, fikirleri ve görüşlerinden sık sık faydalandığım tez izleme komite üyesi Prof. Dr. İzzet ŞENER'e, canlı kaynaklar ile çalışmalarımı gerçekleştirdiğim ve analizlerimi bünyesinde yaptığım Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne ve hayatımın her alanında yanımda olan değerli eşim Emel KARGA'ya, moral kaynağım oğlum Toprak KARGA'ya, annem Sevgi KARGA'ya, babam Mehmet KARGA'ya ve kardeşim İpek GÜNDÜZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

MUSTAFA KARGA

Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ... **ii**
TAAHHÜTNAME ... **iii**
ÖZET ... **iv**
ABSTRACT ... **vi**
TEŞEKKÜR ... **viii**
İÇİNDEKİLER ... **ix**
GRAFİKLER DİZİNİ ... **xi**
TABLOLAR DİZİNİ ... **xiii**
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ ... **xiv**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ... **xv**
1. GİRİŞ ... **1**
1.1 Dünyada Su Ürünleri Üretimi ... 5
1.2 Türkiye'de Su Ürünleri Üretimi ... 8
1.3 Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Hakkında Genel Bilgiler ... 10
1.4 Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ... 11
1.5 Defne (*Laurus nobilis*) ... 12
1.6 Siyah Hardal (Brassica nigra) ... 14
1.7 Balıklarda Bağışıklık Sistemi ... 15
1.7.1 Doğal Bağışıklık (Spesifik Olmayan İmmün Yanıt) ... 15
1.7.2 Kazanılmış Bağışıklık (Spesifik İmmün Yanıt) ... 16
1.7.3 Balıklarda Bağışıklık Sisteminde Yer Alan Bazı Sitokinlerin İşlevleri 17
1.7.3.1 İnterlökin-1β (IL-1β) ... 18
1.7.3.2 Transforming growth factor β (TGF-β) ... 19
1.7.3.3 Tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) ... 19
1.7.3.4 İnterferon tip I (IFN-I) ... 20
1.8 Bağışıklık Sistemi Üzerine Etki Eden Faktörler ... 20
1.9 Tıbbi Bitkilerin Balıklarda Bağışıklık Uyarıcı Olarak Kullanımı ... 22
1.10 *Aeromonas salmonicida* ... 24
1.11 *Vibrio anguillarum* ... 25
1.12 *Yersinia ruckeri* ... 26
2. LİTERATÜR ÖZETİ ... **28**
3. MATERYAL ve YÖNTEM ... **44**
3.1 Materyal ... 44
3.1.1 Çalışma Ortamı ve Çalışma Süresi ... 44
3.1.2 Deneme Balıklarının Temini ... 44
3.1.3 Çalışmada Kullanılan Tıbbi Bitkiler ... 45
3.1.4 Deneme Yemleri ... 45
3.1.5 Gen Ekspresyonlarında Kullanılan Primerler ... 46
3.1.6 Denemenin Tasarlanması ... 47
3.2 Yöntem ... 48
3.2.1 Tıbbi Bitkilerin Sulu Metanolik Özütlerinin Elde Edilmesi ... 48
3.2.2 Deneme Yemlerinin Hazırlanması ... 53
3.2.3 Balıkların Büyüme Performanslarının Hesaplanması ... 55
3.2.4 Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması ... 55

3.2.5 Süperoksit Radikal Salınımı (NBT) Tayini 56
3.2.6 Lizozim Aktivitesi Tayini 57
3.2.7 Myeloperoksidaz (MPO) Tayini 57
3.2.8 Sitokin Gen Yanıtlarının Belirlenmesi 58
3.2.8.1 Gen ekspresyonları 58
3.2.8.2 Total RNA izolasyonu 58
3.2.8.3 Komplementer DNA (cDNA) sentezi 60
3.2.8.4 Kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi 61
3.2.9 Kontrol Testleri 62
3.2.10 İstatistiksel Analizler 63
4. BULGULAR 64
4.1 Büyüme Performansı 64
4.2 Spesifik Olmayan Bağışıklık Yanıtlardaki Değişimler 65
4.2.1 Süperoksit Radikal Salınımı (NBT) 65
4.2.2 Lizozim Aktivitesi 66
4.2.3 Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Sonuçları 67
4.3 Gen Ekspresyonlarında Meydana Gelen Değişimler 67
4.3.1 IL-1β 68
4.3.2 IFN-I 70
4.3.3 TGF-β 73
4.3.4 TNF-α 75
4.4 Hayatta Kalma Oranları 77
4.4.1 *Aeromonas salmonicida* 77
4.4.2 *Vibrio anguillarum* 78
4.4.3 *Yersinia ruckeri* 79
5. TARTIŞMA 81
5.1 Büyüme Performansı 81
5.2 Spesifik Olmayan Bağışıklık Yanıtları 82
5.3 Gen Ekspresyonları 84
5.4 Kontrol Testi 89
6. SONUÇ ve ÖNERİLER 91
KAYNAKLAR 95
ÖZGEÇMİŞ 111

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 1.1 Dünya Su Ürünleri Üretimi (FAO,2020) 6
Grafik 1.2 Türkiye Su Ürünleri İstatistikleri (ton) (TUİK, 2020) 9
Grafik 4.1 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) süperoksit radikal üretimlerinde (NBT) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 65
Grafik 4.2 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) lizozim aktivitesinde (LYS) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 66
Grafik 4.3 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) myeloperoksidaz aktivitelerinde (MPO) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 67
Grafik 4.4 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 68
Grafik 4.5 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 69
Grafik 4.6 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbrek IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 71
Grafik 4.7 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 72

Grafik 4.8 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 73
Grafik 4.9 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 74
Grafik 4.10 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 75
Grafik 4.11 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 77
Grafik 4.12 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonos salmonicida* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder. 78
Grafik 4.13 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Vibrio anguillarum* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 79
Grafik 4.14 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Yersinia ruckeri* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder 80

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Dünya su ürünleri üretimi 5
Tablo 1.2 Ülkeler bazında toplam su ürünleri üretimi (ton) 7
Tablo 1.3 Dünya su ürünleri tüketimi (milyon ton) 7
Tablo 1.4 Dünya su ürünleri yetiştiricilik üretimi (ton) 8
Tablo 1.5 Türkiye'de su ürünleri yetiştiricilik üretimi türleri (ton) 9
Tablo 3.1 Denemede kullanılan yemin içeriği 45
Tablo 3.2 Araştırmada qRT-PCR için kullanılan gen spesifik primerler ve sekansları 46
Tablo 3.3 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.) metanolik özütünün bileşenlerinin listesi 50
Tablo 3.4 Defne (*Laurus nobilis*) yaprağı metanolik özütünün bileşenlerinin listesi 51
Tablo 3.5 Siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu metanolik özütünün bileşenlerinin listesi 52
Tablo 3.6 cDNA Master Mix 61
Tablo 3.7 Reverse Transkriptaz reaksiyon koşulları protokolü 61
Tablo 3.8 Primerlere özgü qRT-PCR döngü protokolü 62
Tablo 4.1 45 Gün boyunca farklı dozlarda çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansındaki değişiklikler 64

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Sayfa

Fotoğraf 1.1 Çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) 12
Fotoğraf 1.2 Defne (*Laurus nobilis*) 13
Fotoğraf 1.3 Siyah hardal (*Brassica nigra*) 14
Fotoğraf 3.1 Kastamonu üniversitesi su ürünleri fakültesi kapalı devre yetiştiricilik sistemi 44
Fotoğraf 3.2 Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 45
Fotoğraf 3.3 Deneme yemleri 46
Fotoğraf 3.4 Filtrasyon düzeneği 49
Fotoğraf 3.5 Evaporatör uygulaması 49
Fotoğraf 3.6 Bitkilerin özütleri 50
Fotoğraf 3.7 Yem yapım süreci 53
Fotoğraf 3.8 Vakum makinesinde yem vakumlama 53
Fotoğraf 3.9 Vakumlanmış deneme yemleri 54
Fotoğraf 3.10 Çalışma esnasında kullanılan tartılmış deneme yemleri 54
Fotoğraf 3.11 Kan alınması 56
Fotoğraf 3.12 Homojenize edilme ve santrifüj aşamaları 58
Fotoğraf 3.13 Toplam RNA çıkarma aşamaları 59
Fotoğraf 3.14 Toplam RNA saflık ve konsantrasyon ölçüm aşamaları 60
Fotoğraf 3.15 Applied Biosystems Step One Plus Real Time PCR sistemi 62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	**:** Yüzde
C	**:** Santigrat
°	**:** Derece
pH	**:** Power of hydrogen
µm	**:** Mikrometre
µl	**:** Mikrolitre
ml	**:** Mililitre
U	**:** Unite
kcal	**:** Kilo kalori
mg	**:** Miligram
g	**:** Gram
kg	**:** Kilogram
L	**:** Litre
nm	**:** nanometre
dk	**:** dakika
α	**:** Alfa
β	**:** Beta

Kısaltmalar

FCR	**:** Feed conversion Ratio
SR	**:** Survival rate
SGR	**:** Spesific growth rate
WG	**:** Weight gain
NBT	**:** Nitro blue tetrazolium
LYS	**:** Lysozyme
MPO	**:** Myeloperoxidase
OECD	**:** Organisation for Economic Co-operation and Development
FAO	**:** Food and Agriculture Organization
TUİK	**:** Türkiye İstatistik Kurumu
DNA	**:** Deoksiribonükleikasit
RNA	**:** Ribonükleikasit
cDNA	**:** Complementary DNA
Ig	**:** İmmünoglobülin
IL	**:** İnterleukin
IFN	**:** İnterferon
TGF	**:** Transforming growth factor
TNF	**:** Tümör nekrozis faktör
TSA	**:** Tryptic Soy Agar
TCBS	**:** Thiosulfate Citrate Bile Sucrose
SBO	**:** Spesifik büyüme oranı

YDO	**:** Yem dönüşüm oranı
CAA	**:** Canlı ağırlık artışı
RT-PCR	**:** Real Time Polymerase Chain Reaction
GC-MS	**:** Gas chromatography–mass spectrometry
W	**:** Balık ağırlığı
A1	**:** Periyot başındaki ortalama bireysel ağırlık
A2	**:** Periyot sonundaki ortalama bireysel ağırlık
t	**:** Zaman
RPM	**:** Dakikada dönüş sayısı
HBSS	**:** Hank's Balanced Salt Solution
PBS	**:** Phosphate-buffered saline
NFW	**:** Nuclease-free water
HKO	**:** Hayatta kalma oranı
BOA	**:** Başlangıç ortalama ağırlık
BİOA	**:** Bitiş ortalama ağırlık

1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunun besin ve özellikle de protein ihtiyacının karşılanması, zirai üretime daha çok önem erilmesine ve adaletli bir şekilde paylaştırılmasına bağlıdır. 1960'larda 3 milyar civarında olan dünya nüfusu günümüzde yaklaşık 8 milyar civarındadır. Nüfus artışını benzer şekilde ivmelenmesi neticesinde 2050'li yıllarda 10-12 milyar seviyelerine kadar çıkması öngörülmektedir. Halihazırda dünya nüfusunun yeterli ve sağlıklı beslenmesinde ciddi problemler yaşadığı göz önüne alındığında geleceğin günümüzden daha sorunsuz olmayacağı kesindir (Şahinöz vd., 2017). Dünyada karasal alanların neredeyse tamamı tarımsal üretim için kullanılmaktadır. Bu açıdan bakıldığında deniz ve tatlı suların mevcut kapasitelerinin su ürünleri üretimi için kullanılması büyük önem arz etmektedir.

Günümüzde, özellikle gelişmiş toplumlarda beslenmeye azami şekilde önem verilmekte ve beslenme itiyatlarında sağlıksal anlamdaki gereksinimlere uygun besinleri seçmeye azami şekilde itina gösterilmektedir. Temel gıda kaynakları içerisinde su ürünleri ve özellikle de balık, hem yüksek protein muhteva etmesi hem de çoklu doymamış yağ asitleri içermesi ile vücudun temel gıda gereksinimlerini karşılamaktadır. Bununla birlikte biyolojik ve metabolik işlevleri üzerinde pozitif tesir etmesi özelliğiyle sağlıklı bir ömür idame ettirmek için gerekli gıdalar arasında en başlarda bulunmaktadır (Kaya, vd., 2004).

Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD) aracılığıyla 2016 yılında ilan edilmiş olan bildiride üretimde en fazla büyüyen gıda tarım ürünlerinin başında su ürünleri yetiştiricilik üretimi yer almıştır. Buna paralel olarak Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2018 yılında açıkladığı raporda tarımsal alanda en fazla ivmelenen alt kolun su ürünleri sektörü olduğunu deklare etmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya genelinde toplam su ürünleri üretiminin takribi %50'sini gerçekleştirmekte ve her yıl %10'dan daha çok ivmelenerek büyümektedir.

Günümüzde su ürünleri yetiştiriciliği, dünya besin ihtiyacının ciddi oranını karşılayan ana bir sektör haline gelmiştir. Son yıllarda su ürünleri eğitim merkezlerinin verdiği

nitelikli ve uygulamalı eğitimler ve yetiştiricilik ile avcılık teknolojilerinin yetişmiş mühendisler ile birlikte gelişmesi ile sektör şaşırtıcı bir gelişim göstermiştir.

Avcılık yoluyla üretimin çok fazla artmamasının en önemli sebebi denizlerden avcılık vasıtasıyla yapılan üretimin ürün oranının daha fazla yükseltilememesidir. Sürekli artan endüstriyel ve evsel atıklar akarsu, deniz ve gölleri kirletmektedir. Bununla birlikte bilinçsiz, kaçak ve aşırı avcılık da su ürünlerinin avcılık yoluyla üretimini etkilemektedir. Stokların verimli ve azami etkin şekilde kullanılamaması halinde yakın zamanda dünyada avcılık yoluyla üretilen balık miktarı çok fazla azalacak ve hatta büyük krizin baş göstermesine sebep olacaktır. Su ürünlerine ilginin artması ile birlikte atıklar, bilinçsiz avcılık, stokların tükenmesi gibi nedenlerin de etkisiyle avcılık suretiyle bu talebin karşılanmasının mümkün görünmemesi, günümüzde dünyada kültür balıkçılığına olan ilgiyi artırmaktadır.

Su ürünleri yetiştiriciliğinin farklı rolleri de üstlenmesi yetiştiriciliğin önemini birkaç kat daha artırmaktadır. En önemli örneklerden biri, dünyada deniz ve tatlı su sistemlerinde ticari veya sosyal balıkçılık kavramlarını geliştirmek amacıyla her yıl milyarlarca balık yavrusu yumurtadan yetiştirilerek doğal ortama bırakılmaktadır. Uzakdoğuda bazı otçul balıklar çeltik üretimiyle birlikte entegre olmuş olan ekstansif modellerde yetiştirilmektedir. Tanklarda, havuzlarda veya kafeslerde gökkuşağı alabalığı yoğun şekilde yetiştirilmektedir. Bununla birlikte yetiştiricilik sadece balık üretimi ile sınırlı kalmayarak, yumuşakçalar (abalon, midye,istiridye), kabuklu ve çift kabuklu üretimini de içine almaktadır (Aydın vd., 2005). Ayrıca akuaponik sistemler ile tarımsal üretim ve su ürünleri yetiştiriciliği birleştirilmiş ve sürdürülebilir fayda maksimum seviyeye çıkarılmıştır. Tür çeşitliliğin fazla olmasına karşın dünya su ürünleri yetiştiriciliğinde birkaç türe daha fazla yönelim olmuştur. Bundaki en önemli sebeplerden biri kaplan karides gibi ekonomik olarak bazı türlerin birim fiyatının yüksekliği olurken, başka bir sebep ise değişken coğrafi şartlara daha fazla tolerans gösterebilen sazan gibi türlerin yetiştiriciliğidir. Ayrıca su yosunları ve istiridye gibi ekonomik değere sahip türlerin de yetiştiriciliğinin fazla olduğu görülmektedir.

Günümüzde gelişen teknolojik şartlara ek olarak bilimsel anlamda yeni bilgiler elde edilmesiyle beraber işletmeler maksimum verim ile üretime başlamışlardır. Fakat

gerek teknolojinin fazla kullanımı, gerek stokların yoğunlaşması ve bununla beraber balıkların hızlı şekilde porsiyonluk boya gelebilmeleri ve düşük Yem Dönüşüm Oranı (YDO) yakalayabilmeleri için tam kontrollü kapalı devre sistemlere geçilmesi balıkların sağlığına olumsuz etkilerini de beraberinde getirmiştir. Son yıllarda etik konusu da ayrıca önem arz etmektedir.

Balığın biyolojik yapısı gelişen şartlara göre değiştirilemeyen tek hususdur. Özellikle teknoloji, çok yoğun balık üretimine olanak sağlasa da (Bilen vd., 2015), stres kaynaklı olarak bağışıklık sistemin zayıflaması ve balıkların hastalıklara daha açık hale gelmeleri kaçınılmazdır. Meydana gelebilecek hastalıklar ve bunlara bağlı olarak yaşanabilecek kayıpların değerlendirilmesi, belki de sektörün en önem vermesi gereken konuların başında gelmektedir.

Günümüzde, balık üretiminde hastalıklardan kaynaklı balık ölümleri ekonomik olarak önemli yer tutmaktadır. Meydana gelebilecek hastalıklar ve bunlara bağlı olarak yaşanabilecek kayıpların değerlendirilmesi, belki de sektörün en önem vermesi gereken konuların başında gelmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde en basit tedavi yöntemi üretilecek olan türün hastalıklara yakalanmadan önce önlemini almaktır. Proaktif yaklaşım ile önlemenin düzeltmekten daha kolay olduğu fikri son yıllarda benimsenmeye başlamıştır. Özellikle enfeksiyöz hastalıkların oluşmaması en önemli temel konuyu oluşturmaktadır. Bulaşıcı enfeksiyöz hastalıların bir üretim sisteminde ortaya çıkması sonrası diğer havuz ve gruplara bulaşma riskinin olması ve bu vakaların sıklıkla yaşanması önemli bir sorundur (Sırtıyah, 2017).

Hastalıkların önlenmesinde en çok uygulanan yöntem aşılama işlemleridir. Amerika'da üretilen ilk lisanslı balık aşısı *Yersinia ruckeri* bakterisinin neden olduğu kızıl ağız hastalığına karşı yapılmıştır. Sonraki yıllarda *Vibrio anguillarum/ordali* patojenlerinden kaynaklanan vibriosis hastalığına karşı da aşılar üretilmiştir. Bakteriyolojik hastalıklara karşı birçok aşı geliştirilmiş ve başarı ile uygulanmıştır. Aşıların çok kolay elde edilir olması ve piyasada çok fazla bulunması kullanımını sıklaştırmıştır. Aşı kullanılırken unutulmaması gereken en temel nokta, kullanılan aşının sadece ilgili patojene karşı etkili olduğudur. Ayrıca aşılama işlemi birden fazla kişi ile yapıldığından dolayı maliyet ve zaman açısından sorun teşkil etmektedir. Bu

bağlamda aşıların hastalık amiline özgül olması ve aşının tesir etmesi için zaruri olan en uygun şartların sağlanmasındaki zorluklardan ötürü çokça dezavantajları vardır. Birçok dezavantajı olması nedeniyle balık hastalıklarının kontrolünü yalnız aşılarla yapmak mümkün değildir.

Türkiye'de balık yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı genel olarak koruma ya da tedavi amaçlı yapılmaktadır. Genel olarak kültür balıkçılığında aşı uygulamaları yoğun şekilde yapılsa da spesifik aşıların koruma sağlamadığı durumlarda özellikle stres faktörü ile beraber balıkların doğal olarak hastalanmasında tedavi edici olarak antibiyotikler kullanılmaktadır. Fakat antibiyotiklerin yan etkileri büyük sorun teşkil etmektedir. Özellikle bakterilerin antibiyotiklere direnç kazanması bunların başında gelmektedir (Capkin vd., 2015). Aynı zamanda antibiyotikler ve kalıntılarının çevreye ve doğal ortama karışmasıyla mutajen bakteriler meydana gelmektedir.

Avrupa Birliği tarafından bağışıklık uyarıcı ya da koruyucu olarak 2006 yılından itibaren hayvansal yemlerde antibiyotiklerin kullanılması yasaklanmıştır (Ashraf ve Goda, 2008; Hermann vd., 2003). Türkiye' de de bakteriyel dirence yol açabileceği ve hayvansal ürünlerden tam olarak arındırılamadığından dolayı kalıntı bırakarak insan sağlığını tehdit edebileceğinden dolayı antibiyotiklerin yemlere ilave edilmesi yasaklanmıştır. Bu yönüyle satış ve pazarlama açısından olumsuz etkileri vardır. Bu kısıtlamalar ile beraber hem gastro-intestinal mikrofloranın sağlığını korumak ve dolayısıyla bakteriyel hastalıkların kontrol altına alınması hem de balıkların immün mekanizmasının desteklenmesi ve verimli şekilde büyümesinin sağlanması, ölüm oranının minimuma düşürülmesi maksadıyla antibiyotiklerin yerine birçok tıbbi bitki çeşidinin hayvan yemlerine ilave edilerek kullanılmasının iyi bir ikame yöntemi olduğu belirtilmektedir (Hermann vd., 2003; Keser ve Bilal, 2008). Çevresel etkileri, insan sağlığı ve ekonomik faktörler göz önüne alındığında tıbbi bitkilerin kullanımı daha fazla önem kazanmaktadır. Anti-mikrobiyal etkileri sebebiyle kullanımı uygun olan birçok tıbbi bitki doğal ortamda var olup, incelenmesi ve uygulamaya alınması ve immünostimulant olarak kullanılmalarıyla beraber tedavi edici olarak kullanılmaları son derece cezbedici bir metot olarak görülmektedir (Terzi vd., 2021).

Dünyada birçok tıbbi bitki ve ürünleri veteriner ilaçları olarak üretilmeye başlamıştır. Özellikle Avrupa ve Amerika'da tıbbi bitkilerin tercih edilmesinin sebebi kalıntı bırakmaması, bıraksa bile yan etkisiz maddeler olarak görülmesidir. Tıbbi bitkiler üzerinde birçok çalışma yapılmış, bununla birlikte bu çalışmalar anti-mikrobiyal özelliklerinin kontrollü olarak incelenmesi ya da bu bitkilerin balıklar üzerinde immünostimulant etkilerinin belirlenmesi üzerine olmuştur (Abdel-Tawwab vd., 2010; Altunoğlu vd., 2017; Ardo vd., 2008; Awad vd., 2015; Bahi vd., 2017; Bilen vd., 2016; Bilen vd., 2020; Christybapita vd., 2009; Gültepe vd., 2014; Immanuel vd., 2009; Mehrabi vd., 2020; Mohamad ve Abasali, 2010; Nafiqoh vd., 2020; Nya ve Austin, 2009; Ramezanzadeh vd., 2020; Roohi vd., 2015; Sharma vd., 2021; Soares vd., 2020; Sönmez vd., 2022; Terzi vd., 2021; Tiamiyu vd., 2021).

Tıbbi bitkilerin ile ilgili günümüzde balıklar üzerinde birçok çalışma ve araştırma yapılmasına karşın içeriklerinde toksik bileşenleri ihtiva etmelerinden ve uygun doz aşımından kaynaklanan birçok farklı olumsuz yan etkileri de görülmektedir. Buna karşın uygun dozda balıklara verilmelerinde olumsuz etkilerine neredeyse hiç rastlanmamıştır (Ahmad vd., 2006). Su ürünleri yetiştiriciliğinde bitkisel menşeli maddelerin kullanımında yan etkilerin önceden belirlenebilmesi yetiştiricilik faaliyetlerinin sorunsuz bir şekilde devam ettirilmesini, hastalık ve gelişim bozukluklarından dolayı meydana gelebilecek ekonomik kayıpların önlenmesini sağlayabilecektir (Blaxhall ve Daisley 1973; Campbell, 2004; Morgan ve Iwama, 1997).

1.1 Dünyada Su Ürünleri Üretimi

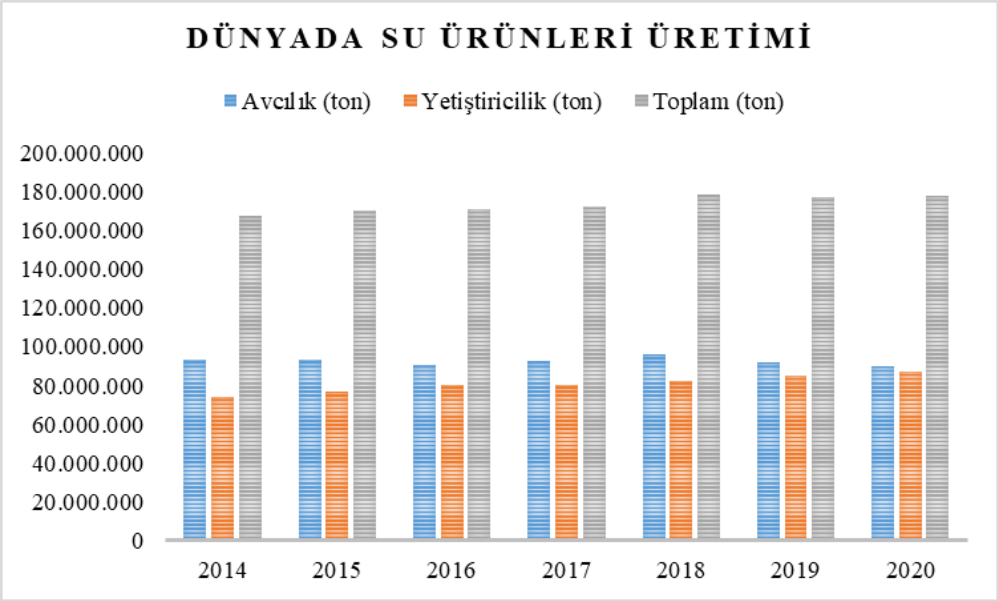
Son yıllarda su ürünleri sektörü büyük bir ivmelenme göstermiştir. Gerek uluslararası ticaretteki payı gerekse temel besin ihtiyacını kaliteli bir şekilde karşılama konusunda küresel balıkçılığının rolü önemli bir hal almıştır.

Tablo 1.1 Dünya su ürünleri üretimi (FAO, 2022)

	AVCILIK (ton)			**YETİŞTİRİCİLİK (ton)**			**TOPLAM (ton)**
	Deniz	**İçsu**	**Toplam**	**Deniz**	**İçsu**	**Toplam**	
2010	77.828.396	11.271.565	**89.099.961**	22.310.734	36.790.052	**59.100.786**	**148.200.747**
2011	82.623.550	11.124.401	**93.747.951**	23.366.371	38.698.805	**62.065.176**	**155.813.127**

2012	79.719.854	11.630.320	**91.350.174**	24.707.343	41.948.313	**66.655.656**	**158.005.830**
2013	80.899.153	11.687.507	**92.586.660**	25.536.710	44.686.846	**70.223.556**	**162.810.216**
2014	81.564.094	11.895.922	**93.460.016**	26.727.687	47.104.420	**73.832.107**	**167.292.123**
2015	81.179.323	12.525.293	**93.704.616**	27.879.872	48.761.154	**76.641.025**	**170.345.641**
2016	79.288.046	11.635.500	**90.923.545**	28.703.601	51.368.288	**80.071.894**	**170.995.437**
2017	80.598.000	11.924.000	**92.522.000**	30.626.000	49.509.000	**80.138.000**	**172.660.000**
2018	84.400.000	12.000.000	**96.400.000**	30.800.000	51.300.000	**82.100.000**	**178.500.000**
2019	80.105.137	12.090.295	**92.195.432**	31.862.628	53.349.551	**85.212.180**	**177.407.612**
2020	78.795.376	11.470.557	**90.265.933**	33.118.115	54.284.495	**87.502.609**	**177.768.543**

Dünyada avcılık eğilimindeki ivmelenme düzenli bir şekilde olmamakla birlikte, yetiştiricilik üretiminin düzenli bir şekilde artış gösterdiği görülmektedir.



Grafik 1.1 Dünya su ürünleri üretimi (FAO,2022)

Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü (FAO) verilerine göre dünya su ürünleri üretimi devamlı şekilde her yıl ivmelenerek artış göstermiş ve 2020 yılında toplam 177,5 milyon ton seviyelerinde olduğu bildirilmiştir. Ülkeler özelinde su ürünleri üretimine bakıldığında ise üretimde özellikle Asya ülkelerinin çok fazla üretim yaptığı açık biçimde gözler önüne serilmektedir. Çin, sektördeki toplam üretim hacminin yaklaşık %35'ini oluşturarak (62,2 milyon ton) öncü konumdadır. Çin'in ardından Dünya su ürünleri üretiminde Endonezya, Hindistan, Vietnam ve Peru en fazla üretim yapan ülkeler olarak görülmektedir.

Tablo 1.2 Ülkeler bazında toplam su ürünleri üretimi (ton)(FAO, 2022)

Ülkeler	2015	2016	2017	2018	2020
Çin	60.135.981	61.605.134	62.198.085	62.207.599	83.713.100
Endonezya	11.070.888	11.495.213	12.307.666	12.668.063	22.170.000
Hindistan	10.103.388	10.876.366	11.711.313	12.386.253	12.351.300
Vietnam	6.322.990	6.648.243	7.136.167	7.481.039	8.034.700
Peru	4.915.025	3.897.164	4.257.871	7.273.415	5.620.000
Rusya	4.609.177	4.932.184	5.049.531	5.308.363	5.008.000
ABD	5.466.360	5.348.349	5.473.700	5.212.754	4.250.000
Bangladeş	3.684.245	3.878.324	4.134.436	4.276.641	4.550.009
Norveç	3.674.709	3.359.975	3.686.996	3.843.920	3.940.400
Japonya	4.109.526	3.876.920	3.821.112	3.773.800	3.130.000
Tayland	2.421.693	2.493.217	2.394.421	2.598.000	1.650.000
Türkiye	670.873	585.657	627.797	625.776	421.411
Diğer	47.482.203	47.462.893	50.213.810	51.198.421	17.129.623
Dünya	164.424.071	166.186.665	172.727.422	178.550.941	177.768.543

Dünyada hem avlama yoluyla avcılık hem de yetiştiricilik yoluyla üretimi yapılan su ürünlerinin yaklaşık %85'i besin maddesi olarak kullanılmaktadır. Arta kalan kısmın neredeyse tamamı yem sanayinde balık unu ve balık yağı şeklinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte ufak bir miktarda ilaç sanayinde tıbbi kullanımda değerlendirilmektedir (FA0, 2020; FAO, 2022).

Tablo 1.3 Dünya su ürünleri tüketimi (milyon ton)(FAO, 2022)

YILLAR	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
İnsan Tüketimi	**136,4**	**140,1**	**144,8**	**148,4**	**148,2**	**152,9**	**156,4**	**158,1**	**155,4**
Gıda Dışı Kullanım	**19,6**	**20,6**	**20,0**	**20,3**	**17,9**	**19,7**	**22,2**	**19,3**	**20,4**

Dünyada 2020 yılında gerçekleştirilen su ürünleri üretimine bakıldığında 177,8 milyon ton olan üretim miktarının yaklaşık %48'i yetiştiricilik yoluyla sağlanmıştır. Yetiştiricilik çıktılarının 33 milyon tonu deniz ve okyanuslardan, 54 milyon tonu ise iç sulardan edinilmiştir. Yetiştiricilik sistemleriyle yapılan üretim miktarlarında Çin'in en fazla paya sahip olan ülke olduğu göze çarpmakta olup, 2020 yılında 70 milyon ton seviyeleriyle yetiştiricilikte liderliği üstlenmiş ve toplam üretim hacminin %58'ini meydana getirmiştir.

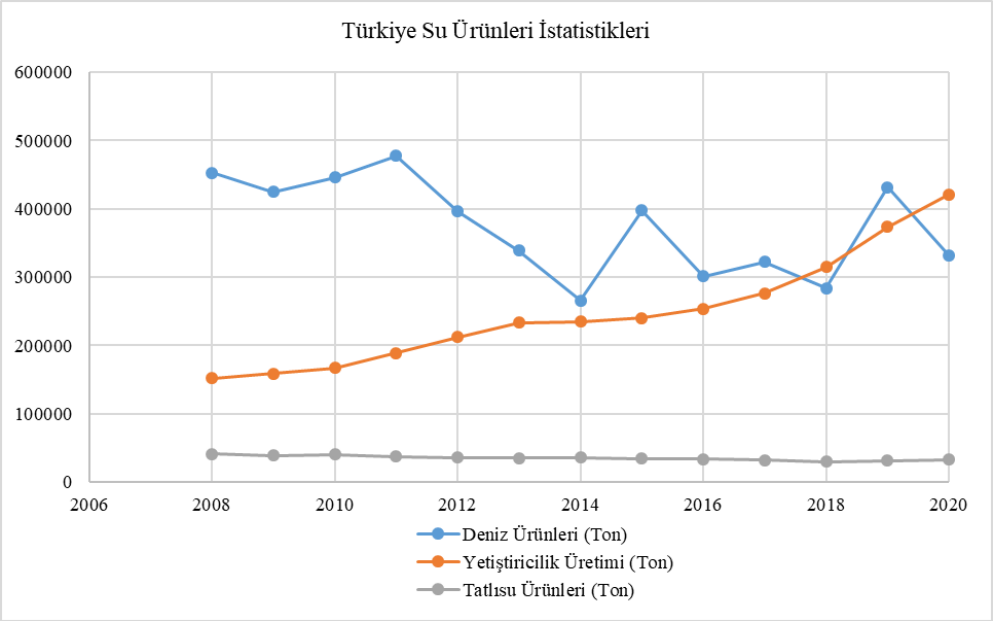
Tablo 1.4 Dünya su ürünleri yetiştiricilik üretimi (ton) (FAO, 2022)

Ülkeler	2015	2016	2017	2018	2020
Çin	43.749.817	45.817.580	46.824.891	47.559.779	70.483.100
Hindistan	5.260.000	5.700.000	6.180.000	7.066.000	8.641.300
Endonezya	4.379.970	4.952.018	5.570.686	5.451.806	14.845.000
Vietnam	3.462.352	3.570.402	3.820.960	4.134.000	4.614.700
Bangladeş	2.060.408	2.203.554	2.333.352	2.405.416	2.583.900
Mısır	1.174.831	1.370.660	1.451.841	1.561.457	1.591.900
Norveç	1.380.839	1.326.157	1.308.485	1.354.941	1.490.400
Şili	1.045.790	1.035.254	1.202.948	1.266.054	1.505.500
Diğer	9.302.252	10.582.355	10.917.066	11.322.400	16.822.700
Dünya	72.812.262	76.557.980	79.610.229	82.121.853	122.578.500

1.2 Türkiye'de Su Ürünleri Üretimi

Türkiye' de su ürünleri üretimi geçmiş yıllarda daha çok avcılık üretimine eğilimli iken, su ürünleri yetiştiriciliğinin üretim içindeki payı her yıl daha fazla artmıştır. Türkiye'de son yıllarda yetiştiricilik alanında gerek bilimsel çalışmalarda gerek yetiştiricilik sistemlerinde gerekse eğitim alanında gelişmeler olmuştur. Denizlerdeki balık çiftliklerinin güncel mevzuatlar ile açık denizlere ve belli şartlardaki sulara taşınması ortam şartlarına özgü yeni uygulamaların kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Buna istinaden kafeslerin özelliklerinde, ağ sistemlerinde, besleme uygulamalarında modern teknolojiler uygulanarak iyileştirmeye gidilmiştir (Bilgüven ve Can, 2018).

2021 yılı TÜİK çıktılarına bakıldığında ülkemizde su ürünleri üretimi 836.524 ton seviyelerinde görülmekte ve üretimin 373.356 tonu yetiştiricilik, 463.168 tonu avcılık vasıtasıyla yapılmıştır. Avlanma vasıtasıyla üretimi yapılan su ürünlerinin 31.596 tonu iç sulardan, 431.572 tonu ise tuzlu sulardan temin edilmiştir. Türkiye, Dünya su ürünleri arzının yaklaşık %0,47'sini üretmektedir.



Grafik 1.2 Türkiye su ürünleri istatistikleri (ton) (TUİK, 2021)

Türkiye'de 2020 yılında yetiştiricilik yoluyla su ürünleri üretimi 2019 yılına göre büyüyerek 421 bin 411 ton büyüklüğünde gerçekleşmiş ve toplam üretimin %50'den fazlasını oluşturmuştur. Yetiştiricilik vasıtasıyla gerçekleştirilen üretimin yaklaşık %70'i denizlerde %30'u iç sularda elde edilmiştir. Ülkemizde yetiştiricilik sektöründe üç ana tür göze çarpmaktadır. Üretiminin neredeyse tamamını oluşturan bu türler alabalık, çipura ve levrektir.

Su ürünleri yetiştiricilik vasıtasıyla elde edilen deniz balıklarının yaklaşık %37'sini levrek, %27'sini çipura, %3'ünü alabalık teşkil etmektedir. İç sulardan elde edilen balıkların ise %97'lik kısmını alabalık teşkil etmektedir.

Tablo 1.5 Türkiye'de su ürünleri yetiştiricilik üretimi türleri (ton) (TUİK, 2021)

Balık türü	**2015**	**2016**	**2017**	**2018**	**2019**	**2020**
Toplam	**240 334,0**	**253 395,0**	**276 502,0**	**314 537,0**	**373 356,0**	**421 411,0**
İç su						
Alabalık (Gökkuşağı)	100 411,0	99 712,0	101 761,0	103 192,0	113 678,0	126 101,0
Alabalık (Salmo sp.)	755,0	1 585,0	1 944,0	1 695,0	2 375,0	1 804,0
Aynalı sazan	206,0	196,0	233,0	212,0	203,0	173,0
Mersin balığı	28,0	6,0	13,0	2,0	-	14,0
Tilapya	12,0	58,0	8,0	12,0	6,0	13,0
Yayın	-	-	8,0	5,0	121,0	92,0
Kurbağa	43,0	44,0	43,0	49,0	43,0	39,0

Deniz						
Alabalık (Gökkuşağı)	6 187,0	4 643,0	4 972,0	9 235,0	9 411,0	18 182,0
Alabalık (Salmo sp.)	685,0	1 073,0	980,0	375,0	281,0	507,0
Çipura	51 844,0	58 254,0	61 090,0	76 680,0	99 730,0	109 749,0
Levrek	75 164,0	80 847,0	99 971,0	116 915,0	137 419,0	148 907,0
Fangri	143,0	225,0	20,0	2,0	5,0	1,0
Antenli mercan	-	-	122,0	74,0	74,0	-
Kırmızı bantlı mercan	-	-	66,0	1,0	-	-
Minekop (Kötek)	61,0	20,0	125,0	30,0	47,0	26,0
Grenyüz (Sarıağız)	2 801,0	2 463,0	697,0	1 486,0	3 375,0	7 428,0
Sinagrit	132,0	43,0	51,0	24,0	27,0	-
Sivri burun karagöz	59,0	2,0	-	-	-	-
Trança	90,0	61,0	107,0	70,0	66,0	-
Orkinos	1 710,0	3 834,0	3 802,0	3 571,0	2 327,0	4 338,0
Midye	3,0	329,0	489,0	907,0	4 168,0	4 037,0
Diğer	-	-	-	-	-	-

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

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) türü benzer şekilde akrabası olan Atlantik salmonu (*Salmo salar*), alp alaları (*Salvelinus* spp.), buzul alası (*Salvelinus alpinus*), buzul tymalusu (*Thymallus arcticus*) gibi pasifik salmon soyuna bağlı olup Salmonidae ailesinin bir üyesi olarak bilinmektedir (Yanık, 2009). Ayrıca orjini Kuzey Amerika olup ülkemizde yetiştiriciliğe 1971 yılında başlanmıştır (FAO, 2019).

Alem: Animalia (Hayvanlar)
Şube: Chordata (Kordalılar)
Sınıf: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)
Takım: Salmoniformes
Familya: Salmonidae (Somongiller)
Cins: Oncorhynchus
Tür: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Gökkuşağı alabalığı; yetersiz çevre koşullarında adaptasyon yeteneğine sahip bir tür olarak göze çarpmaktadır. Ancak genel olarak serin, temiz ve çözünmüş oksijen miktarı yüksek tatlı akarsularda yaşamaktadırlar. Günümüzde hem tatlı sularda hem de açık denizlerde ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılmaktadır (Tidwell, 2012; Yiğit ve Aral 1999). Adaptasyon yeteneği, düşük yem dönüşüm oranlarının yakalanabilmesi,

hastalıklara karşı nispeten daha dirençli olması, alabalık yetiştiriciliğini tercih sebebi yapmaktadır (Lindhors-Emme, 1990).

Gökkuşağı alabalığının ortalama 18°C su sıcaklığında optimum şekilde büyüme gerçekleştirdiği göze çarpmaktadır. Bununla birlikte su sıcaklığının 1°C'den daha az ve 25°C' den fazla olduğu durumlarda yoğun ölümler görülmektedir. Gökkuşağı alabalığı için çözünmüş oksijen seviyesinin 6 mg/l' den fazla ve suyun pH' ının 6-8,5 seviyelerinde optimum olduğu bildirilmiştir (Pennell ve Barton, 1996).

1.4 Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum* L.)

Çemen otu ismiyle bilinen Fabaceae familyasının üyelerinden biri olan Trigonella türlerinin dünyada geniş bir alana yayılmış olduğu ve gerek tarihin uzak dönemlerinde gerekse günümüzde yaygın kullanımının olduğu bilinmektedir. Çemen otunun tür adı olarak bilinen *foenum-graecum* "Yunan otu" anlamı taşımaktadır. *Trigonella foenum-graecum* L. (Leguminosae) geçmişi çok eskiye dayanan bir kültür bitkisi olarak bilinmektedir. Genel olarak Avrupa' nın güneydoğusu ve Asya' nın batısında görülmekle birlikte, Akdeniz havzası, Afrika'nın kuzeyi ve Hindistan bölgelerinde de uzun süredir var olduğu bilinmektedir (Sulieman vd., 2008). Ülkemizde ise iç Anadolu ve çevresi ile Kahramanmaraş, Şanlıurfa ve Hatay'da yetiştirildiği görülmüştür (Özdemir ve Gürbüz, 1998).

Çemen bitkisi genel olarak baharat niteliği taşımasıyla bilinmekle birlikte çok eski tarihlerden beri dünyada çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Özellikle çemen otunun tohumları olmakla birlikte vejetatif kısımları da geniş bir alanda kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı, baharat olarak, zirai ilaç olarak ve parfüm üretim endüstrisi de dahil olmak üzere birçok alanda kullanımı mevcuttur (Baldemir ve İlgün, 2015).

Çemen otunun un haline getirilmiş tohumunun işlenmeden kullanılması insan sağlığı üzerinde etkili olduğu gibi sapının ince olması ve doğaya çabuk karışması sebebiyle tercih edilebilir bir doğal gübre olarak karşımıza çıkmaktadır (Gökçe ve Efe, 2016). Bununla birlikte hayvan sağlığı ve beslenmesi üzerine de kullanımının etkilerinin araştırıldığında tatmin edici sonuçlar alındığı görülmektedir.

Yapılmış olan klinik deneyler, kullanım alanlarının genişliği ve sağlık ile beslenme alanında önem arz eden bir yere sahip olmasıyla çemen otu önemli bir tıbbi aromatik bitkidir.



Fotoğraf 1.1 Çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.)(Alm, 2002)

1.5 Defne (*Laurus nobilis*)

Lauraceae familyasına ait olan Defne (*Laurus nobilis*), Türkiye ve dünyada en çok bilinen ve en önde gelen aromatik bitkilerden birisi olup ekonomik değeri oldukça yüksektir. En fazla yaprakları kullanılan defne, kullanım alanları açısından çok geniş bir etki alanına sahip olup baharat, sabun, yağ, vücut losyonu ve ilaç sanayiinde büyük önem arz etmektedir. Bununla birlikte antimikrobiyal özellikleri de bilinen defne, gıda koruyucu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Yılmaz ve Çiftçi, 2021). İnsan sağlığı üzerine de birçok bilimsel çalışma yapılmış olup tıbbi olarak kullanıma sunulmuştur.

Antik çağlardan beri daha çok Akdeniz'deki bütün sahil bölgelerinde görülmüş olup, Türkiye başta olmak üzere neredeyse tüm Akdeniz ülkelerinde dağılım göstermektedir. Diğer taraftan bazı Karadeniz ülkelerinde ve Libya, Arnavutluk, Suriye ve Batı Akdeniz havzasında dağılım göstermektedir (Ayanoğlu vd., 2010).

Dünyada çok geniş bir pazar payına sahip olmakla birlikte, defne üretiminin yaklaşık %90 kadarını ülkemiz karşılamaktadır. Bu yönüyle bakıldığında öneminin kat kat arttığı görülmekte ve potansiyelinden en fazla fayda sağlamak için bilimsel ve ekonomik çalışmaların arttırılmasının aşikar olduğu görülmektedir.

Ülkemizde hem Akdeniz hem de Karadeniz'de yoğun olarak üretimi yapılan defne bitkisinin, doğadan toplanması dışında henüz kültüre alınması ile ilgili bir çalışma yoktur. Her bölgeden toplanan genç sürgünlerin dış ticaretteki yeri büyük önem arz etmektedir. Bu yüzden spesifik defne genotiplerinin ıslah çalışmalarının yapılması ve yoğun şekilde doğal tahribata uğrayan ve geleceği tehdit altında olan bitkinin korunması gerekmektedir. Kullanım alanlarının genişliği, insan sağlığı üzerindeki etkisi ve ekonomik değeri düşünüldüğünde defne önemli tıbbi aromatik bitkilerin başında yer almaktadır.



Fotoğraf 1.2 Defne (*Laurus nobilis*)(Özgün)

1.6 Siyah Hardal (Brassica nigra)

Brassicaceae familyasından bir tür olan siyah hardal (*Brassica nigra*), ailenin diğer üyelerindeki türlerden farklı olarak içeriğindeki uçucu yağlar ile kuvvetli antimikrobiyal özellikler göstemektedir (Coşkun, 2006).

Siyah hardalın vejetatif bölgelerinden daha çok tohumları ilaç endüstrisinde yoğun şekilde kullanılmaktadır. Özellikle deri yüzeyine uygulandığında ağrı kesici etkisi olduğu bilinmekle birlikte yoğun kullanımında tahriş edici etkileri olduğu toplumsal kullanımda görülmektedir. Siyah hardalın vejetatif kısımları ise daha çok gıda olarak tüketilmektedir. Genellikle baharat olarak bilinen 40 farklı türü vardır. Siyah hardal familyaya ait olan en acı tür olarak göze çarpmaktadır.

Siyah hardalın ayrı bir kullanım alanı da biyodizel üretimidir. Farklı tür bitkilerin hasadı esnasında genelde istenmeyen tür olarak karşı karşıya kalınan siyah hardalın tohumundan çıkarılmış olan yağ ile biyodizel üretiminin yapılmasının mümkün olduğu bilinmektedir (Altuntaş, 2006).

Birçok kullanım alanı ile birlikte siyah hardalın özellikle tohumlarının ilaç sanayiinde, gıda olarak ve endüstrideki yeri göz önüne alındığında, üzerinde daha fazla çalışılması gereken bir aromatik bitki olduğu görülmektedir.



Fotoğraf 1.3 Siyah hardal (*Brassica nigra*)(Zafar vd., 2020)

1.7 Balıklarda Bağışıklık Sistemi

Balıklarda hastalıklarla mücadelede önleyici tedavi çalışmalarında balığın immün sistemi büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle balığın bağışıklık sistemi üzerinde özenle durulması gereken ana husustur (Bozkurt ve Eren, 2009).

Balıklarda sıcakkanlı canlılarda bulunan lenf yumruları ve kemik iliği bulunamamaktadır. Bunun yerine bağışıklık sisteminde bazı temel organlar yer almaktadır. Bunlar timüs, böbrek, dalak, karaciğer ve bağırsaklar ile ilgili lenfoid dokular olarak sıralanabilir (Dörücü ve Karaman, 2017). Balıklarda bağışıklık sistemi ile ilgili yapılan birçok çalışma olmakla birlikte primer bağışıklık organları timüs, böbrek, dalak olarak belirtilmiş, sekonder bağışıklık organları da karaciğer, deri ve bağırsaklar olarak açıklanmıştır (Ocak, 2006).

Balıklarda bağışıklık sisteminin temel görevi bakteriyel ve viral hastalıklara karşı organizmayı korumaktır.

1.7.1 Doğal Bağışıklık (Spesifik Olmayan İmmün Yanıt)

Doğal immün sistemi, doğuştan var olan bir savunma mekanizması olarak çalışmaktadır. Doğal bağışıklık sistemi organizmaya dışarıdan bir hastalık etkeni girdiğinde birincil olarak savunma cevabı geliştiren sistemdir. Bu sistem homeostaz dengelerin korunmasında ve edinsel bağışıklık yanıtının oluşturulmasında belirleyici görev üstlenir (Magnadottir, 2006).

Doğal bağışıklık, kazanılmış bağışıklıktan bazı yönleriyle ayrılmaktadır. Spesifik olmayan bağışıklık sisteminin en temel özelliği ikinci kez antijeni hatırlamaması olarak bilinmektedir. Hücresel ve sıvısal savunma sistemlerinin bir araya gelmesiyle doğal bağışıklık mekanizması oluşur. Spesifik olmayan bağışıklık sistemi, patojenleri bakteriyel DNA ve çift zincirli viral RNA gibi mikroorganizmaların muhafaza edilmiş molekül yapılarından belirleyerek veya bazı spesifikleşmiş hücrelerin mikroorganizma ile etkileşimleriyle ifade ederek harekete geçmektedir. Bu özelliği ile spesifik immün mekanizmadan ayrılmaktadır (Reyes-Cerpa vd., 2012).

1.7.2 Kazanılmış Bağışıklık (Spesifik İmmün Yanıt)

Spesifik bağışıklık sistemi harikulade bir hafızaya ve özgüllüğe sahiptir. Hastalık yapıcı bir patojen doğal bağışıklık sistemini aştığı takdirde spesifik immün yanıt aktivasyona başlar ve edinsel bağışıklığın spesifik lenfositleri antijene karşı klonal olarak genişler. Sistem bir sonraki patojen karşılaşmasında çok hızlı ve tesirli bağışıklık tepkisi gösterir.

Edinsel immün yanıt iki mekanizma altında değerlendirilmektedir. Bunlardan biri humoral (hücresel olmayan) immün yanıt ve diğeri hücresel (sellüler) immün yanıttır (Manning ve Nakanishi, 1996).

Humoral bağışıklık; glikoprotein yapıda olan antikor molekülü immunoglobulinler (Ig) ile ilgili immün yanıt mekanizması olarak tanımlanmış ve kemikli balıklarda IgM, IgD ve IgT, kıkırdaklı balıklarda ise IgM olarak belirtilmiştir. (Candan ve Karataş 2010; Roberts, 2001). Humoral bağışıklık yanıtı B lenfositlerin tetiklenmesinden sonra antikor oluşumuyla neticelenmektedir. Plazma hücreleri antijene karşı spesifik bağışıklık gerçekleştiren bellek hücrelerine dönüşür. Aynı antijenin tekrar organizmaya girmesi halinde ise plazma hücrelerine dönüşürler. T lenfositler ise yardımcı hücreler olarak isimlendirilirler. T klonları ilk olarak antijen ile uyarıldıktan sonra uzun süre aktif halde kalabilen bellek hücreleri olarak görev yaparlar. İkinci bir uyaran olduğu takdirde sayıları artarak B bellek hücreleri ile iş birliği halinde çalışırlar. Böylece tekrar uyarılma durumunda antikor üretimi daha fazla ve daha hızlı olur (Ellis, 1988).

Sellüler savunma; öncelikle sitotoksik T lenfositler ile birlikte farklı efektör hücrelerin etkin hale geçmesi ile sonuçlanan bağışıklık mekanizmasıdır (Diker, 2005; Stoskopf, 1993). Bu şekilde enzim aktivitesi ve gen ekspresyonu da artmaktadır. Hücresel yanıt bazı T lenfositlerin tetiklenmesi neticesinde gelişir ve geniş bir alanı içine alarak istilacı mikroorganizmaları fagositoz yoluyla sindirip vücudun doğal bağışıklığını oluşturan makrofajların oluşturulmasını sağlar. Bunula birlikte makrofajlar özel olarak bir antijeni değil tüm antijenleri yutar ve T lenfositlere antijen arz eder. T lenfositler

lenfokin oluşturan ve önleyici etken (supresör) hücrelere tahavvül etmektedir (Candan ve Karataş 2010).

1.7.3 Balıklarda Bağışıklık Sisteminde Yer Alan Bazı Sitokinlerin İşlevleri

Sitokinler, canlıların hücreleri aracılığıyla üretilen, düşük molekül ağırlığına sahip olan, organizmanın hem yaşamsal süreçlerinde hem de diğer hücreleri aktifleştirme de görev almak için salgılanan glikoproteinlerdir (Reyse-Cerpa vd., 2012). En önemli özellikleri immün mekanizmanın düzenlenmesinde görev almalarıdır. Balıklarda birçok sitokin görev almaktadır. Bağışıklık mekanizmasına bakıldığında enflamasyonda görev alan sitokinler proenflamatuvar, enflamasyonu baskılama görevi olan sitokinler ise antienflamatuvar isimleriyle bilinirler. Enflamasyonda görev alan sitokinler aynı zamanda hücrelerin enflamasyondan olumsuz etkilenmesini de engelleyebilirler (Verburg-Van Kemenade vd., 2009).

Sitokinler hem spesifik, hem de spesifik olmayan bağışıklık mekanizmasını modüle edebilir. Örneğin, sitokinlerin enfeksiyon bölgesindeki oluşumların üzerindeki etkisi, lokal ve yeni gelen fagositlerin, enflamasyon sinyallerinin modülasyonu ile istilacı patojenleri ortadan kaldırma kapasitesini düzenleyici şeklindedir.

Bağışıklıkla ilgili sitokinlerin temel metabolik görevleri içinde hem hücresel hem de humoral immün yanıtlarının düzenlenmesi, inflamatuar yanıtların indüksiyonu, hematopoez düzenlenmesi, hücresel çoğalma ve farklılaşmanın kontrolü, yara iyileşmesinin indüksiyonu vardır (Tzianabos ve Wetzler, 2004).

Sitokinler temel olarak salgılandıkları bölgede aktivite gösterirken bazı durumlarda (IL-1 ve TNFα gibi) hedef hücrelere ulaşabilmek için kan akımı yoluyla da taşınabilirler (Hamblin, 1993). Ayrıca birbirlerinin üretimini baskılayabildikleri gibi indükleyebilirler. Birbirleri üzerinde sinerjetik ve antagonistic etkileri mevcuttur.

Bağışıklık tepkisini uyarma veya inhibe etme yetenekleri göz önüne alındığında, sitokinleri iki gruba ayırmak mümkündür:

Pro-enflamatuar sitokinler; TNF-α, IFNy ve IL-1β gibi pro-enflamatuar sitokinler, bağışıklık hücrelerinin antimikrobiyal fonksiyonlarını arttırarak ve patojen klirensini kolaylaştırarak enflamatuar süreçleri pozitif regüle eder. Her ne kadar öncelikle patojenlere karşı etkili savunmanın başlatılmasından sorumlu olsalar da, aşırı üretimleri zararlı olabilir ve sonuçta şok, çoklu organ yetmezliği ve ölüme yol açabilir.

Anti-enflamatuar sitokinler; TGF-β ve IL-10 gibi anti-enflamatuar sitokinler, enflamatuar süreçleri negatif regüle eder ve hücre fonksiyonlarını doku onarım mekanizmalarına yönlendirir. Bu sitokinler, ağırlaştırılmış enflamatuar süreci susturmak ve uygun organ fonksiyonu için homoeostazı sürdürmek için çok önemlidir (Gerard vd., 1993; Howard vd., 1993). Öte yandan, aşırı anti-enflamatuar yanıt da vücut bağışıklık fonksiyonunun baskılanmasına neden olabilir (Bone, 1996; Fisher vd., 1996).

1.7.3.1 İnterlökin-1β (IL-1β)

IL-1β, çok çeşitli hücre tipleri tarafından üretilebilen, inflamasyon sırasında karmaşık bir mekanizma ile düzenlenen enfeksiyon veya yaralanma durumunda canlının doğal bağışıklık sistemini aktif eden kuvvetli bir proenflamatuvar sitokindir (Eder, 2009).

Hedef hücreler üzerindeki doğrudan etkisine ek olarak IL-1β uyarımı, enfeksiyon bölgelerindeki hücrelerde kemokin üretimini arttırır. İmmün regülasyondaki rollerine ek olarak, IL-1β diğer fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde de rol oynar.

IL-1β, temel anlamda monositler ve etkin duruma geçmiş makrofajlar gibi farklı hücre tipleri vasıtasıyla üretilir ve hemen hemen bütün hücrelere tesir ederler (Reis vd., 2012). IL-1β etkinliği, etki edeceği hücredeki reseptöre bağlanarak başlar. Bu olay yeni genlerin etkinleşmesini ve protein modifikasyonunu harekete geçirir (Scapigliati vd., 2004).

IL-1β ilk üretildiğinde pasif formdadır. Metabolizmada etkin role bürünebilmesi için IL-1β'yı aktive eden enzim olan kaspaz 1 enzimi ile kesilmesi şarttır (Engelsma vd., 2002). Farklı balık türleri için kaspaz 1'in farklı kesme alanları olduğu literatürde bildirilmektedir (Secombes vd., 2011).

1.7.3.2 Transforming growth factor β (TGF-β)

TGF-β; lenfositler, antijen sunan hücreler, doğal yok edici hücreler, makrofajlar ve granülositler gibi birçok lökosit kökenli hücre gelişimini, farklılaşmasını, yer değiştirmesini ve hayatta kalmasını sağlayan bir sitokindir (Li ve Flavell, 2008; Li ve Wan, 2006).

Kemikli balıklarda, TGF- β 'nın fonksiyonel görevi hususunda detaylı bir çalışma olmamasına karşın, birçok yeni araştırma TGF-β'nın memelilerde olduğu gibi balıklarda da aktif lökositler üzerinde kevvetli bir immün baskılayıcı (immünsüpresyon) tesiri olduğunu belirlemiştir. (Kadowaki vd., 2009).

Bu bulgular; TGF- β'nın kemikli balıklarda sadece bir bağışıklık düzenleyici görevi olmadığını göstermektedir.

1.7.3.3 Tümör nekrozis faktör-α (TNF-α)

TNF'ler asıl olarak bağışıklık tepkilerde ve enflamatuar reaksiyonlar esnasında hücre öldürme gibi hücresel regülasyonlarda görev alır (Gruss, 1996).

TNF-α, inflamasyona neden olmadan istenmeyen hasarlı hücreleri yok etmeyi uyarıcı, enfekte hücreleri öldürme, hücre içi hastalığa neden olan organizmanın eşlenmesini önleme ve çeşitli organizma yanıt genlerini düzenleme gibi güçlü anti-mikrobik fonksiyonlara aracılık etme gibi görevleri olan ve patojenlere yanıt olarak ortaya çıkan (Kinoshita vd., 2014) bir sitokindir.

Balıklarda, tümör nekroz faktörleri, bir hayli fazla araştırılan sitokinlerden biridir (Goetz vd., 2004). Sucul organizmalarda bildirilen ilk TNFα geni, Japon pisi balığında (*Paralicthys olivaceus*) olarak belirtilmiştir (Hirono vd., 2000).

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar, TNF-α genlerinin çoklu izoformları olduğunu ortaya koymuştur (Zou vd., 2002).

Pro-inflamatuar bir sitokin olarak TNF-α, balıklarda hastalığın erken döneminde ifade edilen bağışıklık genlerinden biridir ve iltihaplanmanın düzenlenmesinde etkili rol oynamaktadır.

Balıklarda TNF-α ve IL-1 sitokinleri benzer tesirler göstermektedir. Ayrıca IL-1 sitokinleri ile ortak çalışarak mukozal hücreleri uyarır ve mukus salgılanmasını da sağlar (Buchmann, 1999). IL-1β gibi benzer şekilde ortam stresine karşı TNF-α ekspresyonunun çoğaldığı tespit edilmiştir (Özdemir vd., 2018). Bununla birlikte proenflamatuvar sitokinlerin uyarılmasında streste ciddi bir etmendir.

1.7.3.4 İnterferon tip I (IFN-I)

Tip I IFN'ler, antiviral savunmaların aktivasyonu ve anti-proliferatif etkiler dahil olmak üzere çeşitli bağışıklık işlevlerine sahiptir (Altmann vd., 2003). Teleost balıklarda, grup I ve II IFN'ler olmak üzere iki veya dört sistein içeren alt gruplara sahiptir. Genel olarak grup I IFN görülürken grup II IFN'lerin belirli türlerle sınırlı olduğu bildirilmektedir. (Zou vd., 2014).

Balık IFN genleri, genomda, DNA üzerinde fiziksel özel bir konum olan lokuslarda kümelenmiş olarak tespit edilmiştir (Sun vd., 2009). Balıklardaki IFN genlerinin sayısı türler arasında önemli farklılıklar göstermesine karşın, tüm çeneli omurgalılar içinde en yüksek gen kopya sayısına sahip olan salmonidlerdir (Long vd., 2006).

IFN-I, tüm virüs tiplerine olmasa da bazılarına karşı konakçı hücrelerin direncini arttırmaktadır. Örneğin, IFN-I'in , Enfeksiyöz Pankreatik Nekroz Virüsüne (IPNV, bir çift sarmallı RNA virüsü) karşı hücre korumasını arttırmada etkiliolduğu saptanmışken, şaşırtıcı bir şekilde Bulaşıcı Somon Anemi Virüsüne (ISAV, tek sarmallı bir RNA virüsü) karşı nispeten etkisiz olduğu bildirilmiştir (Kileng vd., 2007; Svingerud vd., 2013).

1.8 Bağışıklık Sistemi Üzerine Etki Eden Faktörler

Bağışıklık sistemi üzerine etki eden faktörler çeşitli şekilde sınıflandırılabilir. Genel olarak bakıldığında balıklarda bağışıklık sistemine etki eden faktörler biyotik ve

abiyotik olmak üzere iki ana başlıkta sınıflandırılmaktadır (Yürüten Özdemir, 2018). Stres, balıklarda bağışıklık sistemini etkileyen temel faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Balığın yaşadığı ortam koşulları stresi artıran en önemli faktördür. Sucul canlıların yaşadığı ortam itibariyle çevresel faktörlerden ve stres faktörüyle veya ortaya çıkan veya ortamda bulunan patojen mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyöz hastalıklardan karasal canlılara nazaran çok daha fazla etkilenmektedirler. Özellikle ortam koşulları nedeniyle (sıcaklık, tuzluluk, pH, ışık şiddeti) birincil stres kaynağı olmakla birlikte, kirlilik başta olmak üzere suni faktörler de stresi etkilemektedir. Stres altındaki balıkların hem spesifik immün mekanizmaları, hem de spesifik olmayan immün sistemleri baskılanarak hastalığa açık hale gelmektedirler. Bunlarla birlikte bağışıklık yanıtın balığın beslenmesi ile doğrudan ilişkili olduğu da bildirilmektedir (Ellis, 1988). Gerek balığın beslenme şekline göre gerekse balığın boyuna göre uygun yem rasyonu oluşturmak önemlidir. Çünkü her balık türünün ve boyunun yem ihtiyacı hem yemin içeriği açısından hem de yemin boyutu açısından farklılık göstermektedir.

Balıklarda hastalığın oluşması için patojen ve konağın olması tam anlamıyla yeterli değildir. Eğer balığın biyolojisine uygun çevresel koşullar mevcut ise ve doğru şekilde besleme uygulamaları hayata geçirildiyse bağışıklık sistemi etkin olarak çalışacak ve balığı patojen mikroorganizmaların olumsuz etkilerinden koruyacaktır. Fakat patojen, konakçı ve strese yol açacak çevresel faktörlerin varlığında hastalığın oluşması ve kayıplar verilmesi yadsınamaz bir gerçektir. Tüm bu etkenlerle birlikte gelişen teknolojik koşullar ve ticari kaygılar ile maksimum stok yoğunluğuna erişilmek istenmesi ve bunun için çok çeşitli uygulamalar yapılması stresi etkileyen başka bir aktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Teknolojik koşullar değişse de balığın biyolojisinin değişmediği göz önünde bulundurularak stok yoğunluğuna bağlı stres faktörüne azami özen gösterilmelidir. Ancak ticari olarak düşünüldüğünde bunun çok mümkün olmaması işletmeleri immünostimülant kullanmaya yönlendirmiştir. Tüm faktörlerle birlikte günümüzde aktif kullanılan en uygun immünostimülantlar ise tıbbi aromatik bitkiler olarak karşımıza çıkmakta ve uygun dozda kullanıldığında optimum etkinin alınabileceği unutulmamalıdır.

1.9 Tıbbi Bitkilerin Balıklarda Bağışıklık Uyarıcı Olarak Kullanımı

İmmün uyarıcılar esas olarak fagositik hücrelerin işlevini kolaylaştırır, bakterisidal aktivitelerini arttırır ve bulaşıcı hastalıklardan gelişmiş koruma sağlayan balık ve kabuklu deniz hayvanlarında doğal öldürücü hücreleri, tamamlayıcı, lizozim aktivitesini ve antikor tepkilerini uyarır (Harikrishnan vd., 2011).

Günümüzde özellikle bitki yağı ve bitki özütü gibi çeşitli immünostimülantların balık yemlerine eklenmesiyle çevresel ve suni faktörlerden kaynaklanan hastalıkların minimum düzeye indirilmesi mümkündür. Tıbbi ve aromatik bitkiler, diğer bağışıklık uyarıcılara nazaran daha az yan etki ve toksisiteye neden olmadan hem tedavi hem de bakteriyel hastalıklarla mücadelede daha etkili ve ucuz bir kaynak olduklarından dolayı için akuakültürde daha çok kullanılmaktadır (Madhuri vd., 2012). Ancak uygun olmayan konsantrasyonlarda kullanılan bitkisel bağışıklık uyarıcılar balıklarda toksisiteye neden olabilmektedir.

Çeşitli antibiyotik ve kimyasal uygulamaları su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıkların tedavisi ve önlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak antibiyotiklerin uygun olmayan dozajda ve devamlı kullanılması antibiyotiğe mukavemetli bakteriler geliştirmesiyle birlikte, çevresel sorunlara neden olmakta ve organizmadan atılamaması problemlerine yol açmaktadır (Ringo vd., 2010). Antibiyotikler ve kullanılan çeşitli ilaçların kalıntı bırakmasının insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olacağı kaçınılmazdır.

Günümüzde sentetik ilaçların da kullanımına rastlanmakla birlikte, kimyasal olan bu ürünlerin bazıları toksik etki göstermekte ve solungaçları, deriyi, karaciğeri tehlikeye sokmakta ve bununla birlikte hem kirletici olarak rol oynarken hem de insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır (Malheiros vd., 2016). Kullanılan antibiyotikler ve sentetik ilaçların çok pahalı olması da ayrıca bir sorun teşkil etmekte ve alternatif bağışıklık uyarıcılara yönelmeyi zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle tıbbi bitkilere yönelim son zamanlarda çok fazla görülmektedir.

Aşıların kullanımı da yaygın şekilde görülmekle birlikte aşının sadece ilgili patojene karşı etkili olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca aşılama işlemi maliyet ve zaman açısından

sorun oluşturmakta ve işletmeler açısından verimi düşürdüğü düşünülmektedir. Bu bağlamda aşıların hastalık amiline özel olması ve aşının tesirli olması için en uygun koşulların sağlanmasındaki zorluklardan ötürü dezavantajları fazladır. Bu dezavantajlar göz önüne alındığında balık hastalıklarının kontrolünü yalnız aşılarla sağlamakta mümkün görülmemektedir.

Hem dünyada hem de ülkemizde birçok tıbbi bitkil hem doğal olarak yetişmekte hem de kültür ortamında üretimi yapılmaktadır. Bu bitkiler insanlar ve hayvanlar üzerinde tedavi edici şekilde kullanıldığı gibi balık hastalıklarının tedavi edilmesinde de etkili olduğu ve yoğun şekilde uygulanmaya başlandığı bildirilmektedir (Ahmad ve Tawwa, 2011; Awad, 2010; Bilen ve Bilen, 2012; Cho vd., 2007; Diab vd., 2008; Dügenci ve Candan, 2003; Dügenci vd., 2003; Goda, 2008; Sarıeyyüpoğlu ve Köksal; 1995; Shalaby vd., 2006; Xie vd., 2008). Bu tıbbi bitkilere örnek olarak çemen (*Trigonella foenum graecum*), defne (*Laurus nobilis*), siyah hardal *(Brassica nigra)*, ısırgan (*Urtica dioica*), ışgın (*Rheum ribes*), sarımsak (*Allium satvium*), sumak (*Rhus coriaria*), oğul otu (*Melissa officinalis*), kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), çakşır otu (*Ferula meifolia*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), çörek otu (*Nigella sativa*), ginseng (*Panax quinquefolius*), zencefil (*Zingiber officinalis*), pelin otu (*Artemisia absinthium*), at kestanesi (*Aesculus hippocastanum*), eğrelti otu (*Aspidium filix-mas*), kimyon (*Cuminum cyminum*), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*), ökseotu (*Viscum album*), zeytin yaprağı (*Olea europaea*), yeşil çay (*Paralichthys olivaceus*), solucan otu (*Tanacetum vulgare*), menengiç (*Pistacia terebinthus*), semiz otu (*Portulaca oleracea*) gösterilebilir. Bitki özütlerinin balık yemlerine ek olarak oral yoldan verilmesi balıklarda immün cevapları arttırmıştır (Kaleeswaran vd., 2010).

Balıklarda bağışıklık yanıtını arttırmak, hastalıklara karşı hayatta kalma oranını maksimuma çıkarmak ve yem değerlendirme oranını (YDO) azaltmak için birçok yem katkı maddesi kullanılmaktadır. Dünyada ve ülkemizde genel eğilim, antibiyotik, aşı ve sentetik ilaçların kullanımını asgariye düşürmek için şifalı bitkileri kullanmaktır. Gerek kolay temin edilebilir olmaları gerekse ucuz olmaları ve kalıntı bırakmamalarının bunda en etkili faktörler olduğu aşikardır. Ayrıca birden fazla etkiye

sahip oldukları düşünüldüğünde, yakın gelecekte balık yetiştiriciliğinde en önemli role sahip bağışıklık güçlendirici olacakları görülmektedir.

1.10 *Aeromonas salmonicida*

Aeromonadaceae familyasına dahil olan *Aeromonas salmonicida* (Colwell vd., 1986), su ürünleri yetiştiriciliğinde sorunlara neden olduğu bilinen en önemli gram-negatif, spor oluşturmayan ve hareketsiz patojenlerinden biri olup ailenin tek psikrofilik üyesidir. Tamamen konağa bağlı olan *Aeromonas salmonicida* konak dışında yaşamsal faaliyetlerini yürütememektedir (Austin, 1997).

Aeromonas salmonicida, balıkların klinik olarak semptom göstermesini takiben özellikle böbrek dokularından, yüzey lezyonlarından, kanlarından ve diğer organ dokularından izole edilebilmektedir.

Aeromonas salmonicida patojeni ile enfekte olmuş balıklarda tipik furunkülozis hastalığı görülmektedir. Furunkülozis hastalığı son yıllarda deniz balıklarında da teşhis edilmiş olsa da tatlı su balıklarında görülen tipik bir hastalık olarak bilinmektedir (Roberts, 2001; Woo ve Bruno, 1999).

Furunkülozis hastalığına yakalanan balık türleri içerisinde alabalık türlerinin patojene oldukça duyarlı oldukları bilinmekle birlikte, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hastalığa karşı diğer alabalık türlerine nazaran daha dirençlidir (Woo ve Bruno, 1999).

Hastalığın meydana gelmesinde birçok faktör etkilidir. Bunların başında stok yoğunluğu, balığın yaşı, balıktaki diğer mikroorganizmalardan kaynaklı lezyonlar, hastalığa karşı direnç durumu, balığın beslenmesi ve bakımı ve suyun fiziksel ve kimyasal parametreleri gösterilebilir. Ayrıca suda meydana gelen ani ısı değişimleri de hastalığın yayılmasında ve etkili olmasında önemli bir faktördür (Woo ve Bruno, 1999).

Uzun yıllardan beri üzerinde birçok çalışma yapılan furunkülozis hastalığı ile ilgili günümüzde hala yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Hastalığın oluşum mekanizmasında

salgılanan ekzotoksinler (Gliserofosfolipid:kolesterol asiltransferaz ve Ekstrasellüler Proteaz) ile bakterinin içerdiği bileşenlerin ciddi görev üstlendiği bildirilmiştir (Ellis vd., 1997; Garduno ve Kay, 1992; Kay ve Trust, 1991; Lee ve Ellis, 1990; Lee ve Ellis, 1991; Lund vd., 2003).

Furunkülozis hastalığına yakalanan balıklarda iştahsızlık, tank çıkışına toplanma, yüzgeç diplerinde ve solungaçlarda görülen hemoraji, deri ve kaslarda kabarıklık ve fronküller, ekzoftalmus, anal bölgede akıntı, karaciğerde hemoraji, dalakta anormal büyüme ve böbrekte nekrozlar başlıca görülen semptomlardandır. Enfekte olmuş olan balıkların iç organlarında yangısız bakteri kümeleri de görülmektedir; (Bricknell vd., 1996; Ribelin ve Migaki, 1975). Antibiyogram testi sonucunda uygun tedavi yapılmaktadır. Korunma amaçlı aşılama uygulamalarıyla birlikte tıbbi bitki kullanılarak korunmakta proaktif yöntemler arasında gösterilmektedir.

1.11 *Vibrio anguillarum*

Vibrionaceae ailesinden *Vibrio anguillarum*, vibriozis hastalığına sebep olan ve Vibrio üst sınıfı içinde en fazla izole edilen bakteriyel patojenlerden biridir. (Egidius, 1987; Haastein ve Holt 1972; Kitao vd. 1983). Gram-negatif bir bakteri olan *Vibrio anguillarum* sporsuz, hareketli, genelde virgüle benzer fakat çubuksu yapıda da görülebilmektedir. Halofilik bir bakteri olarak bilinse de tatlı su balıklarında da hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (Öztürk ve Altınok, 2014).

Balıklarda hastalık oluşturan birçok vibrio türü vardır ve bunların oluşturdukları hastalıklar farklı isimlerle sınıflandırılmışlardır. Tuzlu Su Furunkülozisi (Salt Water Furunculusis) Kızıl Hastalığı (Red Disease), Kızıl Çıban (Red Boil Disease) ve Kızıl Veba (Red Pest) bunların bazıları olarak göze çarpmaktadır. Vibrio üst sınıfı içerisindeki türlerin meydana getirdiği bu hastalıkların tamamı genel olarak günümüzde vibriozis olarak adlandırılmaktadır (Egidius 1987; Giorgetti ve Ceshia 1982; Larsen vd., 1994). Ülkemizde ilk olarak 1993 yılında deniz balıklarından biri olan çipurada (*Sparus aurata*) görülen bu hastalık (Candan 1993), daha sonra da birçok deniz balığından bildirilmiş olup, yakın geçmişte alabalıklardan da bildirilmiştir (Tanrıkul 2007; Timur ve Korun 2004).

Teşhisi yapılırken tiyosülfat sitrat safra tuzu sukroz agar (TCBS) kullanılmakta ve sonucunda sarı koloniler oluşturarak farklılaşmakta ve izolasyonu yapılmaktadır. Diğer besi yerlerinden izolasyonu yapılmak istendiğinde krem renginde, yuvarlak beyaz renkte veya parlak kümeler şeklinde görülebilmektedir (Timur ve Korun 2004). Tedavisi çeşitli antibiyotiklerle yapıldığı gibi, proaktif yöntemlerden biri olan aşılama da yapılmaktadır. Ayrıca tıbbi bitki kullanımı da korunma amaçlı olarak günümüzde sıkça başvurulan yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Su sıcaklığı başta olmak üzere birçok faktör hastalığın oluşmasında etkilidir. Fakat çözünmüş oksijenin düşüklüğü, suların 13-16 ^{o}C civarında olması ve aşırı kirlilik halinde vibriozis hastalığının baş gösterdiği belirtilmektedir (Hoff 1989). Klinik bulguları arasında iştahsızlık, deri renginin koyulaşması, anüs ve yüzgeç diplerinde kanlanma, iç organlarda hemorajiler, dalakta büyüme, peritonda peteşiler ve ekzoftalmus gösterilebilir. Bulaşma yolları çok çeşitli olabildiği gibi en çok bilinenler enfekte yemlerin oral yolla alınması (Giorgetti ve Ceschia 1982) ve belirti gösteren balıkların birbiriyle teması gösterilebilir (Kanno vd., 1989). Vibriozis etkeninin salğıladığı proteinler ile ilgili yapılan çalışmalarda (Krovacek vd., 1987), alabalıklara intraperitonal yol ile verildiğinde yüksek ölüm oranının görüldüğü belirtilmiştir. Vibriozis hastalığında ölüm oranına etki eden yaş, başta su sıcaklığı olmak üzere su parametleri, balık türü ve büyüklüğü ve stres gibi birçok faktör olduğu bilinse de (McCarthhy vd., 1974), doğal ölüm oranının %40 ila %70 arasında olduğu belirtilmektedir (Giorgetti ve Ceschia 1982). Bilimsel araştırmalarda intraperitonal yolla yapılan uygulamlarda ise bu oranın %80-100 arasında değiştiği bildirilmektedir (Johnson ve Amend, 1983; Tanrıkul 2007).

1.12 *Yersinia ruckeri*

Yersinia ruckeri, Enterobacteriaceae familyasında olan (Ewing vd., 1978), uçları yuvarlak şeklinde Gram-negatif çubuklardır. Aktif olarak büyüyen hücreler yaklaşık 0,75 μm çapında ve 1,0 ile 3,0 μm uzunluğundadır. *Yersinia ruckeri* spor oluşturmayan bakteri olup bir kapsülü yoktur, ancak genellikle kamçılıdır (Ross vd., 1966). Ancak flagella her zaman mevcut olmadığından, suşları değişken hareketlilik gösterebilmektedir (Davies ve Frerichs 1989). Enterobacteriaceae familyasının diğer

üyelerinde olduğu gibi, *Yersinia ruckeri* de glukoz-fermentatif, oksidaz-negatif ve nitrat-indirgeyicidir (Ross vd., 1966). *Yersinia ruckeri* suşları biyokimyasal reaksiyonlarda oldukça homojen olduğundan, *Yersinia ruckeri*'yi diğer türlerden ayırt etmek için biyokimyasal testler kullanılabilir.

Yersiniosis konak zayıfladığında harekete geçen bir patojen olan *Yersinia ruckeri* nin meydana getirdiği ciddi bir alabalık hastalığıdır. Enteric Redmouth Diseases (ERM) yani kızıl ağız hastalığı olarakta bilinir. Bakterinin 5 farklı serotipi bulunmaktadır. Tip 1 ve Tip 2 patojen serotiplerdir ve ERM amilidirler (Altun vd., 2010).

Etken, laboratuvarlarda kullanılan genel besi yerlerinde (TSA) 20-25ºC'de 24-48 saatte rahatça çoğalır. Bununla birlikte Shotss-Watman besi yeri bakteri için spesifik ortamdır (Altun vd., 2010)

Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), kızıl ağız hastalığına en hassas balık türlerinden biridir. Ülkemizde de yoğun şekilde kültürü yapılması etkenin önemini bir kat daha artırmaktadır. Bunun yanı sıra birçok tatlı su balığında hastalık tespit edilmiştir. Literatürde levrek ve kalkan balıklarında da *Yersinia ruckeri*'ye bağlı ölümler ortaya konulmaktadır (Vigneulle, 1990). Hastalığın klinik bulgularında iştahsızlık ve durgunluk, vücut üzerinde ve özellikle ağız etrafında hemorajiler, tek taraflı ekzoftalmus, dalak ve böbrekte büyüme, bağırsakta yangı ve iç organlarda peteşiler görülebilir. Hastalıktan korunma ve tedavi yöntemlerinde antibiyotikler ve kemoterapötikler uygulandığı gibi, spesifik bağışıklık sistemini güçlendirici aşılar da kullanılmaktadır (Arda vd., 2005). Günümüzde proaktif önleyici şekilde spesifik bağışıklık güçlendirici olarak tıbbi bitkiler de alternatif şekilde değerlendirilmektedir (Terzi vd., 2021).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Su ürünleri endüstrisi ülkemizde ve dünyada en hızlı büyüyen sektörlerden biri haline gelmiştir. Sektörün önem vermesi gereken konuların başında balıklar ile ilgili hastalık amili patojenlerle mücadele ve önleyici tedbirler gelmektedir. Gerek antibiyotik kullanımının dezavantajları ve sınırlandırılmış olması, gerekse aşıların spesifik olması ve uygulanmasındaki ekonomik ve işgücü zorlukları sektörü tıbbi bitkileri alternatif bir önleyici immünostimülant olarak kullanılmaya yönlendirmiştir. Ayrıca bitkilerin büyüme performansı kriterlerine olumlu etkileri de görülmektedir. Buna yönelik bilimsel ve sektörel çalışmalar gün geçtikçe önem kazanmaya başlamıştır. Yaptığımız çalışma ile alakalı yapılan çalışmalar bu bölümde özetlenmiştir.

Bilen ve Bulut (2010), öğütülmüş defne (*Laurus nobilis*) yaprağının gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) immün mekanizmaya olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada balıkları 21 gün boyunca %0,5 ve %1 oranında defne içeren yemlerle beslemişler ve bu süre sonunda balıkları normal yemlerle beslenmeye devam etmişlerdir. Çalışmaları toplam 63 gün sürmüş ve besleme sonrasında meydana gelen değişimleri tespit etmişlerdir. Araştırma bitiminde bitki katkısının hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları hakkında bir etkisini tespit edememişlerdir. Bununla beraber fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam kan protein değerleri yönünden de farklı tesirinin görülmediğini belirtmişlerdir.

Bilen ve Bilen (2012), çalışmalarında tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) kullanmışlardır. Ortalama ağırlıkları 66,13±0,94 g olan gökkuşağı alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine %1 ve %1,5 oranlarında her iki bitkinin tozundan ilave etmişlerdir. 8 hafta süresince kontrolde dahil olmak üzere üç tekerrürlü olmak üzere çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın neticesinde balıkların ortalama ağırlıkları, yaşama oranları, spesifik büyüme oranları ve yem değerlendirme oranları arasında anlamlı fark bulamamışlardır ($P>0,05$).

Awad vd. (2015), çemen otu *(Trigonella foenum graecum)* diyet uygulamalarının çipura *(Sparus aurata L.)* bağışıklık durumu ve büyüme performansı üzerine olası etkilerini araştırmışlardır. Balıkları, 4 hafta boyunca %0 (kontrol); %1; %5 ve %10

çemen otu tohumları ile desteklenmiş ticari diyetle beslenmeden önce 4 gruba ayırmışlardır. Diyetlerin etkilerini, hücresel (solunum patlaması aktivitesi ve lökosit peroksidaz içeriği) ve humoral (kompleman aktivitesi, antiproteaz, total protein, peroksidaz ve IgM seviyesi) bağışıklık parametrelerinin yanı sıra büyüme ve hematolojik parametreler (WBC ve RBC sayımları) üzerinde analiz etmişlerdir. Test ettikleri en yüksek çemen otu dozlarında, bağışıklıkla ilgili genlerin ve antioksidan enzim genlerinin çoğunda önemli bir yukarı regülasyona neden olduğunu belirlemişlerdir ($P<0,05$). Çemen otu ile beslenen balıklarda bağırsak ve karaciğer morfolojisi üzerinde herhangi bir olumsuz etki gözlememişlerdir. Sonuçlarında, özellikle mevcut çalışmalarında kullanılan en yüksek çemen otu tohumu dozajının, bağışıklık durumunu iyileştirmek ve çipura üretimini artırmak için iyi bir gıda takviyesi olarak kabul edilebileceğini göstermişlerdir.

Mohamad ve Abasali (2010), sazan balıklarını (*Cyrinus carpio*) *Inula helenium, Tussilago farfara, Brassica nigra, Echinacea purpurea* ve *Chelidoniume majus* bitkilerinin %70'lik etanol çözeltisi içerisinde elde ettikleri özütleri eşit miktarlarda karıştırmışlar ve temel yem içerisine 100; 250; 500; 750 ve 1000 mg/kg olacak şekilde ilave etmişlerdir. Sazan balıklarını bu yemlerle 60 gün boyunca beslemişler ve her 20, 40 ve 60.günlerde balıklardan örnekler alarak bağışıklık yanıtlarını tespit etmişlerdir. Solunum patlaması, serum bakterisidal aktivite, lizozim, serum protein, albümin, globülin ve lökosit sayıları tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. *Aeromonas hydrophila* ile kontrol testine tabi tutulan balıklarda yaşam oranının doz artışı ile birlikte artış gösterdiğini belirtmişlerdir ($P<0,05$).

Mostafa vd. (2009) araştırmalarında, çemen tohumu küspesini (FKSM) nil tilapiyasında (*Oreochromis niloticus*) doğal yem katkı maddesi olarak kullanmışlardır. Çalışmayı izonitrojen (%30 ham protein) ve izokalorik (4,40 kcal/g diyet) %0; 0,5; 1 ve 1,5 FKSM içeren dört gruba ayırmışlardır. Nil tolapiya yavrularının büyüme performansı, yem kullanımı ve entropatojenik *Aeromonas hydrophila* etkeni üzerindeki FKSM'nin etkisini değerlendirmişlerdir. Denemelerini 90 gün boyunca haftada 6 gün olarak sürdürmüşlerdir. Sonuçlarında, %1 FKSM içeren yemle beslenen balıkların önemli ölçüde daha yüksek ($P<0,05$) büyüme performansına sahip olduğunu göstermişlerdir (vücut ağırlığı, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı (SBO)). En düşük

büyümeyi kontrol diyetinde elde etmişlerdir. Hayatta kalma oranlarında ise önemli ölçüde fark tespit edememişlerdir. Hemoglobin (Hb), kırmızı kan hücreleri (RBC'ler) sayısı, hematokrit (PCV), serum toplam proteini ve globulin, diyet düzeylerinde çemen otu arttıkça önemli ölçüde ($P<0,05$) artış gösterdiğini bildirmişler, ancak aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinde anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Roohi vd. (2015) denemelerinde, çemen otu (*Trigonella foenum graecum*) tohumu küspesinin sazan (*Cyprinus carpio L.*) (2,46±0,06 g) yavrularının büyüme performansı, kan hematolojik ve biyokimyasal faktörleri, hayatta kalma ve stres direnci üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Balıkları beslemek için 0 (kontrol); %0.5; %1 ve %1,5 çemen tohumu küspesi içeren dört diyet kullanmışlardır. Balıkları 8 hafta boyunca vücut ağırlığının %3'ü oranında test edilen diyetlerle beslemişlerdir. Sonuçlarında, kontrol diyetiyle beslenen balıkların, diğer diyetlere kıyasla önemli ölçüde daha düşük ağırlık artışına, spesifik büyüme hızına ve kondisyon faktörüne sahip olduğunu göstermişlerdir ($P<0,05$). Tedavi grupları ve kontrol grubu arasında glikoz seviyeleri, kırmızı kan hücresi sayısı, hematokrit ve hemoglobin açısından anlamlı fark olmadığını belirtmişlerdir ($P>0,05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, çemen tohumu küspesi ile balık tedavisinde önemli ölçüde daha düşük beyaz kan hücresi sayısı gözlemişlerdir ($P<0,05$). %1 çemen ile takviye edilmiş diyetle beslenen gruptaki kolesterol seviyesini, diğer gruplardan önemli ölçüde daha düşük olarak deklare etmişlerdir ($P<0,05$). Tuzluluk stresi deneyinde, en yüksek hayatta kalma oranını, %1 çemen ile takviye edilmiş diyetle beslenen balıklarda belirlemişlerdir. Bu sonuçlarıyla, çemen otu tohumunun sazan yavrularının büyüme performansını ve kan indekslerini iyileştirmek için faydalı bir besin takviyesi olarak kabul edilebileceğini göstermişlerdir.

Bahi vd. (2017) yaptıkları çalışmada, çemen otu (*Trigonella foenum graecum*) tohumlarının tek başına veya *Bacillus licheniformis* (TSB27), *Lactobacillus plantarum* veya *Bacillus subtilis* (B46) probiyotik suşlarından biriyle kombine olarak diyet uygulamasının çipura (*Sparus aurata L.*) üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarını 3 hafta boyunca kontrol grubu ve takviyeli diyetlerle sürdürmüşlerdir. Büyüme ve bağışıklıkla ilgili bazı genlerin (igm, tcr-β, csfr1 ve bd) ekspresyon seviyelerini ön böbrekte ölçmüşlerdir. İlginç bir şekilde, tüm probiyotik takviyeli

diyetlerin, özellikle *B. licheniformis* takviyeli diyetin, çipura büyüme oranlarını arttırdığını belirlemişlerdir. Sonuçlarında, esas olarak sadece çemen veya *B. subtilis* ile birlikte çemen ile beslenen balıklarda, bağışıklık parametrelerinde önemli bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, gerçek zamanlı qPCR ile yapılan kontrollerde, çemen otu takviyesinin böbrekteki bağışıklıkla ilişkili genlerin ifadesini, önemli ölçüde arttırdığını ortaya koymuşlardır. Bu sonuçlarıyla, çemen otunun tek başına veya bahsedilen probiyotik suşlardan biriyle birleştirilmesinin, su ürünleri yetiştiriciliğinde en yüksek üretim oranlarından birine sahip bir tür olan çipuranın bağışıklık tepkisini geliştirdiğini göstermişlerdir.

Özcan vd. (2010) yaptıkları çalışmalarını, defneden (*Laurus nobilis L.*) tohumundan elde edilen tohum yağının uçucu yağı, tohum yağı ve metanolik özütünün laboratuvar ortamında antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini belirlemek amacıyla yapmışlardır. Tohum yağının metanolik özütünün, uçucu yağ ve tohum yağına kıyasla daha etkili antibakteriyel aktivite sergilediğini belirlemişlerdir.

Başka bir çalışmada Harikrishnan vd. (2009), *Azadirachta indica, Ocimum sanctum* ve *Curcuma longa* bitkilerinden elde edilen sulu, etanol ve metanol çözücüleriyle elde edilen karışım özütünün, japon balıklarında (*Carassius auratus*) fagositoz aktivitesi, solunum patlaması aktivitesi, kompleman aktivitesi ve lizozim aktivitesi gibi bağışıklık mekanizmaları üzerindeki etkilerini bildirmişlerdir. Ayrıca deneme balıkların *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı hastalık direncini test etmişlerdir. Balıklara her bir çözücünün üçlü bitki özütünden farklı dozlarda 0; 5; 50 ve 100 mg/kg^{-1} (vücut ağırlığına oranı) intraperitoneal olarak enjekte etmişlerdir. Seçilen tüm bağışıklık parametrelerinin, 2. haftadan sonra etanol ve metanol çözücüleri ile hazırlanan özütlerde gelişme gösterdiğini kaydetmişlerdir. Bununla birlikte, su ile hazırlanan ekstraktlarda ancak 4. haftadan sonra gelişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Etonol ve metanol ile çıkarılmış olan özütlerle beslenen balıklarda *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı ölüm oranında azalma olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmalarında, etanol veya metanol çözücüleri ile hazırlanan özütlerinin tüm dozlarının bağışıklık tepkisini olumlu yönde etkileyebileceğini ve japon balıklarının yüzde ölüm oranını *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı azaltabileceğini göstermişlerdir.

Immanuel vd. (2009), 4 farklı bitkiden (*Cynodon dactylon, Withania somnifera, Aegle marmelos, Zingiber officimale*) aseton takviyeli çıkardıkları özütler ile tilapiya (*Oreochromis mossambicus*) balığında büyüme performansına etki, spesifik olmayan bağışıklık parametrelerine etki ve *Vibrio vulnificus* ile enfekte edilen balıklarda yaşama oranına etkileri incelemişlerdir. Spesifik büyüme oranının (SBO) kontrol grubuna göre diğer gruplarda önemli ölçüde yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte lizozim aktivitesinde önemli ölçüde artış olduğunu göstermişlerdir. Kan plazma kimyası analizi sonuçlarında, deney balıklarının protein, albümin, globulin, kolesterol, glikoz ve trigliserit düzeylerinin kontrol balıklarından önemli ölçüde yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte patojenle enfekte edildikten sonra en yüksek mortalite kontrol grubunda görülmüştür. Kontrol grubundaki tüm balıkların 15. günde öldüğü belirtilmiştir. Diğer gruplarda ise 30 günün sonunda %63-80 arası ölüm görüldüğü belirtilmiştir.

Sönmez vd. (2022) araştırmalarında, geven (*Astragalus caudiculosus*) bitkisinin gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) potansiyel kullanımını dört farklı grupta (kontrol; AC1; AC2,5 ve AC5) geven içeren diyeti 90 gün boyunca sırasıyla %0; 1; 2,5 ve %5 oranlarında çalışmışlardır. Sonuçlarında, geven takviyeli yem ile beslenen balığın büyüme performansının önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir ($P<0,05$). İnceledikleri spesifik olmayan bağışıklık parametreleri arasında, AC destekli balıkların lizozim aktivitesinin arttığını ($P<0,05$), oksidatif radikal üretiminin AC1 ve AC2.5 balık gruplarında azaldığını ($P<0.05$) ancak kontrol grubuna kıyasla AC5 grubunda farklılık göstermediğini belirlemişlerdir ($P>0,05$). Ayrıca, miyeloperoksidaz aktivitesinin AC takviyesinden etkilenmediğini belirlemişlerdir ($P>0,05$). IL-1β dışındaki tüm proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokin gen ekspresyonlarının, özellikle %2,5 ve %5 AC katkılı yemle beslenen balık gruplarında yukarı regüle edilmiş olduğunu bulmuşlardır ($P<0,05$). AC uygulamasının, GPx ve G6PDH aktivitelerinde bir yükselmeye ve SOD, CAT ve lipid peroksidasyonunda bir azalmaya neden olduğunu ve genel olarak, AC özütünün balığın büyümesini, antioksidan durumunu ve bağışıklık tepkisini iyileştirdiği bildirmişlerdir.

Amoush vd. (2022), çalışmalarında, farklı dozlarda kiraz sapı (CS) sulu metanolik ekstraktı ile beslenen gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) antioksidan

enzim aktivitelerini, bağışıklık tepkisini, kan parametrelerini ve büyüme performansını incelemişlerdir. Deneme yemleri olarak %0 (kontrol); 0,1 (%0,1 CS); 0,5 (%0,5 CS) ve 1% (%1 CS) olmak üzere farklı dozlarda CS ekstraktı içeren dört farklı yem hazırlamışlardır. 60 gün boyunca bu yemlerle beslenen balıklarda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin, CS ile beslenen tüm balık gruplarında 20. ve 60. günlerde önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. 40. günde, sadece %0,1 CS balık grubunun, kontrol ile karşılaştırıldığında yüksek bir SOD aktivitesine sahip olduğunu belirtmişlerdir ($P<0,05$). Katalaz (CAT), çalışmanın 20. gününde 0,1 ve 0,5 CS ile beslenen gruplarda kontrole kıyasla önemli ölçüde arttığını ve bu artışın 40. günde tüm tedavi gruplarında gözlendiğini bildirmişlerdir. Ancak tüm balık gruplarında 60. günde CAT önemli ölçüde azalmıştır. Glutatyon peroksidazın (GPx) 20. günde %0,1 CS balık grubunda ve 60. günde tüm tedavi gruplarında arttığını göstermişlerdir. G6PDH, deney sonunda kontrole kıyasla önemli bir fark göstermediğini, lipid peroksidasyonunda G6PDH'ninkine benzer bir sonuç elde etmişlerdir. CS ile tedavi edilen tüm balık gruplarının hematokrit değerlerinin, çalışmanın sonunda önemli ölçüde arttığını ve büyümenin balık grupları arasında farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Sonuçlarında, gökkuşağı alabalığında %0,1 ve %0,5 CS'nin besin takviyesi olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Lakwani vd. (2022) gerçekleştirdikleri çalışmada, siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu yağı uygulamasının gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, sindirim enzim aktiviteleri ve immün tepkisi açısından tesirlerini değerlendirmişlerdir. Gökkuşağı alabalığını, 60 gün süreyle %0,5 (BM0,5); %1 (BM1) ve %2 (BM2) oranlarında üç farklı dozda siyah hardal tohumu yağı ile ve ilavesiz (%0) bir kontrol yemi ile beslemişlerdir. Çalışmanın 30. ve 60. günlerinde sindirim enzim aktiviteleri ve immün yanıtlar incelemişlerdir. Ayrıca büyüme performansını incelemişlerdir. Besleme denemesinin sonunda, *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı hayatta kalma oranını kaydetmişlerdir. Büyümenin, BM2 balık grubunda olumlu etkilenmiş olduğunu, ancak önemli ölçüde farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Amilaz ve lipaz seviyelerinin değişmediğini, bununla birlikte kontrol ile karşılaştırıldığında tüm deneysel balık gruplarında tripsinin arttığını belirlemişlerdir ($P<0,05$). BM2 balık grubunda pepsin düzeyi çalışmanın sadece 60. gününde arttığını bildirmişlerdir ($P<0,05$). Kontrole kıyasla her iki örnekleme zamanında BM2 balık grubunda solunum

patlaması aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını (P<0,05) ve yine kontrole kıyasla BM1 ve BM2 balık gruplarında 30. günde ve BM0.5 ve BM1 gruplarında 60. günde lizozim aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir (P<0,05). MPO'nun, çalışmanın 30. gününde BM1 ve BM2 balık gruplarında ve 60. günde tüm deneme balık gruplarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Tüm balık gruplarının bağırsaklarında sitokin, IL-1β gen ekspresyonunu 30. günde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ve 30. günde bağırsak hücrelerinde IL-8 ve IL-6, IL-10 ve IL-12 sitokin genlerinin transkripsiyonunun arttırdığını belirlemişlerdir. BM0,5 ve BM1 balık gruplarının böbrek hücrelerinde bu genlerin benzer şekilde geliştiğini bildirmişlerdir. *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı hayatta kalma oranının BM ile beslenen tüm gruplarda önemsiz bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Sonuçlarında, BM takviyesinin gökkuşağı alabalığında bağırsak bağışıklığını artırabileceğini ve BM'nin 30 gün boyunca %1-2 düzeyinde rasyona dahil edilmesinin faydalı olacağını göstermişlerdir.

Bir başka çalışmada Terzi vd. (2021), üryani eriğinin (*Prunus domestica*) sulu metanolik özütünün, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) patojenik bir bakteri olan *Yersinia ruckeri*'ye karşı direncini, büyüme parametrelerini ve bağışıklık tepkilerini incelemişlerdir. Balıkları 21 gün boyunca günde iki kez *ad libitum* olarak 0 (Kontrol); 0,1 (PD01); 0,5 (PD05) ve %1 (PD1) dozlarında üryani eriği özütü içeren yemlerle beslemişlerdir. PD01 grubunda yem dönüşüm oranının (YDO) azaldığını tespit etmişlerdir. (P<0,05). PD1 balık grubunda 7. günde yüksek solunum patlaması ve potansiyel bakteri öldürme aktivitelerini belirlemişlerdir. Lizozim aktivitesinde hiçbir farklılık gözlenmediğini bildirmişlerdir (P>0,05). Çalışmanın 14. gününde tüm gruplarda kontrole göre myeloperoksidaz aktivitesinin arttığını kaydetmişlerdir. İnterlökin ve COX-2 genlerinin ekspresyonunun, kontrol grubuna göre diğer gruplardaki balıkların böbrek ve bağırsağında çalışmanın 7. gününde yükseldiğini tespit etmişlerdir. Üryani eriği özütü ile muamele edilmiş tüm gruplarda balıkların *Y. Ruckeri*'ye karşı artan bir hayatta kalma oranı gösterdiğini bildirmişlerdir (P<0,05). Sonuç olarak, üryani eriği sulu metanolik özütünün doğuştan gelen bağışıklığı, *Y. ruckeri*'ye karşı hayatta oranını iyileştirebileceğini ve YDO seviyesini azaltabileceğini göstermişlerdir.

Bilen vd. (2021) gerçekleştirdikleri araştırmada, yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) ekstraktının gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık tepkileri üzerindeki etkilerini çalışmışlardır. Deneylerinde, özütü 4 doz olarak (0 (Kontrol); 1 (J1); 4 (J4) ve 8 (J8) mg/kg) 14 gün boyunca günde iki kez oral gavaj kullanarak oral yoldan vermişlerdir. Bağışıklık yanıtlarını 7. ve 14. günlerde ölçmüşlerdir. 14. günde, tüm gruplara intraperitoneal olarak *Yersinia ruckeri* enjekte etmişlerdir. 14. günde J1 grubunun balıklarında oksidatif radikal üretiminin önemli ölçüde arttığını. 7. günde J8 grubunda lizozim aktivitesinin arttığını ($p<0.05$), 14. günde ise lizozim aktivitesinin J1 ve J4 gruplarında belirgin bir azalma tespit etmişlerdir. Örnekleme sürelerinden bağımsız olarak tüm gruplarda miyeloperoksidaz aktivitesinin ciddi dercede düşüş gösterdiğini ortaya koymuşlardır ($P<0,05$). J8 grubu balıklarında 7. günde interlökin (IL)-1β'nın anlamlı olarak yükseldiğini, çalışmanın 7. gününde IL-8'in J8 ve J4 gruplarına ait balıklarda arttığını bildirmişlerdir. IL-12 gen ekspresyonunun J8 balık grubunda 7. günde ve J4 balık grubunda 14. günde önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini tespit etmişlerdir. Hayatta kalma oranının J8 grubunda kontrol ve diğer gruplara kıyasla daha olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Sonuçlarında, *Juniperus excelsa*'nın gökkuşağı alabalıklarında *Yersinia ruckeri*'ye karşı koruma sağladığını göstermişlerdir.

Başka bir çalışmalarında Bilen vd. (2020), ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu metanolik ekstraktının (AME) gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi teşvik edici ve bağışıklık uyarıcı etkilerini incelemişlerdir. Gökkuşağı alabalıklarına iki farklı konsantrasyonda ebegümeci (AME 0,1 (CM1) ve 0,5 (CM5) g/kg^{-1} yem) ve bir kontrol diyeti yemi 30 gün boyunca vermişlerdir. Çalışma sonunda 0,1 g/kg^{-1} ebegümeci ile beslenen grupta balık büyüme performansının kontrol diyeti ile beslenen gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir ($P<0,05$). CM5 diyeti ile beslenen balıklarda oksidatif radikal üretimi (ORP) en yüksek olmuştur ($P<0,05$). Benzer şekilde myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi CM5 grubunda anlamlı olarak artmıştır. Kontrol grubuna kıyasla tedavi edilen balık gruplarında lizozim (LYS) ve fagositik aktivitelerin (PA) değişmediğini ($P<0,05$) ve pro-inflamatuar (IL-1β, TNF-α1, IL-8,), anti-inflamatuar (IL-10), lenfosit agonisti (TGF-β) ve IL-12 sitokinlerinin genellikle düşük olduğunu belirlemişlerdir. Ebegümecinin sitokin aracılı bağışıklığı ve bakteriyel patojene karşı direnci ortaya çıkaramasa da,

gökkuşağı alabalığında Aeromonas hydrophila, tedavi edilen gruplarda ORP ve MPO aktivitelerinde yükselme ve büyümeyi teşvik edici etkinin düşük dozda fark edildiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle, gökkuşağı alabalığı için büyüme destekleyici ve spesifik olmayan bağışıklık uyarıcı olarak 0,1 g/kg^{-1} yemde ebegümeci uygulamasının uygun olduğunu savunmuşlardır.

Altunoğlu vd. (2017) denemelerinde, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) çörek otu (*Nigella sativa*) metanolik ekstraktının bağışıklık uyarıcı etkilerini incelemişlerdir. Değişken konsantrasyonlarda çörek otu metanolik özütünü (0 (Kontrol); 0,1 ve 0,5 g/kg^{-1} yem) yemlere ekleyerek 30 gün besleme sonunda doğal bağışıklık tepkilerini ve büyüme performansını değerlendirmişlerdir. 0,5 g/kg^{-1} çörek otu özütü ile beslenen grupta yemden yararlanma oranı önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. 0,5 g/kg^{-1} çörek otu özütü ile beslenen grupta solunum patlaması aktivitesinin en yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Lizozim ve myeloperoksidaz aktivitelerinin, kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Çörek otu 0,5 g/kg^{-1} uyguladıkları grupta TGF-β gen ekspresyonu arttığını, 0,1 g/kg^{-1} uygulanan grupta IL-1β ve TGF-β gen ekspresyonları azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca IL-12 geninin ekspresyonunun her iki deney grubunda da azaldığını gözlemlemişlerdir. *Aeromonas hydrophila* ile enfektet edildikten sonra çörek otu özü ile muamele edilmiş balık gruplarının ile kontrol arasında hayatta kalma oranlarında önemli bir fark bulamamışlardır ($P>0,05$). Sonuçlarında, çörek otu metanolik özütünün bazı doğuştan gelen humoral bağışıklık tepkilerinin bir uyarıcısı olduğunu, ancak gökkuşağı alabalıklarında sitokinle ilişkili gen ekspresyonları için olumlu etkisi olmadığını göstermişlerdir.

Bir diğer çalışmada Bilen vd. (2016), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) yeme ilave edilen kapari (*Capparis spinosa*) takviyesinin sitokin yanıtları, spesifik olmayan bağışıklık aktivitesi ve büyümeyi destekleyici etkisini incelemişlerdir. Gökkuşağı alabalıklarını, 30 gün boyunca 0 (Kontrol); 0,1 ve 0,5 g/kg^{-1} (yem) üç doz kapari metanolik özütü ile beslemişlerdir. Besleme denemesinin sonunda, ön böbrekte IL-1β, IL-8, TGF-β, IL-12p40, TNF-α1 ve IL-10'u içeren sitokin genlerinin ekspresyon seviyeleri qRT-PCR kullanılarak analiz etmişler ve süperoksit anyon üretimi (SAP), fagositik, lizozim ve miyeloperoksidaz aktivitelerini belirlemek için

serum toplamışlardır. 0,1 g/kg^{-1} kapari özütü ile beslenen balık grubunda TNF-α1 dışındaki tüm sitokinlerin ekspresyon seviyelerinin diğer gruplara kıyasla yükseldiğini bildirmişlerdir. 0,5 g/kg^{-1} kapari özütü ile beslenmiş balıklarda, kontrol grubu balıklarına kıyasla sadece IL-12p40 ve IL-10 genlerinin ekspresyonlarının arttığını gözlemişlerdir. SAP, kapari ekstraktı uygulanan her iki grupta kontrole göre artmış ve en yüksek seviye 0,1 g/kg^{-1} grubunda gözlenmiştir. Kapari özütü ile beslenen grupların her ikisinde de fagositik aktivitenin, bu gruplar arasında hiçbir fark gözlenmeden kontrole kıyasla arttığı bildirilmiştir. Lizozim ve myeloperoksidaz aktivitelerinin 0,1 g/kg^{-1} beslenen balık grubunda diğer gruplara göre en yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Kapari dozları artırıldığında büyüme artışının olumlu etkilendiğini gözlemişlerdir. *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edildikten sonra kontrole kıyasla 0,1 ve 0,5 g kg^{-1} kapari özütü ile muamele edilmiş balık gruplarında hayatta kalma oranının ciddi derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). Bu sonuçlarıyla, kapari özütünün sitokin aracılı tepkiler yoluyla doğuştan gelen bağışıklığı uyardığını ve gökkuşağı alabalığında büyümeyi desteklediğini göstermişlerdir.

Gültepe vd. (2014), yem katkı maddesi olarak kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve çemen otunun (*Trigonella foenum graecum*) tilapiya balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) hematoloji, doğal bağışıklık tepkisi ve hastalık direnci üzerine diyetsel etkilerini araştırmışlardır. Toplamda 228 balığı dört gruba ayırmışlar (bir grupta 57 balık) ve sırasıyla %1 seviyelerinde kekik, biberiye ve çemen ile desteklenmiş yemler ve kontrol grubu ile 45 gün süresince günde 3 defa beslemişlerdir. Deney gruplarının tüm balıklarında kandaki fagositik aktivitenin, hematokrit, beyaz kan hücresi, kırmızı kan hücresi, nötrofil ve monosit sayılarının önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir ($P<0,05$). 30 gün sonra çemen ile takviye edilmiş yem alan balıklarda myeloperoksidaz ve lizozim aktivitesinde önemli artış bulmuşlardır ($P<0,05$). Solunum patlaması aktivitesinin, önemsiz oranda değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir ($P>0,05$). 45 günlük beslenmeden sonra, balıklara periton içine 100 µl *Streptococcus iniae* ($8x10^8$) enjekte etmişler ve kontrol grubuna oranla ölüm oranının %1 kekik, biberiye ve çemen otu ilave edilmiş yemlerle beslenen balıklarda dikkat çekici derecede azaldığını tespit etmişlerdir. Sonuçlar, kullanılan üç bitkinin de hematolojik durumu, spesifik olmayan bağışıklık yanıtlarını ve *Streptococcus iniae*'ye karşı hastalık direncini iyileştirdiğini göstermişlerdir.

Nya ve Austin (2009) araştırmalarında, gökkuşağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) 14 gün boyunca 100 g yem başına 0; 0,05; 0,1; 0,5 ve 1,0 g Zencefil (*Zingiber officinale*)eklenmiş yemlerle beslemişler ve *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı hayatta kalma oranını test etmişlerdir. 0,5 g zencefilde, kontrollere (%64) kıyasla ölümlerde %0'a kadar bir azalma tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, büyüme, yem dönüşüm oranı ve protein verimliliğinde de artış olduğunu bildirmişlerdir. Kontrollere kıyasla nötrofil, makrofaj ve lenfosit sayısında çoğalma ve fagositik, solunum patlaması, lizozim, bakterisidal ve anti-proteaz aktivitelerinde de artış olduğunu bulmuşlardır.

Abdel-Tawwab vd. (2010), yeşil çayın (*Camellia sinensis*) nil tilapiyalarının (*Oreochromis niloticus*) diyetlerinde kullanımını ve balık büyümesi ve sağlığı üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir araştırma yapmışlardır. Yeşil çayın vejetatif kısmı olan yapraklarını öğütmüş ve yemin kilogramı başına 0,0 (kontrol); 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 veya 2,0 g yeme eklemişlerdir. Yaklaşık ağırlıkları 1,5-2,0 g olan balıklar, 100 L'lik akvaryumlarda ve her akvaryuma 20 olarak stoklanmış, 12 hafta boyunca belirlenen yemlerle beslenmişlerdir. Akabinde *Aeromonas hydrophila* ile enfekte etmişler ve 10 gün boyunca ölümleri kayıt altına almışlardır. Yeşil çayın optimum büyüme oranını 0,5 g grubunda elde etmşlerdir. Arıca aynı grupta balık etindeki protein içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde en iyi sonucu 0,25–2,0 g gruplarında bildirmişler ve en düşük değerleri kontrolde elde etmişlerdir. *A. hydrophila* patojenine karşı hayatta kalma oranının, artan yeşil çay oranı ile arttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlarıyla, yeşil çay takviyesinin balık performansını, sağlığını iyileştirebilecek ve *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı umut verici bir bağışıklık uyarıcı olduğunu ve optimum yeşil çay seviyesinin yemin kilogramı başına 0,5 g olduğunu göstermişlerdir.

Ardo vd. (2008) yaptıkları araştırmada, iki farklı Çin şifalı bitkisinin (*Astragalus membranaceus* ve *Lonicera japonica*) Nil tilapiya balıklarında (*Oreochromis niloticus*) kazanılmış immün tepkisi üzerindeki etkisini çalışmışlardır. Kontrol diyetine (bitkiler veya bor içermeyen) ek olarak beş diyet varyasyonu kullanmışlardır. Bunlar %0,1 *Astragalus membranaceus* (%0,05 borlu ve borsuz), %0,1 *Lonicera japonica* (%0,05 borlu veya borsuz) ve iki bitkinin %0,05 borlu karışımını içeriyordu.

Balıklar dört hafta boyunca beslenmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarında, tilapinin tek başına veya kombinasyon halinde iki bitki ile beslenmesinin, kan fagositik hücrelerinin fagositik ve solunum patlama aktivitesini önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Lizozim düzeyinin üzerinde orta düzeyde bir etkiye sahip olduğunu ve plazma toplam protein ve toplam immünoglobulin düzeyi üzerinde hiçbir etkileri olmadığını belirtmişlerdir. Her iki bitki de *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunu takiben ölüm oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Balık yemine eklenen *Astragalus membranaceus* ve *Lonicera japonica* ekstraktlarının ve bor takviyesinin, kültür balıklarının bağışıklık tepkisini ve hastalık direncini arttırdığı ve bağışıklık uyarıcı olarak hareket edebileceği sonucuna varmışlardır.

Christybapita vd. (2009), *Eclipta alba* yaprağı özütünün oral uygulamasının bağışıklık uyarıcı etkilerini tilapiya balığında (*Oreochromis mossambicus*) incelemişlerdir. Bu amaçla balıkları 3 hafta süresince özüt içeren yemlerle (%0; %0,01; %0,1 ve %1) beslemişlerdir. Her haftadan sonra *Aeromonas hydrophila*'ya karşı spesifik olmayan hümoral (lizozim, antiproteaz ve kompleman) ve hücresel (myeloperoksidaz, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi) tepkileri ve hastalık direncini belirlmişlerdir. Sonuçlarında, yem takviyesi olarak uygulanan *Eclipta alba* sulu özütünün spesifik olmayan bağışıklık parametrelerinin çoğunu önemli ölçüde geliştirdiğini göstermişlerdir. Hümoral tepkiler arasında, 1, 2 ve 3 hafta boyunca sulu ekstrakt ile beslendikten sonra lizozim aktivitesinin ciddi derecede arttığını belirlemişlerdir. 3 haftalık beslemeden sonra test edilen tüm hücresel tepkilerde önemli bir modülasyon fark etmemişlerdir. Myeloperoksidaz aktivitesi, özüt ile 1 haftalık beslemeden sonra önemli derecede artış göstermiştir. Tüm örnekleme dönemlerinde *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edildiğinde, ölüm oranının önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. En yüksek %1'lik dozda, hayatta kalma yüzdesi sağlanmıştır. Sonuçlarında, *Eclipta alba* yaprağı sulu özütünün, *Oreochromis mossambicus*'un *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı spesifik olmayan bağışıklık tepkilerini ve hastalık direncini arttırdığını göstermişlerdir.

Tiamiyu vd. (2021) karabalık veya afrika kedi balığı (*Clarias gariepinus*) olarak bilinen tür üzerinde yaptıkları çalışmada, bazı tıbbi bitkilerin *Pseudomonas* enfeksiyonlarıyla mücadelede ve büyüme performansını etkilemede potansiyelini

değerlendirmişlerdir. Üç şifalı bitkiyi (5 g/kg *Allium sativum,* 10 g/kg *Chromolaena odorata* ve 10 g/kg *Talinum triangulare*) ayrı ayrı kullanmışlar ve kontrol de dahil olmak üzere dört grubu 42 gün boyunca beslemişlerdir. Ayrıca her gruptan rastgele seçilen on balık *Pseudomonas aeruginosa* ile enfekte edilmiş ve 7 gün boyunca gözlemlenmiştir. Ortalama ağırlık kazanımlarını, kontrol ile karşılaştırıldığında, bitki içeren tüm gruplarda daha yüksek olarak bulmuşlar ve 5 g/kg *Allium sativum* içeren yem ile beslenen balık grubunda önemli ölçüde daha yüksek olarak belirlemişlerdir ($P<0,05$). En düşük ölüm oranını (%20) 10 g/kg *Chromolaena odorata* ile beslenen grupta kaydetmişlerdir. Sonuçlarında, kullandıkları bitkilerin *Clarias gariepinus'*un büyümesini ve hayatta kalmasını arttırdığını göstermişlerdir. Çalışmaları vasıtasıyla, *Clarias gariepinus* üretimi için sırasıyla 5 g/kg *Allium sativum* ve 10 g/kg *Chromolaena odorata* içeren yemlerin etkili bir büyüme arttırıcı ve anti-*Pseudomonas aeruginosa* ajanı olarak önermişlerdir.

Chelemal Dezfoulnejad ve Molayemraftar (2022) çalışmalarında, biberiye yaprağı ekstraktının (*Rosmarinus officinalis L.*) sazan balığında (*Cyprinus carpio*) büyüme, hematolojik parametreler, immünolojik profil ve vücut kompozisyonu üzerine etkilerinin araştırılmasını amaçlamışlardır. Balıklarını 60 gün boyunca 12 akvaryumda (300 L) ve üç tekerrür şeklinde (her biri 30 balık), %0,0; %0,25; %0,5 ve %1 biberiye özütü ile beslemişlerdir. Deneme sonunda biberiye özütü içeren diyetle besledikleri gruplarda ağırlık kazanımı, yem dönüşüm oranı, spesifik büyüme oranı ve kondisyon faktörü seviyelerini doza bağlı olarak kontrole kıyasla önemli ölçüde fazla olduğunu ortaya koymuşlardır. Bununla beraber, biberiye özütü içeren yemlerle besledikleri balıklarda kontrole kıyasla beyaz kan hücreleri ve kırmızı kan hücreleri sayıları, hemoglobin, hematokrit, lizozim, kompleman, solunum patlaması, toplam protein, albümin ve glikozda doza bağlı bir şekilde önemli bir artış göstermiştir. Bu araştırmanın bulgularında, özellikle %1 oranında yemlere biberiye ekstraktı eklenmesinin sazan balığında büyüme parametrelerini, hematolojik ve immünolojik profillerini olumlu yönde değiştirebileceğini ortaya koymuşlardır.

Sharma vd. (2021) araştırmalarında, *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilen yürüyen kedi balığının (*Clarias batrachus*) bağışıklık sistemi üzerinde *Achyranthes aspera* tohumlarının ve yapraklarının yemlerine eklenmesinin etkisini değerlendirmişlerdir.

Clarias batrachus yavruları (0,51 ± 0,032 g) bir havuz içine yerleştirilmiş ve üç yemle beslenmişlerdir. İki grup sırasıyla %0.5 *Achyranthes aspera* tohumu ve yaprakları ile desteklenmiş ve üçüncü grup kontrol grubu olmuştur. 90 günlük beslemeden sonra balıklar *Aeromonas hydrophila* ile tehdit edilmiş ve kontrol grubundaki balıkların 48 saat içinde %70'inin öldüğü birinci ve ikinci gruplarda sırasıyla %25 ve %30 ölüm kaydetmişlerdir. Balıkların ortalama ağırlığı ve büyüme hızı, diğerlerine kıyasla %5 tohum grubunda önemli ölçüde daha yüksek olarak bulunmuştur. Serum lizozim, myeloperoksidaz, nitrik oksit sentaz ve süperoksit dismutaz seviyeleri diğerlerine kıyasla yine aynı grupta anlamlı derecede yüksek olarak bildirilmiştir. %5 tohum ve yaprak içeren yemle besleneniki grupta da karaciğer ve ön böbreğinde, bazı sitokinlerde artış görülmüştür. *Achyranthes aspera* katkılı yemlerin balıkların bağışıklık sistemini iyileştirdiğini ve havuz koşullarında bile bakterilere karşı koruma sağladığını ortaya koymuşlardır.

Soares vd. (2020), bir pelin otu türü olan *Artemisia annua* bitkisinin özütünün yavru nil tilapiyasının (*Oreochromis niloticus*) sağlık durumunu iyileştirip iyileştirmediğini ve balıklar *Aeromonas hydrophila* bakterisi ile karşı karşıya kaldığında hastalıklara karşı direnci artırıp artırmadığını test etmişlerdir. Balıklarını %0,0; 0,1; 0,25 ve %0,5 bitki özütü içeren yemlerle 30 gün boyunca beslemişlerdir. %0,5 bitki özütü takviyesinin, bakteriyel tehditten sonra lökosit ve lizozim aktivitesini, solunum patlamasını, toplam plazma proteinini, kan trombositlerini, nötrofilleri ve monositleri artırmak için yeterli olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Ayrıca kortizol ve lipid peroksidasyon seviyelerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir ($P<0,05$). Bu çalışmanın sonuçlarında, bir yem takviyesi olarak *Artemisia annua* bitkisinin stres tepkisini en aza indirmek ve doğal bağışıklığı modüle etmek için nil tilapiya balıklarında 30 gün boyunca %0,5 düzeyinde faydaları olduğunu göstermişlerdir.

Nafiqoh vd. (2020) birden fazla bitki ile yaptıkları çalışmada, *Piper betle*, *Psidium guajava* ve *Tithonia diversifolia* bitkilerinin *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı etkinliğini araştırmayı amaçlamışlardır. Asetonik ekstraktlarının minimum inhibitör ve bakterisidal konsantrasyonları nispeten yüksek olmasına rağmen (sırasıyla 2-32 mg mL^{-1} ve 8-64 mg mL^{-1}), yem içine ilave edilmiş üç bitki tozunun (her bir bitki için 80 g/kg yem) tümünün, deneysel bir enfeksiyon sonrasında balık ölümlerini önemli

ölçüde azalttığını belirlemişlerdir. Nispi hayatta kalma yüzdesi %77 ila %79 arasında bulunmuştur. Kombinasyon halinde kullanıldığında, üç bitki özütünün, in vitro etkileşim göstermediğini bildirmişlerdir. Kontrollere kıyasla hayatta kalma oranını iyileştirmelerine rağmen, ölümleri azaltmada tekli bitkilere göre daha az etkili oldukları belirtilmiştir. Bitkiyle zenginleştirilmiş diyetlerin hem tek tek bitkilerin hem de bunların kombinasyonlarının, enfeksiyonu takiben hematokrit düşüşünü önemli ölçüde sınırladığı belirlenmiştir. Toplamda, bu sonuçlarıyla, bitkisel tedavi için bitki seçiminin karmaşık olduğunu ve birkaç in vivo kritere bağlı olabileceğini ve bu nedenle yalnızca antimikrobiyal aktivitelerinin ölçümüne dayanmaması gerektiğini göstermişlerdir.

Ramezanzadeh vd. (2020) deneylerinde, gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme ve immünohematolojik parametreleri üzerine karamuk (*Berberis vulgaris*) kökü tozu ve metanol ekstraktının etkisini incelemişlerdir. Toplam 306 gökkuşağı alabalığını (15,55± 0,76 g) 8 hafta boyunca altı deneysel diyetle beslemişlerdir: kontrol (C), BRP10 (10 g/kg^{-1} karamuk kökü tozu), BRP20 (20 mg/kg^{-1} kaamuk kökü tozu); BRE250 (250 mg/kg^{-1} karamuk kökü özütü); BRE500 (500 mg/kg^{-1} karamuk kökü özütü) ve oksitetrasiklin OTC30 (30 g/kg^{-1}). Sonuçlarında, BRE250, BRE500 ve OTC30'un diğer gruplarla karşılaştırıldığında (sırasıyla 93.04, 92,52 ve 90,48 g) önemli ölçüde daha yüksek ağırlık artışına sahip olduğunu göstermişlerdir ($P<0,05$). En yüksek kan parametreleri ve lizozim aktivitesini BRE500 diyetiyle beslenen balıklarda gözlemişlerdir ($P<0,05$). Ayrıca, in vitro olarak *Aeromonas hydrophila* patojenine karşı karamuk bitkisinin inhibisyon bölgesi oluşturduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlarında, BRE500 diyetinin su ürünleri endüstrisinde büyüme ve bağışıklığın doğal bir uyarıcısı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Mehrabi vd. (2020) denemelerinde, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) 8 haftalık besleme periyodundan sonra ısırgan otunun (*Urtica dioica*) büyüme, bağışıklık ve gen ifadeleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Toplam 264 yavru gökkuşağı alabalığı (10,72 ± 0,55 g) seçilmiş ve rastgele 12 akvaryuma stoklanmıştır. Balık yemine üç dozda ısırgan otu tozu ilave etmişler (%0,5; %1 ve %1,5) ve deneme yemi olarak kullanmışlardır. 8 haftalık besleme periyodunun sonunda balıklar 3 hafta

süreyle *Saprolegnia parasitica* patojenine maruz bırakılmışlardır. Sonuçlarında, ısırgan otu diyetleriyle beslenen tüm grupların, kontrole kıyasla ağırlık artışı (AK) ve spesifik büyüme oranında (SBO) önemli artışlar sergilediğini ve yem dönüşüm oranını (YDO) azalttığını göstermişlerdir. Balığın ısırgan otu ile beslenmesi, kontrole kıyasla kan indekslerinde ve spesifik olmayan bağışıklıkta önemli artışlarla sonuçlanmıştır. Ayrıca, %0,5 ısırgan otu ilavesiyle beslenen balıklarda, 8 haftalık beslemenin ardından TNF-α, IL-1b, IL-6 ve IL-8 genlerinin ekspresyonlarında önemli ölçüde artış olduğunu göstermişlerdir. *Saprolegnia parasitica* ile enfekte edilmelerini takiben kontrole kıyasla %0,5 ısırgan otu grubu balıklarında ölüm oranında önemli bir azalma gözlemlemişlerdir. Gözlemlerinde, gökkuşağı alabalığı yemlerinde %0,5 ısırgan otu tozu kullanımının büyüme ve bağışıklık parametrelerinin yanı sıra balıkların *Saprolegnia parasitica* kontaminasyonuna karşı direncini iyileştirebileceğini göstermişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışma Ortamı ve Çalışma Süresi

Çalışmanın besleme kısmı ve her 15 günde bir yapılan örneklemeler ile patojenlere karşı 10 günlük hayatta kalma oranının belirlenmesi için Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Kapalı Devre Yetiştiricilik Sistemi içerisindeki 500 litrelik tanklar kullanılmıştır.



Fotoğraf 3.1 Kastamonu üniversitesi su ürünleri fakültesi kapalı devre yetiştiricilik sistemi (Özgün)

3.1.2 Deneme Balıklarının Temini

Denemede kullanılan gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) 2019 Kasım ayında Kastamonu Çatören'de yer alan özel bir alabalık yetiştiriciliği işletmesinden temin edilmiş ve tarafımızca deneme ortamına getirilmiştir. Tesisteki sağlıklı olan gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*) özel seçilmiş ve on günlük adaptasyon süresinden sonra 500 litrelik tanklara ortalama ağırlıkları 5,58±0,77 olacak

şekilde dağıtılmıştır. Çalışma, kontrol ve 9 ayrı deneme grubu ve her deneme grubu için üç tekerrür olarak tasarlanmıştır. Ayrıca kontrol testlerinin yapılması için aynı yemlerle tekrar iki kez besleme yapılmış ve aynı yol izlenmiştir. Ortalama ağırlıklar ikinci beslemede 5,56±0,71 olarak dağıtılmış ve son beslemede 5,61±0,75 olacak şekilde balıklar dağıtılmış ve diğer iki bakteri ile hayatta kalma oranı (HKO) testleri yapılmıştır. Denemeye başlamadan önce adaptasyon süresince balıklar kontrol edilmiş ve sağlıklı olan balıklar denemeye alınmıştır.



Fotoğraf 3.2 Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)(Özgün)

3.1.3 Çalışmada Kullanılan Tıbbi Bitkiler

Çalışmada kullanılmış olan siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumları ve çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) tohumları Kastamonu ilindeki aktarlardan satın alınmıştır. Defne (*Laurus nobilis*) yaprakları ise Kastamonu ili İnebolu ilçesinde faaliyet gösteren şirketlerden satın alınarak temin edilmiştir.

3.1.4 Deneme Yemleri

Denemede kullanılan balık yemleri ticari olarak satın alınmıştır. Denemede kullanılan bitki özütleri kullanılan yemlere spreyleme metoduyla ilave edilmiştir. Tablo 3.1'de denemede kullanılan yem içerikleri verilmiştir.

Tablo 3.1 Denemede kullanılan yemin içeriği

Yem İçeriği %	
Ham Protein	44
Ham Yağ	18
Ham Selüloz	2
Ham Kül	10
Forfor	1,5
Kalsiyum	2

Nem	11
Omega 3	1
Omega 6	1,5
EPA+DHA	5
Diğer	4



Fotoğraf 3.3 Deneme yemleri (Özgün)

3.1.5 Gen Ekspresyonlarında Kullanılan Primerler

Çalışmamızda, kontrol grubu ile birlikte üç farklı bitki özütü ve her bitki özütü için 3 farklı doz içeren yemler ile beslediğimiz balıkların dalak ve ön böbreklerinde β-aktine göre IL-1β, TNF-α, TGF-β ve IFN-1 gen ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Bunun için 15, 30 ve 45. günlerde dalak ve ön böbrek dokuları toplanmıştır. β-aktin, IL-1β, TNF-α, TGF-β ve IFN-1 primerleri (forward ve reverse) Sentebiolab firmasından standart saflaştırılmış 50 nmol satın alınarak temin edilmiştir. Tablo 3.2'de ilgili primerlerin forward ve reverse sekansları verilmiştir.

Tablo 3.2 Araştırmada qRT-PCR için kullanılan gen spesifik primerler ve sekansları

Gen	Primer Sekansı	Referans
β-actin (Forward)	ATGGAAGGTGAAATCGCC	Sigh vd., 2004
β-actin (Reverse)	TGCCAGATCTTCTCCATG	
IL-1β (Forward)	ACCGAGTTCAAGGACAAGGA	Awad vd., 2011
IL-1β (Reverse)	CATTCATCAGGACCCAGCAC	

TNF-α (Forward)	GGGGACAAACTGTGGACTGA	Panigrahia vd., 2007
TNF-α (Reverse)	GAAGTTCTTGCCCTGCTCTG	
TGF-β (Forward)	AGATAAATCGGAGAGTTGCTGTG	Awad vd., 2011
TGF-β (Reverse)	CCTGCTCCACCTTGTGTTGT	
IFN-1 (Forward)	AGAATGCCCCAGTCCTTTTCC	Ooi vd., 2008
IFN-1 (Reverse)	GACTTTGTCCTCAAACTCAGCATCA	

3.1.6 Denemenin Tasarlanması

Kastamonu ilinden temin edilmiş olan gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*), Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne transfer edilmiş ve deneme kapalı devre yetiştiricilik sisteminde yapılmıştır. On günlük adaptasyon süresinin akabinde balıkların başlangıç canlı ağırlıkları tek tek belirlenmiş ve ortalama başlangıç canlı ağırlığı besleme ve immunostimulant çalışması ve *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı HKO belirlenmesi denemesinde 5,58±0,77 olacak şekilde yerleştirilmiştir. *Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* patojenlerine karşı HKO belirlenmesi denemelerinde ortalama ağırlıklar sırasıyla 5,55±0,71 ve 5,61±0,75 olarak belirlenmiştir. Her 500 litrelik tanka 25 adet balık stoklanmıştır. Çalışma sonuna kadar her bir tanka ayrı ayrı havalandırma sağlanmış ve günlük olarak su kapasitesinin yaklaşık %25'i temiz su ile değiştirilmiştir. Su sıcaklığı Teco TK 5K soğutucu-ısıtıcı sistem ile deneme boyunca 14-16^{o}C arasında tutulmuştur. Siyah hardal tohumu özütü (SH), çemen tohumu özütü (Ç) ve defne yaprağı özütü (D) yemlere Kontrol (0 g/kg); 0,1 g/kg; 1 g/kg; 5 g/kg oranlarında spreylenerek ilave edilmiştir. Her grup 3 ayrı tekerrürden oluşmuş ve 45 gün boyunca günde üç kez doyana kadar yemleme yapılmıştır. Kontrol testtlerinin devamındaki besleme uygulamaları da aynı şekilde yapılmıştır. Balıkların yemin tamamını almasına azami özen gösterilmiştir. Örnekleme günlerinden en az 24 saat önce besleme uygulaması yapılmamıştır.

Yaptığımız araştırmada kısaca aşağıdaki spesifik hedefler izlenmiştir.

Bitkilerin büyüme performansı etkilerinin belirlenmesi: İlgili bitkilerin metanolik özütleri hazırlanmıştır. Balıklar, bu özütlerle 45 gün beslenmişler ve 15. gün, 30. gün ve çalışma sonunda balıkların büyüme verileri kontrol edilerek bitkilerin özütlerinin

büyüme performansı üzerine etkileri ve yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği tespit edilmiştir.

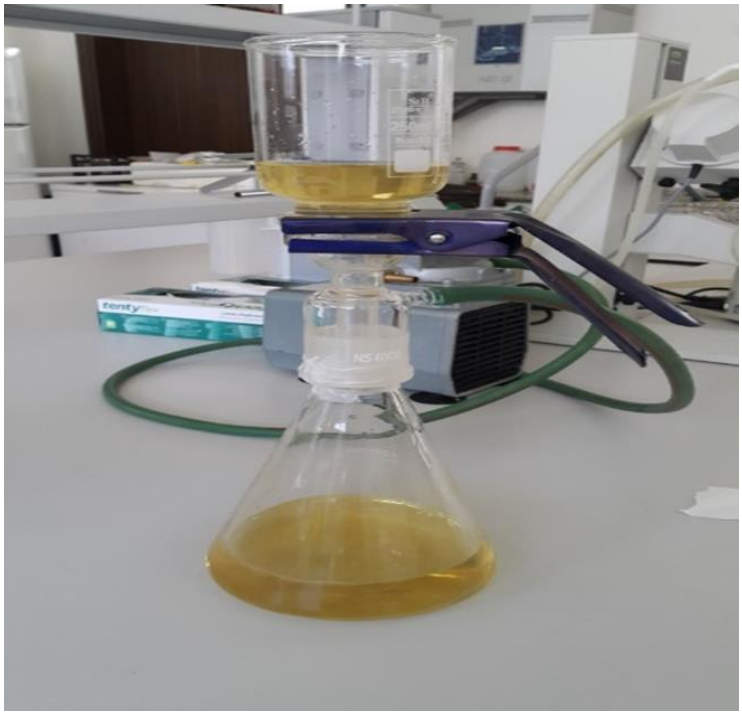
Bitkileri immünostimulant etkilerinin belirlenmesi: Balıklar bitkilerin metanolik özütleri ile 45 gün beslenmişler ve 15, 30 ve 45. günlerde balıklardan kan ve doku örnekleri alınarak bağışıklık uyarıcı etkileri ve gen ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir.

Bitkilerin hayatta kalma oranına etkisinin belirlenmesi: Balıklar, siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*), çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve defne yaprağı (*Laurus nobilis*) sulu metanolik özütlerinin *Vibrio anguillarum, Yersinia ruckeri, Aeromonas salmonicida* patojenlerine karşı etkinliğin belirlenmesi için 10 günlük denemeye tabi tutulmuşlardır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Tıbbi Bitkilerin Sulu Metanolik Özütlerinin Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılmış olan bitkilerin, gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, immun yanıtı üzerindeki etkileri ve enfeksiyonlara karşı etkinliklerinin belirlenmesi için sulu metanolik özütler kullanılmıştır. Aktarlardan elde edilen bitkiler ilk olarak kurutma işlemine tabi tutulmuşlardır. Akabinde Orman Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda bitkiler yüksek hızlı bitki değirmeninde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Daha sonra bu bitkilerin sulu metanolik (%40) özütleri çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016). Bunun için 50 gr toz haline getirilmiş bitki, 400 ml methanol ve 600 ml distile su karıştırılmış ve amberli şişede yaklaşık 72 saat bekletilmiştir. Sonrasında karışım filtre düzeneğinden geçirilerek katı partiküllerinden ayrılmıştır. Süzülen örnekler evaporatöre alınmış ve 65^{o}C' de methanol, 85^{o}C' de ise su uzaklaştırılmıştır. Dönüş hızı 3 ile 5 arasında değiştirilmiş ve basınç sürekli kontrol altında tutulmuştur. Bitkiler bal kıvamına gelene kadar bu işlem sürmüş ve sonrasında g/ml cinsinden hesaplamaları yapılmıştır. Çıkarılan bitki özütleri -20^{o}C de saklanmıştır (Bilen vd.,2016).



Fotoğraf 3.4 Filtrasyon düzeneği (Özgün)



Fotoğraf 3.5 Evaporatör uygulaması (Özgün)



Fotoğraf 3.6 Bitkilerin özütleri (Özgün)

Elde edilen özütlerin GC-MS cihazında içerik analizleri Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında yapılmış ve Tablo 3.3, Tablo 3.4 ve Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.3 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.) metanolik özütünün bileşenlerinin listesi

No	Bileşen	Yüzdesi(%)
1	Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS)	0,22
2	Pentadecanoic acid, methyl ester	0,25
3	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)	10,77
4	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)	0,63
5	Heptadecanoic acid, methyl ester	1,03
6	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	29,76
7	6-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	20,74
8	cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	0,41
9	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	6,56
10	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	1,63
11	9-Tetradecenal, (Z)-	2,06
12	Ethyl linoleate	0,24
13	Cyclopropaneoctanoic acid, 2-octyl-, methyl ester, cis-	0,23
14	7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester	0,69
15	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester	1,25
16	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	1,29
17	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	0,27
18	cis-13-Eicosenoic acid, methyl ester	1,01
19	Methyl 18-methylnonadecanoate	5,20
20	Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, methyl ester, trans- (CAS)	2,11
21	11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester	0,31
22	14-.BETA.-H-PREGNA	0,37
24	Naphthalene, decahydro-1,6-dimethyl- (CAS)	0,40

Tablo 3.3 (Devamı) Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.) metanolik özütünün bileşenlerinin listesi

25	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoxy-	0,62
26	1-Cyclohexyldimethylsilyloxypentane	0,86
27	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol	0,52
28	Heneicosanoic acid, methyl ester (CAS)	0,39
29	7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester	5,98
30	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester	0,24
31	13-Docosenoic acid, methyl ester	0,59
32	Docosanoic acid, methyl ester (CAS)	1,15
33	Diğer	2,24
	Toplam	100

Tablo 3.4 Defne (*Laurus nobilis*) yaprağı metanolik özütünün bileşenlerinin listesi

No	Bileşen	Yüzdesi(%)
1	2,4-Dimethyl-1-heptene	0,81
2	Decane	1,17
3	Dodecane	1,19
4	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,57
5	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy- (CAS)	0,62
6	Tetradecane (CAS)	0,87
7	1-Methyl-4-(1-acetoxy-1-methylethyl)-cyclohex-2-enol	0,68
8	Hydroxy-.alpha.-terpenyl acetate	1,22
9	Hydroxy-.alpha.-terpenyl acetate	1,00
10	Hydroxy-.alpha.-terpenyl acetate	2,58
11	Acetic acid, 1-methyl-1-(4-methyl-5-oxo-cyclohex-3-enyl)ethyl ester	0,64
12	Bicyclo[3.2.0]heptan-2-one, 5-formylmethyl-6-hydroxy-3,3-dimethyl-6-vinyl-	0,88
13	Silane, dibutylchloroethenyl-	0,85
14	2-Naphthalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8-tetramethyl-, [2R-(2.alpha.,4a.beta.,8.beta.)]-	0,87
15	1-Heptatriacotanol	0,54
16	4a(2H)-Naphthalenol, octahydro-4,8a-dimethyl-,(4.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)-	1,50
17	Caryophyllene oxide	1,28
18	1-Heptatriacotanol	0,94
19	Methandrostenolone	0,91
20	Benzofuranone, 6-ethenylhexahydro-6-methyl-3-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [3aS-(3a.alpha.,6.alpha.,7.beta.,7a.beta.)]-	4,39
21	Caryophyllene oxide	0,69
22	Platambin	0,99
23	H-Cycloprop[e]azulen-4a-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	0,96
24	Patchoulene <alpha->	6,18
25	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)	3,57
26	Bicyclo[4.4.0]dec-2-ene-4-ol, 2-methyl-9-(prop-1-en-3-ol-2-yl)-	2,89
27	1-Heptatriacotanol	0,70
28	1,1'-Bis(cyclooct-2-en-4-one)	26,75

Tablo 3.4 (Devamı) Defne (Laurus nobilis) yaprağı metanolik özütünün bileşenlerinin listesi

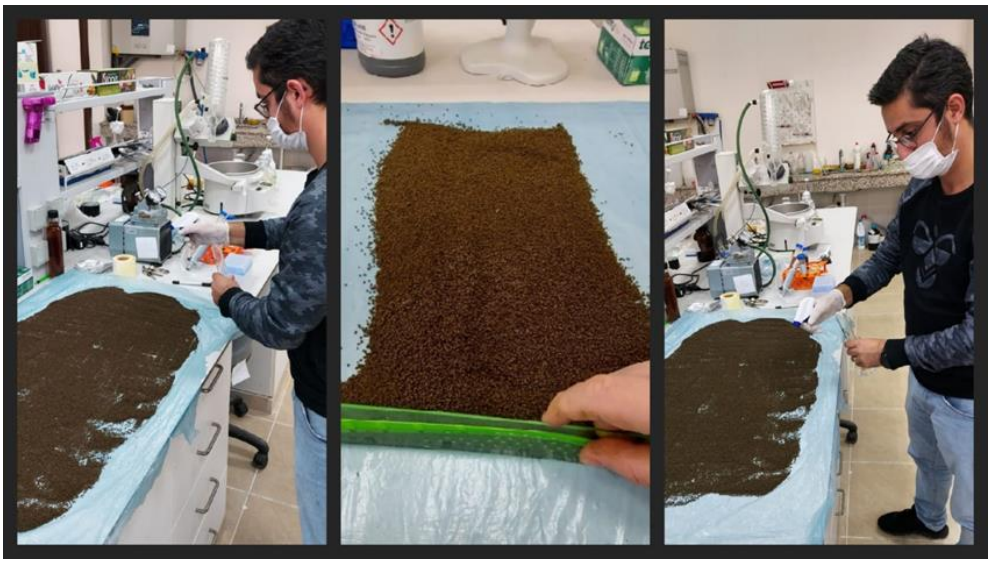
29	leno[4,5-b]furan-2(3H)-one, 3a,4,6a,7,8,9,9a,9b-octahydro-6-methyl-3,9-bis(methylene)-, [3aS-(3a.alpha.,6a.alpha.,9a.alpha.,	16,49
30	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	1,02
31	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	2,64
32	.beta.-Guaiene	0,64
33	7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 2,2,6-trimethyl-1-(3-methyl-1,3-butadienyl)-5-methylene-	2,61
34	1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-, cis- (CAS)	0,57
35	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triaconta-1(22),7(16),9,13,24,28-hexaene	1,09
36	1-Heptatriacotanol	2,79
37	Dicyclohexyl-, ethylphosphonate	0,78
38	10,13-Eicosadienoic acid, methyl ester	0,85
39	Diğer	4,47
	Toplam	100

Tablo 3.5 Siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu metanolik özütünün bileşenlerinin listesi

No	Bileşen	Yüzdesi(%)
1	2,4-Dimethyl-1-heptene	0,21
2	Decane	0,41
3	Dodecane	0,41
4	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	0,21
5	4-Methoxymethylphenol	7,66
6	1-Heptanol, 2,4-diethyl-	0,43
7	Tetradecane (CAS)	0,41
8	Hexadecane	0,14
9	2-Propenoic acid, 3-[4-(acetyloxy)-3-methoxyphenyl]-, methyl ester	0,34
10	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)	0,15
11	Cyclic octaatomic sulfur	0,10
12	2-Propenoic acid, 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-	1,64
13	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	0,43
14	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol	0,58
15	Z,Z-3,13-Octadecadien-1-ol	0,57
16	Dodecanedioic acid, dimethyl ester (CAS)	1,26
17	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	16,32
18	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	7,28
19	13-Octadecenal, (Z)-	18,11
20	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate	15,51
21	1,8-Octane diisothiocyanate	6,66
22	Cyclopentanecarboxylic acid, undec-10-enyl ester	15,57
23	Methyl 15-hydroxy-9,12-octadecadienoate	0,35
24	24(Z)-METHYL-25-HOMOCHOLESTEROL	1,51
25	Cyclopropaneoctanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	1,54
26	Diğer	2,23
	Toplam	100

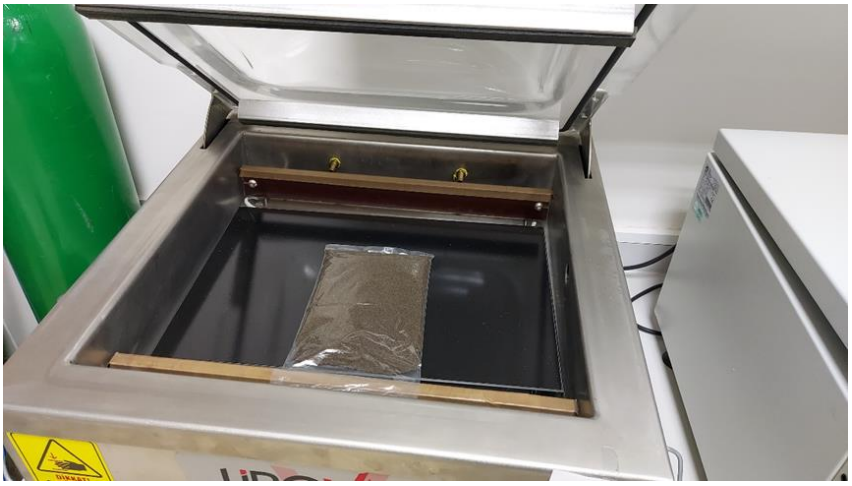
3.2.2 Deneme Yemlerinin Hazırlanması

Deneme yemlerinin hazırlanması için çıkarılan özütlerden belirlenen miktarlarda daha önceden ticari olarak temin edilmiş olan balık yemlerine spreyleme yöntemiyle ilave edilmiştir (Bilen vd., 2016). Özütlerin daha iyi ve homojen spreylenmesi için saf su kullanılarak seyreltilmiş ve daha önceden belirlenen miktarlarda her grup için ayrı ayrı hazırlanarak yemlere spreylenmiştir (Her bir özüt için; 0,1 g/kg; 1 g/kg; 5 g/kg).



Fotoğraf 3.7 Yem yapım süreci (Özgün)

Akabinde yemler poşetlenerek vakumlama makinesinde vakumlanmıştır ve +4°C'de saklanmıştır. Deneme gününde yemler tartılarak darası alınmış kutulara konulmuştur.



Fotoğraf 3.8 Vakum makinesinde yem vakumlama (Özgün)



Fotoğraf 3.9 Vakumlanmış deneme yemleri (Özgün)



Fotoğraf 3.10 Çalışma esnasında kullanılan tartılmış deneme yemleri (Özgün)

3.2.3 Balıkların Büyüme Performanslarının Hesaplanması

Denememizde kullanılan balıklarımızın canlı ağırlıkları, başlangıç gününde ve 15 günlük periyotlarla gruplardaki tüm balıklara anestezi (Fenoksi-ethanol (3 ml/L su)) daldırma yolu ile uygulanarak 0,1 g'a duyarlı hassas terazi ile ayrı ayrı ağırlıkları tartılmıştır. Canlı ağırlık artışı (CAA); periyot sonundaki canlı ağırlık değerinden (A_2) periyot başlangıcındaki canlı ağırlık değerinin (A_1) çıkartılmasıyla hesaplanmış (Ricker, 1979) ve daha sonra yüzde ağırlık kazanımı bulunmuştur (AK).

$CAA = A_2 - A_1$

CAA : Canlı ağırlık artışı

A_2 : Periyot sonundaki ortalama bireysel ağırlık (g)

A_1 : Periyot başındaki ortalama bireysel ağırlık (g)

Spesifik büyüme oranı;

$SBO = 100 \times (Ln\ Af - Ln\ Ai / t)$

SBO : Spesifik büyüme oranı

Af : Periyot sonundaki bireysel ağırlık

Ai : Periyot başındaki bireysel ağırlık

t : Zaman (gün olarak)

formülleri ile hesaplanmıştır (Ricker, 1979).

YDO = Tüketilen yem miktarı (g) / Örnekleme Dönemi canlı ağırlık artışı (CAA (g))

YDO : Yem dönüşüm oranı

CAA : Canlı ağırlık artışı

olarak hesaplanmıştır (Ricker, 1979).

3.2.4 Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Her örnekleme gününde (15, 30 ve 45. gün) tüm gruplardaki balıklardan daha önceden K3 EDTA ile muamele edilmiş insulin şırıngası vasıtasıyla ventral aorta girilerek kan alınmış ve yine K3 EDTA ile muamele edilmiş tüplere konulmuştur. Canlılardaki stresi minimmuma indirmek fenoksi-ethanol ile anestezi uygulanmıştır. Kan örnekleri

her gruptan üç balıktan alınmıştır. Alınan kan örneklerinden aynı gün NBT analizleri yapılmıştır ve kalan kan örnekleri de 5000 RPM'de 4°C'de 5 dk santrifüj edildikten sonra plazma Lizozim ve MPO analizlerinin yapılması için toplanmıştır. Yine her örnekleme gününde gen ekspresyonları için diseksiyon yöntemi ile ön böbrek ve dalak örnekleri alınmış ve analiz gününe kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Fotoğraf 3.11 Kan alınması (Özgün)

3.2.5 Süperoksit Radikal Salınımı (NBT) Tayini

Nitro blue tetrazolium (NBT), çalışmada spesifik olmayan immün (doğal bağışıklık) sistemindeki fagositik aktiviteyi belirlemek için yapılan bir analiz metodudur. NBT miktarındaki azalma, balığın immün mekanizmasının zayıfladığı ve buna istinaden sağlığının negatif olarak etkilendiğinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir (Yılmaz, 2011).

NBT tayini Glasser ve Fiederlein (1990) metoduna göre yapılmıştır. Her gruptaki balıklardan alınan kan örneğinden cam tüplere 10 µl alınmış ve 10 µl NBT solüsyonu ilave edilmiştir. 10 dakika beklendikten sonra üzerine 1 ml N-Ndimetyl konulmuş ve 4100 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Bu işlemden sonra üstteki süpernatant alınmış ve spektrofotometrede 540 nm'de okuması gerçekleştirilmiştir.

NBT Hesaplaması= Sonuç x 4

3.2.6 Lizozim Aktivitesi Tayini

Lizozim, spesifik olmayan bağışıklık sisteminde çok önemli humoral etkenlerden biridir. Balıkların serum, bazı dokular ve fagositik hücreler gibi yapılarında bulunmaktadırlar. Lizozimin temelini oluşturan maddeler ise monosit, makrofaj ve nötrofillerdir. Lizozimin antibakteriyel etkisi bulunmaktadır. Lizozimin tesiri yabancı maddenin yutulması ile başlar. Hücre içerisindeki lizozomlar fagozomla birleşip, içindeki enzimleri boşaltır ve lizozomal enzimler de bakterinin duvarını parçalayarak mikroorganizmayı öldürmektedir. Balıklarda genellikle bakteriyel hastalıklar sırasında immün yanıtında önemli etkiye sahiptir (Ellis, 1990).

Lizozim çözeltisi, 1 tablet fosfat tamponlu tuz (PBS) ve 0.02 g Micrococcus lysodeicteus bakterisinin (Sigma M3770-5g) 100 ml saf suda çözündürülmesi ile yapılmıştır. Lizozim aktivitesi türbidimetrik yöntem ile yapılmış ve hazırlanan çözeltiye 40 µl serum ilave edilerek 530 nm'de 0. ve 4. dakikalarda spektrometrik okutmaları yapılmıştır (Parry vd., 1965).

LİZOZİM = [(ilk okuma-son okuma)*1000] / serum miktarı= U/µl

3.2.7 Myeloperoksidaz (MPO) Tayini

Myeloperoksidaz, oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan ve lökositlerden salgılanan lizozomal yapıya sahip bir enzim türüdür. Lökositlerde çok fazla bulunmaktadır (Tulgar, 2014).

Serum MPO tayini Quade ve Roth (1997) yöntemlerinde ufak değişikliklerle yapılmıştır. Öncelikle 1 tablet fosfat sitrat 100 ml saf suda çözülerek birinci çözelti hazırlanmıştır. Akabinde ikinci çözelti için 1 tablet tetramethilbenzidin dihidroklorür ilk hazırlanan çözeltiden 10 ml alınarak çözülmüştür. Daha sonra 370 µl Hank's Balanced Solüsyonu (HBSS) 30 µl serum ile karıştırılmış ve okutmadan hemen önce karışım çözeltiden 100 µl üzerine ilave edilmiştir. 0. ve 4. dakikalarda 450 nm'de okutmaları yapılarak ilgili formüle göre hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

MPO = Absorbans farkı * 1906,4 = U/ µl

3.2.8 Sitokin Gen Yanıtlarının Belirlenmesi

3.2.8.1 Gen ekspresyonları

Çalışmamızın 15, 30 ve 45. günlerinde her gruptaki örneklenen balıkların dalak ve ön böbrek dokularından total RNA izolasyonu yapılmıştır. RNA izolasyonunun akabinde çıkarılan toplam RNA'ların saflık ve konsantrasyon ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın devamında cDNA sentezi yapılmıştır. Saflık ve konsantrasyon ölçümleri yapılan cDNA'lardan uygun primerler kullanılarak balıkların gen sunumları gerçekleştirilmiştir. β-aktine göre IL-1β, TNF-α, TGF-β ve IFN-I gen ekspresyonları belirlenmiştir.

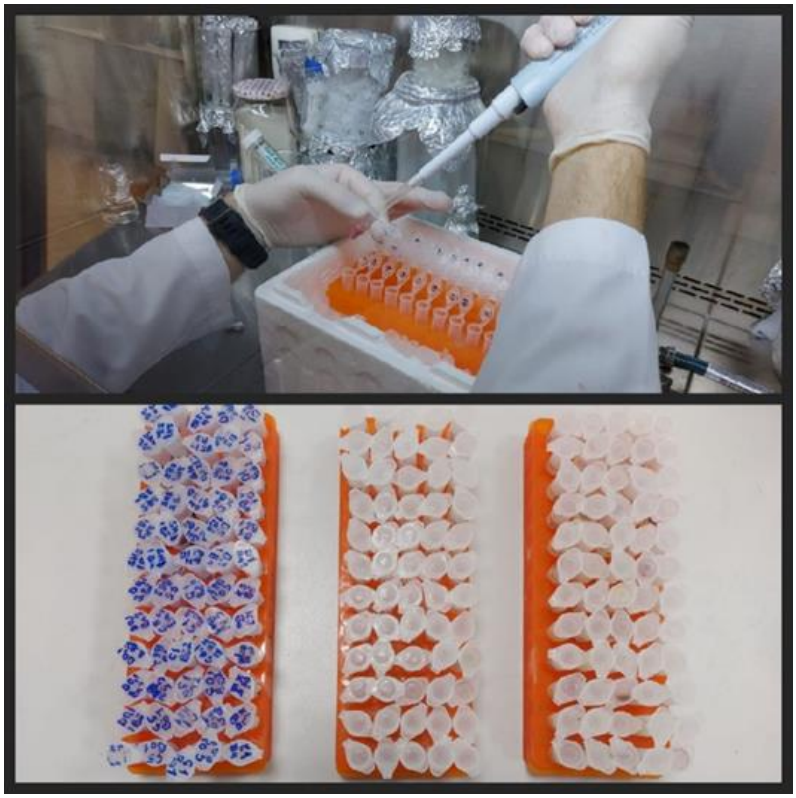
3.2.8.2 Total RNA izolasyonu

Dokulardan RNA izolasyoları yapılırken manuel metod kullanılmıştır. Çalışma aşamasında örnekler ile her zaman buz içerisinde çalışılmıştır. Öncelikle dokular 500 µl. Trizol içerisinde homojenize edilmiştir. Daha sonra 13000 rpm. de 10 dakika boyunca 4°C'de santrifüj yapılmıştır.



Fotoğraf 3.12 Homojenize edilme ve santrifüj aşamaları (Özgün)

Süpernatantlar yeni tüpe transfer edilmiş ve üzerine 200 µl. Kloroform ilave edilmiştir. Tüpler 2 dk. boyunca ters düz edildikten sonra 1 dk. Oda sıcaklığında bekletilmiş ve akabinde tekrar 13000 rpm. de 10 dakika boyunca 4°C' de santrifüj yapılmıştır. Bu aşamadan sonra 3 faza ayrılan örneğin en üst kısmındaki bölüm alınıp başka bir tüpe aktarılmıştır ve üzerine 500 µl. İsopropanol ilave edilmiştir.



Fotoğraf 3.13 Toplam RNA çıkarma aşamaları (Özgün)

Örnekler 3 dk. boyunca ters yüz edildikten sonra -30°C' de 7 dk. beklemeye alınmıştır ve akabinde 13000 rpm. de 10 dakika boyunca 4°C'de santrifüj yapılmıştır. Örneklerdeki süpernatant atılarak yıkama işlemine geçilmiştir. Bu safhada 500 µl. %70 soğuk ethanol ile peletler yıkanmış ve tüpün altına hafifçe vurularak peletler kaldırılmıştır. Daha sonra 10000 rpm. de 5 dakika boyunca 4°C'de santrifüj yapılmıştır. Yine süpernatant atıldıktan sonra ikinci yıkama işleminde de aynı aşama tekrarlanmış ve süpernatant yine uzaklaştırılmıştır. Sonrasında RNA peleti olan tüpler kabin içerisinde en az 10 dk. boyunca ethanolün arındırılması için bekletilmiştir. Ethanol tamamen uçtuktan sonra 20 µl. Nükleaz içermeyen su (NFW) eklenen örnekler 30 dk. buz içerisinde bekletilmiştir.

Bundan sonra RNA saflıkları ve konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için mikroplaka spektrofotmetresi (Multiscan GO-Thermo Fischer Scientific, ABD) kullanılmış ve Nano Drop® ile belirlenmiştir. İlk kuyucuğa kör örnek olarak 2 µl sadece NFW yüklenmiş ve her bir RNA numunesinden 2 µl kuyucuklara konulmuş, ardından RNA miktar ve saflık tayini gerçekleştirilmiştir. Örneklerin RNA miktarları ng/µl olarak kayıt edilmiştir. Tüm örneklerde yeterli konsantrasyona ulaşılmış ve

tümüne yakın örneklerde 2,0-2,2 (260/230 oranı) arası saflık elde edilmiştir. İstenilen saflığa ulaşılamayan örneklerde ise yeni bir işlem uygulanmıştır. Filtreli RNA tüplerinden tekrar 20 µl. NFW eklenerek geçirilen örnekler 13000 rpm. de 10 dakika boyunca 4°C' de tekrar santrifüj edilmiş ve tüm örneklerde istenilen saflık elde edilmiştir.

Bu aşamalardan sonra RNA'ların konsantrasyon hesapları yapılmış ve NFW ile seyreltme işlemi her bir örnek için ayrı ayrı yapılmıştır. Örnekler kit ile cDNA çıkarılması için -80°C' de saklanmıştır.



Fotoğraf 3.14 Toplam RNA saflık ve konsantrasyon ölçüm aşamaları (Özgün)

3.2.8.3 Komplementer DNA (cDNA) sentezi

cDNA sentezi için A.B.T.™ cDNA Sentez Kiti kullanılmış ve üretici talimatlarına göre yapılmıştır. Reaktifler örnek sayısına yetecek kadar Tablo 3.6'da belirtilen oranlarda karıştırılıp bir master mix oluşturulmuş ve Tablo 3.7'deki termal parametrelere göre yürütülmüştür. Tüm örneklerde yeterli konsantrasyona ulaşılmış ve yine tüm örneklerde 1,8-2,0 (260/230 oranı) arası saflık elde edilmiştir.

Daha sonra cDNA ürünü, gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) için -20°C'de tutulmuştur.

Tablo 3.6 cDNA Master Mix

20 µl Reverse Transcriptase Reaksiyonu	**Hacim**
10X Reaksiyon Buffer	2 µl
dNTP mix (2.5 mM each)	1 µl
Random hexamer (50 µM)	2 µl
Reverse Transcriptase (200 U/µl)	1 µl
RNase Inhibitor	0.5 µl
RNase free Water	3.5 µl
RNA Örnek	10 µl

Tablo 3.7 Reverse Transkriptaz reaksiyon koşulları protokolü

Adım	İnkübasyon	Reverse Traskripsiyon	Reverse transkriptaz aktivasyon durdurma inaktivasyon	Soğutma
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Süre	10 dakika	120 dakika	5 dakika	∞

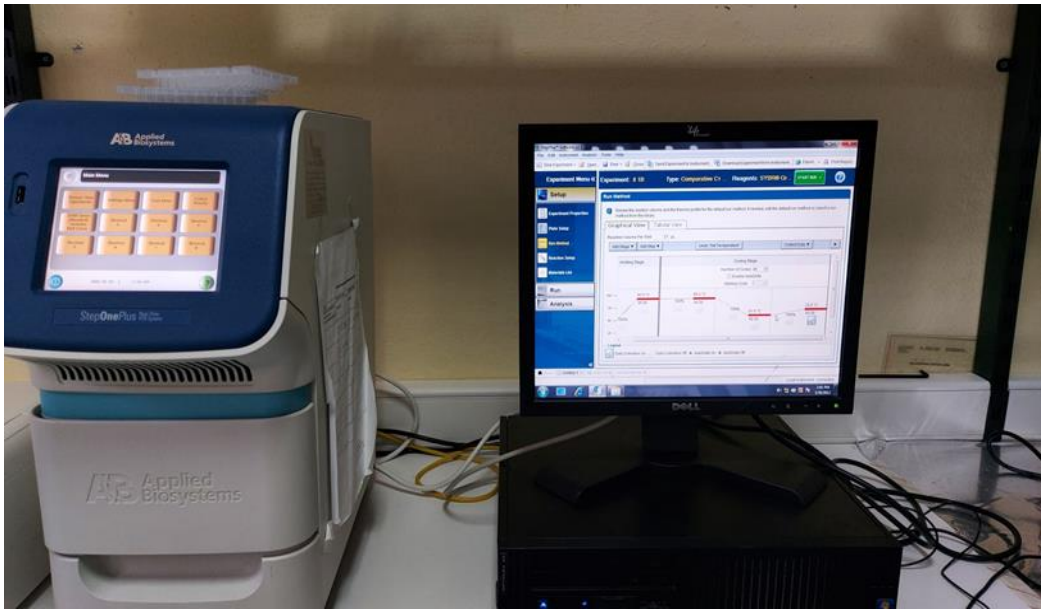
qRT-PCR işleminden önce DNA'ların konsantrasyon hesapları yapılmış ve NFW ile seyreltilmiştir.

3.2.8.4 Kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi

cDNA sentezinden sonra qRT-PCR analizi Applied Biosystems Step One Plus Real Time PCR Systems ve A.B.T.™ 2X qPCR SYBR-Green Master Mix (with ROX) kiti kullanılarak yapılmıştır. qRT-PCR karışımı; 10 µl 1X SYBR Green Master Mix, 1 µl (15 ng) template DNA, 1 µl her gene spesifik (daha önceden baz dizilimi ile sipariş edilmiş) forward ve recerse primerler (IL-1β, TNF-α, TGF-β, IFN-I ve referans olarak β-actin) ve 20 µl'ye tamamlamak için saf su içermektedir. qRT-PCR denaturasyon, yapışma ve uzatma olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Her primer için ayrı sıcaklık ve döngü protokolleri uygulanmıştır.

Tablo 3.8 Primerlere özgü qRT-PCR döngü protokolü

Primer	Denatürasyon (Denaturation)	Yapışma (Anneal)	Uzatma (Extend)
β-actin	95°C 20 sn. 45 döngü	58°C 30 sn. 45 döngü	72°C 30 sn. 45 döngü
IL-1β	95°C 20 sn. 45 döngü	58°C 30 sn. 45 döngü	72°C 30 sn. 45 döngü
TNF-α	95°C 1 dk. 35 döngü	59°C 30 sn. 35 döngü	72°C 90 sn. 35 döngü
TGF-β	95°C 20 sn. 45 döngü	61°C 30 sn. 45 döngü	72°C 30 sn. 45 döngü
IFN-I	95°C 10 sn. 40 döngü	95°C 15 sn. 40 döngü	60°C 1 dk. 40 döngü



Fotoğraf 3.15 Applied Biosystems Step One Plus Real Time PCR sistemi (Özgün)

3.2.9 Kontrol Testleri

Balıkların 45 gün belirlenen bitkilerin metanolik özütü içeren yemlerle beslenmesinin akabinde *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas salmonicida* patojenlerine maruz bırakılarak kontrol testi yapılmıştır. Bakterilerin daha önceden LD50 dozları belirlenmiş ve buna istinaden bakteriler PBS içerisinde 0,5 McFarland ($1x10^8$ cfu/mL) olana dek seyreltilmiştir (Wikler, 2006). Her hastalık amili 100 µL PBS içerisinde $1x10^8$ cfu/mL intraperitonal yolla balıklara verilmiş ve 10 gün süresince ölümler tek tek kayıt altına alınmıştır. Daha sonra hayatta kalma oranları hesaplanmıştır.

HKO (%)= (Hayatta kalan balık sayısı/enfekte balık sayısı)*100

3.2.10 İstatistiksel Analizler

Araştırmamızda ortaya konulan bütün verilerin ortalamaları ve standart hataları (± SE) Microsoft Office Excel 2016 programı ile hesaplanmıştır. Farklılıkları değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Farklı olan gruplara Tukey ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak değerler arasındaki farkın önemi %95 doğruluk eşiği içerisinde yorumlanmıştır ($P<0,05$). Tüm istatistiksel analizler SPSS 23 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Büyüme Performansı

45 günlük çalışmamız sonucunda elde edilen büyüme performansı verileri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 45 Gün boyunca farklı dozlarda çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansındaki değişiklikler

	BOA (gr)	BiOA (gr)	YDO	SBO	AK (%)
Kontrol	5,38±0,14	16,00±0,28	1,90±0,27	2,20±0,03	197,23±2,43
Ç0,1	5,69±0,06	17,24±1,23	1,64±0,66	2,22±0,17	202,89±19,24
Ç1	5,72±0,06	17,87±0,64	1,59±0,05	2,31±0,05	212,35±8,21
Ç5	5,69±0,11	17,79±0,35	1,69±0,03	2,25±0,02	212,85±11,99
D0,1	5,61±0,20	16,42±0,71	1,77±0,87	1,88±0,26	192,57±6,55
D1	5,46±0,16	16,69±0,81	1,66±0,19	2,21±0,16	205,94±10,66
D5	5,29±0,18	15,33±0,92	1,79±0,55	2,02±0,17	190,00±7,81
SH0,1	5,58±0,07	16,33±0,84	1,80±0,14	2,13±0,06	192,75±11,28
SH1	5,65±0,14	16,66±0,26	1,75±0,15	2,08±0,08	194,66±8,08
SH5	5,71±0,13	16,18±0,58	1,89±0,29	1,87±0,18	183,52±5,70

Değerler ortalama ± SE olarak verilmiştir, Kontrol, özüt içermeyen beslemeyi gösterir, Ç0,1; Ç1 ve Ç2, sırasıyla 0,1 g/kg; 1 g/kg ve 5 g/kg çemen tohumu özütü içeren yemlerdir. D0,1; D1 ve D5, yemlerin sırasıyla 0,1 g/kg; 1 g/kg ve 5 g/kg defne yaprağı özütü içerdiğini gösterir. SH0,1; SH1 ve SH5, yemlerin sırasıyla 0,1 g/kg; 1 g/kg ve 5 g/kg siyah hardal tohumu özütü içerdiğini gösterir. BOA: Başlangıç Ortalama Ağırlık, BiOA: Bitiş Ortalam Ağırlık, YDO: Yem Değerlendirme Oranı, SBO: Spesifik Büyüme Oranı, AK: Ağırlık Kazanımı.

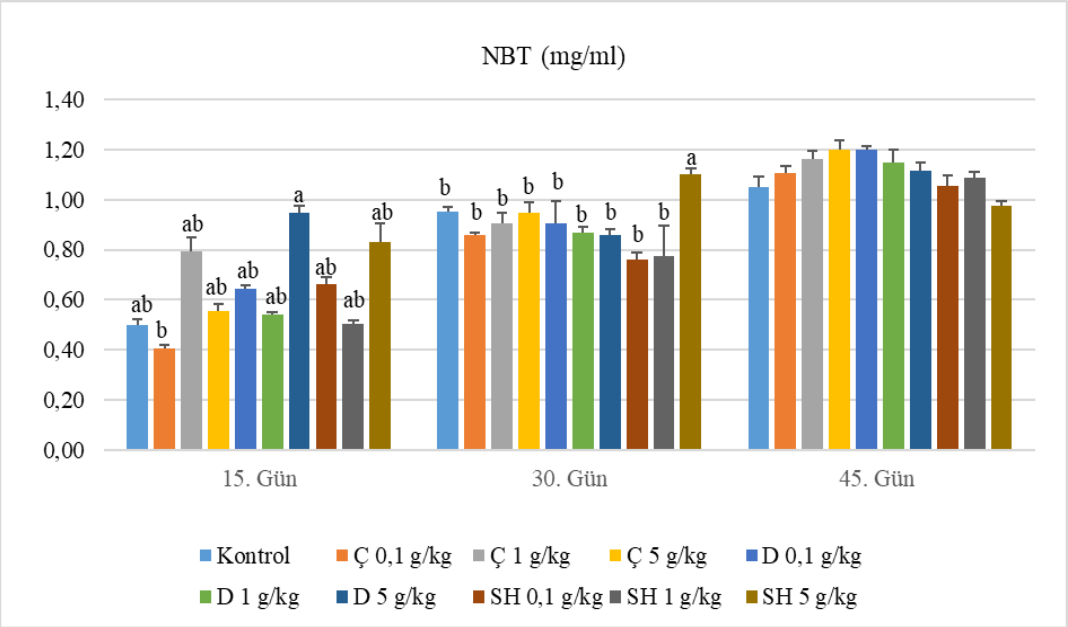
Çalışmanın başlangıcında gruplara eşit sayıda dağıtılan ve tek tek ağırlıklarını kaydettiğimiz balıkların başlangıç ortalama ağırlıklarında (BOA) istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir (P>0,05). 45 günlük deneme nihayetinde elde ettiğimiz büyüme performansı parametrelerinde gökkuşağı alabalığı yemine farklı oranlarda çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütlerinin eklenmesinin ortalama son ağırlık (BİOA), yem dönüşüm oranı (YDO), spesifik büyüme oranı (SBO) ve yüzde ağırlık artışına (AK) gruplar arasında kayda değer önemli bir istatistiksel fark oluşturmadığı tespit edilmiştir (P>0,05).

4.2 Spesifik Olmayan Bağışıklık Yanıtlardaki Değişimler

Yapılan denemenin her 15, 30 ve 45. günlerinde balıklardan kan örnekleri alınarak kandan NBT, serumdan lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri incelenmiştir.

4.2.1 Süperoksit Radikal Salınımı (NBT)

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde balıkların süperoksit radikal salınımları NBT yöntemi ile tespit edilmiştir. Örnekleme sonuçları Grafik 4.1'de verilmiştir.



Grafik 4.1 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) süperoksit radikal üretimlerinde (NBT) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

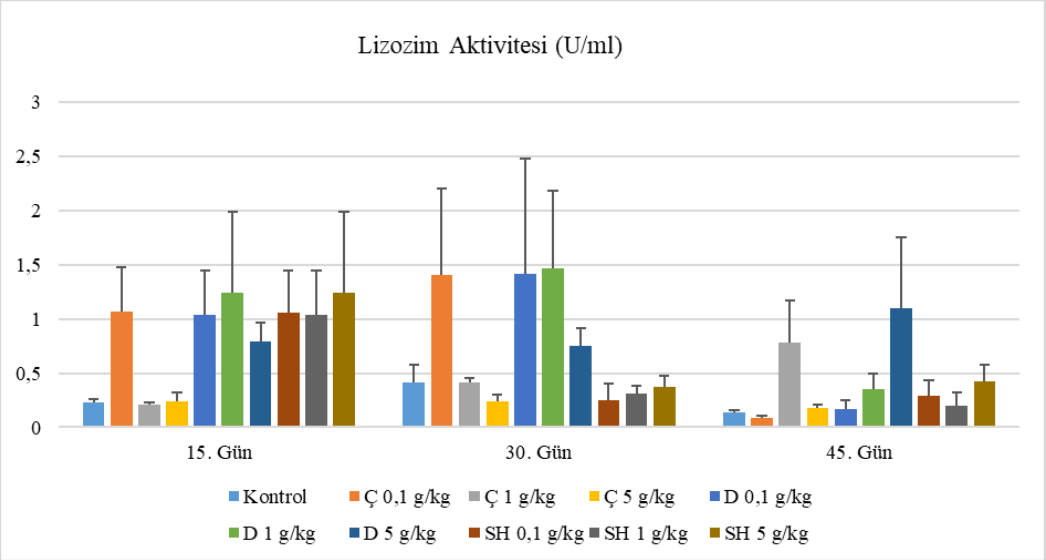
Çalışmanın 15. gününde balıkların süperoksit radikal salınımları en yüksek D5 grubunda 0,56±0,03 mg/ml olarak tespit edilmiş ve en düşük Ç0,1, grubunda 0,40±0,01 mg/ml tespit edilmiş olup bu gruplar arasında istatisiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Bununla birlikte diğer grupların kendi içinde arasında önemli istatistiksel fark bulunmamış ($P>0,05$) ve bu gruplar hem D5 hem de Ç0,1 grupları ile benzerlik göstermiştir.

Çalışmanın 30. gününde gruplar arasında en yüksek NBT değeri SH5 grubunda 1,10±0,02 olarak tespit edilmiş ve diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Diğer tüm grupların süperoksit radikal salınımları benzerlik göstermiş ve gruplar arasında bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Çalışmanın 45. gününde ise süperoksit radikal salınımları gruplar arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir farklılık göstermemiştir (P>0,05).

4.2.2 Lizozim Aktivitesi

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerine balıkların kan serumundan lizozim aktivitesine bakılmış ve oluşan değişimler Grafik 4.2'de verilmiştir.

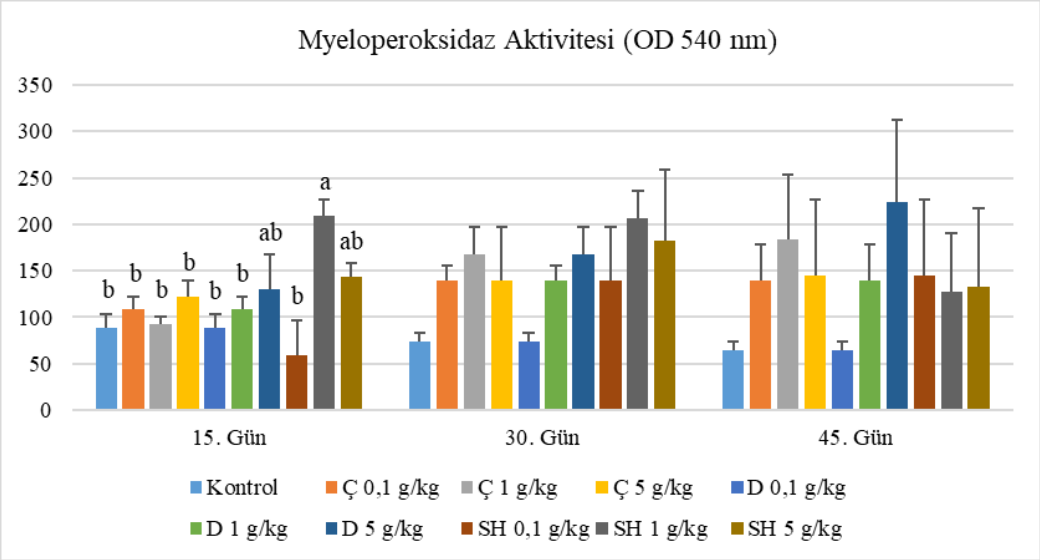


Grafik 4.2 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) lizozim aktivitesinde (LYS) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre denemenin 15, 30 ve 45 günlerinde lizozim aktiviteleri kıyaslandığında tüm deneme gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (P>0,05).

4.2.3 Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Sonuçları

Çalışma sonunda elde edilen myeloperoksidaz aktivitesi sonuçları Grafik 4.3'te verilmiştir.



Grafik 4.3 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) myeloperoksidaz aktivitelerinde (MPO) meydana gelen değişimler (mg/ml). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Denemenin 15. gününde SH1 grubunda MPO aktivitesi en yüksek olarak tespit edilmiş ve bununla birlikte Kontrol, Ç0,1; Ç1; Ç5; D0,1; D1 ve SH0,1 gruplarında ise en düşük MPO aktivitesi görülmüş ve bu grupların SH1 grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür ($P<0,05$). D5 ve SH5 grubunda ise hem SH1 grubu ile hem de diğer gruplar ile anlamlı farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

Çalışmanın 30. ve 45. günlerinde ise MPO aktivitelerinde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunamamıştır ($P>0,05$).

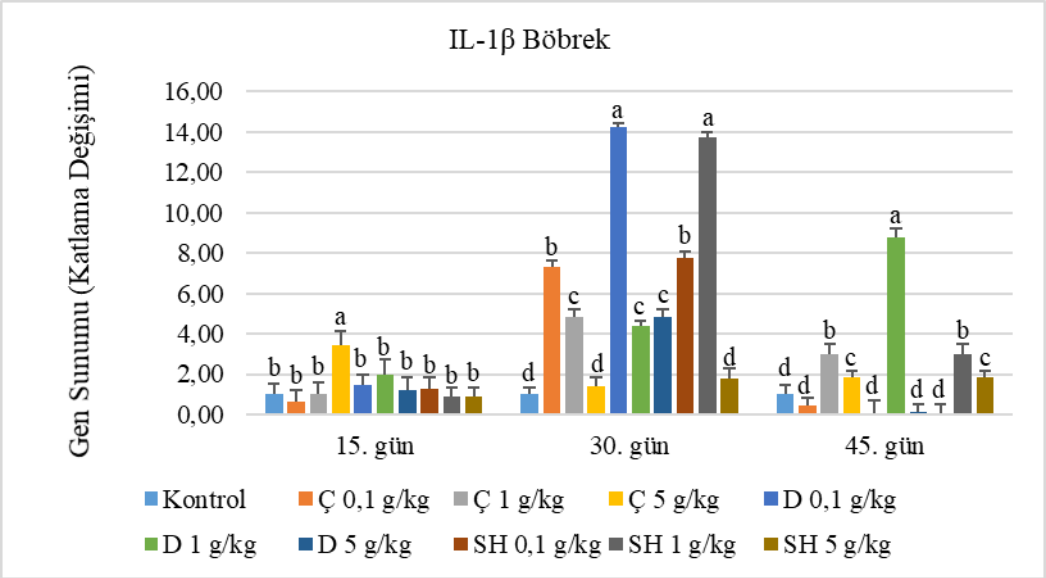
4.3 Gen Ekspresyonlarında Meydana Gelen Değişimler

Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde balıkların böbrek ve dalak dokuları alınmış ve bu dokulardan önce Total RNA izole edilmiştir. Total RNA'lardan cDNA sentezi

yapılmıştır. Son olarak bu cDNA örneklerinden IL-1β, IFN-I, TGF-β ve TNF-α genlerinin ekspresyonları belirlenmiştir.

4.3.1 IL-1β

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde balıkların böbrek ve dalaklarından alınan doku örneklerinde IL-1β gen sunumları tespit edilmiştir. Böbrek örneklerinde yapılan test sonuçları Grafik 4.4'te verilmiştir.



Grafik 4.4 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

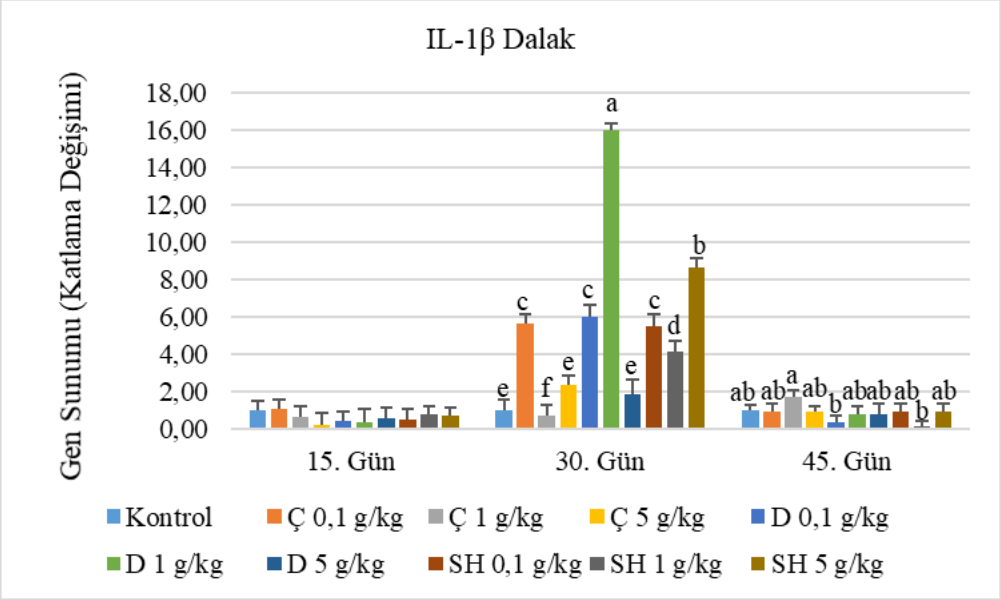
Bu sonuçlara göre IL-1β gen sunumları çalışmanın 15. gününde böbreklerde Ç5 grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli şekilde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı derecede farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

Denemenin 30. gününde IL-1β gen sunumları böbrek dokularında en yüksek D0,1 ve SH1 gruplarında görülmüş ve en düşük ise kontrol, Ç5 ve SH5 gruplarında tespit edilmiştir. D0,1 ve SH1 gruplarında kendi içerisinde fark bulunmamış iken ($P>0,05$) diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Ç0,1 ve SH0,1 grupları kendi içlerinde benzerlik göstermiş ve Ç1; D1 ve D5 kendi içlerinde benzerlik göstermiştir ($P>0,05$). Gruplardaki katlama değişimi

sıralandığında D0,1 ve SH1 en yüksek tespit edilmiş, arkasından SH0,1 ve Ç0,1 yüksek olarak bulunmuş, bunları takiben Ç1; D5 ve D1 gelmiş ve en düşük gruplar ise SH5; Ç5 ve kontrol olarak tespit edilmiştir.

Çalışmanın 45. gününde IL-1β gen sunumları böbrek dokularında istatistiksel anlamlı olarak en yüksek D1 grubunda görülmüş (P<0,05), takiben Ç1 ve SH1 gruplarında kendi içlerinde farklılık olmamak üzere tespit edilmiş, akabinde Ç5 ve SH5 gruplarında yine kendi içlerinde istatistiksel fark olmamak kaydıyla devam etmiş ve en düşük kontrol; Ç0,1; D0,1; D5 ve SH0,1 gruplarında kendi içlerinde istatistiksel fark tespit edilmemiştir. Belirtilen gruplar arasında ise istatistiksel anlamda önemli ölçüde fark görülmüştür (P<0,05).

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde dalakta meydan gelen IL-1 β gen sunumlarındaki değişimler Grafik 4.5'te verilmiştir.



Grafik 4.5 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında IL-1β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

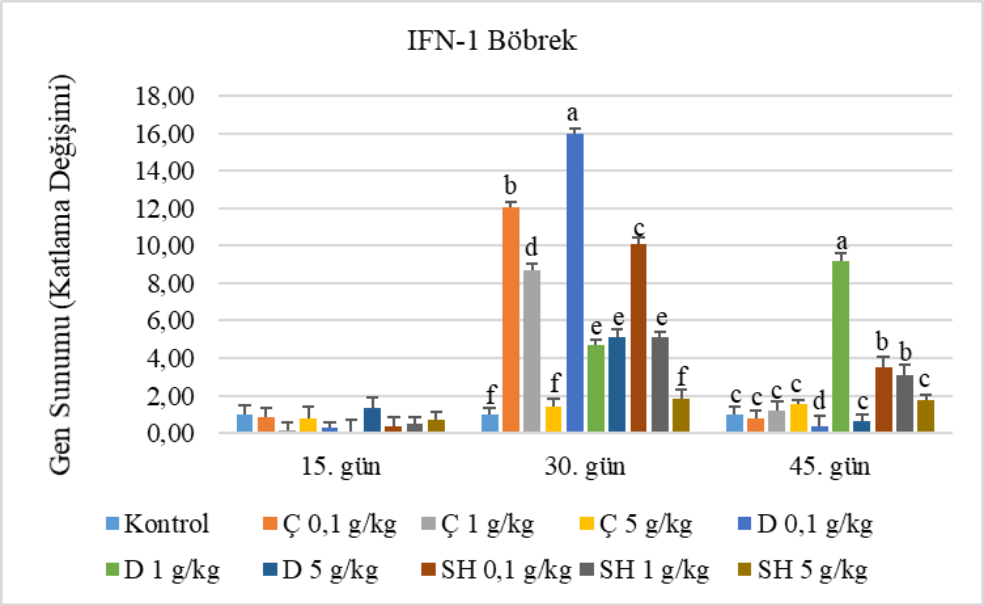
Çalışmanın 15. gününde dalak dokularında IL-1β gen sunumları gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermemiştir(P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde en yüksek katlama değişimi D1 grubunda belirlenmiş ve diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede farklılık görülmüştür (P<0,05). Ç0,1; D0,1 ve SH0,1 gruplarında kendi aralarında fark tespit edilmemiştir (P>0,05). Kontrol; Ç5 ve D5 gruplarının kendi içerisinde yine istatistiksel fark bulunmamıştır (P>0,05). Bu verilere göre sırasıyla bakıldığında D1 en yüksek bulunmuş, takiben SH5 yüksek tespit edilmiş, akabinde D0,1; Ç0,1 ve SH0,1 grupları gelmiş ve bunların arkasından SH1 grubu tespit edilmiş ve takiben Ç5; D5 ve kontrol grupları gelmiş ve en düşük Ç1 grubunda bulunmuştur. Benzerlik gösteren gruplar dışındaki gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark vardır (P<0,05).

Çalışmamızın 45. gününde ise dalak dokularındaki IL-1β gen sunumlarına bakıldığında en yüksek Ç1 grubunda görülmüştür (P<0,05). En düşük ise kendi içlerinde anlamlı fark olmaksızın D0,1 ve SH1 gruplarında belirlenmiştir. Fakat en yüksek bulunan Ç1 grubu ile en düşük bulunan D0,1 ve SH1 grupları arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (P<0,05). Diğer gruplarda ise hem Ç1 grubu ile hem de D0,1 ve SH1 grubu ile anlamlı derecede istatistiksel farklılık görülmemiştir (P>0,05).

4.3.2 IFN-I

Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde balıkların böbrek ve dalaklarından alınan doku örneklerinde IFN-1 gen sunumları tespit edilmiştir. Böbrek örneklerinde yapılan test sonuçları Grafik 4.6'da verilmiştir.



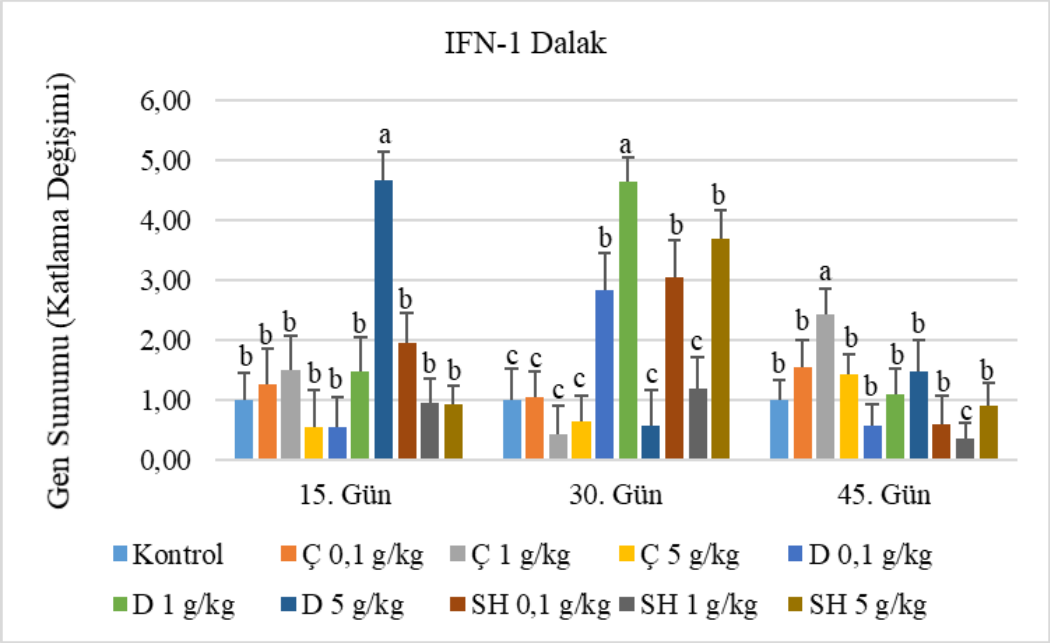
Grafik 4.6 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbrek IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Bu sonuçlara göre IFN-1 gen sunumunda böbreklerde 15. günde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde en yüksek artış D0,1 grubunda görülmüş ve diğer tüm gruplara göre önemli derecede istatistiksel fark tespit edilmiştir (P<0,05). Tüm gruplarda IFN-1 gen ekspresyonu böbreklerde kontrol grubuna göre artış gösterirken, Ç5 ve SH5 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark bulunamamıştır. D1, D5 ve SH1 grupları arasında da yine istatistiksel fark görülmemiştir (P>0,05). Sırasıyla en yüksek artıştan düşüğe doğru bakıldığında D0,1; Ç0,1; SH0,1; Ç1; D5; SH1; D1; SH5; Ç5 ve kontrol grubu gelmektedir.

Denemenin 45. gününde böbreklerde en yüksek IFN-1 gen sunumu D1 grubunda ve istatistiksel olarak diğer gruplardan farklı olarak tespit edilmiştir (P<0,05). Bunu sırasıyla SH0,1; SH1; SH5; Ç5; Ç1; kontrol; Ç0,1; D5 ve en düşük D0,1 izlemektedir. SH0,1 ve SH1 arasında anlamlı bir farklılık yoktur (P>0,05). D0,1 diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak en düşük bulunmuştur (P<0,05). Kontrol, Ç0,1; Ç1, Ç5; D5 ve SH5 grupları arasında da önemli derecede istatistiksel fark bulunamamıştır (P>0,05).

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde dalaklarda meydan gelen IFN-1 aktivitesi Grafik 4.7'de verilmiştir.



Grafik 4.7 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında IFN-1 gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmanın 15. gününde dalaklarda en yüksek IFN-1 gen sunumu D5 grubunda görülmüş ve diğer tüm gruplara göre önemli derecede farklı bulunmuştur ($P<0,05$). En düşük IFN-1 gen sunumu dalaklarda D0,1 grubunda görülmüştür fakat D5 haricindeki hiçbir grup arasında önemli istatistiksel fark bulunamamıştır ($P>0,05$).

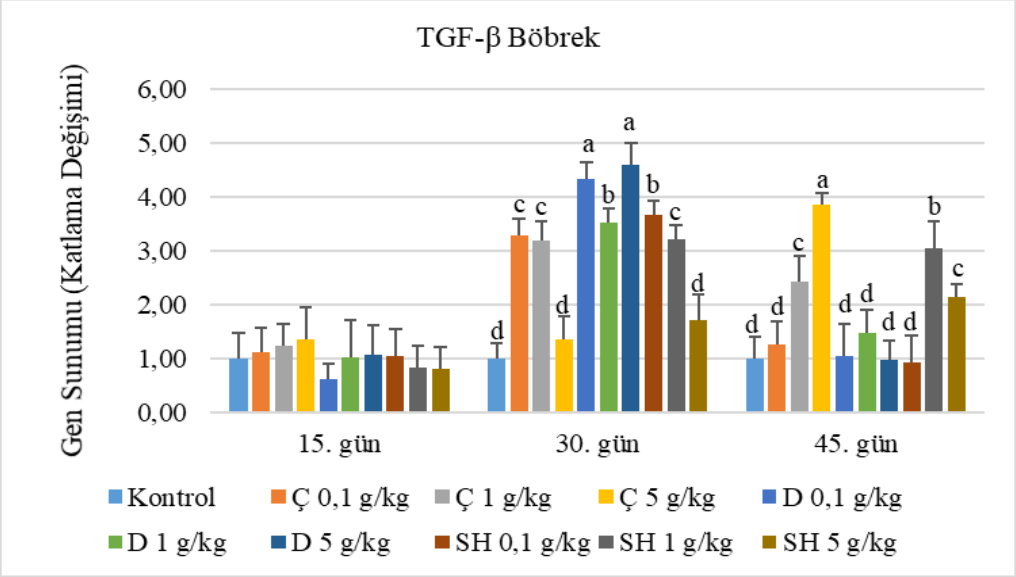
Denemenin 30. gününde dalak hücrelerinde IFN-1 gen sunumları en yüksek D1 grubunda görülmüş ve diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Daha sonra sırasıyla SH5; SH0,1 ve D0,1 grupları gelmektedir ve bu gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Akabinde sırasıyla SH1; Ç0,1; kontrol; Ç5; D5 ve Ç1 gruplarında dalaklarda en düşük IFN-1 gen ekspresyonu tespit edilmiştir fakat bu gruplar arasında da anlamlı farklılık bulunamamıştır ($P>0,05$).

Çalışmanın 45. gününde ise dalak hücrelerinde en yüksek IFN-1 gen sunumu Ç1 grubunda ve diğer gruplardan önemli derecede farklı olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$).

En düşük gen sunumu SH1 grubunda görülmüş ve diğer gruplara nazaran önemli derecede istatistiksel fark tespit edilmiştir (P<0,05). Diğer gruplar arasında ise anlamlı derecede fark gözlenmemiştir (P>0,05).

4.3.3 TGF-β

Denemenin 15, 30 ve 45. günlerinde balıkların böbrek ve dalak hücrelerinden TGF-β gen sunumları tespit edilmiştir. Böbrek örneklerinde yapılan test sonuçları Grafik 4.8'de verilmiştir.



Grafik 4.8 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

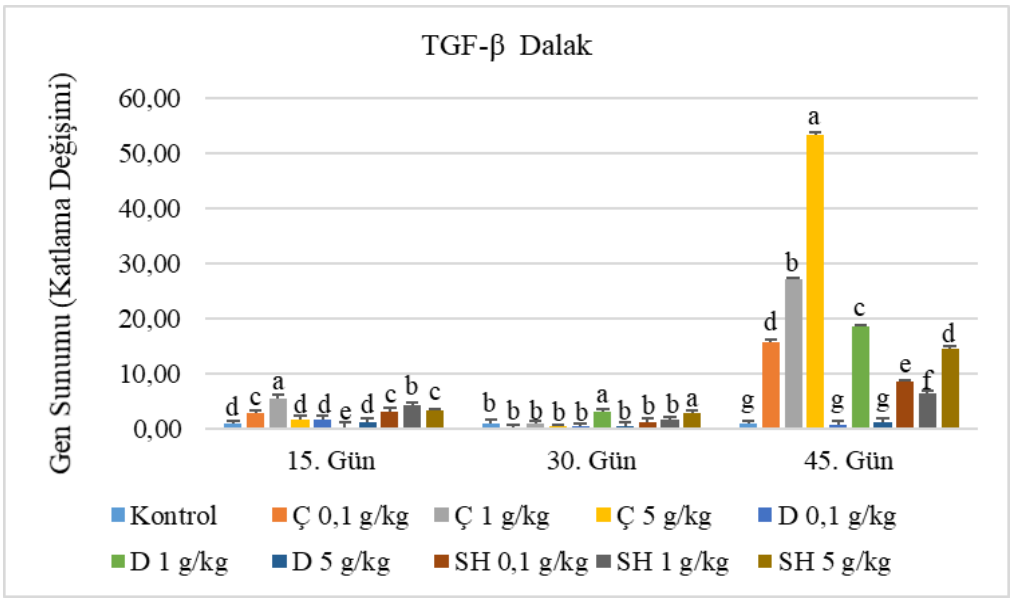
Çalışmanın 15. gününde böbrek hücrelerinde TGF-β gen sunumlarında gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde D5 ve D0,1 gruplarında böbreklerde en yüksek TGF-β gen sunumu görülmüş ve bu iki grup diğer gruplardan istatiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Bu grupları kendi içinde anlamlı farkları tespit edilmeyen D1 ve SH0,1 grupları takip etmiştir (P>0,05). Akabinde sırasıyla Ç0,1; SH1 ve Ç1 grupları gelmekte ve bu gruplarda kendi arasında anlamlı farklılık göstermemektedir (P>0,05). Takiben SH5; Ç5 ve kontrol grupları gelmiş ve bu gruplar da kendi içerisinde farklılık

göstermemiştir (P>0,05). Temelde tüm gruplarda böbrek hücrelerinde 30. günde TGF-β gen sunumlarında kontrol grubuna göre artış tespit edilmiştir.

Çalışmanın 45. gününde böbrek hücrelerinde TGF-β gen sunumları karşılaştırıldığında en yüksek gen sunumu Ç5 grubunda tespit edilmiş ve diğer gruplardan önemli derece farklılığı görülmüştür (P<0,05). Daha sonra SH1 grubunda TGF-β gen sunumunda artış tespit edilmiştir. Takiben sırasıyla Ç1 ve SH5 grubu gelmekte ve bu gruplar arasında önemli ölçüde fark bulunmamaktadır (P>0,05). Akabinde sırasıyla D1; Ç0,1; D0,1; kontrol; D5 ve SH0,1 grupları gelmekte ve bu gruplar en düşük tespit edilmekle birlikte aralarında anlamlı farklılık bulunmamıştır (P>0,05).

Böbrek örneklerinde yapılan TGF-β test sonuçları Grafik 4.9'da verilmiştir.



Grafik 4.9 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında TGF-β gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmanın 15. gününde Ç1 grubunda dalaklarda en yüksek TGF-β gen sunumu görülmüş ve diğer gruplardan istatiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Takiben ikinci olarak SH1 grubunda artış gözlenmiştir. D1 haricindeki tüm gruplar kontrole kıyasla artış göstermiştir. En düşük TGF-β gen sunumu D1 grubunda tespit edilmiş ve önemli ölçüde istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P>0,05). Kontrol; Ç5 ve D1

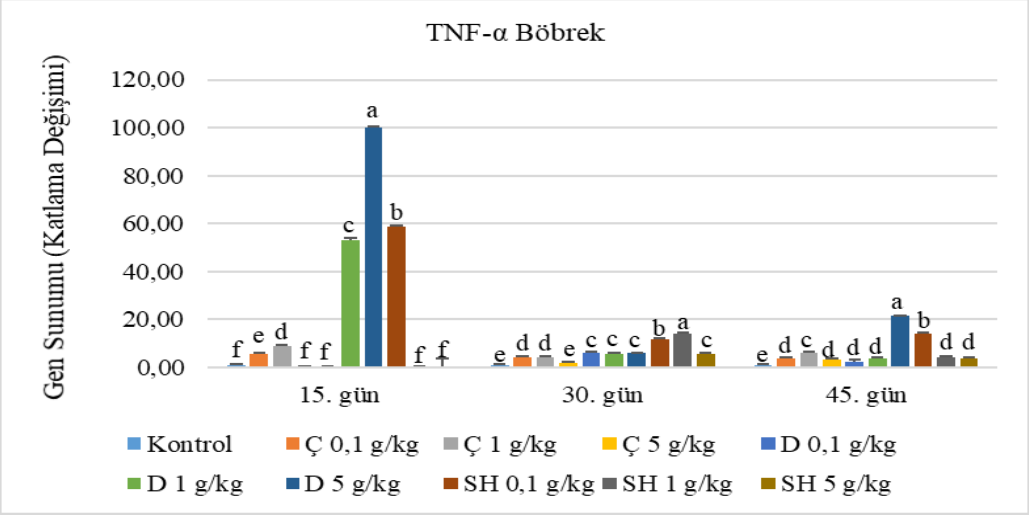
grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (P>0,05). Yine Ç1; SH0,1 ve SH5 grupları arasında da anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde dalak hücrelerinde TGF-β gen sunumları karşılaştırıldığında en yüksek gen sunumu D1 ve SH5 gruplarında tespit edilmiştir. Bu gruplar diğer gruplara nazaran istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Denemenin 45. gününde ise D0,1 haricindeki tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla dalak hücrelerinde TGF-β gen sunumlarında artış gözlenmiştir. En yüksek artış Ç5 grubunda tespit edilmiş ve sırasıyla takiben Ç1 ve D1 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gözlenmiştir (P<0,05). Bu grupları takiben Ç1 ve SH5 grupları gelmiş ve kendi aralarında istatistiksel farklılık bulunmamıştır (P>0,05). Yine bu grupları sırasıyla SH0,1; SH1; D5; kontrol grubu ve D0,1 grupları izlemiştir. D5; kontrol ve D0,1 grupları arasında da istatistiksel fark bulunmamıştır (P>0,05).

4.3.4 TNF-α

Çalışmanın 15, 30 ve 45. günlerinde gökkuşağı alabalıklarının böbrek ve dalaklarından elde edilen TNF-α gen sunumları Grafik 4.10 ve 4.11'de verilmiştir.

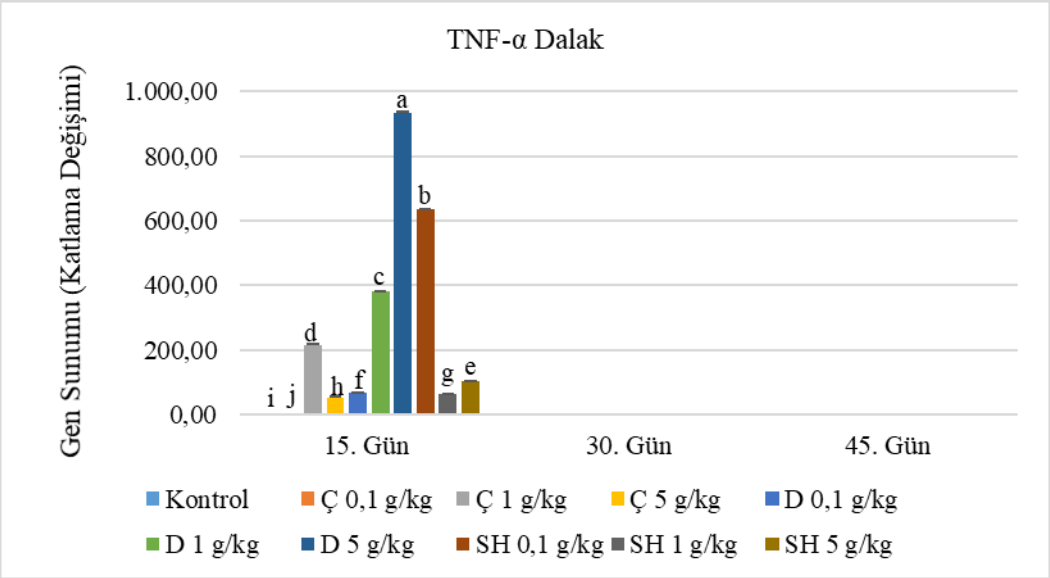


Grafik 4.10 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) böbreklerinde TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmanın 15. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu en yüksek olarak sırasıyla D5; SH0,1; D1; Ç1 ve Ç0,1 gruplarında tespit edilmiştir. Ayrıca bu grupların kendi arasında istatistiksel olarak önemli ölçüde fark bulunmuştur (P<0,05). Bunları takiben sırasıyla kontrol, SH1; D0,1; Ç5 ve SH5 grupları gelmektedir ve bu grupların kendi arasında anlamlı fark bulunmamıştır (P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu en yüksek SH1 grubunda meydana gelmiş ve diğer gruplarla arasında anlamlı istatistiksel farklılık tespit edilmiştir (P<0,05). Daha sonra SH0,1 grubu gelmekte ve akabinde takiben SH5 grubu gelmekte ve yine bu gruplar hem kendi arasında hem de diğer gruplar ile istatistiksel farklılık göstermektedirler (P<0,05). Bu grupları sırasıyla D0,1; D5; SH5 ve D1 grupları izlemekte ve kendi içlerinde istatistiksel fark bulunmamaktadır (P>0,05). Takiben sırasıyla Ç1 ve Ç0,1 grupları gelmektedir. Yine bu gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir (P>0,05). Tüm gruplar kontrol grubuna göre artış göstermekle birlikte kontrol ve Ç5 grubu arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmamıştır (P>0,05).

Çalışmanın 45. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu tüm gruplarda kontrol grubuna göre önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05). En yüksek artış sırasıyla D5; SH0,1 ve Ç1 gruplarında tespit edilmiş kendi içlerinde de hepsi birbiriyle anlamlı farklılık göstermiştir. Yine sırasıyla SH1; Ç0,1; D1; SH5; Ç5 ve D0,1 grupları gelmekte ve bu grupların kendi içerisinde birbirleriyle istatistiksel olarak farklılığı saptanmamıştır (P>0,05).



Grafik 4.11 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) dalaklarında TNF-α gen sunumlarında meydana gelen değişimler (Katlama Değişimi). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

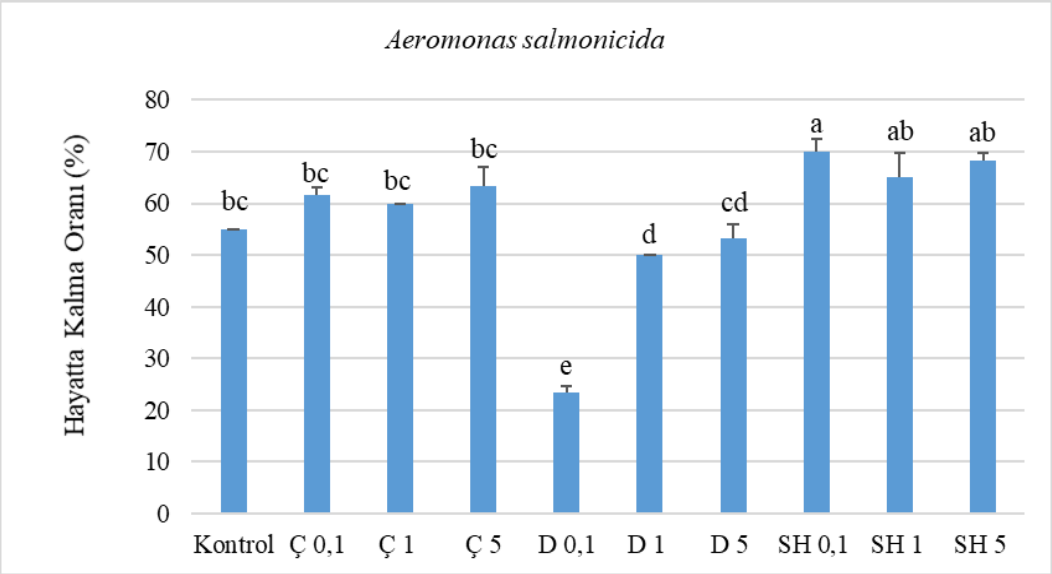
Dalak hücrelerindeki TNF-α gen sunumu 15. günde sırasıyla en çok D5; SH0,1; D1; Ç1; SH5; D0,1; SH1; Ç5; kontrol ve Ç0,1 gruplarında artış göstermiş ve bu grupların tamamında birbirleriyle arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çalışmanın 30. ve 45. günlerinde ise dalak hücrelerinde TNF-α gen sunumlarında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

4.4 Hayatta Kalma Oranları

4.4.1 *Aeromonas salmonicida*

Çalışmamızda *Aeromonas salmonicida* ile yapılan kontrol testleri sonuçları Grafik 4.12'de verilmiştir.

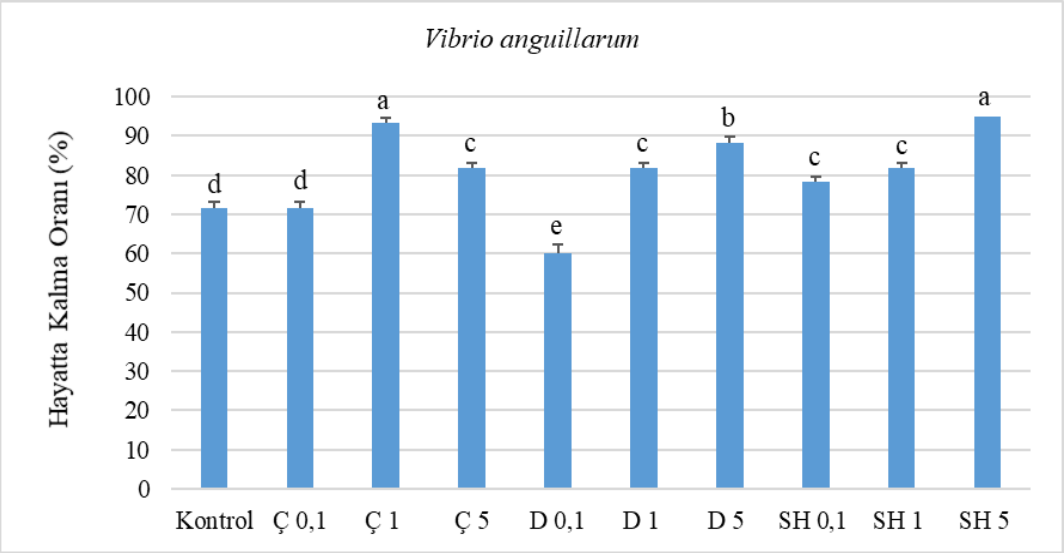


Grafik 4.12 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonos salmonicida* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmamızda *Aeromonas salmonicida* ile yapılan kontrol testleri sonucunda en yüksek hayatta kalma oranı (HKO) SH0,1 grubunda görülürken en düşük hayatta kalma oranı D0,1 grubunda görülmüştür. SH0,1; SH1 ve SH5 grupları arasında anlamlı farklılık görülmemiştir ($P>0,05$). Buna karşın SH grupları hariç diğer gruplar ile SH0,1 grubu arasında önemli derecede farlılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). D1 ve D0,1 gruplarında HKO kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olarak bulunmuştur ($P<0,05$). SH1 ve SH5 grupları ise kontrol; Ç0,1; Ç1 ve Ç5 grupları ile benzerlik göstermiştir ($P>0,05$). Yine D1 ile D5 grupları istatistiksel olarak kendi içinde farklı bulunmamıştır ($P>0,05$). Aynı zamanda D5 grubu ise yine kontrol Ç0,1; Ç1 ve Ç5 grupları ile de benzerlik göstermekte ($P>0,05$) fakat tüm SH gruplarından önemli derecede düşük HKO gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0,05$).

4.4.2 *Vibrio anguillarum*

Çalışmamızda *Vibrio anguillarum* ile yapılan kontrol testleri sonuçları Grafik 4.13'te verilmiştir.

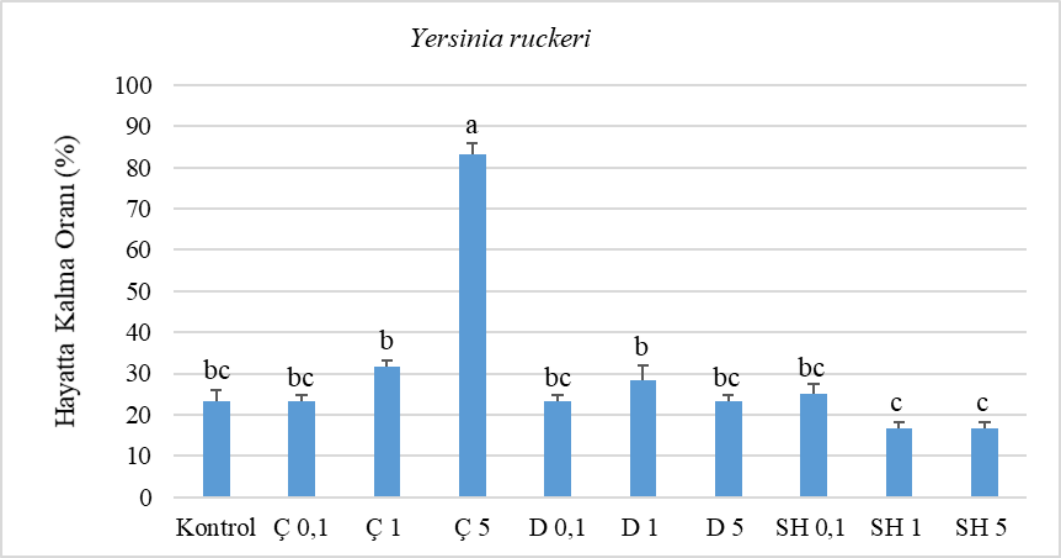


Grafik 4.13 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Vibrio anguillarum* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmamızda *Vibrio anguillarum* ile yapılan kontrol testleri sonucunda en yüksek HKO SH5 ve Ç1 gruplarında görülmüş ve kendi aralarında istatistiksel olarak fark olmamasına karşın diğer gruplardan önemli derecede yüksek HKO tespit edilmiştir ($P<0,05$). Akabinde yüksek olarak D5 grubu gelmektedir ve yine diğer gruplardan önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Sonrasında sırasıyla Ç5; D1; SH1 ve SH0,1 grupları gelmektedir fakat kendi aralarında anlamlı farklılık yoktur ($P>0,05$). Sonrasında sırasıyla kontrol ve Ç0,1 grupları gelmektedir ve yine kendi aralarında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). En düşük HKO ise D0,1 grubunda görülmüş ve diğer gruplardan önemli derecede düşük olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$).

4.4.3 *Yersinia ruckeri*

Araştırmamızın *Yersinia ruckeri* ile yapılan kontrol testleri sonuçları Grafik 4.14'te verilmiştir.



Grafik 4.14 Çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal tohumu (*Brassica nigra*) özütleri ile 45 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) *Yersinia ruckeri* patojenine karşı hayatta kalma oranları (HKO). Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı ifade eder

Çalışmamızda *Yersinia ruckeri* ile yapılan kontrol testleri sonucunda en yüksek HKO diğer gruplardan önemli derecede farklılıkla Ç5 grubunda tespit edilmiştir ($P<0,05$). Daha sonra sırasıyla Ç1 ve D1 grubu gelmektedir ve en düşük olarak bulunan SH1 ve SH5 grupları ve en yüksek olarak bulunan Ç5 grupları ile anlamlı farklılık gösterirlerken ($P<0,05$), kendi içlerinde ve diğer gruplar ile benzerlik göstermektedirler ($P>0,05$). En düşük HKO gösteren SH1 ve SH5 grupları, Ç5; Ç1 ve D1 grupları haricindeki diğer gruplar ile önemli farklılık göstermemiştir ($P>0,05$).

5. TARTIŞMA

5.1 Büyüme Performansı

Su ürünleri yetiştiriciliğinde büyüme ve gelişim performansı değişkenleri, yetiştiricilikte sağlık ve sürdürülebilirliğin en mühim göstergelerinden biridir. Bununla birlikte balık yetiştiriciliğinde en büyük gider kaleminin kullanılan yem olduğu ve bir su ürünleri üretimhanesinde yekün işletme giderlerinin ortalama %30-70'ini oluşturduğu bilinmektedir (El-Sayed, 2004). Balık yemleri günümüzde çeşitli ham maddelerden üretilmektedir. İçeriği özel olarak hazırlanan yemler sadece normal fiziksel fonksiyon için zorunlu olan ana besin öğelerini sağlamakla kalmaz, bununla beraber balıkların sağlıklarına pozitif veya negatif olarak tesir edebilecek bir etken olarak düşünülebilir. Eğer bir besin maddesi balığın ihtiyacını karşılamayacak derecede az ise, metabolizmaya olumsuz tesir ederek direkt olarak ya da balıkları patojenlere daha az toleranslı hale getirerek dolaylı şekilde balığın refahını olumsuz etkileyebilir.

Çalışmada gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) diyetine çemen tohumu (*Trigonella foenum-graecum* L.), defne yaprağı (*Laurus nobilis*) ve siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu metanolik özütlerinin farklı oranlarda ilavesinin büyüme parametrelerine pozitif etki etmemesine karşın, herhangi bir olumsuz etkisi de saptanmamıştır. Çalışma sonuçlarımız çalışmalarında alabalık yemlerine farklı oranlarda tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) tozu ilave edilen çalışmanın sonucu ile benzerlik göstermektedir (Bilen ve Bilen 2012). Ayrıca yine çalışmamızla benzerlik gösteren başka bir çalışmada *Gracilaria spp*., *Ulva spp*., ve *Fucus spp.* ile beslenen levrek balıklarının (*Dicentrarchus labrax*) büyüme parametrelerinde farklılık saptamamışlardır (Peixoto vd., 2016). Bunlardan farklı şekilde Mostafa vd. (2009) çalışmalarında çemen tohumu küspesi kullanımının nil tilapiyasında (*Oreochromis niloticus*) doğal yem katkı maddesi olarak kullanıldığında büyüme performansına olumlu etkisi olduğunu göstermişlerdir. Yine farklı olarak Roohi vd. (2015), çemen otu (*Trigonella foenum graecum* L.) tohumu küspesinin

sazan (*Cyprinus carpio* L.) yavrularının büyüme performansının kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

5.2 Spesifik Olmayan Bağışıklık Yanıtları

Nitro blue tetrazolium (NBT), balıklarda doğal immün mekanizmadaki fagositik aktiviteyi belirlemek için kullanılan bir analiz yöntemidir. NBT miktarındaki düşüş, balığın immün mekanizmasının güçsüzleştiğini ve bununla beraber sağlığının negatif olarak etkilendiğinin bir indikatörüdür (Yılmaz, 2011).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada 15, 30 ve 45. günlerde balıkların süperoksit radikal salınımları NBT yöntemi ile tespit edilmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde 15. günde D5 kullanımının, 30. günde ise SH5 kullanımının süperoksit radikal üretimini arttırdığı söylenebilir. Bitki özütlerinin 45 gün kullanımda ise süperoksit radikal üretiminde kayda değer herhangi bir etki saptanmamıştır ($P>0,05$).

Çalışmamıza paralel olarak Bilen vd. (2020) daha önceki araştırmalarında, *Malva sylvestris* ile desteklenen yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında, diyetin süperoksit radikal üretimine olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamıza benzer olarak Christybapita vd. (2007) tilapia balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) gerçekleştirdikleri araştırmalarında *Eclipta alba* yaprağı özütü diyeti ile balıkları 3 hafta beslemişler ve nihayetinde süperoksit radikal üretiminin arttığını bildirmişlerdir. Yine çalışmamıza paralel olarak Almabrok vd. (2018) sazan balıkları üzerindeki araştırmalarında, ıhlamur özütü ile balıklarını beslemişler ve süperoksit radikal üretimlerinde 15 ve 30. günlerde yükselme bildirmişlerdir. Bilen vd. (2021) yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) sulu methanolik özütün ile 0 (Kontrol); 1; 4 ve 8 mg/kg dozajlarını gökkuşağı alabalıklarına oral olarak 14 gün süresince uyguladıkları deneme nihayetinde bütün çalışma gruplarında süperoksit radikal salınımının arttığını göstermişlerdir. Çalışmamızdan farklı şekilde ise Bilen ve Bulut (2010), yaptıkları çalışmada, öğütülmüş defne (*Laurus nobilis*) yaprağının gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) 21 gün boyunca farklı dozlarda kullanılmasının süperoksit radikal salınımlarında herhangi bir etki göstermediğini tespit etmişlerdir.

Doğal immün mekanizma için en önemli humoral faktörlerden birisi lizozimdir. Spesifik olmayan immün sisteminin önemli bir savunma elemanıdır. Lizozimin temelinde monosit, makrofaj ve nötrofiller vardır. Lizozimin tesir işleyişi yabancı bir maddenin yutulması ile başlar ve akabinde lizozomlar fagozomla birleşip, içindeki enzimleri boşaltmaktadırlar. Lizozomal enzimlerin görevi bakterinin çeperini kırmak ve akabinde mikroorganizmayı yok etmektir. Bakteriyel patojenlerin organizmaya girmesiyle balıklarda savunma mekanizmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Yılmaz, 2011).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada 15, 30 ve 45. günlerde balıkların lizozim aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmamıza paralel olarak Bilen ve Bulut (2010) çalışmalarında, öğütülmüş defne (*Laurus nobilis*) yaprağının gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) 21 gün boyunca % 0,5 ve % 1 oranında kullanımının lizozim aktivitesinde farklı tesirine rastlamamışlardır. Yine çalışmamızla benzer olarak Terzi vd. (2021), üryani eriğinin (*Prunus domestica*) sulu metanolik özütünün, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) 21 gün boyunca günde iki kez ad libitum olarak 0 (Kontrol); 0,1 (PD01); 0,5 (PD05) ve %1 (PD1) dozlarında kullanımında lizozim aktivitesinde hiçbir farklılık gözlenmediğini bildirmişlerdir ($P>0,05$). Başka bir çalışmalarında Bilen vd. (2020) çalışmamıza paralel olarak, ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu metanolik ekstraktının gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) iki farklı konsantrasyonda (0,1 (CM1) ve 0,5 (CM5) g/kg^{-1} yem) ve bir kontrol diyeti yemi olarak 30 gün boyunca vermişler ve kontrol grubuna kıyasla tedavi edilen balık gruplarında lizozim aktivitesinin değişmediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak ise Mohamad ve Abasali (2010) yaptıkları çalışmada, sazan balıklarını (*Cyrinus carpio*) *Inula helenium, Tussilago farfara, Brassica nigra, Echinacea purpurea* ve *Chelidoniume majus* bitkilerinin %70'lik etanol çözeltisi içerisinde elde ettikleri özütleri eşit miktarlarda karıştırmışlar ve temel yem içerisine 100; 250; 500; 750 ve 1000 mg/kg olacak şekilde ilave etmişler ve örnekleme sonuçlarında lizozim aktivitesinde kontrol grubuna göre artış tespit etmişlerdir. Yine yaptığımız çalışmadan farklı sonuçlarla karşılaşılan başka bir çalışmada Altunoğlu vd. (2017), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) çörek otu (*Nigella sativa*) metanolik ekstraktını yemlere değişken konsantrasyonlarda

eklemişler ve lizozim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla diğer gruplarda önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir ($P<0,05$).

Myeloperoksidaz, oksidatif strese bağlı olarak lökositlerden salgılanarak makrofajları (Grattendick vd., 2002) ve nötrofilleri (Lau vd., 2005) uyaran lizozomal yapıda bir enzimdir. Makrofajlar ve nötrofiller uyarıldıktan sonra hücrelerden H_2O_2 salınımını ivmelendirmede rol oynamaktadır.

Çalışmamızın 15. gününde SH1 grubunda MPO aktivitesi en yüksek olarak tespit edilmiş ve D5 ve SH5 grubunda ise SH1 grubu ile benzerlik tespit edilmiş iken en düşük MPO aktivitesi gösteren diğer gruplar ile de benzerlik saptanmıştır. Bu bağlamda özellikle SH1 grubunda nötrofil ve makrofajların uyarıldığı görülmektedir. Çalışmamızın 30. ve 45. günlerinde ise MPO aktivitelerinde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulunamamıştır ($P>0,05$). Sonuçlarımıza paralel olarak Christybapita vd. (2009), *Eclipta alba* yaprağı özütünün oral uygulamasını 3 hafta boyunca tilapiya balığında (*Oreochromis mossambicus*) incelemişler ve myeloperoksidaz aktivitesinin özüt ile 1 haftalık beslemeden sonra önemli derecede arttığını göstermişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak ise Lakwani vd. (2022), siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu yağı uygulamasının gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) %0,5 (BM0,5); %1 (BM1) ve %2 (BM2) oranlarında üç farklı dozda kullandıklarında MPO'nun, çalışmanın 30. gününde BM1 ve BM2 balık gruplarında ve 60. günde tüm deneme balık gruplarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir.

5.3 Gen Ekspresyonları

Sitokinler, immün mekanizmanın regüle edilmesinde görev yapan düşük moleküler ağırlıklı glikoproteinlerdir. İnsanlarda bulunanlara benzer sitokinler balıklarda da tespit edilmiştir. Balıklarda spesifik olmayan immün yanıtlar, sitokinler kullanılarak araştırılabilmektedir (Sakai vd., 2020). Doğuştan gelen bağışıklık, geleneksel olarak balıklarda bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde kazanılmış bağışıklıktan daha önemli olarak kabul edilir. Sitokinler esas olarak hem doğuştan hem de kazanılmış bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından salgılanır. Bu moleküller, hedef hücre yüzeylerinde

bulunan spesifik reseptörler aracılığıyla küçük fizyolojik değişiklikleri etkiler ve hücreler arası sinyal iletiminden sorumludur (Zou ve Secombes 2016).

IL-1β geni enfeksiyon veya yaralanma durumunda canlının doğal bağışıklık sistemini aktif eden kuvvetli bir proenflamatuvar sitokindir (Eder, 2009). Ayrıca metabolizmada en çabuk eksprese sitokin olarak bilinmekte ve farklı hücrelerden salınabilmektedir (Secombes vd,, 2001).

Çalışmamızda IL-1β gen sunumları çalışmanın 15. gününde böbreklerde Ç5 grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Yine 15. günde dalak dokularında IL-1β gen sunumları gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermemiştir ($P>0,05$). Denemenin 30. gününde IL-1β gen sunumları böbrek dokularında en yüksek D0,1 ve SH1 gruplarında görülmüş ve en düşük ise kontrol, Ç5 ve SH5 gruplarında tespit edilmiştir ve aralarındaki fark önem teşkil etmektedir ($P<0,05$). Çalışmanın 30. gününde dalaklarda en yüksek IL-1β katlama değişimi D1 grubunda belirlenmiş ve diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede farklılık görülmüştür ($P<0,05$). 30. gün dalaklarda en düşük IL-1β katlama değişimi Ç1 grubunda bulunmuştur. Çalışmamızın 45. gününde IL-1β gen sunumları böbrek dokularında istatistiksel anlamlı olarak en yüksek D1 grubunda tespit edilmiştir ($P<0,05$). Çalışmamızın 45. gününde ise dalak dokularındaki IL-1β gen sunumlarına bakıldığında en yüksek Ç1 grubunda görülmüştür ($P<0,05$). En düşük ise kendi içlerinde anlamlı fark olmaksızın D0,1 ve SH1 gruplarında belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Bilen vd. (2021), gerçekleştirdikleri araştırmada, yüksek ardıç (*Juniperus excelsa*) ekstraktını 4 doz olarak (0 (Kontrol); 1 (J1); 4 (J4) ve 8 (J8) mg/kg) 14 gün boyunca günde iki kez oral gavaj kullanarak oral yoldan gökkuşağı alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) vermişler ve J8 grubu balıklarında 7. günde interlökin (IL)-1β'nın anlamlı olarak yükseldiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak ise Altunoğlu vd. (2017) denemelerinde, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) çörek otu (*Nigella sativa*) metanolik ekstraktını (0 (Kontrol); 0,1 ve 0,5 g/kg^{-1} yem) yemlere ekleyerek 30 gün besleme yapmışlar ve IL-1β gen ekspresyonunun azaldığını tespit etmişlerdir.

İnterferonlar (IFN'ler), omurgalılarda virüslere karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisini düzenlemede önemli bir rol oynar ve bunların tanımlayıcı özelliği, tepki veren hücrelerde bir antiviral durumu indükleme yetenekleridir. Kemikli balıklardan memelilere kadar çok sayıda türde interferonlar rapor edilmiştir. Bununla birlikte, balık IFN'lerinin moleküler işlevi ve bunların tetrapod IFN'leri ile evrimsel ilişkileri hakkındaki mevcut bilgilerimiz sınırlıdır (Hamming vd., 2011).

Çalışmamızda IFN-1 gen sunumunda böbreklerde 15. günde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05). 15. günde ise dalaklarda en yüksek IFN-1 gen sunumu D5 grubunda görülmüş ve diğer tüm gruplara göre önemli derecede farklı bulunmuştur (P<0,05). Çalışmanın 30. gününde böbreklerde en yüksek artış D0,1 grubunda görülmüş ve diğer tüm gruplara göre önemli derecede istatistiksel fark tespit edilmiş (P<0,05) ve tüm gruplar kontrol grubuna göre artış göstermiş fakat Ç5 ve SH5 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı istatistiksel fark bulunamamıştır (P>0,05). Denemenin 30. gününde dalak hücrelerinde IFN-1 gen sunumları en yüksek artış D1 grubunda görülmüş ve diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Denemenin 45. gününde böbreklerde en yüksek IFN-1 gen sunumu D1 grubunda ve istatistiksel olarak diğer gruplardan farklı olarak tespit edilmiştir (P<0,05). Çalışmanın 45. gününde ise dalak hücrelerinde en yüksek IFN-1 gen sunumu Ç1 grubunda ve diğer gruplardan önemli derecede farklı olarak tespit edilmiştir (P<0,05). En düşük gen sunumu SH1 grubunda görülmüş ve diğer gruplara nazaran önemli derecede istatistiksel fark tespit edilmiştir (P<0,05). Diğer gruplar arasında ise anlamlı derecede fark gözlenmemiştir (P>0,05). Çalışmamıza paralel olarak Sönmez vd. (2022), geven (Astragalus caudiculosus) otunu (AC) gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine sırasıyla %0,1 (AC1); %2,5 (AC2,5) ve %5 (AC5) oranlarında metanolik özüt şeklinde eklemişler ve 90 gün boyunca balıklarını beslemişlerdir. IFN-1 gen ekspresyonu, kontrole kıyasla AC2,5 ve AC5 balık gruplarında tüm örnekleme günlerinde bağırsakta yukarı şekilde regüle edilmiştir. Benzer bir yukarı regülasyon, çalışmanın 90. gününde AC1 balık grubunda da belirlenmiştir. Böbrekte, IFN-1 gen ekspresyonu, kontrole kıyasla tedavi edilen tüm gruplarda ilk örnekleme gününde yükselmiştir. Ancak 60. ve 90. günlerde IFN-1'in yukarı regüle edilmiş ifadesi sadece AC2,5 ve AC5 balık gruplarında belirlenmiştir (P<0,05). Çalışmamızdan farklı olarak ise Bilen vd. (2019), sakal likenlerinin (*Usnea*

barbata) sulu metanolik ekstraktlarını gökkuşağı alabalığında (*Onchorhynchus mykiss*) altı farklı deney grubu [0 mg/100µL (Kontrol); 4 mg/100µL; 8 mg/100µL; 12 mg/100µL; 6 mg/100µL florfenikol (pozitif kontrol); 6 mg/100µL eritromisin (pozitif kontrol)] olarak denemişler ve tüm gruplarda 10. gün örneklemesinde IFN-1 sitokin yanıtları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir yükselme göstermiş, bununla beraber genel olarak bu artış, 3. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır ($P<0.05$).

Teleost balıklarda, TGF-β'nın fonksiyonel rolü hakkında kapsamlı bir araştırma yapılmamasına rağmen, bazı yeni çalışmalar TGF-β'nın memelilerde olduğu gibi balıklarda da aktif lökositler üzerinde güçlü bağışıklık bastırıcı (immünsüpresyon) etkileri olduğunu ortaya koymuştur. TGF-β gibi anti-enflamatuar sitokinler, enflamatuar süreçleri negatif yönde düzenler ve hücre fonksiyonlarını doku onarım mekanizmalarına yönlendirir. Bu sitokinler, ağırlaştırılmış enflamatuar süreci susturmak ve uygun organ fonksiyonu için homoeostazı sürdürmek için çok önemlidir (Gerard vd., 1993; Howard vd., 1993). Öte yandan, aşırı anti-enflamatuar yanıt da vücut bağışıklık fonksiyonunun baskılanmasına neden olabilir (Bone 1996; Fisher vd., 1996).

Çalışmanın 15. gününde böbrek hücrelerinde TGF-β gen ekspresyonlarında gruplar arasında önemli derecede farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Çalışmanın 15. gününde Ç1 grubunda dalaklarda en yüksek TGF-β gen sunumu görülmüş ve diğer gruplardan istatiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). D1 haricindeki tüm gruplar kontrole kıyasla artış göstermiştir. Çalışmanın 30. gününde ise D5 ve D0,1 gruplarında böbreklerde en yüksek TGF-β gen sunumu görülmüş ve bu iki grup diğer gruplardan önemli derecede farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Ayrıca tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış görülmekle birlikte SH5 ve Ç5 gruplarındaki artış kontrol grubuna kıyasla önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Çalışmanın 30. gününde dalak hücrelerinde TGF-β gen sunumları karşılaştırıldığında en yüksek gen sunumu D1 ve SH5 gruplarında görülmüştür. Bu gruplar diğer gruplara nazaran istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Çalışmanın 45. gününde böbrek hücrelerinde TGF-β gen sunumları karşılaştırıldığında en yüksek gen sunumu Ç5 grubunda tespit edilmiş ve diğer gruplardan önemli derece farklılık meydana gelmiştir ($P<0,05$). Yine 45. günde böbreklerde D5 ve SH0,1

grupları kontrole kıyasla daha az artış göstermiş fakat aralarındaki fark önemli bulunmamıştır (P>0,05). Denemenin 45. Gününde dalaklarda ise en yüksek artış Ç5 grubunda tespit edilmiş ve bu farklılık öenm teşkil etmektedir (P<0,05). Denemenin 45. gününde dalaklarda D0,1 haricindeki tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla TGF-β gen sunumlarında artış görülmektedir. Fakat D5, kontrol ve D0,1 grupları arasında da istatistiksel fark bulunmamıştır (P>0,05). Çalışmamıza benzer olarak Awad vd. (2015), çipura *(Sparus aurata L.)* yemine çemen otu *(Trigonella foenum graecum)* ilevesi (%0 (kontrol); %1; %5 ve %10) yaparak 4 hafta boyunca denemelerine gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda bağışıklıkla ilgili genlerin çoğunda önemli bir yukarı regülasyona neden olduğunu belirlemişlerdir (P<0,05). Çalışmamızdan farklı olarak ise Bilen vd. (2020), ebegümeci (*Malva sylvestris*) sulu metanolik ekstraktının (AME) gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) AME 0,1 (CM1) ve 0,5 (CM5) g/kg^{-1} yem ve bir kontrol grubu şeklinde denemişler ve sonuçlarında TGF-β ekspresyon seviyesinin genellikle düşük olduğunu belirlemişlerdir.

TNF-α, istenmeyen hasarlı hücreleri yok etmeyi uyarırken inflamasyona neden olmazken, enfekte hücreleri öldürme, hücre içi hastalığa neden olan organizmanın çoğalmasını önleme ve farklı organizma yanıt genlerini düzenleme gibi güçlü anti-mikrobik fonksiyonlara aracılık etme gibi görevleri olan ve patojenlere yanıt olarak ortaya çıkan (Kinoshita vd., 2014) pleiotropik bir sitokindir. IL-1β gibi benzer şekilde ortam stresine karşı TNF-α ekspresyonunun çoğaldığı bilinmektedir (Özdemir vd., 2018).

Çalışmamızın 15. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu en yüksek D5 grubunda görülmüş ve diğer gruplardan anlamlı şekilde farklı bulunmuştur (P<0,05). En düşük ise sırasıyla kontrol, SH1; D0,1; Ç5 ve SH5 grupları gelmektedir ve bu grupların kendi arasında anlamlı fark bulunmamıştır (P>0,05). Dalak hücrelerindeki TNF-α gen sunumu 15. günde yine aynı şekilde en fazla artış D5 grubunda görülmüş ve diğer gruplardan öenmli derecede farklı bulunmuştur (P<0,05). Yine 15. günde dalaklarda sadece Ç0,1 grubu kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur (P<0,05). Çalışmamızın 30. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu en yüksek SH1 grubunda meydana gelmiş ve diğer gruplarla arasında anlamlı istatistiksel farklılık tespit

edilmiştir (P<0,05). Tüm gruplar kontrol grubuna göre artış göstermekle birlikte kontrol ve Ç5 grubu arasında istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmamıştır (P>0,05). 30. günde dalaklarda ise hiçbir grup arasında anlamlı derecede farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmanın 45. gününde böbreklerde TNF-α gen sunumu tüm gruplarda kontrol grubuna göre önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05). En yüksek artış ise istatistiksel olarak faklı şekilde D5 grubunda görülmüştür (P<0,05). Yine 45. günde dalak hücrelerinde ise TNF-α gen sunumlarında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır (P>0,05). Çalışmamızla benzer olarak Mehrabi vd. (2020), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) 8 haftalık besleme periyodundan sonra ısırgan otunun (*Urtica dioica*) (%0,5; 1 ve %1,5) TNF-α gen ekspresyonlarında önemli ölçüde artış olduğunu göstermişlerdir (P<0,05).

Çalışmamızdan dikkat çekici farklı olarak ise Bilen vd. (2016), gökkuşağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) yeme ilave edilen 0 (Kontrol); 0,1 ve 0,5 g/kg^{-1} (yem) olarak üç doz kapari (*Capparis spinosa*) metanolik özütüyle 30 gün boyunca beslemişler ve ön böbrekte IL-1β, IL-8, TGF-β, IL-12p40, TNF-α1 ve IL-10'u içeren sitokin genlerinin ekspresyon seviyelerini analiz etmişlerdir. Dikkat çekici olan ise TNF-α1 dışındaki tüm sitokinlerin ekspresyon seviyelerinin diğer gruplara kıyasla yükseldiğini bildirmişlerdir.

5.4 Kontrol Testi

Daha önce de belirttiğimiz üzere, çalışmamızda gökkuşağı alabalığı yemine çemen tohumu, defne yaprağı ve siyah hardal tohumu metanolik özütleri farklı dozlarda ilave edilmiş, bu özütlerin farklı bağışıklık parametreleri üzerindeki tesiri ile birlikte balıkların farklı patojenlerle enfekte edildikten sonra hayatta kalma oranı saptanmıştır. Kültür balıkçılığında antibiyotik kullanımına yoğun şekilde rastlanmaktadır. Fakat bu da beraberinde büyük sorunlar meydana getirmektedir. Balıklarda kalıntı bırakmaları, çevre konusundaki olumsuz etkileri ve antibiyotiğe dirençli yeni mutajen bakterilerin ortaya çıkması sorunların başlıcaları olarak göze çarpmaktadır. Aşılama ise çok fazla kullanılan bir yöntem olmasına karşın pahalı, çok fazla iş gücü gerektiren ve zaman kaybına neden olan bir metottur. Günümüzde profilaktik yöntemler, balık hastalıkları konusunda antibiyotik kullanımı ile ilişkili problemlerin giderilmesinin en kolay ve

etkin yoludur. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, tıbbi bitkilerin bağışıklık uyarıcı olarak kullanımına daha çok önem verilmektedir. Şifalı bitki olarak da tabir edilen bu bitkiler, gökkuşağı alabalığında bakteriyel patojenler ile mücadele de etkin olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Çalışmamızın nihayetinde tespit ettiğimiz hayatta kalma oranı (HKO) sonuçlarına göre *Aeromonas salmonicida, Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri* patojenlerine karşı farklı sonuçlar tespit edilmiştir. Bazı grupların bir patojene karşı hayatta kalma oranı kontrol grubuna göre artış gösterirken farklı bir patojene karşı kontrol grubuna kıyasla HKO düşük bulunmuştur. Dikkat çekici olan ise D0,1 grubunun hem *Aeromonas salmonicida* hem de *Vibrio anguillarum* patojenlerine karşı önemli farklılık ile en düşük HKO göstermesi olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$). Çalışmamıza benzer şekilde Mehrabi vd. (2020) denemelerinde, gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) ısırgan otunun (*Urtica dioica*) Balık yemine üç dozda ısırgan otu (*Urtica dioica*) tozu ilave etmişler (%0,5; 1 ve %1,5) ve *Saprolegnia parasitica* ile enfekte edilmelerini takiben kontrole kıyasla %0.5 ısırgan otu grubu balıklarında ölüm oranında önemli bir azalma gözlemlemişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak Bilen ve Bilen (2012), çalışmalarında tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin tozlarından alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine %1 ve %1,5 oranlarında ilave etmişler ve deneme sonunda balıkların yaşama oranlarında kayda değer bir farklılık bulamamışlardır ($P>0,05$).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiriciliğinde geçmişten günümüze bakıldığında balıkların en kısa sürede, en sağlıklı yollarla ve en az kayıpla büyütülmesi en fazla önem verilen konulardır. Bu hedeflere ulaşılabilmesi adına en uygun yem rasyonları hazırlanması için birçok çalışma yapılmıştır. Bu kriterlerde maksimum verim sağlanması ve özellikle enfeksiyöz hastalıklardan kaynaklı kayıpların önlenebilmesi için zaman içerisinde yemleme stratejilerine ek olarak antibiyotik uygulamaları, aşı uygulamaları gibi yöntemler geliştirilmiştir. Dünyada ve ülkemizde genel eğilim, antibiyotik, aşı ve sentetik ilaçların kullanımını asgariye düşürmek için şifalı bitkileri kullanmaktır. Gerek kolay temin edilebilir olmaları gerek çevreye ve insan sağlığına olan etkileri ile değerlendirildiğinde tıbbi bitkilerin kullanımı daha fazla önem kazanmaktadır. Ayrıca tıbbi bitkilerin doğal ortamda fazla miktarda var olması da kullanımına yönelmek için büyük bir etmendir. Sadece bağışıklık uyarıcı olarak değil, büyüme performansına yapabilecekleri muhtemel olumlu katkılar da göz önüne alındığında yakın gelecekte balık yetiştiriciliğinde en önemli role sahip olmaları ise kaçınılmazdır.

Bu çalışmada, çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) ve siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumları ile defne (*Laurus nobilis*) yapraklarından elde edilen sulu metanolik özütlerin gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*), büyüme performansı kriterlerine olan etkileri, süperoksit radikal üretimi, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz aktivitesine olan tesirleri ile IL-1β, IFN-I, TGF-β ve TNF-α gen ekspresyon seviyelerine olan etkileri araştırılmıştır. Ayrıca balıkların *Vibrio anguillarum, Yersinia ruckeri* ve *Aeromonas salmonicida* patojenlerine maruz bırakıldıklarında bitkilerin sulu metanolik özütlerinin farklı dozlarının hayatta kalma oranına etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarımıza bakıldığında kullandığımız bitkilerin sulu metanolik özütlerinin tüm dozajlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yem rasyonlarına eklenmesinin büyümeyi teşvik edici herhangi olum veya olumsuz etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir.

NBT sonuçlarına bakıldığında 15. günde en fazla artış D5 grubunda görülmüş fakat sadece Ç0,1 grubu ile önemli istatistiksel fark bulunmuştur (P<0,05). Bununla birlikte 30. günde SH5 gruplarında en yüksek artış görüldüğü (P<0,05) fakat 45. günde kontrole kıyasla hiçbir grupta artış görülmediği belirlenmiştir (P>0,05). Lizozim aktivitesinde tüm örnekleme zamanlarında gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05). Myeloperoksidaz aktivitesinde ise 15. günde SH1 grubu sadece SH5 ve D5 gruplaıyla benzerlik göstermiş fakat diğer gruplara kıyasla önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05). 30 ve 45. günlerde ise gruplar arasında myeloperoksidaz aktivitesinde farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

IL-1β, IFN-1, TGF-β ve TNF-α gen ekspresyon seviyelerine böbrek ve dalaklarda bakıldığında farklı örnekleme günlerinde farklı gruplarda kontrole kıyasla dikkat çekici artış tespit edilirken yine farklı örnekleme günlerinde farklı gruplarda kontrol grubuna kıyasla gen ekspresyon seviyelerinin daha kayda değer şekilde daha düşük çıktığı belirlenmiştir (P<0,05).

Kontrol testleri sonuçlarına bakıldığında *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı en yüksek hayatta kalma oranını SH0,1 grubu gösterirken, SH1 ve SH5 grupları da SH0,1 grubuyla benzer sonuçlar vermiştir (P>0,05). En düşük hayatta kalma oranı ise diğer gruplardan önemli derecede farklı şekilde D0,1 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). Bağışıklık parametreleri ve gen ekspresyonlarıyla ilişkilendirildiğinde SH0,1 grubunun sadece 45. gün IL-1β böbreklerdeki gen ekspresyonunda kontrolden düşük çıktığı görülmektedir. Fakat özellikle farklı örnekleme günlerindeki böbrek ve dalaklarda IFN-1 ve TNF-α gen ekspresyon seviyelerine bakıldığında SH0,1 grubunun birçok gruba kıyasla yüksek bulunduğu görülmektedir. En düşük hayatta kalma oranına sahip D0,1 grubunun ise IL-1β 30. gün örneklemelerinde yüksek artış gösterdiği fakat IFN-1 15. gün dalak ve özellikle 45. gün dalak örneklemelerinde en az görüldüğü ve IFN-1 45. günde yine D0,1 grubunun böbrek örneklerinde kontrole kıyasla önemli fark olmaksızın en az artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde IL-1β gen ekspresyon seviyelerindeki artışın *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı etkisinin az olduğu veya önemsiz olduğu değerlendirilebilir. Yine IFN-1 gen ekspresyonunun ise önemli olduğu görüşüne varılabilir.

Vibrio anguillarum ile yapılan kontrol testlerinde en yüksek hayatta kalma oranını diğer gruplardan önemli derecede farklı olarak Ç1 ve SH5 grupları göstermiştir (P<0,05). En düşük hayatta kalma oranını ise kayda değer farkla yine D0,1 grubu göstermiştir. Yine bu sonuçlarımıza göre IFN-1 gen ekspresyonunun artışının *Vibrio anguillarum* patojenine karşı önemli olduğu sonucuna varılabilir. Yine D5 ve Ç1 grubunun TNF-α gen ekspresyon seviyelerindeki dikkat çekici artışları göz önüne alındığında ve düşük ölüm oranı değerlendirildiğinde, TNF-α gen ekspresyonundaki artışın da *Vibrio anguillarum'*a karşı etkili olacağı değerlendirilebilir.

Yersinia ruckeri patojenine karşı ise en yüksek hayatta kalma oranı ciddi derecede farkla Ç5 grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). En düşük hayatta kalma oranı ise SH1 ve SH5 gruplarında görülmüş ve bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında benzerlik göstermişlerdir (P>0,05). Ç5 grubunun TGF-β 45. gün hem böbrek hem de dalak hücrelerindeki gen ekspresyon seviyelerindeki anlamlı ve dikkat çekici artışının buna neden olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu sonuçlara bakıldığında ölüm oranlarına bakılarak defne yaprağının (*Laurus nobilis*) sulu metanolik özütünün yeme 0,1 g/kg oranında eklenmesinin bağışıklık uyarıcı olarak etkili olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte farklı oranlarda kullanılan bazı bitki özütlerinin bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Ç5 grubundaki kontrole ve bazı diğer gruplara karşı düşük ölüm oranları bu grubun bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca Ç1 grubunun IL-1β ve IFN-1 45. gün dalaklardaki ekspresyon seviyelerinin en yüksek oluşu ve TGF-β 45. gün hem böbrek hem de dalaklarda ve TNF-α böbreklerdeki gen ekspresyon seviyelerinin yüksek olarak bulunmasıyla birlikte düşük ölüm oranları göstermesi çemen tohumunun metanolik özütünün 1 g/kg ve 5 g/kg oranlarında yemlere ilave edilmesinin bağışıklığı artırdığı sonuçlarına ve diğer bitkilerin metanolik özütlerinin dozlarına nazaran daha kullanılabilir olduğu sonucuna varılabilir. Çalışmamızın ileride yapılacak olan tıbbi bitkilerin balıklar üzerindeki imünostimulant etkileri ile ilgili araştırmalara önemli şekilde ışık tutması beklenmektedir. Ayrıca bazı bitkilerin farklı kriterlerde etki göstererek farklı kriterlerde etkisiz kalması açısından çalışmamızın sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, bitkisel tedavi için bitki seçiminin bitkinin içeriği, kullanılacak dozajlar, bitkinin hangi kısmının kullanılacağı,

ekstraksiyon yöntemi, üzerinde kullanılacak balık gibi birçok faktöre bağlı olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bununla birlikte çalışmamız, bitkisel tedavi için canlı üzerindeki birçok biyolojik parametrenin göz ardı edilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M. H., Seden, M. E., & Sakr, S. F. (2010). Use of green tea, Camellia sinensis L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society, 41*, 203-213. doi:https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x

Ahmad, I., Aqil, F., & Owais, M. (Eds.). (2006). *Modern phytomedicine: Turning medicinal plants into drugs*. John Wiley & Sons.

Ahmad M.H. ve Tawwa M.A. (2011). The Use of Caraway Seed Meal as a Feed Additive in Fish Diets: Growth Performance, Feed Utilization, and Whole- Body Composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fingerlings. *Aquaculture, 314:*110-114. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.030

Alm, T. (2002). Bukkehornkløver *Trigonella foenum-graecum* i folketradisjonen i Norge. *Blyttia*, *60*(4), 213-224.

Almabrok, A. A., Amhamed, I. D., Mohamed, G. A., Bilen, S., & Altief, T. A. S. (2018). Effect of *Tilia tomentosa* methanolic extract on growth performance, digestive enzyme activity, immune response and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Marine Science and Technology Bulletin*, *7*(1), 12-20. doi: https://doi.org/10.33714/masteb.421047

Altmann, S. M., Mellon, M. T., Distel, D. L., & Kim, C. H. (2003). Molecular and functional analysis of an interferon gene from the zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of virology*, *77*(3), 1992-2002. doi:https://doi.org/10.1128/JVI.77.3.1992-2002.2003

Altun, S., Kubilay, A., & Diler, Ö. (2010). Yersinia ruckeri suşlarının fenotipik ve serolojik özelliklerinin incelenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, *16*(Suppl B), S223-S229. doi:10.9775/kvfd.2009.1386

Altunoglu, Y. C., 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.002

Altuntaş, A. (2006). *Hardal yağı biyodizelinde depolama süresi ve şartlarının yakıt özellikleri üzerindeki etkisinin araştırılması* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Amoush, O. A., Bilen, S., Sönmez, A. Y., & Elp, M. (2022). Antioxidant and immunostimulant responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with cherry stem extract. *Aquaculture Research*, *53*(2), 487-496. doi:https://doi.org/10.1111/are.15594

Arda, M., Seçer, S., & Sarıeyyüpoğlu, M. (2005). Balık hastalıkları, medisan yayın serisi: 61, II. *Baskı Medisan Yayınevi, Ankara*.

Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., & Jeney, G. (2008). Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, *275*(1-4), 26-33. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.022

Ashraf, M. A., ve Goda, S. (2008). Effect of dietary ginseng herb (ginsana g115) supplementation on growth, feed utilization and hematological indices of nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *Journal of The World Aquaculture Society, 39* (2), 205-214. doi:https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00153.x

Austin, B. (1997). Progress in understanding the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Trends in Biotechnology*, *15*(4), 131-134. doi:https://doi.org/10.1016/S0167-7799(97)01026-3

Awad E.S. (2010). Studies on Plantbased Dietary Supplements for Control of *Aeromonas hydrophila* Infections in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). PhD (Doktora Tezi). Heriot Watt University, UK.

Awad, E., Mitchell, W. J., & Austin, B. (2011). Effect of dietary supplements on cytokine gene expression in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of fish diseases, 34(8), 629-634. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01271.x

Awad, E., Cerezuela, R., & Esteban, M. Á. (2015). Effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) immune status and growth performance. *Fish & shellfish immunology*, *45*(2), 454-464. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.04.035

Ayanoğlu, F., Kaya, D. A., Mert, A., & Köse, E. (2013, April). Determination of quality aspects and selection of native grown laurel (*Laurus nobilis* L.) in Hatay province of Turkey. In *1st Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (MESMAP-2013)* (pp. 17-20).

Aydın, F., Köksal, G., Demir, N., Bekcan, S., Kırkağaç, M., Gözgözoğlu, E., ... & Arpa, H. (2005). Su ürünleri yetiştiriciliği ve politikalar. *VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara*, 3-7.

Bahi, A., Guardiola, F. A., Messina, C., Mahdhi, A., Cerezuela, R., Santulli, A., ... & Esteban, M. A. (2017). Effects of dietary administration of fenugreek seeds, alone or in combination with probiotics, on growth performance parameters, humoral immune response and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & shellfish immunology*, *60*, 50-58. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.039

Baldemir, A., & İlgün, S. (2015). GEÇMİŞTE VE GÜNÜMÜZDE ÇEMENOTUNUN KULLANIM ALANLARI: *TRIGONELLA FOENUM-GRAECUM* L. *Mersin*

Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, *5*(1), 1-4.

Bilen, S., & Bulut, M. (2010). Effects of laurel (Laurus nobilis) on the non-specific immune responses of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *9*(8), 1275-1279.

Bilen, S., & Bilen, A. M. (2012). Tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi teşvik edici etkileri. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, *22*(1), 26-33.

Bilen, S., Bilen, A. M., & Önal, U. (2015). The effects of oxygen supplementation on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in different stocking densities. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *14*(3), 538-545.

Bilen, S., Altunoglu, Y. C., Ulu, F., & Biswas, G. (2016). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, *57*, 206-212. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.040

Bilen, S., Sirtiyah, A. M. A., & Terzi, E. (2019). Therapeutic effects of beard lichen, *Usnea barbata* extract against *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Fish & shellfish immunology*, *87*, 401-409. doi: https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.046

Bilen, S., Karga, M., ALTUNOĞLU, Y. Ç., Ferhat, U. L. U., & Biswas, G. (2020). Immune responses and growth performance of the aqueous methanolic extract of *Malva sylvestris* in *Oncorhynchus mykiss*. *Marine Science and Technology Bulletin*, *9*(2), 159-167. doi:https://doi.org/10.33714/masteb.746951

Bilen, S., Ispir, S., Kenanoglu, O. N., Taştan, Y., Güney, K., & 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. doi:https://doi.org/10.1111/jfd.13293

Bilgüven, M., & Can, G. (2018). Replacement of fish meal by poultry by-product in trout feeds. *Ziraat Fakültesi Dergisi, Uludağ Üniversitesi*, *32*(2), 189-200.

Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of fish biology*, *5*(6), 771-781. doi:https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x

Bone, R. C. (1996). Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Annals of internal medicine*, *125*(8), 680-687. doi:https://doi.org/10.7326/0003-4819-125-8-199610150-00009

Bozkurt, M., & Ülker, E. R. E. N. (2009). Balıklarda lenfoid organlar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, *80*(2), 13-18.

Bricknell, I. R., Bruno, D. W., & Stone, J. (1996). *Aeromonas salmonicida* infectivity studies in goldsinny wrasse, *Ctenolabrus rupestris* (L.). *Journal of Fish Diseases*, *19*(6), 469-474. doi:https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1996.d01-99.x

Buchmann, K. (1999). Immune mechanisms in fish skin against monogeneans-a model. *Folia Parasitologica*, *46*(1), 1-8.

Campbell, T. W. (2004). Clinical chemistry of fish and amphibians. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, Pennsylvania*, 499-517.

Candan, A. (1993). Çipura (Sparus aurata L. 1758) balıklarında *Vibrio anguillarum* infeksiyonu. *Türk Mikrobiyoloji Cem. Dergisi*, *23*, 25-27.

Candan, A., & Karataş, S. (2010). Balık Sağlığı. *Kalmak Ofset, İstanbul*. 328.

Capkin, E., Terzi, E., & Altinok, I. (2015). Occurrence of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from Turkish trout farms and their local aquatic environment. *Diseases of Aquatic organisms*, *114*(2), 127-137. doi: https://doi.org/10.3354/dao02852

Chelemal Dezfoulnejad, M., & Molayemraftar, T. (2022). Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract as a growth promotor and immunostimulant in common carp. *Aquaculture Research*, *53*(4), 1553-1562. doi:https://doi.org/10.1111/are.15690

Cho S.H., Lee S.M., Park B.H., Ji S.C., Lee J., Bae J. ve Oh S.Y. (2007). Effect of Dietary Inclusion of Various Sources of Green Tea on Growth, Body Composition and Blood Chemistry of The Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Fish Physiol. Biochem.*, *33*: 49–57. doi:10.1007/s10695-006-9116-3

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., & Michael, R. D. (2007). Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology*, *23*(4), 840-852. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.03.010

Colwell, R. R., MacDonell, M. T., & De Ley, J. (1986). Proposal to Recognize the Family Aeromonadaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *36*(3), 473-477. doi:https://doi.org/10.1099/00207713-36-3-473

Coşkun, F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda teknolojileri elektronik dergisi*, *2*, 27-33.

Davies, R. L., & Frerichs, G. N. (1989). Morphological and biochemical differences among isolates of *Yersinia ruckeri* obtained from wide geographical areas. *Journal of Fish Diseases*, *12*(4), 357-365. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1989.tb00324.x

Diab A.S., Aly S.M., John G., Abde-Hadi Y. ve Mohamed M.F. (2008). Effect of Garlic, Black Seed and Biogen as Immunostimulants on the Growth and Survival of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and Their Response to Artificial Infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science, 33(1):* 63-8. doi:https://doi.org/10.2989/AJAS.2007.33.1.7.391

Diker, K. S. (2005). İmmunoloji (2. Baskı). *Medisan, Ankara*. 304 p.

Dörücü, M., & Karaman, Z. (2017). Histology and Immun System Organs of Fish. International Journal of Pure and Applied Sciences, 3(1), 65-74.

Düğenci, K. S., & Candan, A. (2003). Gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum) bazı immunostimulan'ların spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *27*(6), 1253-1260..

Dügenci S.K., Arda N. ve Candan, A. (2003). Some Medicinal Plants as Immunostimulant for Fish. *Journal of Ethnopharmacology*, *88*: 99–106. doi:https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00182-X

Eder, C. (2009). Mechanisms of interleukin-1β release. *Immunobiology*, *214*(7), 543-553. doi:https://doi.org/10.1016/j.imbio.2008.11.007

Egidius, E. (1987). Vibriosis: pathogenicity and pathology. A review. *Aquaculture*, *67*(1-2), 15-28. doi:https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90004-4

Ellis, A. E. (1988). General principals of fish vaccination. *Fish vaccination*, 1-19.

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

Ellis, A. E., Do Vale, A., Bowden, T. J., Thompson, K., & Hastings, T. S. (1997). In vivo production of A-protein, lipopolysaccharide, iron-regulated outer membrane proteins and 70-kDa serine protease by *Aeromonas salmonicida* subsp. salmonicida. *FEMS Microbiology Letters*, *149*(2), 157-163. doi:https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb10323.x

El-Sayed, A. F. M. (2004). Protein nutrition of farmed tilapia: searching for unconventional sources. In *New dimensions in farmed tilapia: proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia Aquaculture* (Vol. 364, p. 378).

Engelsma, M. Y., Huising, M. O., Van Muiswinkel, W. B., Flik, G., Kwang, J., Savelkoul, H. F., & Verburg-van Kemenade, B. L. (2002). Neuroendocrine–immune interactions in fish: a role for interleukin-1. *Veterinary immunology and immunopathology*, *87*(3-4), 467-479. doi:https://doi.org/10.1016/S0165-2427(02)00077-6

Ewing, E. W., Ross, A.J., Brenner, D. J. and Fanning, G. R., 1978, *Yersinia ruckeri* sp. Nov., the redmouth (RM) bacterium. International Journal of Bacteriology, 28, 37 – 44. doi:https://doi.org/10.1099/00207713-28-1-37

FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020 (Sustainability in Action). Rome. doi:https://doi.org/10.4060/ca9229en

FAO, (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. (Sustainability in Action). *Towards Blue Transformation*. Rome, FAO. doi:https://doi.org/10.4060/cc0461en

Fisher Jr, C. J., Agosti, J. M., Opal, S. M., Lowry, S. F., Balk, R. A., Sadoff, J. C., ... & Benjamin, E. (1996). Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein. *New England Journal of Medicine*, *334*(26), 1697-1702. doi:10.1056/NEJM199606273342603

Garduño, R. A., & Kay, W. W. (1992). Interaction of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* with rainbow trout macrophages. *Infection and immunity*, *60*(11), 4612-4620. doi:https://doi.org/10.1128/iai.60.11.4612-4620.1992

Gerard, C., Bruyns, C., Marchant, A., Abramowicz, D., Vandenabeele, P., Delvaux, A., ... & Velu, T. (1993). Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia. *The Journal of experimental medicine*, *177*(2), 547-550. doi:https://doi.org/10.1084/jem.177.2.547

Giorgetti, G., & Ceschia, G. (1982). Vibriosis in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in fresh water in north-eastern Italy. *Journal of Fish Diseases*, *5*(2), 125-130. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1982.tb00465.x

Glasser, L., & Fiederlein, R. L. (1990). The effect of various cell separation procedures on assays of neutrophil function: a critical appraisal. *American journal of clinical pathology*, *93*(5), 662-669. doi:https://doi.org/10.1093/ajcp/93.5.662

Goda, A.M.A.S. (2008). Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization, and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), Fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, *39*(2): 205-214. doi:https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00153.x

Goetz, F. W., Planas, J. V., & MacKenzie, S. (2004). Tumor necrosis factors. *Developmental & Comparative Immunology*, *28*(5), 487-497. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2003.09.008

Gökçe, Z., & Lale, E. F. E. (2016). Çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) bitkisinin kullanım alanları ve tıbbi önemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, *5*, 355-363. doi:https://doi.org/10.17100/nevbiltek.210988

Grattendick, K., Stuart, R., Roberts, E., Lincoln, J., Lefkowitz, S. S., Bollen, A., ... & Lefkowitz, D. L. (2002). Alveolar macrophage activation by myeloperoxidase: a model for exacerbation of lung inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *26*(6), 716-722. doi: https://doi.org/10.1165/ajrcmb.26.6.4723

Gruss, H. J. (1996). Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily. *International Journal of Clinical and Laboratory Research*, *26*(3), 143-159.

Gültepe, N., Bilen, S., Yılmaz, S., Güroy, D., & Aydın, S. (2014). Effects of herbs and spice on health status of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) challenged with Streptococcus iniae. *Acta Veterinaria Brno*, *83*(2), 125-131. doi:10.2754/avb201483020125

Haastein, T., & Holt, G. (1972). The occurrence of vibrio disease in wild Norwegian fish. *Journal of Fish Biology*, *4*(1), 33-37. doi:https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1972.tb05650.x

Hamblin, A. S. (1993). *Cytokines and cytokine receptors*. IRL.

Hamming, O. J., Lutfalla, G., Levraud, J. P., & Hartmann, R. (2011). Crystal structure of Zebrafish interferons I and II reveals conservation of type I interferon structure in vertebrates. *Journal of virology*, *85*(16), 8181-8187. doi: https://doi.org/10.1128/JVI.00521-11

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M. C., Kim, J. S., Han, Y. J., & Heo, M. S. (2009). Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. *Fish & Shellfish Immunology*, *27*(3), 508-515. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.07.004

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, *317*(1-4), 1-15. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.039

Hermann, J. R., Honeyman, M. S., Zimmerman, J. J., Thacker, B. J., Holden, P. J., & Chang, C. C. (2003). Effect of dietary *Echinacea purpurea* on viremia and performance in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs. *Journal of Animal Science*, *81*(9), 2139-2144. doi:https://doi.org/10.2527/2003.8192139x

Hirono, I., Nam, B. H., Kurobe, T., & Aoki, T. (2000). Molecular cloning, characterization, and expression of TNF cDNA and gene from Japanese flounder *Paralychthys olivaceus*. *The Journal of Immunology*, *165*(8), 4423-4427. doi:https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.8.4423

Hoff, K. A. (1989). Survival of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmonicida* at different salinities. *Applied and Environmental Microbiology*, *55*(7), 1775-1786. doi:https://doi.org/10.1128/aem.55.7.1775-1786.1989

Howard, M., Muchamuel, T., Andrade, S., & Menon, S. (1993). Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia. *The Journal of experimental medicine*, *177*(4), 1205-1208. doi:https://doi.org/10.1084/jem.177.4.1205

Immanuel, G., Uma, R. P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha Peter, S. M., Michael Babu, M., & Palavesam, A. (2009). Dietary medicinal plant extracts improve

growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of fish biology*, *74*(7), 1462-1475. doi:https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x

Johnson, K. A., & Amend, D. F. (1983). Efficacy of *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins applied by oral and anal intubation of salmonids. *Journal of Fish Diseases*, *6*(5), 473-476. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1983.tb00101.x

Kadowaki, T., Yasui, Y., Takahashi, Y., Kohchi, C., Soma, G. I., & Inagawa, H. (2009). Comparative immunological analysis of innate immunity activation after oral administration of wheat fermented extract to teleost fish. *Anticancer Research*, *29*(11), 4871-4877.

Kaleeswaran B, Ilavenil S, & Ravikumar S. (2010). Screening of phytochemical properties and antibacterial activity of (*Cynodon dactylon* L.). Int J Curr Res.; 3:83-88.

Kanno, T., Nakai, T., & Muroga, K. (1989). Mode of transmission of vibriosis among ayu Plecoglossus altivelis. *Journal of Aquatic Animal Health*, *1*(1), 2-6. doi:https://doi.org/10.1577/1548-8667(1989)001<0002:MOTOVA>2.3.CO;2

Kay, W. W., & Trust, T. J. (1991). Form and functions of the regular surface array (S-layer) of *Aeromonas salmonicida*. *Experientia*, *47*(5), 412-414.

Kaya, Y., Duyar, H. A., & Erdem, M. E. (2004). Balık Yağ Asitlerinin İnsan Sağlığı İçin Önemi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *21*(3), 365-370.

Keser, O., & Bilal, T. (2008). Beta-glukanın hayvan beslemede bağışıklık sistemi ve performans üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *5*(2), 107-119.

Kileng, Ø., Brundtland, M. I., & Robertsen, B. (2007). Infectious salmon anemia virus is a powerful inducer of key genes of the type I interferon system of Atlantic salmon, but is not inhibited by interferon. *Fish & shellfish immunology*, *23*(2), 378-389. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.11.011

Kinoshita, S., Biswas, G., Kono, T., Hikima, J., & Sakai, M. (2014). Presence of two tumor necrosis factor (tnf)-α homologs on different chromosomes of zebrafish (*Danio rerio*) and medaka (*Oryzias latipes*). *Marine genomics*, *13*, 1-9. doi:https://doi.org/10.1016/j.margen.2013.10.004

Kitao, T., Aoki, T., Fukudome, M., Kawano, K., Wada, Y., & Mizuno, Y. (1983). Serotyping of *Vibrio anguillarum* isolated from diseased freshwater fish in Japan. *Journal of fish diseases*, *6*(2), 175-181. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1983.tb00064.x

Krovacek, K., Faris, A., & Månsson, I. (1987). Cytotoxic and skin permeability factors produced by *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, *67*(1-2), 87-91. doi:https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90011-1

Lakwani, M. A., 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. doi:https://doi.org/10.1111/are.15577

Larsen, J. L., Pedersen, K., & Dalsgaard, I. (1994). *Vibrio anguillarum* serovars associated with vibriosis in fish. *Journal of Fish Diseases*, *17*(3), 259-267. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1994.tb00221.x

Lau, D., Mollnau, H., Eiserich, J. P., Freeman, B. A., Daiber, A., Gehling, U. M., ... & Baldus, S. (2005). Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(2), 431-436. doi: https://doi.org/10.1073/pnas.0405193102

Lee, K. K., & Ellis, A. E. (1990). Glycerophospholipid: cholesterol acyltransferase complexed with lipopolysaccharide (LPS) is a major lethal exotoxin and cytolysin of *Aeromonas salmonicida*: LPS stabilizes and enhances toxicity of the enzyme. *Journal of Bacteriology*, *172*(9), 5382-5393. doi:https://doi.org/10.1128/jb.172.9.5382-5393.1990

Lee, K. K., & Ellis, A. E. (1991). The role of the lethal extracellular cytolysin of *Aeromonas salmonicida* in the pathology of furunculosis. *Journal of Fish Diseases*, *14*(4), 453-460. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00597.x

Li, M. O., Wan, Y. Y., Sanjabi, S., Robertson, A. K. L., & Flavell, R. A. (2006). Transforming growth factor-β regulation of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.*, *24*, 99-146.

Li, M. O., & Flavell, R. A. (2008). TGF-β: a master of all T cell trades. *Cell*, *134*(3), 392-404. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.025

Lindhorst-Emme, W. (1990). Forellenzucht Verlag Paul Parey. *Hamburg und Berling*, 1575.

Long, S., Milev-Milovanovic, I., Wilson, M., Bengten, E., Clem, L. W., Miller, N. W., & Chinchar, V. G. (2006). Identification and expression analysis of cDNAs encoding channel catfish type I interferons. *Fish & shellfish immunology*, *21*(1), 42-59. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.10.008

Lund, V., Arnesen, A., Coucheron, D., Modalsli, K., & Syvertsen, C. (2003). The *Aeromonas salmonicida* A-layer protein is an important protective antigen in oil-adjuvanted vaccines. *Fish & shellfish immunology*, *15*(4), 367-372. doi:10.1016/s1050-4648(02)00180-8

Madhuri, S., Mandloi, A. K., Govind, P., & Sahni, Y. P. (2012). Antimicrobial activity of some medicinal plants against fish pathogens. International Research Journal of Pharmacy, 3, 28-30.

Magnadóttir, B., Lange, S., Steinarsson, A., & Gudmundsdottir, S. (1999). Infection dynamics of two renal myxozoans in hatchery reared fry and juvenile Atlantic cod Gadus morhua L. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol, 122*, 173-180.

Malheiros, D.F., Maciel, P.O., Videira, M.N., & Tavares-Dias, M., (2016). Toxicity of the essential oil of Mentha piperita in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema spp*. (Monogenea). Aquaculture 455, 81–86. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.01.018

Manning, M. J., Nakanishi, T. (1996): The specific immune system: cellular defenses. In: Iwama, G., Nakanishi, T. (Eds.). The fish immune system. Fish Physiology Series: Organism, Pathogen, and Environment, Volume 15. – Academic Press, San Diego, CA, pp. 160–205.

McCarthy, D. H., Stevenson, J. P., & Roberts, M. S. (1974). Vibriosis in rainbow trout. *Journal of Wildlife Diseases*, *10*(1), 2-7. doi:https://doi.org/10.7589/0090-3558-10.1.2

Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G., & Paknejad, H. (2020). Immunity and growth improvement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary nettle (*Urtica dioica*) against experimental challenge with *Saprolegnia parasitica*. *Fish & Shellfish Immunology*, *104*, 74-82. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.050

Mohamad, S., & Abasali, H. (2010). Effect of plant extracts supplemented diets on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*). *Agricultural Journal*, *5*(2), 119-127.

Morgan, J. D., & Iwama, G. K. (1981). Measurements of stressed states in the field. Fish Stress and Health in Aquaculture, 62, 247.

Mostafa A.a.Z.M., Ahmad M.H., Mousallamy, A., & Samir, A. (2009). Effect of Using Dried Fenugreek Seeds as Natural Feed Additives on Growth Performance, Feed Utilization, Whole-body Composition and Entropathogenic *Aeromonas Hydrophila*-challinge of Monsex Nile Tilapia O. Niloticus (L) Fingerlings. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3*(2), 1234-1245.

Nafiqoh, N., Zairin, M., Lusiastuti, A., Sarter, S., Caruso, D., & Avarre, J. C. (2020). Antimicrobial properties against Aeromonas hydrophila and immunostimulant effect on Clarias gariepinus of Piper betle, Psidium guajava, and Tithonia diversifolia plants. *Aquaculture International*, *28*(1), 1-13. doi:https://doi.org/10.1007/s10499-019-00439-6

Nya, E. J., & Austin, B. (2009). Use of dietary ginger, Zingiber officinale Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases*, *32*(11), 971-977. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x

Ocak, F. (2006). Balıklarda Lenfoid organlar ve immun sistemin özellikleri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *3*(1), 61-66.

OECD, (2016). OECD Review of Fisheries: Country Statistics 2015, OECD Publishing, http://dxdoi.org/10.1787/rev_fish_stat_en-2015-en

Ooi, E. L., Verjan, N., Haraguchi, I., Oshima, T., Kondo, H., Hirono, I., ... & Yuki, Y. (2008). Innate immunomodulation with recombinant interferon-α enhances resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to infectious hematopoietic necrosis virus. Developmental & Comparative Immunology, 32(10), 1211-1220. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.03.010

Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M. K., Coleri, A., & Caliskan, M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*, *31*(5), 637-641.

Özdemir, B., & Gürbüz, B. (1998). SEÇİLMİŞ BAZI ÇEMEN (Trigonella foenum-graecum L.) HATLARININ VERİM VE VERİM ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *7*(2), 10-17.

Özdemir, S., Altun, S., & Arslan, H. (2018). Imidacloprid exposure cause the histopathological changes, activation of TNF-α, iNOS, 8-OHdG biomarkers, and alteration of caspase 3, iNOS, CYP1A, MT1 gene expression levels in common carp (Cyprinus carpio L.). *Toxicology reports*, *5*, 125-133. doi:https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.019

Öztürk, R. Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *14*(1). doi: https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_30

Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H., ... & Aoki, T. (2007). Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. Developmental & Comparative Immunology, 31(4), 372-382. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2006.07.004

Parry Jr, R. M., Chandan, R. C., & Shahani, K. M. (1965). A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *119*(2), 384-386. doi:https://doi.org/10.3181/00379727-119-30188

Peixoto, M. J., Salas-Leitón, E., Pereira, L. F., Queiroz, A., Magalhães, F., Pereira, R., ... & de Almeida Ozório, R. O. (2016). Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, *3*, 189-197. doi:https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.03.005

Pennell, W., & Barton, B. A. (Eds.). (1996). *Principles of salmonid culture*, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Volume 29.

Quade, M. J., & Roth, J. A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Veterinary immunology and immunopathology*, *58*(3-4), 239-248. doi:https://doi.org/10.1016/S0165-2427(97)00048-2

Ramezanzadeh, S., Abedian Kenari, A., & Esmaeili, M. (2020). Immunohematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed supplemented diet with different forms of barberry root (*Berberis vulgaris*). *Comparative Clinical Pathology*, *29*(1), 177-187. doi:https://doi.org/10.1007/s00580-019-03032-8

Reis, M. I., do Vale, A., Pereira, P. J., Azevedo, J. E., & Dos Santos, N. M. (2012). Caspase-1 and IL-1β processing in a teleost fish. *PLoS One*, *7*(11), e50450. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050450

Reyes-Cerpa, S., Maisey, K., Reyes-López, F., Toro-Ascuy, D., Sandino, A. M., & Imarai, M. (2012). Fish cytokines and immune response. *New advances and contributions to fish biology*, 3-57. doi:dx.doi.org/10.5772/53504

Ribelin, W. E., & Migaki, G. (Eds.). (1975). *The pathology of fishes: proceedings of a symposium*. Univ of Wisconsin Press, 58-63, 331-333, 369.

Ricker, W. E. (1979). Growth rates and models. *Fish physiology*, 673-743.

Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T. Ø., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G. I., & Bakke, A. M. (2010). Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, *16*(2), 117-136. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x

Roberts, R. J. (2001). The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. *Fish pathology*, (Ed. 3), 55-132.

Roohi, Z., Imanpoor, M. R., Jafari, V., & Taghizadeh, V. (2017). The use of fenugreek seed meal in fish diets: growth performance, haematological and biochemical parameters, survival and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*, *48*(3), 1209-1215. doi:https://doi.org/10.1111/are.12962

Ross, A. J., Rucker, R. R., & Ewing, W. H. (1966). Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian journal of microbiology*, *12*(4), 763-770. doi:https://doi.org/10.1139/m66-103

Sakai, M., Hikima, J. I., & Kono, T. (2021). Fish cytokines: Current research and applications. *Fisheries Science*, *87*(1), 1-9. doi:https://doi.org/10.1007/s12562-020-01476-4

Sarıeyyüpoğlu, M. ve Köksal, M. (1995). Balık hastalıklarında tibbi bitkilerle tedavi ve kontrolünün araştırılması, Doğu Anadolu Bölgesi II. Su Ürünleri Sempozyumu, 14-16 Haziran 1995, Erzurum.

Scapigliati, G., Costantini, S., Colonna, G., Facchiano, A., Buonocore, F., Bossu, P., ... & Secombes, C. J. (2004). Modelling of fish interleukin-1 and its receptor. *Developmental & Comparative Immunology*, *28*(5), 429-441. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2003.09.014

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

Secombes, C. J., Wang, T., & Bird, S. (2011). The interleukins of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, *35*(12), 1336-1345. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.05.001

Shalaby A.M., Khattab Y.A. ve Abdel Rahman A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters and Survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, *12*: 172-201.

Sharma, J., Singh, A., Begum, A., Krishna, V. H., & Chakrabarti, R. (2021). The impact of Achyranthes aspera seeds and leaves supplemented feeds on the survival, growth, immune system and specific genes involved in immunostimulation in *Clarias batrachus* fry challenged with *Aeromonas hydrophila* in pond conditions. *Fish & Shellfish Immunology*, *118*, 11-18. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.08.026

Sırtıyah, A.M.A. (2017). Gökkuşağı Alabalıklarında (*Onchorhynchus Mykiss*) *Lactococcus Garvieae* Enfeksiyonuna Karşı Sakal Likeni (*Usnea barbata*) Sulu Metanolik Özütünün Antimikrobiyal Etkilerinin İn Vivo Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Kastamonu.

Sigh, J., Lindenstrøm, T., & Buchmann, K. (2004). Expression of pro-inflammatory cytokines in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during an infection with *Ichthyophthirius multifiliis*. Fish & shellfish immunology, 17(1), 75-86. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.12.005

Soares, M. P., Cardoso, I. L., Ishikawa, M. M., de Oliveira, A. D. S. S., Sartoratto, A., Jonsson, C. M., ... & Sampaio, F. G. (2020). Effects of Artemisia annua alcohol extract on physiological and innate immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to improve health status. *Fish & Shellfish Immunology*, *105*, 369-377. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.07.035

Sönmez, A. Y., Bilen, S., Taştan, Y., Kenanoğlu, O. N., & Terzi, E. (2022). Effects of dietary *Astragalus caudiculosus* (Boiss & Huet, 1856) supplementation on growth, hematology, antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Fish & Shellfish Immunology*. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.02.031

Stoskopf M. (1993). Fish Medicine. Saunders Company Philadelphia. 882 p.

Sulieman, A. M. E., Ali, A. O., & Hemavathy, J. (2008). Lipid content and fatty acid composition of fenugreek (*Trigonellafoenum-graecum* L.) seeds grown in Sudan. *International journal of food science & technology*, *43*(2), 380-382.

Sun, B., Robertsen, B., Wang, Z., & Liu, B. (2009). Identification of an Atlantic salmon IFN multigene cluster encoding three IFN subtypes with very different

expression properties. *Developmental & Comparative Immunology, 33*(4), 547-558. doi:https://doi.org/10.1016/j.dci.2008.10.001

Svingerud, T., Holand, J. K., & Robertsen, B. (2013). Infectious salmon anemia virus (ISAV) replication is transiently inhibited by Atlantic salmon type I interferon in cell culture. *Virus research, 177*(2), 163-170. doi:https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.08.004

Şahinöz, E., Doğru, Z., & Aral, F., (2017). Türkiye ve Dünya'da Su Ürünlerinin Mevcut Durumu. *Kent Akademisi, 10*(32), 466-476.

Tanrikul, T. T. (2007). Vibriosis as an epizootic disease of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) in Turkey. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS, 10*(10), 1733-1737. doi:10.3923/pjbs.2007.1733.1737

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. doi:https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.12.019

Tiamiyu, A. M., Olatoye, I. O., Olayemi, O. A., Ekundayo, T. C., Adedeji, O. B., & Okocha, R. C. (2021). Medicinal Plant Feed Additives Enhanced Survivability and Growth Performance of *Clarias gariepinus* (African Catfish) against Bacterial Infection. *Microbiology Research, 12*(4), 744-752. doi:https://doi.org/10.3390/microbiolres12040054

Tidwell, J. H. (2012). *Aquaculture production systems*. John Wiley & Sons.

Timur, G., & Korun, J. (2004). First outbreak of vibriosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 18*(18), 1-9.

TUİK, (2021). Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistikleri Haber Bülteni. https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2020-37252, Erişim tarihi: 04/06/2021

Tulgar, A. (2014). Propargite (Akarisit)'nin sublethal dozlarının sazan balığı (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)'nda kan parametrelerine etkisi ve kas dokusundaki birikimi. Doktora Tezi, *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi* Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

Tzianabos, A. O., & Wetzler, L. M. (2004). Cellular communication. *Immunology, infection, and immunity*, 343-369. doi:https://doi.org/10.1128/9781555816148.ch15

Verburg-Van Kemenade, B. L., Stolte, E. H., Metz, J. R., & Chadzinska, M. (2009). Neuroendocrine–immune interactions in teleost fish. *Fish physiology, 28*, 313-364. doi:https://doi.org/10.1016/S1546-5098(09)28007-1

Vigneulle, M. (1990). Susceptibility of sea bass, *Dicentrarchus labrax*, and turbot, *Scophthalmus maximus*, to *Yersinia ruckeri*. *Pathology in marine science*, 117-122.

Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *Clsi (Nccls), 26*, M7-A7.

Woo, P. T., & Bruno, D. W. (1999). *Fish diseases and disorders. Volume 3: viral, bacterial and fungal infections*. CAB International.

Xie J., Liu B., Zhou Q., Su Y., He Y., Pan L., Ge X. ve Xu P. (2008). Effects of Anthraquinone Extract from Rhubarb *Rheum officinale* Bail on the Crowding Stress Response and Growth of Common Carp *Cyprinus carpio* var. Jian. *Aquaculture*, *281*: 5–11. doi:https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.038

Yiğit, M., & Orhan, A. R. A. L. (1999). A Comparison of the Growth Differences of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykissW., 1792) in Freshwater and Seawater (The Black Sea). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *23*(1), 53-60.

Yilmaz, A., & Çiftçi, V. (2021). Türkiye'de defne (*Laurus nobilis* L.) bitkisinin durumu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (22), 325-330. doi:https://doi.org/10.31590/ejosat.856195

Yilmaz, S. (2011). *Yeme eklenen bazı tıbbi bitkilerin levrek balığında (Dicentrarchus labrax L., 1758) büyüme performansı, yem kullanımı ve kan parametrelerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi* Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

Yürüten Özdemir, K. (2018). *Kantaron (Hypericum perforatum) ve Hatmi Çiçeği (Althaea officinalis) Sulu Metanolik Özütünün Gökkuşağı Alabalığının (Oncorhynchus mykiss) Büyüme Performansı, Sindirim Enzimleri ve Bazı Bağışıklık Parametreleri Üzerine Etkileri*. Doktora Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kastamonu.

Zafar, H., Aziz, T., Khan, B., Mannan, A., Rehman, R. U., & Zia, M. (2020). CuO and ZnO nanoparticle application in synthetic soil modulates morphology, nutritional contents, and metal analysis of *Brassica nigra*. *ACS omega*, *5*(23), 13566-13577. doi:https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00030

Zou, J., Wang, T., Hirono, I., Aoki, T., Inagawa, H., Honda, T., ... & Secombes, C. J. (2002). Differential expression of two tumor necrosis factor genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Developmental & Comparative Immunology*, *26*(2), 161-172. doi:https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00058-1

Zou, J., Gorgoglione, B., Taylor, N. G., Summathed, T., Lee, P. T., Panigrahi, A., ... & Secombes, C. J. (2014). Salmonids have an extraordinary complex type I IFN system: characterization of the IFN locus in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reveals two novel IFN subgroups. *The Journal of Immunology*, *193*(5), 2273-2286. doi:https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301796

Zou, J., & Secombes, C. J. (2016). The function of fish cytokines. *Biology*, *5*(2), 23. doi: https://doi.org/10.3390/biology5020023