T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EKSTRAKTE EDİLMİŞ DAMARLICA'NIN (*Plantago lanceolata* L.) GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss* W.) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Randa Taher A. ELBESHTI

Danışman	**Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Soner BİLEN**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Savaş CANBULAT**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Telat YANIK**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Musa BULUT**

DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

KASTAMONU – 2018

TEZ ONAYI

Randa Taher A. ELBESHTI tarafından hazırlanan "**Ekstrakte Edilmiş Damarlıca'nın (*Plantago lanceolata*) Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Büyüme Performansı, Kan Parametreleri, Bağışıklık Sistemi Ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, **Su Ürünleri Ana Bilim Dalında DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Soner BİLEN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Savaş CANBULAT Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Telat YANIK Atatürk Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Musa BULUT Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	.....

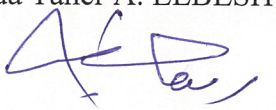
13/12/2018

Enstitü Müdürü Prof. Dr. Hasbi YAPRAK .....

TAAHHÜTNAME

Tez içindeki 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 atif yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Randa Taher A. ELBESHTI



ÖZET

Doktora Tezi

EKSTRAKTE EDİLMİŞ DAMARLICA'NIN (*Plantago lanceolata* L.) GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss* W.) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Randa Taher A. ELBESHTI
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ

Bu tez çalışmasında gökkuşağı alabalıklarının **(***Oncorhynchus mykiss*) yemlerine farklı dozlarda damarlıca bitkisi (*Plantago lanceolata*) özütü ilave edilmiş ve bu yem ile beslenen balıkların büyüme performansı, kan parametreleri, bağışıklık sistemi ve antioksidan enzim aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu amaçla damarlıcanın (D) sulu metanolik özütü çıkartılmış, balık yemlerine %1, %2 ve %3 oranında katılmıştır. Balıklar 3 adet deneme grubu ve 1 adet kontrol grubu olmak üzere, her bir grup 3 tekerrürlü olacak şekilde, 12 adet 100 litrelik tanka yerleştirilmiş ve hazırlanan yemlerle 90 gün boyunca beslenmiştir. Gerçekleştirilecek olan analizler için 30, 60 ve 90. günlerde balıklardan karaciğer, kas dokusu ve kan örnekleri alınmıştır. Çalışmada balıkların; eritrosit, hemoglobin, hematokrit, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu, oksidatif radikal salınımı, myeloperoksidaz aktivitesi, lizozim aktivitesi, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, katalaz (CAT) aktivitesi, glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) aktivitesi, lipit peroksidasyonu, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranı değerleri tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hematolojik değerlere bakıldığında kontrol grubu ile deneme grupları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). İmmünolojik değişimler değerlendirildiğinde lizozim aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla bir azalma meydana gelmiş ancak oksidatif radikal salınımı ve myelporoksidaz aktivitesi artmıştır. Antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde ise damarlıcanın SOD ve CAT değerlerine bir etkisi olmadığı fakat %3 D grubunda GPx ve G6PDH değerlerindeki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre alabalık yemine damarlıca ilavesinin antioksidan özelliği teşvik edici nitelikte olabileceği ve bağışıklık destekleyici olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, damarlıca, büyüme performansı, kan parametreleri, bağışıklık yanıt, antioksidan enzim aktiviteleri

2018, 58 sayfa
Bilim Kodu: 1207

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EFFECTS OF RIBWORT PLANTAIN (*Plantago lanceolata* L.) EXTRACT ON GROWTH PERFORMANCE, BLOOD PARAMETERS, IMMUNE SYSTEM AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss* W.)

Randa Taher A. ELBESHTI
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ

In this thesis study, different doses of ribwort plantain extract (*Plantago lanceolata*) were added to rainbow trout **(***Oncorhynchus mykiss*) feed and changes in growth performance, hematologic parameters, immune system and antioxidant enzyme activities of fish were investigated. For this purpose, aqueous methanolic extraction of ribwort plantain (D) were performed and obtained extracts were mixed with feed in proportion of 1%, 2% and 3%. Fish, 3 experimental groups and 1 control group (3 replicates of each group), were placed in 12 tanks (100-liter) and fed with prepared feed for 90 days. On the 30th, 60th and 90th days liver, muscle and blood samples were taken from fish for analyses. In the study; erythrocyte, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, oxidative radical production, myeloperoxidase activity, lysozyme activity, superoxide dismutase (SOD) activity, catalase (CAT) activity, glutathione peroxidase (GPx) activity, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) activity, lipid peroxidation, weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio values of fish were determined. According to the results, when the hematological values were investigated, there was no significant difference between the control group and the experimental groups ($p > 0.05$). When immunological changes were evaluated, it was seen that lysozyme activity decreased compared to the control group weheras oxidative radical production and myelporoxidase activity were increased significantly. In terms of antioxidant enzyme activities, it was observed that ribwort plant had no effect on SOD and CAT values. However the increase of GPx and G6PDH values in 3% D group was statistically significant. According to the findings, it was concluded that the supplementation of ribwort plantain to the rainbow trout feed could promote the antioxidant property and can be used as an immunostimulant.

Keywords: Rainbow torut, ribwort plantain, growth performance, blood parameters immune response, antioxidant enzyme activities

2018, 58 pages
Science Code: 1207

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve çalışmalarım boyunca bana her zaman yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ'e, yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Soner BİLEN'e. Tez çalışmamda desteklerini gördüğüm Sayın Arş. Gör. Dr. Rahmi Can ÖZDEMİR, Dr. Keriman YÜRÜTEN ÖZDEMİR, Arş. Gör. Osman Nezih KENANOĞLU ve Arş. Gör. Yiğit TAŞTAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Son olarak hayatım boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Randa Taher A. ELBESHTI
Kastamonu, Kasım, 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv
ABSTRACT v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
GRAFİKLER DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
TABLOLAR DİZİNİ xii
1. GİRİŞ 1
1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği 1
1.2. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 2
1.3. Balıklarda Hematolojik Parametreler 3
1.3.1. Eritrosit (Kırmızı Kan Hücresi, RBC) 3
1.3.2. Hemoglobin (HGB) 4
1.3.3. Hematokrit (HCT) 4
1.3.4. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) 5
1.3.5. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Miktarı ve Konsantrasyonu (MCH ve MCHC) 5
1.4. Balıklarda Bağışıklık Sistemi 5
1.4.1. Doğal Bağışıklık (Non-spesifik) 6
1.4.2. Edinsel Bağışıklık (Spesifik) 6
1.4.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller 7
1.4.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO) 7
1.4.5. Lizozim Aktivitesi 8
1.5. Balıklarda Antioksidan Enzimleri 8
1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) 9
1.5.2. Katalaz (CAT) 9
1.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) 9
1.5.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH) 9
1.5.5. Lipit Peroksidasyonu 10
1.6. Damarlıca (*Plantago lanceolata*) 10
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR 13
3. MATERYAL VE YÖNTEM 19
3.1. Materyal 19
3.1.1. Balık Materyali 19
3.1.2. Çalışmanın Yürütüldüğü Yer 19
3.1.3. Bitki Materyali 19
3.2. Yöntem 20
3.2.1. Bitki Özütünün Elde Edilmesi 20

3.2.2. Balık Yeminin Hazırlanması ve Balıkların Beslenmesi 20
3.2.3. Hematolojik Parametrelerin Tayini 20
3.2.3.1. *Eritrosit (kırmızı kan hücresi, RBC) sayımı* 21
3.2.3.2. *Hemoglobin (Hb) tayini* 21
3.2.3.3. *Hematokrit (Hct) analizi* 21
3.2.3.4. *Diğer kırmızı kan hücresi endekslerinin tayini* 22
3.2.4. İmmünolojik Parametrelerin Tayini 22
3.2.4.1. *Oksidatif radikal salınımı* 22
3.2.4.2. *Myeloperoksidaz (MPO)* 23
3.2.4.3. *Lizozim* 23
3.2.5. Antioksidan Enzimlerinin Tayini 24
3.2.5.1. *Süperoksit dismutaz (SOD*) 24
3.2.5.2. *Katalaz (CAT)* 24
3.2.5.3. *Glutatyon peroksidaz (GPx)* 25
3.2.5.4. *Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH)* 26
3.2.5.5. *Lipit peroksidasyonu (Malondialdehit, MDA)* 26
3.2.6. Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi 27
3.2.7. İstatistiksel Analiz 27
4. BULGULAR 28
4.1. Hematolojik Analizler 28
4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler 30
4.2.1. Oksidatif Radikal Salınımı (NBT) 30
4.2.2.Myeloperoksidaz Aktivitesi 31
4.2.3.Lizozim Aktivitesi 32
4.3. Antioksidan Enzim Sisteminde Meydana Gelen Değişimler 33
4.3.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD) 33
4.3.2. Katalaz Aktivitesi (CAT) 34
4.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPX) 36
4.3.4. Glukoz-6- Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi 37
4.3.5. Lipit Peroksidasyonu 39
4.4. Büyüme Performansı 41
5. TARTIŞMA 44
6. SONUÇ 50
KAYNAKLAR 51
ÖZGEÇMİŞ 58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

C	Santigrat
CAT	Katalaz
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleikasit
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetat
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
Gr +	Gram Pozitif
G6PDH	Glukoz 6-Fostat Dehidrogenaz
GR	Glutatyon Redüktaz
GPX	Glutatyon Peroksidaz
GSH	Glutatyon
GST	Glutatyon *S* Transferaz
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
kg	Kilogram
l	Litre
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppm	part per million
POD	Peroksidaz
OH	Hidroksil
O_2	Oksijen
OH^-	Hidroksit
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durum
TOS	Toplam Oksidan Durum
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
U	Unite
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
º	Derece
%	Yüzde

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının oksidatif radikal salınımları aktivitelerinde meydan gelen değişimler. 30
Grafik 4.2. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının myeloperoksidaz aktivitelerinde meydan gelen değişimler 31
Grafik 4.3. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının lizozim aktivitelerinde meydan gelen değişimler..... 32
Grafik 4.4. Günlere göre Relatif SOD aktivitesi 34
Grafik 4.5. Günlere göre Relatif CAT aktivitesi..... 35
Grafik 4.6. Günlere göre Relatif GPX aktivitesi..... 37
Grafik 4.7. Günlere göre Relatif G6PDH aktivitesi..... 39
Grafik 4.8. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu (Beyaz kas). 40
Grafik 4.9. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu (Karaciğer)..... 41
Grafik 4.10. Günlere göre ortalama vücut ağırlığı artışı 43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Gökkuşağı alabalığı 2
Şekil 1.2. Damarlıca..... 11

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Türkiye'de ve Dünya'da su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen toplam balık üretim miktarları (ton) 1
Tablo 1.2. Gökkuşağı alabalığının sistematik bilgisi 2
Tablo 1.3. Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan başlıca balık türleri ve üretim miktarları (ton)... 3
Tablo 1.4. Damarlıcanın sistematik bilgisi. 11
Tablo 4.1.Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, 30. gününde hematolojilerinde meydana gelen değişimler 28
Tablo 4.2.Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 60. gününde hematolojilerinde meydana gelen değişimler. 29
Tablo 4.3.Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 90. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler. 29
Tablo 4.4. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml). 33
Tablo 4.5. Damarlıca methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). 35
Tablo 4.6. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı abalıklarının karaciğer dokularında GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmo/min/ml). 36
Tablo 4.7. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml). 38
Tablo 4.8. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının beyaz kas dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml). 40
Tablo 4.9. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml). 41
Tablo 4.10. Damarlıca sulu methanolik özütü ile altmış gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler 42

1.GİRİŞ

1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Dünyadaki insan nüfusu üssel olarak artış göstermektedir. Bu nüfus artışı devam ettiği sürece, su ürünlerine duyulan ihtiyaç ve talep de aynı oranda artmaktadır. Buna rağmen, son 30 yılda avcılıktan elde edilen su ürünleri miktarında orantısız bir artış olmamıştır ve bu artışın öngörülebilir gelecekte durağan kalması beklenmektedir. Bu bağlamda su ürünleri yetiştiriciliği, dünya nüfusunun su ürünleri ihtiyacını ve talebini karşılanabilmesinin tek yoludur. Ayrıca su ürünleri yetiştiriciliği, son yıllarda dünyada en hızlı büyüyen gıda üretim sektörlerinden biri olmuştur ve şu anda dünya su ürünleri ihtiyacının yarısını tedarik etmektedir. (FAO, 2016a; Sugiura, 2018). Su ürünleri yetiştiriciliği gelecekte dünya nüfusu için gerekli olan hayvansal gıda ihtiyacını sağlayabilecek olsa da, bu durum su ürünleri yetiştiriciliği sektörünün sürdürülebilir bir şekilde genişleme ve büyümesiyle mümkün olacaktır

Su ürünleri yetiştiriciliğinde şüphesiz ki en büyük payı balıklar oluşturmaktadır. Dünyada balık yetiştiriciliğinden elde edilen gelir 2016 yılında 138,5 milyon Amerikan Doları olarak kayıtlara geçmiştir (FAO, 2016b). Bununla beraber Türkiye'de ve Dünya'da 2012-2016 yılları arasında üretilen kültür balıklarının miktarları Tablo 1.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Türkiye'de ve Dünya'da su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen toplam balık üretim miktarları (ton)

Yıl	**2012**	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**
Türkiye	212.410	233.393	235.133	253.395	276.502
Dünya	44.453.477	47.286.018	49.678.954	51.383.161	54.091.148

(FAO, 2016b; TÜİK 2017)

1.2. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Gökkuşağı alabalığı fusiform (iğ) şeklinde, yanal çizgisi belirgin kırmızı-pembe renkte, vücudu üzerinde birçok koyu kahverengi veya siyah noktaya sahip bir tatlısu balığıdır. Abdomen kısmı açık renk olmakla birlikte sırt kısmı genellikle mavi-yeşil veya zeytin yeşili rengindedir (Fotoğraf 1.1.). Uzunlukları ve ağırlıkları yaşadıkları ortama göre değişiklik gösterse de ortalama 50-80 cm toplam boya ve 10-12 kg ağırlığa ulaşabilmektedirler (URL-1).



Şekil 1.1. Gökkuşağı alabalığı (URL-1)

Gökkuşağı alabalığının sistematik sınıflandırılması Tablo 1.2.'de verildiği gibidir.

Tablo 1.2. Gökkuşağı alabalığının sistematik bilgisi

Alem	Animalia
Şube	Chordata
Sınıf	Actinopterygii
Takım	Salmoniformes
Aile	Salmonidae
Cins	Oncorhynchus
Tür	*O.mykiss*

Anavatanı Kuzey Amerika olan ve yaklaşık olarak 130 yıl önce Avrupa'ya tanıtılan gökkuşağı alabalığı günümüzde yetiştiricilik için tercih edilen en önemli türlerden birisidir. Soğuk su balığı olmasına rağmen yüksek sıcaklıklara ve yoğun stoklamaya karşı dirençli olması, aktif yem aldığı için kolay yemlenebilmesi ve dolayısıyla daha iyi yem değerlendirme oranına sahip olması, yüksek ilkbahar sıcaklıklarında kaynak alabalığı ve dere alabalığı türlerine nazaran kısa süreli kuluçka dönemi geçirmesi gibi özellikleri tercih edilme sebeplerindendir (Aydın, 2009). Nitekim ülkemizde en çok yetiştiriciliği yapılan tür gökkuşağı alabalığıdır (Tablo 1.3.).

Tablo 1.3. Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan başlıca balık türleri ve üretim miktarları (ton)

Yıl	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**
Gökkuşağı Alabalığı	128.058	112.345	106.598	104.355	106.733
Levrek	67.912	74.653	75.164	80.847	99.971
Çipura	35.701	41.873	51.844	58.254	61.090

(TÜİK, 2017)

1.3. Balıklarda Hematolojik Parametreler

1.3.1. Eritrosit (Kırmızı Kan Hücresi, RBC)

Eritrositler balıklarda en çok miktarda bulunan (%98-99) kan hücresidir (Fange, 1992). Balık eritrositi (memeliler hariç diğer omurgalılarda olduğu gibi) elips şeklindedir ve çekirdeğe sahiptir. Boyutları önemli ölçüde çeşitlilik göstermekle birlikte büyük olanları ortalama 8.8-17.1 μm, küçük olanları ise ortalama 6.9-12.9 μm çapındadır (URL-2; Witeska, 2013).

Balıklarda eritrosit sayısı türe göre değişmekte ve büyük ölçüde çevresel koşullardan etkilenmektedir (özellikle sıcaklık ve sudaki çözünmüş oksijen miktarı). Doğal ortamdaki çevresel koşulların yanısıra eritrosit sayıları su ürünleri yetiştiriciliğinde

yetiştiricilik sistemine, stres ve beslenme faktörlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Witeska, 2013).

1.3.2. Hemoglobin (HGB)

Hemoglobin, ana işlevi dokulara oksijen taşımak olan bir proteindir ve eritrositin içerisinde bulunmaktadır. Balıklarda +2 değerlikli demir içeren hem adı verilen bir prostetik gruba sahip olan globin olarak adlandırılan polipeptid zincirlerinden oluşmaktadır. Globinler türler arasında veya izoformlar arasında farklılık göstermektedir. Globinler, tüm organizmalarda ve dokularda görülmekle birlikte oksijen depolama ve taşımanın yanısıra birçok farklı işlevleri mevcuttur. (Weber ve Voelter, 2004; Fago, Hundahl, Malte ve Weber, 2004; de Souza ve Bonilla-Rodriguez, 2007).

Hemoglobinler, organizma ile çevre arasında bir ara bağ oluşturdukları için balık adaptasyonunda özellikle önem arz etmektedir. Zira balıklar, karasal hayvanların aksine, çok değişken bir çevreye ve oksijen mevcudiyetindeki değişime sürekli maruz kalmaktadırlar (Landini, Schwantes ve Schwantes, 2002; de Souza ve Bonilla-Rodriguez, 2007).

1.3.3. Hematokrit (HCT)

Hematokrit, kırmızı kan hücreleri hacminin toplam kan hacmine olan oranını gösteren bir değerdir. Hemoglobin değerinin basit ve indirekt ölçümü olarak kabul edilmektedir. Oran değerini belirttiği için % (yüzde) işareti ile ifade edilmektedir. Birçok balık türünde hematokrit değeri ölçülmüş ve gökkuşağı alabalığı için %17-44 arasında farklı değerler bildirilmiştir. Balıklarda ve memelilerde türler arasındaki farklılığı açıklayabilmek adına birçok çalışmada türün fiziksel aktivitesindeki yoğunlukla ilişkilendirilmiştir (Gallaugher, 1994). Örneğin balıklarda en aktif türlerin en yüksek Hct değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir: Mavi yüzgeçli atlantik orkinosu (*Thunnus thynnus*) %53; Gobene balığı (*Auxis rochei*) %52.5; Atlantik mavi marlini (*Makaira nigricans*) %43 (Satchell, 1991; Fange, 1992; Gallaugher, 1994).

1.3.4. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Ortalama eritrosit hacmi, bir kan numunesinde bulunan kırmızı kan hücrelerinin ortalama hacmini belirten bir kan parametresidir. MCV, ortalama kırmızı kan hücresi boyutuna bağlı olarak artış veya azalma gösterir. Örneğin; düşük MCV değerleri mikrositik (ortalama RBC boyutu küçük); normal MCV değerleri normositik (ortalama RBC boyutu normal düzeyde) ve yüksek MCV değerleri makrositik (ortalama RBC boyutu iri) olarak tanımlanmaktadır (URL-3).

1.3.5. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Miktarı ve Konsantrasyonu (MCH ve MCHC)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH), bir eritrosit hücresinin ihtiva ettiği ortalama hemoglobin miktarını ifade etmektedir. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsanstrasyonu (MCHC) ise birim hacimdeki eritrosit başına düşen hemoglobin miktarını belirtmektedir (URL-4).

1.4. Balıklarda Bağışıklık Sistemi

Temelde balıkların su ortamlarında yoğun olarak bulunan hastalık etkenlerine karşı oldukça güçlü bir bağışıklık sistemi vardır ve vücutlarında enfeksiyona neden olabilecek bazı etkenlere karşı vücudun tepki göstermesini sağlayan faktörlerin çoğuna sahiptir (Aoki, 1992; Atamanalp, Uçar ve Alak, 2013). Balıkların bağışıklık sistemi diğer omurgalılarınkiyle benzer olsa da özellikle önemli savunma hücrelerinin konumları açısından ve histopatolojik yönden küçük farklılıklar göstermektedir (URL-5). Balıkların bağışıklık sistemine direk etkisi olan etkenler sıcaklık, pH, tuzluluk, çözünmüş oksijen miktarı gibi fiziksel ve kimyasal özellikler sayılabilmektedir (Magnadóttir, 2006; Alınterim, 2011). Balıklarda iki farklı bağışıklık sistemi vardır. Bunlar doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklık olmak üzere ayrılmaktadır.

1.4.1. Doğal Bağışıklık (Non-spesifik)

Doğal bağışıklık sistemi, balıklarda enfeksiyon oluşumunun engellemesinde ve vücudun mukus ve epidermis üretimi ile patojenlere karşı kendini savunmasında önemli bir role sahiptir (Magnadóttir, 2006). Doğal bağışıklık sistemi fiziksel, hücresel ve hümoral parametreler olarak 3' e ayrılmaktadır.

Fiziksel yaralanmalarda meydana gelebilecek enfeksiyonlara karşı pullar, mukus tabakası ve solungaçlar savunma görevi görmektedir. Balık mukusunda bulunan immünoglobilin M (IgM), mikroorganizmaların vücuda girmesini engellemektedir ve lenfosit, makrofaj, eozinofilik granüler gibi hücreler de vücudun savunma mekanizmasında önemli bir etkiye sahiptir.

T ve B hücreleri hücresel sistemde mikropları yok etme görevi görmektedir. T hücresi ve majör histokompatibilite kompleksine (MHC) sahip olan en ilkel gruplar yassısolungaçgiller ve kemikli balıklardır ve T lenfositlerinin alt popülasyonlarına sahiptirler (Manning ve Nakanishi, 1996). T hücre antikorları hücre içerisindeki mikropların ürettiği antijenleri tanırken, B hücreleri ise hücre dışında bulunan mikrobik antijenleri tanımaktadır (Akaylı, 2001; Altınterim, 2011). Enfeksiyonlara karşı doğal bağışıklık sistemini koruyan en önemli bileşenler nötrofiller ve makrofajlardır ve fagositik, kemotaksi, bakterisit aktivite yeteneğine sahiptir (Katzenback, Katakura ve Belosevic, 2012).

Hümoral parametler B lenfositlerinin ürettiği antikor tarafından oluşturulur ve vücut sıvılarında, kanda, ve hücresel reseptörlerde salgılanarak mikropları etkisiz hale getirme özelliğine sahiptir. Hümoral sistem, balıklarda önemli bir savunma mekanizmasını oluşturuken, karaciğerde sentezlenen ve 35'ten fazla plazma proteininden meydana gelmektedir (Magnadóttir, 2006; Subramanian, Ross ve MacKinnon, 2008).

1.4.2. Edinsel Bağışıklık (Spesifik)

Spesifik immün yanıt, organizmanın özellikle antijenlere, antikorlara ve etkileyici hücrelere yüksek özgüllükle ve çekicilikle tepki vermesi için gerekli koşulları

sağlayan bir takım kompleks uzmanlaşmış hücreler, proteinler, genler ve biyokimyasal mesajları içeren mekanizma aracılığıyla gerçekleşir (Uribe, Folch, Enriquez ve Moran, 2011).

Edinsel bağışıklık sisteminin en belirgin özelliği önemli hafıza hücrelerine sahip olmasıdır. Spesifik T hücreleri ve immünoglobulinler (Ig) patojenlerinin hızlı bir şekilde yok olmasını sağlayarak etkili bir müdahaleye sahiptir ve tekrarlanabilen hastalıklara karşı membrana bağlı reseptörler üreterek etkenlerin tanınmasında ve vücudun bu etkenlere karşı korunmasında korunmasında önemli bir oynamaktadır (Galindo-Villegas ve Hosokawa, 2004).

1.4.3 Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (serbest radikaller) üretimi ile antioksidan savunma sistemindeki birimlerin miktarı arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (Betteridge, 2000).

Serbest radikaller hidroksil (OH^-), süperoksit anyonu (O_2^-), nitrik oksit (NO^-) gibi tek sayıda (eşleşmemiş) elektrona sahip olan kimyasal ürünlerdir (Betteridge, 2000; Jensen, 2003). Söz konusu radikaller kısa yaşam ömrüne sahip ancak çok az miktarda enerji ile reaktif hal alabilen moleküller/iyonlardır. Serbest radikaller aynı zamanda oksijen ve nitrojenin bir takım reaktif alt türleri olarak tanımlanabilir. Protein vb. yapılara kıyasla çok daha küçüktürler. Küçük olmaları sebebiyle birçoğu hücre membranlarından rahatça geçebilir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu doğal bir süreçtir ve birçoğu mitokondrideki oksijenli metabolizmanın yan ürünü olarak ortaya çıkmaktadır (Jensen, 2003).

1.4.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO)

Nötrofiller, bakteri ve mantar gibi patojenlere karşı fagozitik aktivite gösteren, organizma için hayati önem taşıyan bir savunma hücresidir. Myeloperoksidaz, özellikle nötrofillerde ve az miktarda monositlerde ifade edilen hem-içeren bir peroksidazdır. Hidrojen peroksit ve halojenürlerin varlığında MPO, hipokloröz asit (HOCl) dahil olmak üzere reaktif oksijen ara maddelerinin oluşumunu katalizler.

MPO/HOCl sistemi nötrofillerin mikrobiyal öldürme işlevinde önemli bir rol üstlenir. MPO enziminin birçok vakada doku hasarı ve yangı durumunda mevcudiyeti ve MPO eksikliğinde organizmanın yangı tepkisinde artış olduğu ortaya konulmuştur. Bu eksiklik sitokin üretimi de dahil olmak üzere nötrofillerin fonksiyonlarını etkilemektedir. Bahsedilen bulgular myeloperoksidazın iltihap ve yangıya karşı önemli bir iyileştirici olduğunu ortaya koymuştur (Nauseef ve Borregaard, 2014; Winterbourn, Kettle ve Hampton, 2016; Aratani, 2018).

1.4.5. Lizozim Aktivitesi

Lizozim, mikrobiyal istilaya karşı önemli göreve sahip olan doğal bağışıklık sisteminin önemli bir savunma molekülüdür. Lökositik orijinli mukolitik bir enzimdir. Lizozim, bakteriyofajlar, mikroplar, bitkiler, omurgasızlar ve omurgalılarda (Jolles ve Jolles, 1984) yaygın olarak bulunur ve mukus, salya (tükürük) gibi çok çeşitli hayvan salgılarında, kan dahil birçok dokuda ve bitkilerde kofulda mevcuttur. Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarındaki (peptidoglikan tabakaları) N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukosamin arasındaki β (1 → 4) bağlarını böler ve böylece bakterinin vücuda girmesini önler. Gram-negatif bakteriler ise lizozim tarafından doğrudan saldırıya uğramaz. Gram-negatif bakerilerin dış hücre duvarı tamamlayıcı diğer enzimler tarafından parçalanır ve bunun sonucunda bakterinin iç peptidoglikan tabakası açığa çıkar, daha sonrasında lizozim enzimi bu peptidoglikan tabakasına saldırır. Lizozim, anti bakteriyel etkinin yanısıra doğrudan veya opsonik aktivite vasıtasıyla dolaylı yoldan polimorfonükleer lökositleri ve makrofajları aktif ederek fagositozda da görev alır (Saurabh ve Sahoo, 2008).

1.5. Balıklarda Antioksidan Enzimleri

Balıklar, oksijenin olumsuz etkilerine karşı savunma hattı oluşturmaya yarayan bir antioksidan enzim sistemine sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleri balıklarda hücre içi enzim yapısında bulunan başlıca antioksidanlardır (Halliwell, 1989). Vitamin E (α-tokoferol formu) ve ß-karoten hücre içi enzim olmayan lipit fazındaki başlıca

antioksidanlardır. Hücre içi sıvı faz enzim olmayan antioksidanlar ise başlıca Vitamin C (askorbik asit), ürat, sistein, bilurubin, albumin, transferrin, flavanoidler, glutatyon enzimleridir (Quiles, Huertas, Batine, Mataix ve Tortosa, 2002; Keleştemur ve Özdemir, 2011).

1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz oksidatif strese karşı önemli bir savunma enzimidir. Süperoksit dismutazlar, süperoksit radikal anyonunun (O_2^-), hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonunu katalizleyen bir metaloenzim ailesidir. Hayvanlar ve mantarlarda üç çeşit SOD enzimi vardır: dimerik sitoplazmik CuZnSOD (SOD1), tetramerik mitokondriyal MnSOD (SOD2) ve tetramerik ekstraselüler CuZnSOD (SOD3). Her ne kadar üç süperoksit dismutaz da aynı reaksiyonu katalizlese de çeşitli genler tarafından ifade edilirler ve yapıları ile bulundukları yerler farklılık gösterir (Bartosz, 2005).

1.5.2. Katalaz (CAT)

Katalaz enziminin iki işlevi vardır: birincisi hidrojen peroksitin su ve oksijene katalizlenmesini sağlar (katalitik aktivite); ikincisi ise hidrojen verme eğiliminde olan bileşiklerin (metanol, etanol, formik asit, fenoller), 1 mol peroksit tüketerek oksidasyonunu gerçekleştirir (Aebi, 1984). Hidrojen peroksit dokular için çok zararlı bir kimyasal bileşen olduğundan dolayı dokulara ulaşmadan katalizlenmesi gerekir. Bu görev katalaz enzimine aittir ve dolayısıyla balıklarda antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol üstlenir.

1.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz enzimi lipitleri bileşen alkollerine ve hidrojen peroksiti suya indirgemekle görevlidir. Yapısında selenyum (Se) mikronütrientini içerir ve temel biyolojik rolü organizmayı oksidatif hasardan korumaktır. GPx aktivitesi düşerse, hidrojen peroksitin mevcudiyeti artar ve doğrudan doku hasarı meydana gelir. GPx enziminin bulundukları konuma göre sınıflandırılan GPx1, GPx2, GPx3 ve GPx4 olmak üzere dört adet alt türü mevcuttur (Espinoza vd., 2008).

1.5.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin iki adet metabolik görevi vardır. Bir yandan pentoz (nükleik asitlerin ve bütün nükleotid koenzimlerinin yapısına katılan şekerler) şekeri üretiminin ilk basamağını katalazlarken diğer yandan bir takım detoksifikasyon ve biyosentez işlemleri için gerekli olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) bileşiğini sağlar (Luzzatto ve Battistuzzi, 1985). Bu enzim kırmızı kan hücrelerinin hasardan korunmasını ve erken imhasının önlenmesini sağlayarak önemli bir rol üstlenir (URL-6).

1.5.5. Lipit Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu hücre yapılarının maruz kaldığı oksidatif hasarın ve hücre ölümüne neden olan toksisite sürecinin temel moleküler mekanizması olarak kabul edilmektedir. Lipit radikallerinin oluşumu ve yayılması, oksijen alınımı, doymamış yağlardaki ikili bağların yeniden düzenlenmesi basamaklarını içeren ve son olarak alkol, keton, alkan, aldehit ve eter gibi yan ürünler açığa çıkararak lipit membranlarının tahrip olması sürecidir (Dianzani ve Barrera, 2008; Repetto, Semprine ve Boveris, 2012).

1.6. Damarlıca (*Plantago lanceolata* L.)

Damarlıca rozet formunda, öz-döllenme yapamayan, rüzgar yoluyla polenleşen çok yıllık bir bitkidir. Kışı rozet formunda geçirirken bahar ve yaz aylarında çok sayıda yaprak ve sivri çiçekler üretir (Fotoğraf 1.2.).



Şekil 1.2. Damarlıca (URL-8)

Dünya genelinde çok yaygın ve bol miktarda bulunmaktadır (Cavers, Bassett ve Crompton, 1980; Primack ve Antonovics, 1982; Reudler, Honders, Turin ve Biere, 2013). Damarlıcanın taksonomik sınıflandırılması Tablo 1.4.'de verilmiştir.

Tablo 1.4. Damarlıcanın sistematik bilgisi

Alem	Plantae
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Lamiales
Aile	Plantaginaceae
Cins	Plantago
Tür	*P.lanceolata*

Damarlıca doğal olarak iridoid glukozit bileşiği olarak bilinen aukubin ve katalpol bileşiklerini üretmektedir. Bu bileşikler damarlıcanın en temel savunma sistemi olarak kabul edilir ve patojenler üzerine önleyici etkisi olduğu bilinmektedir (Duff,

Bacon ve Mundie, 1965; Bowers ve Stamp, 1992; Adler, Schmitt ve Bowers, 1995; Suomi, Wiedmer ve Jussila, 2001; Reudler vd., 2013)

Bitkisel ürünler binlerce yıldır insanlar tarafından iyileştirici etkileri sebebiyle kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan ve bir sonraki bölümde incelenecek olan çalışmalar göstermiştir ki birçok bitki özütü balık yemine ilave edildiğinde balıklar üzerinde olumlu etkiler ortaya çıkarmaktadır. Yeterli bilgi ve araştırma ışığında bahsedilen bitkilerin kullanılmasının hastalıklarla mücadelede kullanılan ve gerek ekolojik açıdan zararlı gerek ekonomik açıdan maliyetli olan kimyasal dezenfektanları veya aşıları ikame edebilme potansiyeli vardır. Organik ürün olması sebebiyle kalıntı riskinin olmaması, çevreyi kirletmemesi, ekonomik olması gibi unsurlar bitki özütü kullanımının başlıca avantajları olarak sıralanabilir.

Daha önceki araştırmalar incelendiğinde damarlıca bitkisinin balıkların beslenmesi üzerine olan etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu bağlamda bu tez çalışması, 90 gün boyunca damarlıca (*Plantago lanceolata*) bitkisinin sulu metanolik özütü takviyesiyle beslenen gökkuşağı alabalıklarının kan parametreleri, bağışıklık sistemi, antioksidan enzim aktiviteleri ve büyüme performanslarındaki değişimleri tespit etmek amacıyla tasarlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Su ürünleri yetiştiriciliğinde farklı tıbbı bitki türlerinin immunostimulant etkilerinin incelendiği pek çok çalışma literatürde yer almakla birlikte, bitki ekstrakt çeşitliliği ve balık türlerine göre immunostimulant etkide de farklı sonuçlar görülebilmektedir.

Gupta ve Mishra (2014), karabalık (*Clarias gariepinus*)'ta 10 ve 20 ppm yer paskalyası (*Eclipta alba)* yaprak, sap ve kökü ekstraktlarını denemişlerdir. Çalışmanın 7,14, 21 ve 28. günlerinde balıklardan kan örnekleri alarak hematolojik parametrelerde önemli farklılıklar tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Sulu özütlerde RBC hariç diğer parametrelerde değişiklik olduğunu belirttikleri çalışmada, kök ve sap özütleri için Hb seviyelerini yaprak özütüne göre yüksek tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Söz konusu çalışmada gövde ve kök özütleri WBC oranlarının yaprak özütlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Şahan, Özütok ve Kurutaş (2015), nil tilapia balıklarında (*Oreochromis niloticus*) 0, 5, 7,5 ve 10 g/kg *Spirulina platensis* içeren yemler denemişlerdir. 75 günlük çalışmanın sonunda balıklarda RBC, WBC, Hct, Hb, MCV, MCH, MCHC, lökosit hücre tiplerini ve ek olarak fagositik aktiviteyi incelenmişlerdir. 5 g/kg *Spirulina platensis* içeren gruplarda RBC ve WBC oranlarında artış gözlenmiştir. 7,5 g/kg *Spirulina platensis* içeren yemlerle beslenen gruplarda nötrofil ve monositlerin fagositik aktivitelerinde artış gözlemlemişlerdir.

Nobahar, Gholipour-Kanani, Kakoolaki, ve Jafaryan (2015), sarımsak (*Allium sativum*) ve ısırgan otunun (*Urtica dioica*) mersin balıklarında (*Huso huso*) büyüme performansına ve hematolojik parametrelere etkisini araştırdıkları çalışmalarında, balıkların büyüme performanslarında bir değişiklik gözlemlememişlerdir. 60 günlük deneme sonunda ısırgan otu ile beslenen deneme gruplarında MCV değerleri artış göstermiştir ($P<0,05$). 20. günde sarımsak ve ısırgan otu olmak üzere her iki deneme grubunda lenfosit değeri kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). 20 ve 40. günlerde ısırgan otu ile beslenen gruplarda Hb oranları kontrol ve sarımsak gruplarına göre artış göstermiştir ($P<0,05$). 60. günde ısırgan otu Htc değeri kontrol grubuna ve sarımsak grubuna göre artış göstermiş olup ($P<0,05$), deneme

grupları arasında MCH değerlerinde farklılık görülmemiştir. 40. günde MCHC değerleri de ısırgan otu grubunda diğer gruplara göre artış göstermiştir ($P<0,05$). 60. günde ise bu durumdan farklı olarak sarımsak grubu MCHC verileri diğer gruplara göre önemli derecede artış gösterdiğini belirtmişlerdir ($P<0,05$). 40. gün WBC değerleri sarımsak grubunda diğer gruplara göre artış gösterdiğini belirten çalışmada, nötrofil değerleri ise ısırgan otunda diğer gruplara göre en yüksek seviyededir. Söz konusu çalışmanın 20. ve 40. günlerinde ısırgan otu lenfosit değerlerinin diğer gruplara göre yüksek olduğu ($P<0,05$), monosit değerlerinin ise deneme grupları arasında önemli bir farklılık göstermediği belirtilmiştir.

Dügenci, Arda ve Candan (2003), ökseotu (*Viscum album*), ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) sulu ekstraktlarını % 0,1 ve % 0,2 oranlarında denedikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hücre içi solunum patlaması aktivitesi, kan lökositlerinin fagositozu ve spesifik büyüme oranlarını araştırmışlardır. Çalışmada hücre dışı oksidatif radikal üretiminin farklı bitki denenen gruplarda kontrol grubuna göre yüksek olduğu özellikle istatistiksel olarak en anlamlı sonucun %1 zencefil grubunda olduğunu belirtmişlerdir ($P<0,001$). Deneme gruplarındaki hücre içi süperoksit anyon üretiminin kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklılık teşkil etmediğide tespit ettikleri sonuçlar arasında olup ($P>0,05$), fagositik aktivitenin ise sadece %1 zencefil grubunda diğer gruplara göre yüksek olduğunu da belirtmişlerdir ($P<0,05$). Söz konusu çalışmada spesifik büyüme oranı açısından gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmadığı da belirtilmiştir.

Bilen, Altunoglu, Ulu ve Biswas (2016a), gökkuşağı alabalıklarında 0,1 ve 0,5 g/kg dozunda denedikleri gebre otu (*Capparis spinosa*)'nun 30 gün sonunda büyüme performansına ve yaşama oranına olumlu yönde katkıda bulunduğunu kontrol grubu ile yaptıkları karşılaştırma neticesinde tespit etmişler ($P<0,05$). Bununla birlikte fagozitik aktivitenin kontrol grubuna göre artış gösterdiği ($P<0,05$), fakat deneme grupları arasında önemli bir farklılık olmadığını ($P>0,05$) belirtmişlerdir. Bilen vd. (2016a), lizozim ve myeloperoksidaz aktivitelerinin 0,1 g/kg olan grupta en yüksek değere sahip olduğunuda vurgulamışlardır.

Bilen, Soydas ve Bilen (2014), ısırgan otu (*Urtica dioica*) metanolik özütü ile japon balıklarında (*Carassius auratus*) yaptıkları çalışmada bağışıklık sistem üzerine etkilerini 0,1 ve 0,5 g/kg yem olacak şekilde özütün iki farklı konsantrasyonu ile denemişler 30 günlük çalışma sonunda tüm bağışıklık yanıtların her iki deneme grubunda da artış gösterdiğini, en yüksek bağışıklık yanıtın ise % 0,5 'lik grupta olduğunu belirtmişlerdir ($P<0.05$).

Tafi, Meshkini, Tukmechi, Alishahi ve Noori (2018), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda *Salvia officinalis* ve *Aloe vera* ekstraktı ile beslemenin immunolojik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarından elde ettikleri sonuçlara göre *A. vera* kullanımının kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda total alyuvar, lenfosit, nötrofil, komplement aktivitesi, lizozim aktivitesi ve total immunglobulinde artmaya neden olduğu yönünde veriler elde etmişlerdir ($P<0.05$). Bunun yanında söz konusu çalışmada %1,5 *S. officinalis* kullanımının immunglobulin dışında diğer parametrelere anlamlı bir etkiye neden olmadığını ($P<0.05$) ve netice olarak *A. vera* ekstraktının gökkuşağı alabalıklarında immun direnci geliştirdiğini belirtmişlerdir.

Diler, Görmez, Terzioğlu ve Atabay (2015), pelin otu (*Artemisia vulgaris*)' nun gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık ve *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç sağlayan uygun dozlarının tespiti amacıyla yaptıkları araştırmada pelin otunu, balıkların yemlerine toz (%0, %0,1, %0,5, %1, %2) ve etanol ekstraktı (250 ve 1000 mg/kg) olarak ilave etmişlerdir. Sonuç olarak pelin otunun lizozim aktivitesi, fagositoz aktivite ve NBT pozitif hücre sayısında artış sağlaması nedeniyle bağışıklık sistemini stimüle ettiği ve gökkuşağı alabalıklarında etkili bir immunostimulant olarak kullanılabileceği tespit etmişlerdir. Benzer olarak Bilen, Yılmaz ve Bilen (2013) ise tetra (*Cotinus coggygria*) bitkisinin 3 farklı dozundaki metanol ekstraktı ile 4 hafta besledikleri koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) lökosit, NBT + hücre sayısı ve lizozim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir.

Christybapita, Divyagnaneswari ve Michael (2007), yer paskalyası (*Eclipta alba*) yaprağı ekstraktını tilapia balığında (*Oreochromis mossambicus*) %0.01, %0.1 ve % 1 seviyelerinde denemişler, lizozim aktivitesi açısından en yüksek grubun 2. haftada %1 sulu metanolik ekstrakt grubunda gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Christybapita

vd. (2007), 3 haftalık deneme sonunda hemolitik komplement aktivitesi, myeloperoksidaz aktivitesi ve reaktif oksijen türlerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık gözlemlemezken (P>0,05), antiproteaz aktivitesinde deneme gruplarında önemli artış tespit etmişlerdir (P<0,05).

Bilen, Bulut ve Bilen (2011), tetra (*Cotinus coggyria*)'nın % 0,5 ve % 1 dozlarını yeme katarak, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 'nda immunostimulat etkisini araştırdıkları çalışmalarında büyüme performansına olumlu etkisinin olmadığını, fakat 3. hafta sonunda hücre içi ve hücre dışı solunum aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli değişiklikler elde ettiklerini belirtmişlerdir (P<0,05). Bununla birlikte % 1 'lik deneme grubunun % 0,5 'lik deneme grubuna göre hücre içi ve hücre dışı solunum patlaması aktivitelerinde daha iyi sonuç alındığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2011), tetranın lizozim aktivitesine ve fagozitik aktiviteye olan olumlu etkisini kontrol grubuna göre meydana gelen artışla belirtmişler (P<0,05), 6 hafta sonunda en yüksek fagozitik aktivitenin % 1 tetra grubunda olduğunu; 9. haftanın sonunda ise % 1 tetra grubunun % 0,5 'lik gruba göre lizozim aktivitesi açısından daha çok artış gösterdiğini de eklemişlerdir.

Bilen ve Bulut (2010), % 0.5 ve %1 defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozu içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında yaptıkları 3 haftalık araştırma sonucunda defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozunun; toplam protein, solunumsal patlama, serum lizozimi üzerine hiçbir etkisi olmadığını ifade etmişlerdir (P>0,05). Sadece, % 0.5 ve % 1 defne içeren yem ile beslenen balıklarda, fagozitik aktivitede anlamlı bir farklılık mevcut olduğunu belirtmişlerdir (P<0,05).

Sönmez vd. (2015), 500, 1000 ve 1500 mg/kg olacak şekilde adaçayı, nane ve kekik bitkilerinin yağlarını içeren yemlerle 60 gün boyunca besledikleri gökkuşağı alabalığı yavrularının antioksidan sistemde meydan gelen değişimleri incelenmişlerdir. Tüm deneme gruplarına ait SOD, G6PDH ve GPX aktiviteleri kontrol grubuna göre artış göstermiş olup; CAT, GST ve GR enzim aktivitelerinde ise kontrol grubuna göre azalan değer tespit etmişlerdir. 500 mg/kg dozunda kullanılan adaçayı ve kekik yağlarının büyüme ve antioksidan sistem açısından pozitif katkı sağlayacağını da ifade etmişlerdir. Sönmez vd. (2015), balıkların

büyüme performanslarını adaçayı ve kekik yağı içeren yemlerle besledikleri gruplarda yüksek olarak değerlendirirken, nane yağı ile beslenen gruplarda ise azalma tespit etmişlerdir.

Metwally (2009), farklı formlarda sarımsak (*Allium sativum*) takviyesi ile beslenen tilapyaların (*Oreochromis niloticus*) karaciğer ve serumundaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini belirtmiştir ($P<0,01$). Metwally (2009)'e göre sarımsak desteğinin tilapya balıklarında antioksidan enzim aktivitesine katkı sağladığı belirtilmiştir.

Gabriel vd. (2015), 8 hafta boyunca tilapya balıklarında %0,5, %1, %2 ve %4 oranında *Aloe vera* tozunu yem katkı maddesi olarak denemişlerdir. Tüm deneme gruplarındaki balıkların karaciğer MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiş olup ($P>0,05$), kontrol grubuna göre %4 oranında *Aloe vera* denenen grupta karaciğer CAT; % 0,5 ve 1 takviye ile beslenen grupta ise GPx aktivitesinde anlamlı derecede artış gözlemlemişlerdir ($P<0,05$). Gabriel vd. (2015), Karaciğer SOD aktivitesini, tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, deneme grupları arasında herhangi bir farklılık olmadığını da belirtilmiştir. Bu verilerden yola çıkılarak *Aloe vera* ekstraktının tilapya balıklarının beslenmesinde antioksidan etkisi olduğu söylenebilir.

Manal (2016), 10 ve 20 g/kg konsantrasyonlarda zerdeçal (*Curcuma longa*) ve sarımsak (*Allium sativum*) takviyesi ile besledikleri tilapyalarda (*Oreochromis niloticus*) çeşitli antioksidan enzimleri incelediklerinde, sarımsak ve zerdeçal verilen gruplarda kayda değer oranda GSH, CAT, GPx ve GRx artışı olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0,05$).

Diler, Atabay ve Görmez (2017), önemli bir tıbbi bitki türü olan pelin otunun gökkuşağı alabalığında (*Oncorhyncus mykiss*) büyüme performansına, antioksidan aktiviteye ve histopatolojik etkilere tespitini amaçladıkları çalışmalarında pelin otunu, balıkların yemlerine toz (%0, %0,1, %0,5, %1,0, %2,0) veya etanol ekstraktı (250, 1000 mg/kg) olarak ilave etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre balık

yemlerine yapılan *A. vulgaris* ilavesi ile final ağırlık, canlı ağırlık artışı, oransal büyüme, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı toz (%0,1, %0,5, %1,0, %2,0) ve etanol ekstrakt gruplarında (250, 1000 mg/kg) arttığını tespit etmişlerdir ($P<0,05$). En iyi yem dönüşüm oranını %0,1 ve %1,0 gruplarında yakalamışlardır. Ayrıca Diler vd. (2017), *Artemisia vulgaris* L' in balıklarda büyüme parametreleri ve antioksidan aktiviteyi arttırdığını da belirtmişlerdir.

Awad, Austin ve Lyndon (2012), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhyncus mykiss*) 'nda %1 ve %2 oranında lupin (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera sp*.) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) denedikleri çalışmalarında, deneme gruplarının kontrol grubuna göre, ağırlık ve boy artışı sağladığı, spesifik büyüme oranında da (SBO) olumlu etki yarattığını belirtmişlerdir ($P<0,05$).

Azab, Khalaf-Allah ve Maher (2016), % 5 oranında, şalgam, yaprak üzümü ve havuç yaprağı ve kökü ile 120 gün besledikleri Koi balıklarının (*Cyprinus carpio*) büyüme performansında olumlu yönde gelişme kaydedildiğini belirtmişlerdir. Koi balıklarının büyüme performansında en iyi artışın % 5 şalgam grubunda olduğunu, ancak en düşük değerin ise % 5 (şalgam + üzüm + havuç) grubunda görüldüğünü belirtmişlerdir. Azab vd. (2016), şalgamın Koi balıklarının büyüme performansını artırmak için ideal bir katkı maddesi olabileceğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Balık Materyali

Bu tez çalışmasında, Kastamonu Üniversitesi İçsu ve Deniz Balıkları Araştırma ve Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ortalama ağırlıkları 36,56±1,99 g olan toplam 360 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) kullanılmıştır. Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin Germeçtepe baraj gölünde bulunan tesisindeki kafeslerden rastgele seçilen 360 balıktan otuzar tanesi 12 adet akvaryuma (100 L hacimli) yerleştirilmiştir.

3.1.2. Çalışmanın Yürütüldüğü Yer

Çalışma, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Hastalık Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Balıklardan deneme süresince alınan numunelerin analizleri ise Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.1.3. Bitki Materyali

Bu araştırmada Batı Karadeniz'de yer alan Kastamonu vilayeti ve çevresinden toplanan damarlıca (*Plantago lanceolata*) bitkisi materyal olarak kullanılmıştır. Araziden toplanan bitkiler Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiş ve kurutulmuştur. Kurutulan bitki numuneleri laboratuvar tipi öğütücüde toz haline getirilmiş ve daha sonra sulu metanoliz özütleri Bilen, Ünal ve Güvensoy (2016a)'a göre elde edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Özütünün Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılan ve öğütülerek toz haline getirilen damarlıca bitkisinden 50 gr tartılmıştır. Tartılan bu toz halindeki bitki 1 L'lik %40'lık metanol çözeltisinin içerisine konulmuştur. 72 saat boyunca amberli şişede karanlık yerde bekletilen karışım günde iki defa ters yüz edilmiştir. 72 saat sonunda karışım Whatman filtre kağıdı (47 mm) vasıtasıyla süzülmüş ve böylece yalnızca sıvı kısmının kalması sağlanmıştır. Elde edilen sıvı kısımdan evaporatör yardımıyla önce 65 °C'de metanol, daha sonra 85 °C'de su uçurulmuştur. Kalan özüt kısmı 50 ml su ile karıştırılarak miktarı hesaplanmış ve daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Bilen vd., 2016a).

3.2.2. Balık Yeminin Hazırlanması ve Balıkların Beslenmesi

Elde edilen bitki özütü PBS ile seyreltildikten sonra %1, %2 ve %3 oranlarında olacak şekilde ticari firmadan alınan hazır alabalık yemlerine püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. Yemin özütü daha iyi absorbe edebilmesi adına yemler hazırlandıktan sonra vakumlanarak yemleme yapılıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.

Çalışmada %1, %2 ve %3 oranında damarlıca (D) içeren yemlerle beslenecek olan balıklar her bir deneme grubu ve kontrol grubu 3 tekerrürlü olacak şekilde 12 tanka rastgele konulmuştur. Balıklar sabah ve akşam olmak üzere günde 2 defa doyana kadar beslenmiştir.

3.2.3. Hematolojik Parametrelerin Tayini

Çalışma süresince toplam otuzar balık ihtiva eden her tanktan üç adet balık rastgele seçilmiş ve heparinlenmiş şırıngalar yardımıyla kaudal venalarından 30, 60 ve 90. günlerde kan örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler eritrosit, hemoglobin, hematokrit, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu değerlerinin tayini için derhal kullanılmıştır.

3.2.3.1. Eritrosit (kırmızı kan hücresi, RBC) sayımı

Kırmızı kan hücreleri sayısı hemositometre yardımıyla uygun seyreltme sıvısı kullanılarak tayin edimiştir (Blaxhall ve Daisley, 1973). Kan örnekleri 1:200 oranında seyreltilerek hemositometre vasıtasıyla eritrosit miktarları sayılmıştır. Sayım yapıldıktan sonra toplam hücre sayısı 10.000 ile çarpılarak mm^3 başına düşen eritrosit miktarı bulunmuştur (hacim korelasyonu: 50, seyreltme faktörü: 200).

3.2.3.2. Hemoglobin (Hb) tayini

Drabkin reaktifi potasyum dijidrojen fosfat, potasyum ferrisiyanit ve potasyum siyanür içeren bir karışımdır. Potasyum siyanür ve potasyum ferrsiyanit hemoglobin ile reaksiyona girerek siyanmethemoglobini meydana getirir. Bu işlem sonucunda oluşan renk yoğunluğu hemoglobin yoğunluğu ile orantılıdır.

Hemoglobin miktarı siyanmethemoglobin metodu (kolorimetrik) ile, Biodiagnostic Company kiti kullanılarak Drabkin ve Austin (1932)'e göre ölçülmüştür. Tayin için 0.05 ml Drabkin reaktifi, 2.5 ml distile edilmiş su ve 0.01 ml kan numunesi karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakılan karışımların absorbans değerleri 540 nm'de okunmuştur (kör: distile edilmiş su). Okunan değerlere göre aşağıdaki formül yardımıyla hemoglobin miktarı tayin edilmiştir.

Hemoglobin miktarı = sonuç x 36,77 (standart yoğunluk)

3.2.3.3. Hematokrit (Hct) analizi

Hematokrit tayini Britton (1963)'a göre uygulanmıştır. Numuneler hematokrit tüplerine koyulmuş ve santrifüj edilmiştir. Hematokrit tüplerinin kırmızı işaretli ucuna kan damlaları değdirilmiştir. Tüpün yaklaşık olarak %66'sı dolduktan sonra mikrohematokrit cihazı kullanılarak numuneler yüksek hızda 5 dakika santrifüjlenmiş ve kan hücrelerinin oluşturduğu hacimsel yüzde tüp okuyucuda gözlemlenmiştir.

3.2.3.4. Diğer kırmızı kan hücresi endekslerinin tayini

Eritrosit, hemoglobin ve hematokrit analizlerinden sonra denemede kullanılan balıkların kan örneklerinden diğer kırmızı kan hücresi endekslerine bakılmıştır. ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) aşağıda verilen formüllere göre tayin edilmiştir (Lewis, Bain ve Bates, 2006).

MCV (fl) = [Hct / RBC ($\times 10^6/mm^3$)] X 10

MCH (pg) = [Hb (g/dl) / RBC ($\times 10^6/mm^3$)] X 10

MCHC (%) = [Hb / Hct] X 100

3.2.4. İmmünolojik Parametrelerin Tayini

Damarlıca ile beslenen balıkların immünolojik parametrelerindeki değişimleri belirlemek amacıyla balıkların 30, 60 ve 90. günlerde kaudal venalarından heparinlenmiş şırıngalar ile numuneler alınmıştır. Alınan örnekler oksidatif radikal salınımının belirlenmesi amacıyla derhal kullanılmıştır. Kalan numuneler, 4 °C'de 20 dakika 3000 rpm'de santrifüjlendikten sonra serumları elde edilip diğer analizler için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4.1. Oksidatif radikal salınımı

Fagositik hücrelerce üretilen oksidatif radikallerin tayini Nitro mavi tetrazolyum (NBT) kimyasal bileşini kullanılarak Anderson ve Siwicki (1994)'ye göre gerçekleştirilmiştir. Bir adet NBT tableti 10 ml distile su içerisinde çözüdürülmüş ve mikrofiltrasyona tabi tutulmuştur. Kan numunesinden 0.1 ml'lik miktar, %2'lik 0.1 ml NBT çözeltisine eklenmiştir. Oluşan karışım 30 dk boyunca 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışımdan 50 µl alınarak başka bir tüpe aktarılmış ve burada üzerine 1 ml N,N-dimetilformamid eklenip 5 dk boyunca 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi sonucu oluşan süpernatant alınarak absorbans değerleri 540 nm'de okunmuştur (kör: N,N-dimetilformamid). Okunan

değerlere göre solunum patlama aktivitesi (oksidatif radikal salınımı) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Solunum patlama aktivitesi = sonuç x 4

3.2.4.2. Myeloperoksidaz (MPO)

Serumda bulunan myeloperoksidaz aktivitesinin tayini iki farklı yöntem üzerinde yeniden düzenleme yapılarak gerçekleştirilmiştir (Quade ve Roth, 1997; Sahoo, Kumari ve Mishra, 2005).

100 ml distile suya bir adet fosfat sitrat tableti eklenerek çözdürülmüştür. TMB solüsyonunun hazırlanması amacıyla 10 ml 0.05 M fosfat sitrat tamponu içerisine bir tablet 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine dihidroklorür ilave edilmiştir. 370 ml Hank tamponlanmış tuz çözeltisi (HBSS) ile 30 µl serum karıştırılmış ve üezerine 100 µl TMB ile %0.006%'lık hidrojen peroksit ilave edilmiştir. Tepkimenin devamıyla birlikte 0.5 ve 4.5. dakikalarda absorbans değerlerindeki artış izlenmiş ve myeloperoksidaz konsanstrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Myeloperoksidaz miktarı = (ikinci okuma – ilk okuma) x 1906,54

3.2.4.3. Lizozim

Serumda bulunan lizozim aktivitesinin tayini turbidimetrik olarak Anderson ve Siwicki (1994)'ye göre gerçekleştirilmiştir. 0.02 g bakteri (*Micrococcus lysodeikticus*) hücresi tozu, 1 ml PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ve 100 ml distile su ile karıştırılarak lizozim çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti otoklav vasıtasıyla steril edilmiş ve 4 °C sıcaklıkta saklanmıştır. 10 µl test serumu 100 µl bakteriyel solüsyona eklenmiş. Spektrofotometre vasıtasıyla 0.5 ve 4.5. dakikalardaki absorbans (530 nm) değerleri okunarak aşağıdaki formüle göre lizozim konsantrasyonu hesaplanmıştır.

Lizozim miktarı = [(ilk okuma – ikinci okuma)/serum miktarı] x 100

3.2.5. Antioksidan Enzimlerinin Tayini

3.2.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz aktivitesi, Sigma-Aldrich (Kit no: 19160) kiti yardımıyla kolorimetrik olarak gerçekleştirilmiştir. 19 ml tampon çözeltisi ve enzim çözeltisi ile 1 ml WST solüsyonu seyreltilmiştir. Enzim çözeltisi 5 sn süreyle santrifüjlendikten sonra pipetlenerek karıştırılmıştır. 15 µl enzim çözeltisi, 2.5 ml seyreltme tamponu kullanılarak seyreltilmiştir. Referanslara ve numunelere 20 µl karaciğer homojenatı eklenmiş, ikinci referans boşaltılarak birinci ve üçüncü referanslara bo 20 µl distile su ilave edilmiştir. Tüplere 200 µl WST çözeltisi eklenerek ikinci ve üçüncü referansa 20 µl seyreltme tamponu ilave edilmiştir. Bütün tüplere ve birinci referansa 20 µl enzim çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. Tüpler 20 dk boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakılmış ve daha sonra absorbans değerleri okunmuştur (450 nm). Elde edilen okuma değerlerine göre SOD aktivitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

İnhibisyon oranı (%) = {[(birinci referans – üçüncü referans) – (numune – ikinci referans)]/(birinci referans – üçüncü referans)} x 100

SOD aktivitesi = [(inhibisyon oranı) x (1/0,1)]

3.2.5.2. Katalaz (CAT)

Katalaz aktivitesinin tayini Cayman kimyasal (Ürün no: 707002) kiti yardımıyla yapılmıştır. Katalaz tayin tamponu, son tahlil tamponu, katalaz örnek tamponu, katalaz (kontrol), katalaz hidrojen peroksit ve örnek tamponu üretici firma talimatlarına göre hazırlanmıştır.

Numune, pozitif kontrol ve referans küvetlerine 100 µl seyreltilmiş örnek tamponu ile metanol eklenmiştir. Referans küvetine 20 µl formaldehit, pozitif kontrol küvetine 20 µl katalaz (kontrol) ve numune küvetine 20 µl karaciğer homojenatı ilave edilmiştir. Her bir küvete hidrojen peroksit ilave edilmiştir. 20 dakika boyunca 25 °C'de karıştırılarak inkübasyona bırakılan küvetlerin hepsine 30 µl potasyum

hidrooksit ve 30 µl kromojen ilave edilmiş ve tekrar 25 °C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Yine her küvete 10 µl katalaz potasyum periodat ilave ederek 25 °C'de 5 dakika boyunca inkübe edildikten sonra absorbans değerleri okunmuştur (540 nm). Katalaz aktivitesi okunan değerlere göre aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanmıştır.

Formaldehit (µM) = [(numune absorbansı) – (y-değeri)/eğim] x 8.5 ml

y-değeri = 0,1256, eğim = 0,1167

CAT aktivitesi = [(µM numune/20 dakika) x numune dilüasyonu]

3.2.5.3. Glutatyon peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz analizi Cayman kimyasal (Ürün no: 703102) kiti yardımıyla gerçekleştirilmiştir. GPx tahlil tamponu, GPx örnek tamponu, Glutatyon peroksidaz ve GPx ko-substrat karışımı üretici firma talimatlarına göre hazırlanmıştır.

GPx tahlil tamponundan 120 µl alınarak 50 µl GPx ko-substrat karışımı ile birlikte küvetlere konulmuştur. Pozitif kontrolun içeriği: 100 µl tahlil tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı, 20 µl seyreltilmiş GPx kontrol olacak şekilde hazırlanmıştır. Numunelerin hazırlanması ise: 100 µl tahlil tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı, 20 µl karaciğer homojenatı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Her küvete 20 µl kümen hidroperoksit ilave edilerek 1-2 sn çalkalanarak tepkimenin başlaması sağlanmıştır. Daha sonra küvetlerdeki karışımların absorbans değerleri okunmuştur (340 nm). Glutatyon peroksidaz aktivitesi okunan değerlere göre aşağıda belirtilen formül vasıtasıyla hesaplanmıştır.

ΔA_{340}/dk. = A_{340} (zaman 2) - A_{340} zaman 1 (dk)/zaman 2 (dk.) – zaman 1(dk.)

GPx aktivitesi = [(ΔA_{340}/dk/0,00373 μM^{-1}) x 9,5 ml x numune dilüasyonu]

3.2.5.4. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH)

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi, Cayman kimyasal (Ürün no: 700300) kiti vasıtasıyla tayin edilmiştir. R1 (G6PDH tahlil tamponu), R2 (G6PDH substratı), R3 (G6PDH kofaktör), R4 (G6PDH enzim karışımı), R5 (G6PDH fluorometrik detektör), R6 (G6PDH pozitif kontrol) ve R7 (NADPH standart) reaktifleri üretici firma talimatlarına göre hazır hale getirilmiştir.

Pozitif kontrol, referans ve numune küvetlerinin hepsine 150 µl G6PDH tahlil tamponu, 10 µl G6PDH kofaktör ve 10 µl G6PDH enzim karışımı koyulmuştur. Daha sonra referans küvetlerine 10 µl G6PDH tahlil tamponu, pozitif kontrol küvetlerine 10 µl G6PDH pozitif kontrol (seyreltilmiş) ve numune küvetlerine 10 µl karaciğer homojenatı ilave edilmiştir. Her küvete 10 µl G6PDH fluorometrik detektör ve 10 µl G6PDH substratı eklenerek tepkimenin başlaması sağlanmıştır. Üzeri kapatılacak şekilde 20 dakika boyunca 37 °C sıcaklıkta inkübasyona tabi tutulduktan sonra absorbans değerleri okunmuştur (530-540 nm). G6PDH aktivitesi okunan değerlere göre aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

NADPH (µM) = [(düzeltilmiş absorbans) – (y-değeri)]/eğim

y-değeri = 0,0721, eğim = 0,0005

G6PDH = [(NADPH (µM)/20 dakika) x 2 x numune dilüasyonu]

3.2.5.5. Lipit peroksidasyonu (Malondialdehit, MDA)

Bu testte lipit peroksidasyonu sonucu açığa çıkan malondialdehiti tayin etmek amacıyla Cayman tiyobarbütirik asit reaktif maddeler (TBARS) test kiti (Ürün no: 10009055) kullanılmıştır. Malondialdehit standart, renk reaktifi ve SDS solüsyonu üretici firma talimatlarına göre hazırlanmıştır. Numuneleri içeren tüplere 100 µl beyaz kas homojenatı, referans tüplerine ise 100 µl malondialdehid standart eklenmiştir. Bütün tüplere 100 µl SDS solüsyonu ile 4 ml renk reaktifi eklenmiş ve ağızları kapalı şekilde 1 saat süreyle su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra tüpler buz üzerine koyularak 10 dakika süreyle bekletilmiş ve böylece tepkimeni

sonlanması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler 4 °C sıcaklıkta 1600 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenerek 30 dakika süreyle 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işleminin sonunda her tüpten 150 µl alınarak küvetlere aktarılmış ve absorbans değerleri okunmuştur (530-540 nm). MDA konsantrasyonu okunan değerler baz alınarak aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

MDA konsantrasyonu (µM/g doku) = [(düzeltilmiş absorbans) – (y-değeri)]/(eğim x g kullanılan doku)

y-değeri = 0,0261, eğim = 0,0096

3.2.6. Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi

Kullanılan balıkların hepsinin deneyden önce ortalama başlangıç ağırlıkları (IBW) ve deney sonunda ortalama son ağırlıkları (FBW) alınmıştır. Her iki tartımdan önceki 24 saatlik süreçte yemleme yapılmamıştır. Ağırlık artışı (WG), spesifik büyüme oranı (SGR) ve yem değerlendirme oranı (FCR) aşağıda belirtilen formüller yardımıyla hesaplanmıştır (Tekinay ve Davies, 2001)

Ağırlık artışı % (WG) = 100 (son ağırlık – ilk ağırlık)/ilk ağırlık

Spesifik büyüme oranı (SGR % / gün) = 100 x [log(son ağırlık) – log(ilk ağırlık)] / deney gün sayısı

Yem değerlendirme oranı (FCR) = alınan yem (g)/ağırlık artışı (g)

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Farklı parametreler için gruplar arasındaki karşılaştırma Duncan'ın çoklu menzil testine müteakip tek yönlü ANOVA ile gerçekleştirilmiştir. Bütün hesaplamalar SPSS istatistik yazılımı sürüm 23 ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hematolojik Analizler

Çalışma süresince her otuz günde bir olmak üzere balıklardan alınan kan örneklerinden hematolojik analizler yapılmıştır. Bu analizlerin sonuçları Tablo 4.1, 4.2 ve 4.3'te özetlenmiştir.

Tablo 4.1. *Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 30. gününde hematolojilerinde meydana gelen değişimler*

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,13±0,06	8,83±0,15	26,93±0,29	238,13±0,38	78,27±0,36	328,83±0,70
% 1 D	1,27±0,05	9,77±0,10*	29,68±0,23	234,73±0,30	77,92±,32	331,67±0,57
% 2 D	1,23±0,04	9,33±0,08	28,70±0,17	231,96±0,32	76,12±0,27	328,11±0,46
% 3 D	1,23±0,05	9,37±0,10	28,78±0,21	234,16±0,25	76,59±0,30	319,22±0,69

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu.

Tablo 4.1 'de görüldüğü üzere sadece hemoglobin seviyesinde kayda değer bir artış söz konusudur. Hemoglobin seviyeleri deneme gruplarından %1 D grubunda, kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($P<0,05$). 30. gün verilerine göre kontrol grubu her ne kadar RBC, HGB ve HCT için sırasıyla 1,13±0,06 $10^6/mm^3$, 8,83±0,15 g/dL ve 26,93±0,29 % değerleri ile deneme gruplarına göre düşük çıksa da, RBC, HCT, MCV, MCH ve MCHC hematolojik parametrelerinin istatistiksel açıdan önemli bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Çalışmanın 60. gününde kan parametrelerinde meydana gelen hematolojik değişimler Tablo 4.2 'de verilmiştir. % 2 D grubu RBC, HGB ve HCT sırasıyla 1,10±0,07 $10^6/mm^3$, 8,04±0,17 g/dL ve 26,82±0,32 % ile diğer gruplara göre en düşük değerlere sahipken; % 3 D grubu HGB, HCT ve MCV hematolojik parametreleri açısından sırasıyla 10,89±0,11 g/dL, 36,75±0,19 % ve 226,15±0,25 μm^3 olacak şekilde diğer

gruplara göre en yüksek değerlere sahip olup bu farklılıklar istatistiksel açından önem teşkil etmemektedir (P>0,05).

Tablo 4.2. *Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 60. gününde hematolojilerinde meydana gelen değişimler*

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,72±0,09	10,72±0,11	35,90±0,36	209,77±0,44	62,80±0,46	303,17±0,91
% 1 D	1,57±0,05	10,13±0,12	35,23±0,24	224,96±0,33	65,20±0,33	288,89±0,60
% 2 D	1,10±0,07	8,04±0,17	26,82±0,32	223,26±0,27	70,09±0,33	312,22±0,72
% 3 D	1,58±0,05	10,89±0,11	36,75±0,19	226,15±0,25	66,32±0,19	294,89±0,35

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu.

Çalışmanın 90. gününde elde edilen hematolojik değişimler Tablo 4.3 'te verilmiştir. %1 D grubunda MCH ve MCHC değerlerinde diğer gruplara göre artış görülmekte olup bu artış istatistiksel açıdan önem teşkil etmemektedir (P>0,05). Bununla birlikte kontrol grubu RBC, HGB ve HCT için sırasıyla 1,57±0,06 10^6/mm^3, 8,95±0,15 g/dL ve 20,82±0,22 % değerleri ile deneme gruplarına göre düşük çıksa da gruplar arasında hematolojik parametreler açısından herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir (P>0,05).

Tablo 4.3. *Çalışmada damarlıca sulu methanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 90. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler*

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,57±0,06	8,95±0,15	20,82±0,22	133,05±0,32	57,15±0,34	430,17±0,97
% 1 D	1,60±0,05	10,19±0,17	21,22±0,16	133,34±0,25	63,98±0,42	480,56±1,14
% 2 D	1,74±0,04	9,80±0,10	22,71±0,15	130,93±0,21	56,32±0,16	431,56±0,49
% 3 D	1,75±0,04	10,00±0,12	23,21±0,16	132,96±0,23	56,99±0,19	430,00±0,55

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu.

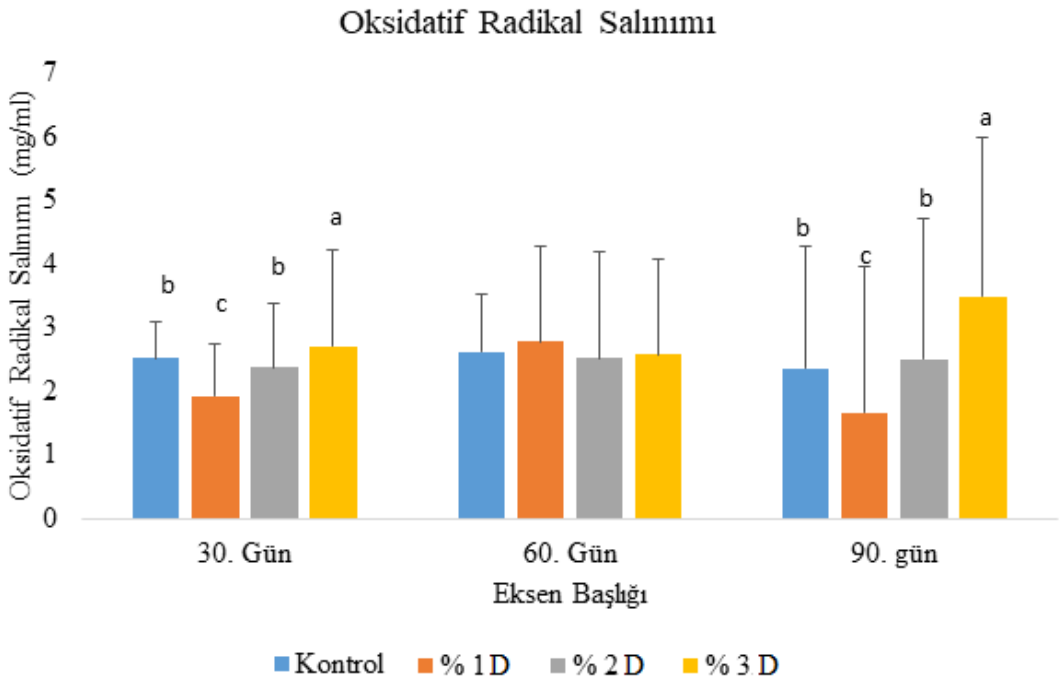
4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler

4.2.1. Oksidatif Radikal Salınımı (NBT)

90 gün süren bu çalışmada 30, 60 ve 90. günlerde balıklardan kan örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Grafik 4.1.'de ifade edilmiştir.

Çalışmanın 30. gününde, kontrol grubu ve % 2 D grubu arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir. %3 D grubu, kontrol grubuna göre NBT aktivitesi açısından kayda değer oranda artış göstermiş olup ($P<0,05$), bunlardan farklı olarak % 1 D grubu oksidatif radikal salınımı diğer gruplara göre düşük olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$).

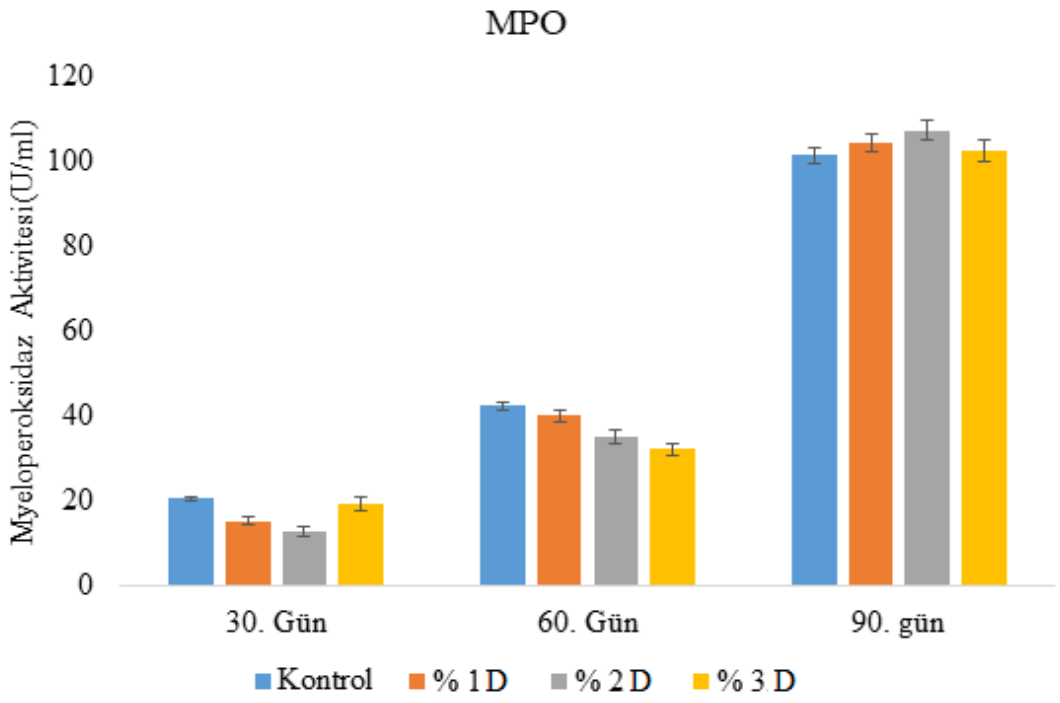
60 gün verileri değerlendirildiğinde tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).



Grafik 4.1. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının oksidatif radikal salınımları aktivitelerinde meydan gelen değişimler (U/ml). Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3)

90. gün verileri değerlendirildiğinde 30. gün NBT verilerine benzer bir tablo görülmekte olup, kontrol grubu (2,35 mg/ml) ve % 2 D grubu (2,50 mg/ml) arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir. %3 D grubu (3,49 mg/ml) NBT aktivitesi tüm gruplara göre kayda değer oranda artış göstermiştir (P<0,05). % 1 D grubu oksidatif radikal salınımı diğer tüm gruplara göre en düşük değere sahiptir.

4.2.2.Myeloperoksidaz Aktivitesi

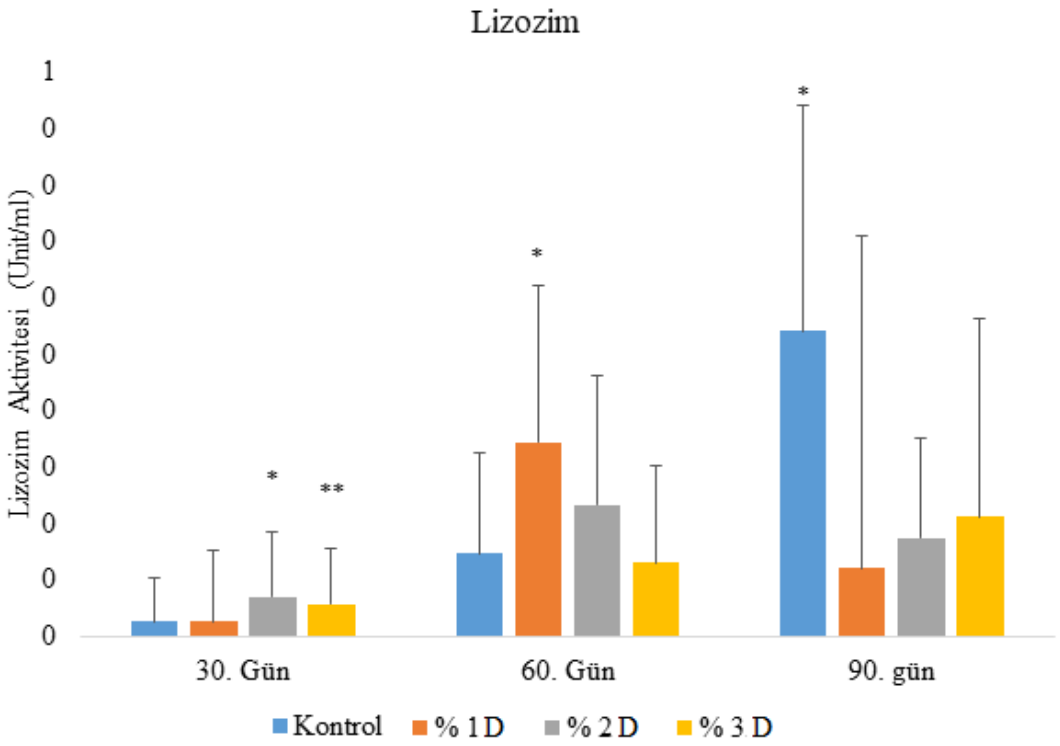


Grafik 4.2. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının myeloperoksidaz aktivitelerinde meydan gelen değişimler (U/ml). Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Myeloperoksidaz aktivitesi açısından, gruplar günler bazında kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiksel bir değişim söz konusu olmayıp, tüm gruplarda 30. 60. ve 90. günlerde söz konusu aktivitenin gün geçtikçe arttığı tespit edilmiştir. 30. günde en düşük olan myeloperoksidaz değerleri kontrol grubundan başlayarak sırasıyla artan dozlara göre 20,31 mg/ml, 15,07 mg/ml, 12,58 mg/ml ve 19,25 mg/ml iken; 90. günde ise kontrol, %1, %2 ve %3 grupları sırasıyla 101,56 mg/ml, 104,47

mg/ml, 107,39 mg/ml ve 102,57 mg/ml olacak şekilde tüm gruplarda en yüksek MPO aktivitesine ulaşmıştır.

4.2.3.Lizozim Aktivitesi



Grafik 4.3. Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının lizozim aktivitelerinde meydan gelen değişimler (U/ml). Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Lizozim aktivitelerinin günlere göre göstermiş olduğu değişim incelendiğinde 30. günde tüm gruplar diğer günlere göre en düşük değerlere sahiptirler. 30. gün verilerine göre % 2 D en yüksek, %3 D ise ondan daha düşük olmakla birlikte diğer gruplara göre istatistiksel açıdan yüksek lizozim aktivitesi değerlerine sahiptir.

60. günde kontrol grubu, %2 D ve % 3 D grupları lizozim aktivitesi değerleri birbirine benzerlik gösterse de % 1 D grubu diğer gruplara göre yüksek lizozim aktivitesine sahiptir ($P<0,05$).

90. günde kontrol grubu lizozim aktivitesi diğer tüm gruplara göre yüksek değere sahipken (P<0,05) deneme gruplarında damarlıca sulu methanolik özütü dozu arttıkça lizozim aktivitesinin arttığı fakat bu değişimin istatistiksel açıdan önem teşkil etmediği tespit edilmiştir (P>0,05).

4.3. Antioksidan Enzim Sisteminde Meydana Gelen Değişimler

4.3.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

90 gün süren çalışmanın 30, 60 ve 90. günlerinde tespit edilen SOD aktivite verileri Tablo 4.4. 'de verilmiştir. Gruplar kendi içlerinde günlere bağlı değişimleri incelendiğinde SOD aktivitesinin kontrol grubunda günlere bağlı olarak önemli bir değişim göstermediğinden bahsetmek mümkündür (P>0,05).

Tablo 4.4. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).*

	30. Gün	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	73,39±0,72	77,21±1,06	66,86±0,81
% 1 D	70,62±0,97	65,77±1,28	68,15±0,94
% 2 D	66,32±0,98	62,67±1,59	71,78±0,95
% 3 D	73,58±0,78	77,14±1,17	69,86±0,70

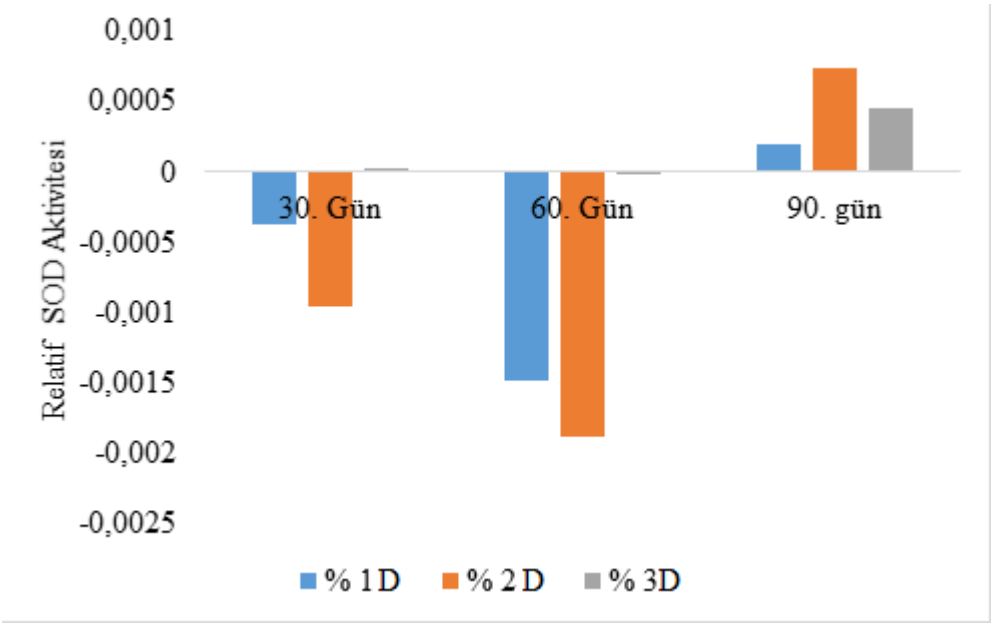
Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

%1 D grubu kendi içerisinde günlere bağlı değişimleri incelendiğinde 30. gün 70,62±0,97 U/ml olan SOD aktivitesi değeri 60. gün 65,77±1,28U/ml ve 90. gün 68,15±0,94 U/ml olacak şekilde değişim göstermiştir.

%2 D grubunun 30. gün 66,32±0,98 U/ml ve 60. gün olan 62,67±1,59 U/ml olan SOD değerleri 90. gün 71,78±0,95 U/ml olacak şekilde artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan önem teşkil etmemektedir (P>0,05). %2 D grubu 30. ve 60. günlerde sırasıyla 66,32±0,98 U/ml ve 62,67±1,59 U/ml olan SOD aktivite değerleri

diğer gruplara nazaran daha düşük iken 90. günde 71,78±0,95 U/ml ile diğer tüm gruplara göre daha yüksek değere sahip olup bu değişim önemli değildir (P>0,05).

Bununla birlikte %3 D grubunun 30. gününde 73,58±0,78 U/ml olan SOD değeri 60. ve 90. günlerde sırasıyla 77,14±1,17 U/ml ve 69,86±0,70 U/ml olacak şekilde değişim göstermiştir. Bu veriler ışığında günlere ve gruplara göre SOD aktivitelerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi sonucunda önemli bir değişimin söz konusu olmadığı görülmüştür (P>0,05).



Grafik 4.4. Günlere göre Relatif SOD aktivitesi

4.1.2. Katalaz Aktivitesi (CAT)

Balıklardan karaciğer örnekleri alınarak uygulaması yapılan tüm grupların CAT aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.5 'te ifade edilmiştir.

30. gün verileri dikkate alındığında kontrol grubundan itibaren %1 D, %2 D ve %3 D gruplarının CAT aktiviteleri 0,33±0,07, 0,31±0,05, 0,28±0,11ve 0,30±0,09 nmol/min/ml olarak tespit edilmiştir. Genel olarak CAT aktivitesindeki bu değişim istatistiksel açıdan önem arz etmemektedir (P>0,05).

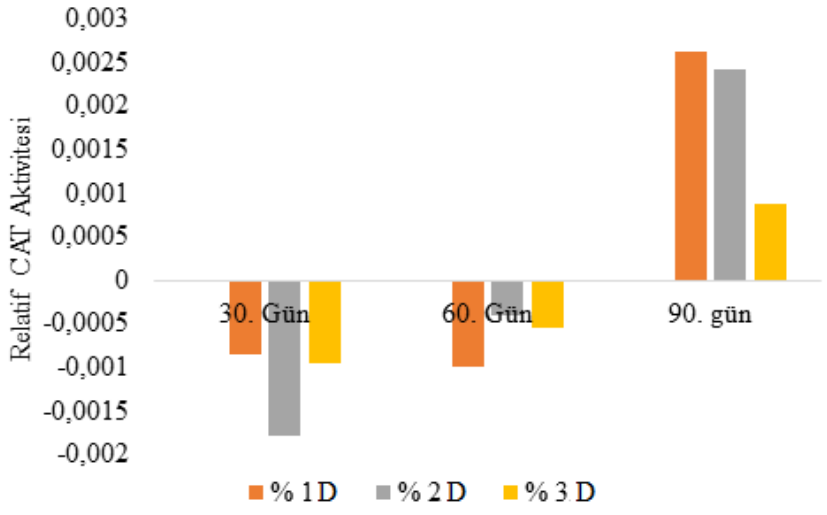
Tablo 4.5. *Damarlıca methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml).*

	30. Gün	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	0,33±0,07	0,31±0,06	0,27±0,08
% 1 D	0,31±0,05	0,28±0,09	0,34±0,07
% 2 D	0,28±0,11	0,30±0,08	0,33±0,08
% 3 D	0,30±0,09	0,29±0,09	0,29±0,07

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

60. gün verilerine bakıldığında yine damarlıca metanolik özütünün doz artışına bağlı olarak 0,31±0,06 nmol/min/ml olan kontrol grubu katalaz aktivitesi arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Çalışmanın 90. gün verileri ele alındığında, kontrol grubu CAT aktivitesi (0,27±0,08 nmol/min/ml) diğer gruplarla kıyaslandığında en düşük değeri vermiş olmakla birlikte istatistiksel olarak % 1 D grubu (0,34±0,07 nmol/min/ml), % 2 D grubu (0,33±0,08 nmol/min/ml) ve %3 D grupları ile karşılaştırıldığında bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).



Grafik 4.5. Günlere göre Relatif CAT aktivitesi

4.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPX)

90 gün süren bu çalışmada 30, 60 ve 90. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılanan GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.3'te verilmiştir.

30. gün kontrol grubu GPX aktivitesinin 15,32±0,06 nmol/min/ml olan değeri %1 D (20,85±0,70 nmol/min/ml), %2 D (19,41±0,39 nmol/min/ml) ve % 3 D (27,53±1,08 nmol/min/ml) olmak üzere diğer gruplara göre düşük çıksa da bu farklılık istatistiksel açıdan anlam taşımamaktadır (P>0,05).

60. gün verileri incelendiğinde kontrol (45,44±0,78 nmol/min/ml) ve %3 D (37,38±0,65 nmol/min/ml) gruplarının %1 D (20,73±0,21 nmol/min/ml) ve %2 D (23,28±0,93 nmol/min/ml) gruplarından farklı olarak, yüksek GPX aktivitelerine sahip olduğu görülmektedir (P<0,05).

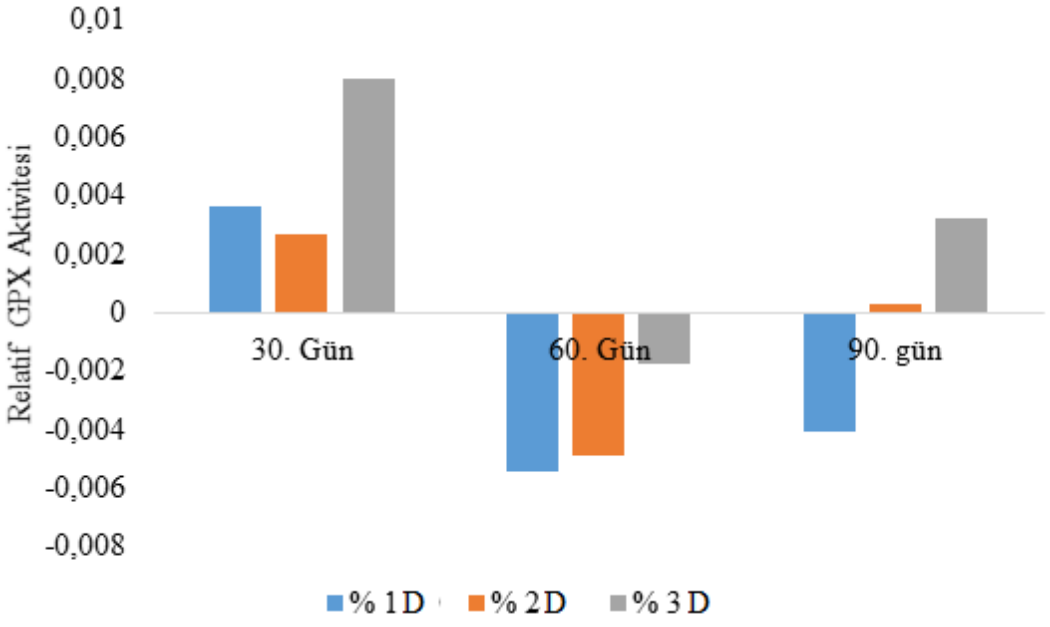
Tablo 4.6. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmo/min/ml).*

	30. Gün	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	15,32±0,06	45,44±0,78[a]	59,44±0,65[b]
% 1 D	20,85±0,70	20,73±0,21[b]	35,35±0,63[c]
% 2 D	19,41±0,39	23,28±0,93[b]	61,33±0,39[b]
% 3 D	27,53±1,08	37,38±0,65[a]	78,54±0,66[a]

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

90. günde % 3 D grubunun 78,54±0,66 nmol/min/ml olan GPX aktivitesinin diğer gruplara göre en yüksek değere sahip olduğu (P<0,05), en düşük değerin ise %1 D grubunda (35,35±0,63 nmol/min/ml) olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). %2 D grubu ve kontrol grubu sırasıyla 35,35±0,63 ve 59,44±0,65 nmol/min/ml olmak üzere sahip oldukları GPX aktivite değerli anlamlı bir farklılık göstermemiştir (P>0,05).

Çalışmada elde edilen relatif GPX verileri Grafik 4.6 ’da verilmiştir.



Grafik 4.6. Günlere göre Relatif GPX aktivitesi

4.1.4. Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi

90 gün süren bu çalışmada 30, 60 ve 90. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılanan G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.4.’de verilmiştir.

Çalışma sonuçlarının 30. gün verileri değerlendirildiğinde kontrol grubu (0,85± 0,10 U/ml) ve % 3 D (0,85±0,12 U/ml) gruplarında G6PDH aktivitelerinin diğer gruplara göre artış gösterdiği ($P<0,05$). %1 D (0,64±0,09 U/ml) ile %2 D (0,68±0,07 U/ml) grupları arasında önemli bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Tablo. 4.7. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).*

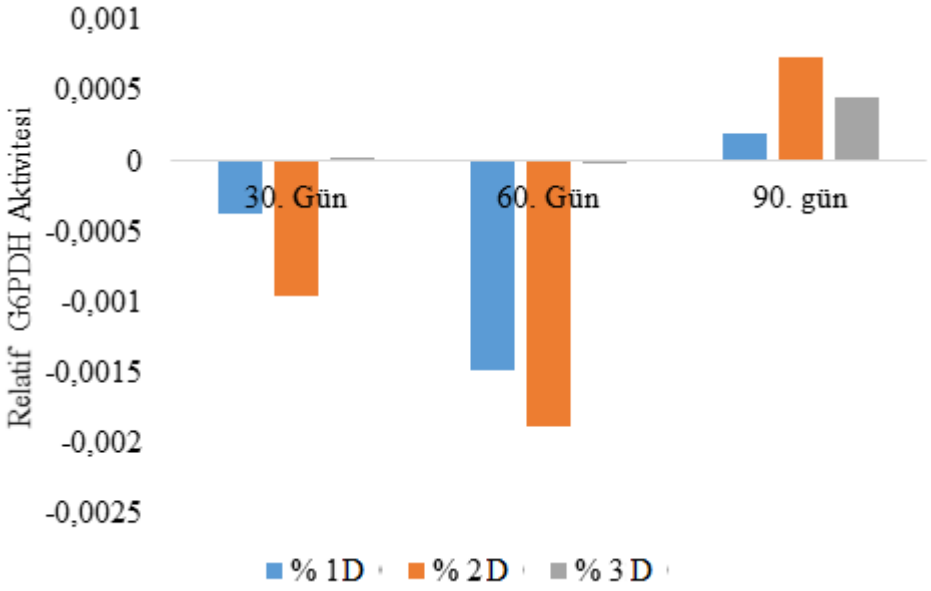
	30. Gün	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	0,85± 0,10 [a]	0,76±0,1 [b]	0,79 ±0,11 [b]
% 1 D	0,64±0,09 [b]	0,65±0,09 [c]	0,72±0,09 [b]
% 2 D	0,68±0,07 [b]	0,85±,13 [a]	0,63±0,09 [c]
% 3 D	0,85±0,12 [a]	0,82±0,14 [a]	0,87 ±0,09 [a]

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder

60. gün verilerine bakıldığında en yüksek G6PDH aktivite değerlerinin %2 D (0,85±,13 U/ml) ve %3 D (0,82±0,14 U/ml) gruplarında meydana geldiği en düşük G6PDH değerinin %1 D (0,65±0,09 U/ml) grubunda olduğu görülmektedir ($P<0,05$).

Çalışmanın 90. gününde ise %3 D grubunun (0,87 ±0,09 U/ml) en yüksek G6PDH değerine sahip olduğu bundan farklı olarak kontrol (0,79 ±0,11 U/ml) ve %1 D (0,72±0,09 U/ml) grupları arasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiş olup, en düşük G6PDH değerinin %2 D (0,63±0,09 U/ml) grubunda ortaya çıktığı görülmüştür.

Çalışmada elde edilen relatif G6PDH verileri Grafik 4.7 ’de verilmiştir.



Grafik 4.7. Günlere göre Relatif G6PDH aktivitesi

4.1.5. Lipit Peroksidasyonu

90 gün süren bu çalışmada 30, 60 ve 90. günlerde balıklardan beyaz kas örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların lipit peroksidasyonlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.5.'te ifade edilmiştir.

30. gün verilerine bakıldığında %2 D grubu (3,25±0,16 U/ml) lipit peroksidasyonu değerleri, kontrol grubu (2,63±0,16 U/ml) ve % 3 D grubuna (2,86±0,17 U/ml) göre önemli derecede yüksek iken ($P<0,05$); en düşük değerin %1 D grubunda (2,29±0,14 U/ml) olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

60. gün ise yine en düşük lipid peroksidasyonu değeri %1 D (2,35±0,12) grubunda görülürken, 30. günde ilgili değerde kontrol grubunda artış olduğu ve 3,18±0,14 U/ml ile diğer gruplara göre en yüksek lipit peroksidasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). %2 D (2,45±0,18 U/ml) ve %3 D (2,72±0,14 U/ml) gruplarının aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık yoktur.

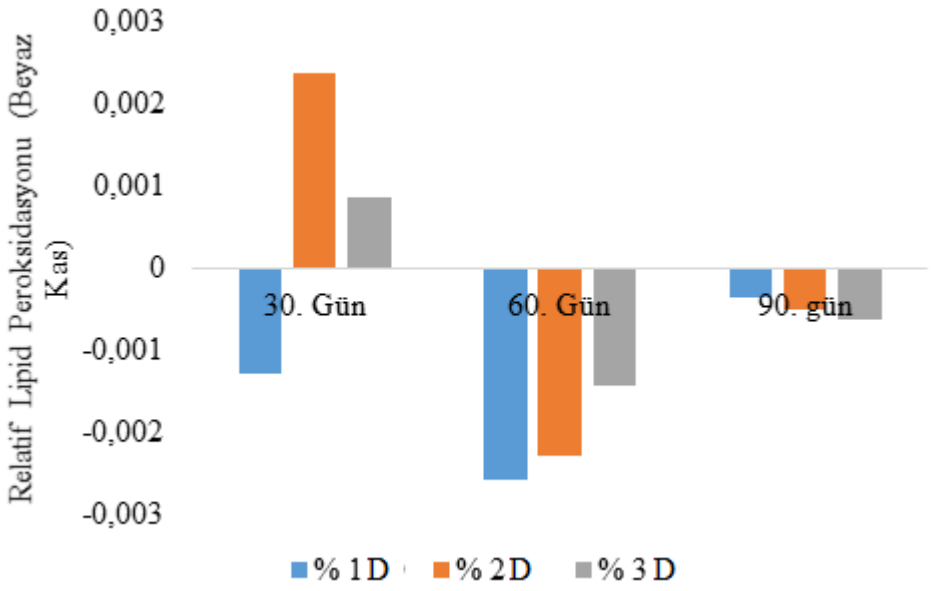
90. gün ise kontrol (2,54±0,17 U/ml), %1 D (2,45±0,14 U/ml), %2 D (2,41±0,04 U/ml) ve %3 D (2,38±0,14 U/ml) olmak üzere tüm grupların lipit peroksidasyonu

değerleri aralarında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı (P>0,05) tespit edilmiştir.

Tablo 4.8. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının beyaz kas dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml).*

Lipid peroksidasyon (U/ml)	**30. Gün**	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	2,63±0,16 [b]	3,18±0,14 [a]	2,54±0,17
% 1 D	2,29±0,14 [c]	2,35±0,12 [b]	2,45±0,14
% 2 D	3,25±0,16 [a]	2,45±0,18 [c]	2,41±0,04
% 3 D	2,86±0,17 [b]	2,72±0,14 [c]	2,38±0,14

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.



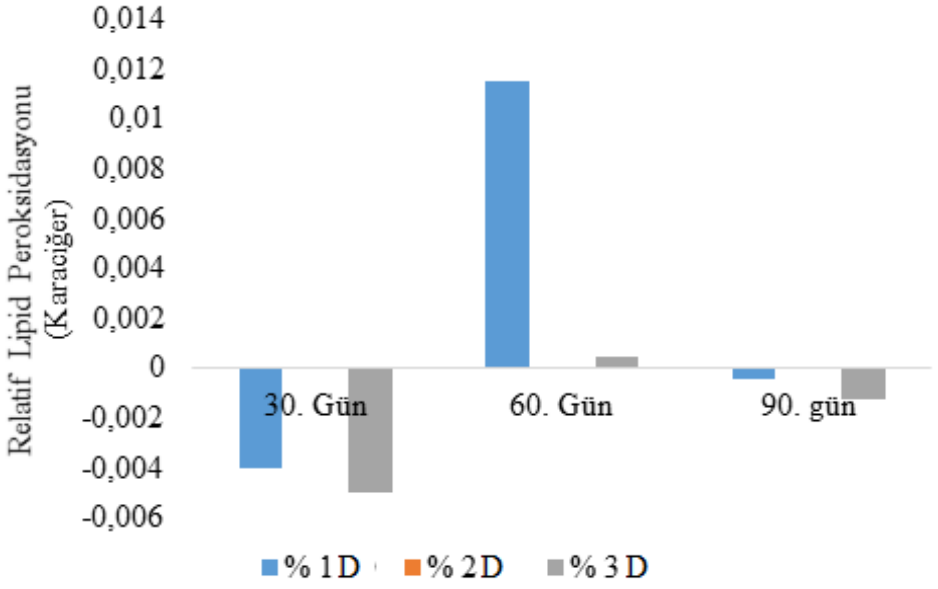
Grafik 4.8. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu (Beyaz kas).

30, 60 ve 90. günlerde balıkların karaciğer örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm gruplarda lipit peroksidasyonlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.6.'te ifade edilmiştir.

90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında lipid peroksidasyonu değişimleri Tablo 4.9'da belirtildiği gibidir.

Tablo 4.9. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile 90 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml).*

Lipid peroksidasyon(U/ml) karaciğer	**30. Gün**	**60. Gün**	**90. gün**
KONTROL	3,26±0,45	2,97±0,34	3,01±0,39
% 1 D	2,65±0,16	4,89±0,66	2,39±0,17
% 2 D	4,43±0,65	2,27±0,08	2,49±0,18
% 3 D	2,23±0,15	2,38±0,09	2,19±0,10



Grafik 4.9. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu (Karaciğer).

4.4. Büyüme Performansı

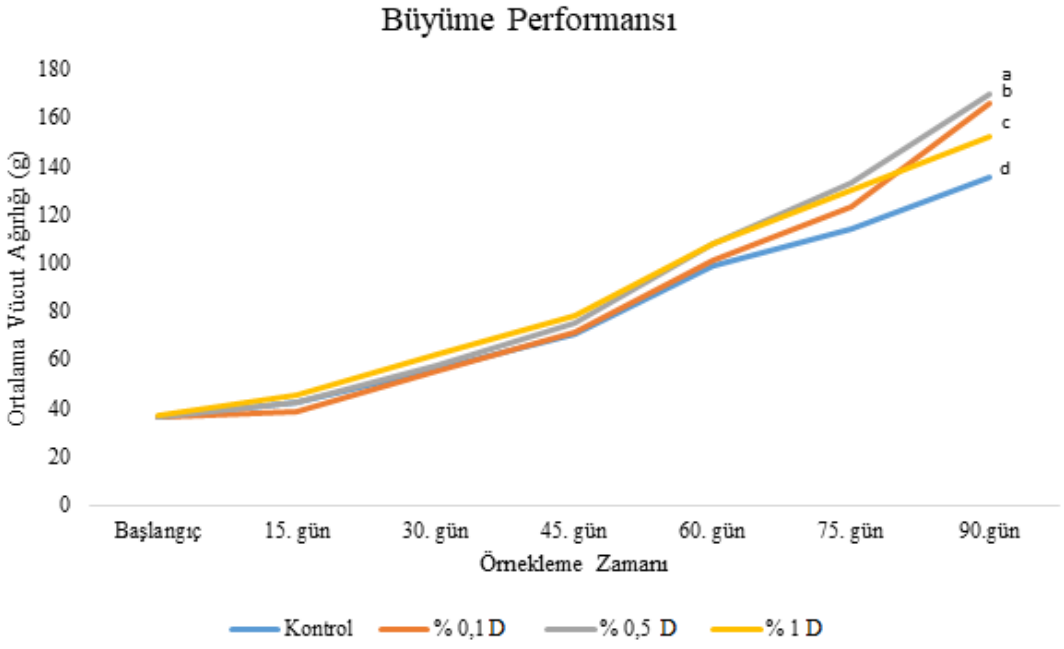
Doksan gün süren bu çalışmanın sonunda balıkların büyüme performanslarından elde edilen veriler Tablo 4.10 'da verilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen bu verilere

göre deneme gruplarındaki balıklar ile kontrol grubu arasında ağırlık kazanımlarında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu final ağırlığı 135,45±1,2 g iken, %1 D grubu 166,07±0,9 g, %2 D grubu 169,60±1,23 g, %3 D grubu 152,36±0,1 g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç tablosuna göre ağırlık artışı yönünden en iyi sonuç %2 D grubunda iken en az ağırlık artışı kontrol grubunda görülmüştür ($P<0,05$). Spesifik büyüme oranlarına bakıldığında en yüksek değer %2 D grubunda görülürken (1,72±0,04), en düşük SBO değeri kontrol grubunda görülmüştür (1,46±0,04). Tüm grupların yem dönüşüm oranları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık görülmemektedir ($P>0,05$). Bu verilerin ışığında damarlıca metanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarında ağırlık artışına ve spesifik büyüme oranına önemli katkı sağladığı söylenebilir ($P<0,05$).

Tablo 4.10. *Damarlıca sulu methanolik özütü ile altmış gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler*

	Başlangıç Ağırlığı	**Bitiş Ağırlığı**	**Ağırlık Kazanımı**	**SBO**	**YDO**
Kontrol	36,25±0,09	135,45±1,2^{d}	273,70±0,77 ^{d}	1,46±0,04 ^{d}	1,2±0,01
%1 D	36,48±0,21	166,07±0,97 ^{b}	355,28±0,44 ^{b}	1,68±0,02 ^{b}	1,09±0,01
%2 D	36,12±0,15	169,60±1,23^{a}	369,56±0,74 ^{a}	1,72±0,04 ^{a}	1,11±0,01
%3 D	37,39±1,54	152,36±0,1^{c}	308,19±1,35 ^{c}	1,56±0,07 ^{c}	1,08±0,1

Tüm verilerin ortalamaları ve standart hataları verilmiştir. D: Damarlıca; SBO: Spesifik Büyüme Oranı; YDO: Yem değerlendirme oranı.



Grafik 4.10. Günlere göre ortalama vücut ağırlığı artışı

5. TARTIŞMA

İmmonostimülantlar, spesifik veya spesifik olmayan yolla bağışıklık sistemini harekete geçiren doğal veya kimyasal maddelerdir. Balık çiftliklerinde balık sağlığının korunması ve hastalıklara karşı direnci arttırılması için gıda takviyesi şeklinde çeşitli immonostimülanlar kullanılmaktadır.

Hematolojik analizler balık sağlığının belirlenmesinde önemli olup, eritrosit ve hematokrit miktarlarındaki azalmalar aneminin (kansızlık) göstergesi olarak kullanılırken; eritrosit sedimantasyonu miktarı hastalıkların varlığı hakkında bilgi vermektedir; toplam lökosit miktarı ve tipleri hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır (Blaxhall ve Daisley, 1973). Bunlarla birlikte hematolojik bulgular balıkların stress faktörü hakkında bilgi vermek için de kullanılmaktadır (Wedemeyer, 1996). Örneğin lökositlerin miktarca fazla olması balıklarda sağlık açısından olumlu bir göstergedir (Morgan ve Iwama, 1997).

Bu çalışmada sadece hemoglobin seviyesinde kayda değer bir artış söz konusudur. 30. gün verilerine göre hemoglobin seviyeleri deneme gruplarından %1 D grubunda, kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($P<0,05$). 30. gün verilerine göre kontrol grubu her ne kadar RBC, HGB ve HCT için sırasıyla 1,13±0,06 $10^6/mm^3$, 8,83±0,15 g/dL ve 26,93±0,29 % değerleri ile deneme gruplarına göre düşük çıksa da, RBC, HCT, MCV, MCH ve MCHC hematolojik parametrelerinin istatistiksel açıdan önemli bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$). Gupta ve Mishra (2014), karabalık (*Clarias gariepinus*) 'ta denedikleri 10 ve 20 ppm yer paskalyası (*Eclipta alba)* yaprak, sap ve kökü ekstraktlarının çalışmanın 7,14, 21 ve 28. günlerinde elde ettikleri verilerde, sulu özütlerin RBC hariç diğer parametrelerde değişiklik yarattığını belirtmişler, kök ve sap özütleri için Hb seviyelerini yaprak özütüne göre yüksek tespit etmişlerdir ($P<0,05$).

Şahan vd. (2015), nil tilapia balıklarında (*Oreochromis niloticus*) farklı dozlarda (0, 5, 7,5 ve 10 g/kg) denedikleri *Spirulina platensis* içeren yemlerin 75 günlük çalışma sonunda balıklarda yarattığı hematolojik etkileri RBC, WBC, Hct, Hb, MCV, MCH, MCHC, lökosit hücre tiplerini inceleyerek araştırdıkları ve fagositik aktiviteyi inceledikleri çalışmalarında 5 g/kg *Spirulina platensis* içeren gruplarda RBC ve

WBC oranlarında artış gözlemlemişlerdir. 7,5 g/kg *Spirulina platensis* içeren yemlerle beslenen gruplarda nötrofil ve monositlerin fagositik aktivitelerinde artış olduğuna dair verilere çalışma bulguları içerisinde yer vermişlerdir.

Nobahar vd. (2015), sarımsak (*Allium sativum*) ve ısırgan otunun (*Urtica dioica*) mersin balıklarında (*Huso huso*) hematolojik parametrelere etkisini 60 günlük deneme sonunda ısırgan otu ile beslenen deneme gruplarında MCV değerlerinde artış olduğunu belirterek göstermişlerdir (P<0,05). Aynı çalışmada 20. günde sarımsak ve ısırgan otu gruplarında lenfosit değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış göstermişken (P<0,05); 20 ve 40. günlerde ısırgan otu ile beslenen gruplarda Hb oranlarının kontrol ve sarımsak gruplarına göre artış göstermektedir (P<0,05). 60. günde ısırgan otu Htc değeri kontrol grubuna ve sarımsak grubuna göre artış göstermiş olup (P<0,05), deneme grupları arasında MCH değerlerinde farklılık görülmemiştir, sarımsak grubunun MCHC verileri diğer gruplara göre önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05). Aly, Attı ve Mohamed (2008)'e göre sarımsak bitkisi *Oreochromis niloticus* 'ta monosit miktarlarını arttırmakta iken bu durumdan farklı olarak Nya ve Austin (2009)'e göre sarımsak monosit miktarını değiştirmemektedir.

Çalışmada oksidatif radikal salınımı 30., 60. ve 90. günlerde tespit edilmiş olup, en yüksek NBT değeri 30. ve 90. günlerde sırasıyla 2,7 mg/ml ve 3,5 mg/ml olmak üzere % 3 D grubunda gözlemlenmiştir. Söz konusu günlerde kontrol grubu NBT verileri sırasıyla 2,51 mg/ml ve 2,35 mg/ml 'dir (P<0,05). Dügenci vd. (2003), ökseotu (*Viscum album*), ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) sulu ekstraktlarını % 0,1 ve % 0,2 oranlarında denedikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hücre dışı oksidatif radikal üretimi açısından istatistiksel olarak en anlamlı sonucu %1 zencefil grubunda olduğunu belirtmişlerdir (P<0,001). Diler vd. (2015) pelin otu (*Artemisia vulgaris*)' nun gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık ve *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç sağlayan uygun dozlarının tespiti amacıyla yaptıkları araştırmada NBT değerlerinde artış sağlaması nedeniyle bağışıklık sistemini stimüle ettiği ve gökkuşağı alabalıklarında etkili bir immunostimulant olarak kullanılabileceği tespit etmişlerdir. Benzer olarak Bilen, Yılmaz ve Bilen (2013) ise tetra (*Cotinus coggygria*) bitkisinin 3 farklı

dozundaki metanol ekstraktı ile 4 hafta beslediklerı koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) lökosit, NBT + hücre sayısı ve lizozim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Bilen, Bulut ve Bilen (2011), tetra (*Cotinus coggyria*)'nın % 0,5 ve % 1 dozlarını yeme katarak, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 'nda immunostimulat etkisini araştırdıkları çalışmalarında 3. hafta sonunda hücre içi ve hücre dışı solunum aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli değişiklikler elde ettiklerini belirtmişlerdir (P<0,05). Bununla birlikte % 1 'lik deneme grubunun % 0,5 'lik deneme grubuna göre hücre içi ve hücre dışı solunum patlaması aktivitelerinde daha iyi sonuç alındığını tespit etmişlerdir (P<0,05).

Myeloperoksidaz aktivitesi açısından, gruplar günler bazında kendi içinde değerlendirildiğinde istatistiksel bir değişim söz konusu olmayıp, tüm gruplarda 30. 60. ve 90. günlerde söz konusu aktivitenin gün geçtikçe arttığı tespit edilmiştir. Bilen, Altunoglu, Ulu ve Biswas (2016b), gökkuşağı alabalıklarında 0,1 ve 0,5 g/kg dozunda denedikleri gebre otu (*Capparis spinosa*)'nun 30 gün sonunda myeloperoksidaz aktivitelerinin 0,1 g/kg olan grupta en yüksek değere sahip olduğunuda vurgulamışlardır. Christybapita vd. (2007), yer paskalyası (*Eclipta alba*) yaprağı ekstraktını tilapia balığında (*Oreochromis mossambicus*) %0.01, %0.1 ve % 1 seviyelerinde denemişler, 3 haftalık deneme sonunda myeloperoksidaz aktivitesi arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık görmemişlerdir (P>0,05). Bilen vd. (2016a), kavak mantarı ve ısırgan otu katkılı yemler ile beslenen gökkuşağı alabalığında tüm deneme gruplarının MPO etkinliği açısından bir artış gösterdiğini belirtmiştir.

Lizozim aktivitesi, nötrofil, komplement aktivitesi ve fagozitik aktivite gibi bağışıklık sistemini ifade eden önemli bir parametredir (Murray vd., 2003). Lizozim aktivitelerinin günlere göre göstermiş olduğu değişim incelendiğinde 60. günde kontrol grubu, %2 D ve % 3 D grupları lizozim aktivitesi değerleri birbirine benzerlik gösterse de % 1 D grubu diğer gruplara göre yüksek lizozim aktivitesine sahiptir (P<0,05). 90. günde ise kontrol grubu lizozim aktivitesi diğer tüm gruplara göre yüksek değere sahipken (P<0,05) deneme gruplarında damarlıca sulu methanolik özütü dozu arttıkça lizozim aktivitesinin arttığı fakat bu değişimin istatistiksel açıdan önem teşkil etmediği tespit edilmiştir (P>0,05). Bilen ve Bulut

(2010), % 0.5 ve %1 defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozu içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında 3 haftalık araştırma sonucunda defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozunun; serum lizozimi üzerine hiçbir etkisi olmadığını ifade etmişlerdir (P>0,05). Bilen vd. (2016b), gökkuşağı alabalıklarında 0,1 ve 0,5 g/kg dozunda denedikleri gebre otu (*Capparis spinosa*)'nun 30 gün sonunda lizozim aktivitesinin 0,1 g/kg olan grupta en yüksek değere sahip olduğunuda vurgulamışlardır. Tafi vd. (2018), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda *Salvia officinalis* ve *Aloe vera* ekstraktı ile beslemenin immunolojik etkilerini araştırmışlar elde ettikleri sonuçlara göre *A. vera* kullanımının kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda lizozim aktivitesinde artmaya neden olduğu yönünde veriler elde etmişlerdir (P<0.05). Diler vd. (2015) pelin otu (*Artemisia vulgaris*)' nun gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık ve *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç sağlayan uygun dozlarının tespiti amacıyla yaptıkları araştırmada pelin otunun lizozim aktivitesinde artış sağlaması nedeniyle bağışıklık sistemini stimüle ettiği ve gökkuşağı alabalıklarında etkili bir immunostimulant olarak kullanılabileceği tespit etmişlerdir. Benzer olarak Bilen vd. (2013) ise tetra (*Cotinus coggygria*) bitkisinin 3 farklı dozundaki metanol ekstraktı ile 4 hafta besledikleri koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) lizozim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Bu sonuçlardan farklı olarak Bilen vd. (2010), % 0.5 ve %1 defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozu içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında yaptıkları 3 haftalık araştırma sonucunda defne (*Laurus nobilis*) yaprak tozunun; serum lizozimi üzerine hiçbir etkisi olmadığını ifade etmişlerdir (P>0,05).

Glutatyon peroksidaz aktivitesi için 60. gün kontrol (45,44±0,78 nmol/min/ml) ve %3 D (37,38±0,65 nmol/min/ml) gruplarının %1 D (20,73±0,21 nmol/min/ml) ve %2 D (23,28±0,93 nmol/min/ml) gruplarından farklı olarak, yüksek GPX aktivitelerine sahip olduğu (P<0,05). 90. günde ise % 3 D grubunun 78,54±0,66 nmol/min/ml olan GPX aktivitesinin diğer gruplara göre en yüksek değere sahip olduğu (P<0,05) tespit edilmiştir. Sönmez vd. (2015), 500, 1000 ve 1500 mg/kg olacak şekilde adaçayı, nane ve kekik bitkilerinin yağlarını içeren yemlerle 60 gün boyunca besledikleri gökkuşağı alabalığı yavrularının antioksidan sistemde meydan gelen değişimleri incelenmişlerdir.

Hücrenin yaşamsal fonksiyonları açısından reaktif oksijen türevlerinin yıkımı önemlidir, özellikle patojenlerin yok edilmesinde bu dengenin hassas olarak kurulması gerekmektedir. SOD aktivitesindeki artışlar hücre içerisinde süperoksit radikallerindeki artışa bağlı olarak artış gösterebilir (Cheng, Tu, Chen, Nan ve Chen, 2007). Bu çalışmada tüm deneme gruplarına ait SOD, G6PDH ve GPX aktiviteleri kontrol grubuna göre artış göstermiş olup; CAT, GST ve GR enzim aktivitelerinde ise kontrol grubuna göre azalan değer tespit etmişlerdir. Metwally (2009), farklı formlarda sarımsak (*Allium sativum*) takviyesi ile beslenen tilapyaların (*Oreochromis niloticus*) karaciğer ve serumundaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini belirtmiştir ($P<0,01$). Gabriel vd. (2015), 8 hafta boyunca tilapya balıklarında %0,5, %1, %2 ve %4 oranında *Aloe vera* tozunu yem katkı maddesi olarak denemişlerdir. Kontrol grubuna göre %4 oranında *Aloe vera* denenen grupta karaciğer CAT; % 0,5 ve 1 takviye ile beslenen grupta ise GPx aktivitesinde anlamlı derecede artış gözlemlemişlerdir ($P<0,05$). Gabriel vd. (2015), Karaciğer SOD aktivitesini, tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, deneme grupları arasında herhangi bir farklılık olmadığını da belirtilmiştir. Bu verilerden yola çıkılarak *Aloe vera* ekstraktının tilapya balıklarının beslenmesinde antioksidan etkisi olduğu söylenebilir. Manal (2016), 10 ve 20 g/kg konsantrasyonlarda zerdeçal (*Curcuma longa*) ve sarımsak (*Allium sativum*) takviyesi ile besledikleri tilapyalarda (*Oreochromis niloticus*) çeşitli antioksidan enzimleri incelediklerinde, sarımsak ve zerdeçal verilen gruplarda kayda değer oranda GSH, CAT, GPx ve GRx artışı olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0,05$).

Çalışma sonunda elde edilen bu verilere göre deneme gruplarındaki balıklar ile kontrol grubu arasında ağırlık kazanımlarında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu final ağırlığı 135,45±1,2 g iken, %1 D grubu 166,07±0,9 g, %2 D grubu 169,60±1,23 g, %3 D grubu 152,36±0,1 g olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç tablosuna göre ağırlık artışı yönünden en iyi sonuç %2 D grubunda iken en az ağırlık artışı kontrol grubunda görülmüştür ($P<0,05$). Bilen ve Bilen (2012), tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerini kültürü yapılan alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme oranlarında (SBO), yem değerlendirme oranında (YDO) ve yaşama oranları üzerine etkilerini

değerlendirdikleri çalışmalarında SBO ve YDO arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edemediklerini (P>0,05). Sonuç olarak, tetra ve defnenin alabalıkların büyüme performansı ve yemden yararlanma üzerine etkisinin önemsiz olduğu belirtmişlerdir. Diler vd. (2017), önemli bir tıbbi bitki türü olan pelin otunun gökkuşağı alabalığında (*Oncorhyncus mykiss*) büyüme performansına, antioksidan aktiviteye ve histopatolojik etkilere tespitini amaçladıkları çalışmalarında pelin otunu, balıkların yemlerine toz (%0, %0,1, %0,5, %1,0, %2,0) veya ethanol ekstraktı (250, 1000 mg/kg) olarak ilave etmişlerdir. En iyi yem dönüşüm oranını %0,1 ve %1,0 gruplarında yakalamışlardır. Awad vd. (2012), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhyncus mykiss*) 'nda %1 ve %2 oranında lupin (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera sp*.) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) denedikleri çalışmalarında, deneme gruplarının kontrol grubuna göre, ağırlık ve boy artışı sağladığı, spesifik büyüme oranında da (SBO) olumlu etki yarattığını belirtmişlerdir (P<0,05). Azab vd. (2016), % 5 oranında, şalgam, yaprak üzümü ve havuç yaprağı ve kökü ile 120 gün besledikleri Koi balıklarının (*Cyprinus carpio*) büyüme performansında olumlu yönde gelişme kaydedildiğini belirtmişlerdir. Bu sonuçlardan farklı olarak Dügenci vd. (2003), ökseotu (*Viscum album*), ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) sulu ekstraktlarını % 0,1 ve % 0,2 oranlarında denedikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) spesifik büyüme oranı açısından gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmadığı da belirtilmiştir (P>0,05). Sönmez vd. (2015), 500, 1000 ve 1500 mg/kg olacak şekilde adaçayı, nane ve kekik bitkilerinin yağlarını içeren yemlerle 60 gün boyunca besledikleri gökkuşağı alabalığı yavrularının büyüme performanslarını adaçayı ve kekik yağı içeren yemlerle besledikleri gruplarda yüksek olarak değerlendirirken, nane yağı ile beslenen gruplarda ise azalma tespit etmişlerdir.

6. SONUÇ

Mevcut çalışmanın sonucu olarak damarlıca (*Plantago lanceolate*) sulu metanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik olarak haemoglobin seviyesinde kayda değer bir artış elde edilse de, genel itibariyle deneme grupları ile kontrol grubu arasında hematolojik açıdan önemli bir fark elde edilememiştir ($P>0,05$). 90 günlük deneme sonunda her ne kadar lizozim aktivitesinde kontrol grubuna göre düşüş yaşanmış olsa da, artan oksidatif radikal üretimi ve myeloperoksidaz aktivitesi ile damarlıcanın gökkuşağı alabalıklarında immunostimulant özelliği gösterdiğinin bir kanıtı olmuştur. Deneme gruplarının SOD ve CAT değerlerinde kontrol grubuna göre bir farklılık gözlemlenmezken ($P>0,05$), GPX ve G6PDH değerlerinde %3 D grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış meydana geldiği görülmektedir ($P<0,05$). Bu durum damarlıcanın gökkuşağı alabalıklarında oksidatif stresi baskılayacak antioksidan özelliği teşvik ettiği böylece balıkların savunma mekanizmalarına destek sağladığı söylenebilir.

KAYNAKLAR

Adler, L. S., Schmitt, J., ve Bowers, M. D. (1995). Genetic-variation in defensive chemistry in *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) and its effect on the specialist herbivore Junonia coenia (Nymphalidae). Oecologia, 101:75–85.

Aebi, H. (1984). Catalase *in Vitro*. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

Akaylı, T. (2001). Kültür Çipura Balıklarında (*Sparus auratus*, L 1758) Vibriosis'in ELISA ve Bakteriyolojik Yöntemlerle Teşhisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı (Hastalıklar Bilim Dalı). Doktora Tezi.

Alınterim, B. (2011). Balık İmmünolojisi, Bitkisel ve Kimyasal İmmünostimulantlar. Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der., 1(4): 69-76.

Aly, S. M., Attı, N. M. A., ve Mohamed, F. M. (2008). Effect of Garlic on the Survival, Growth, Resistance and Quality of *Oreochromis niloticus*. 8th international symposium on Tilapia in aquaculture. Cairo, Egypt, 277–295.

Aoki, C. (1992). Terminal fragment of ß-adrenergic receptors: astrocytic localization in the adult visual cortex and their relation to catecholamine axon terminals as revealed by electron microscopic immunocytochemistry. J. Neurosci., 12: 781-792.

Aratani, Y. (2018). Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. Archives of Biochemistry and Biophysics, 640: 47–52. doi:10.1016/j.abb.2018.01.004

Atamanalp, M., Uçar, A., ve Alak, G. (2013). Balıkların Bağışıklık Sistemi Üzerine Çevresel Toksikantların Etkileri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6(1): 124-127.

Awad, E., Austin, B. ve Lyndon, A. (2012). Effect of dietary supplements on digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of American Science, 8(12): 858-864.

Aydın, F. (2009). Alabalık Biyolojisi ve Yetiştirme Teknikleri. https://www.tarimorman.gov.tr/BSGM/Belgeler/Icerikler/Su%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi/1-%20Alabal%C4%B1k%20Biyolojisi%20ve%20Yeti%C5%9Ftirme%20Teknikleri.pdf.

Azab, A. M., Khalaf-Allah, H. M., ve Maher, H. (2016). Effect of some food additives on growth performance of koi fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). International Journal of Environmental Science And Engineering, 7: 73-83.

Bartosz, G. (2005). Superoxide Dismutases and Catalase. The Handbook of Environmental Chemistry, 2: 109-149.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? Metabolism, 49(2): 3–8. doi:10.1016/s0026-0495(00)80077-3

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

Bilen, S., Bulut, M., ve Bilen, A. M. (2011). Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & shellfish immunology, 30(2): 451-455.

Bilen, S., Soydas, E., ve Bilen, A. M. (2014). Effects of methanolic extracts of nettle (*Urtica dioica*) on non-specific immune response of gold fish (*Carassius auratus*). Alinteri J. Agric. Sci, 27: 24-28.

Bilen, S., Ünal, S., ve Güvensoy, H. (2016a). Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to aeromonas hydrophila in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 454: 90-94.

Bilen, S., ve Bilen, A. M. (2012). Tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi teşvik edici etkileri. Alınteri Zirai Bilimler Dergisi, 22(1): 26-33.

Bilen, S., ve Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum). Journal Of Animal And Vetreniary Advances, 9(8): 1275-1279.

Bilen, S., Yılmaz, S., ve Bilen, A. M. (2013). Influence of tetra (*Cotinus coggygria*) extract against *Vibrio anguillarum* infection in koi carp, *Cyprinus carpio* with reference to haematological and immunological changes. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13(3): 517- 522.

Blaxhall, P. C., ve Daisley, K. W. (1973). Routine Hematological Methods for use with Fish Blood. J. Fish. Biol., 5: 771–781.

Bowers, M. D., Stamp, N. E. (1992). Chemical variation within and between individuals of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). J Chem Ecol, 18:985–995.

Britton, C. J. (1963). Disorders of the blood. (Text book) 9th ed. J. & A. Churchill LTD., London, W.I.

Cavers, P. B., Bassett, I. J., ve Crompton, C. W. (1980). The biology of Canadian weeds *Plantago lanceolata* L. Can J Plant Sci, 60:1269–1282.

Cheng, A. C., Tu, C. W., Chen, Y. Y., Nan, F. H., ve Chen, J. C. (2007). The Immunostimulatory Effects of Sodium Alginate and Iota-Carrageenan on Orange-Spotted Grouper *Epinephelus coicoides* and Its Resistance Against *Vibrio alginolyticus*. Fish & Shellfish Immunology, 22: 197-205.

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., ve 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.

de Souza, P. C., ve Bonilla-Rodriguez, G. O. (2007). Fish hemoglobins. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 40(6): 769-778.

Diler, Ö., Atabay, A., ve Görmez, Ö. (2017). Bitkisel Katkı Maddesi *Artemisia vulgaris*' in Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhyncus mykiss,* Walbaum) Büyüme Performansı ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 13(2): 119-131.

Diler, Ö., Görmez, Ö., Terzioğlu, S., ve Atabay, A. (2015). Pelin Otu (*Artemisia vulgaris L*)'nun Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Hastalıklara Karşı Direnç ve Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research, 4(1): 1-11.

Drabkin, D. L. ve Austin, J. H. (1932). Spectrophotometric constants for common hemoglobin derivatives in human, dog, and rabbit blood. The Journal of Biological Chemistry, 98: 719-733.

Duff, R. B., Bacon, J. S. D., ve Mundie, C. M. (1965). Catalpol and methylcatalpol: naturally ocurring glycosides in Plantago and Buddleia species. Biochem J, 96: 1–5.

Dügenci, S. K., Arda, N., ve Candan, A. (2003). Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of ethnopharmacology, 88(1): 99-106.

Espinoza, S., Guo, H., Fedarko, N., DeZern, A., Fried, L. P., Xue, Q., Leng, S., Beamer, B., ve Walston, J. D. (2008). Glutathione Peroxidase Enzyme Activity in Aging. J Gerontol A Biol Sci Med Sci., 63(5): 505–509.

Fago, A., Hundahl, C., Malte, H., ve Weber, R. E. (2004). Functional properties of neuroglobin and cytoglobin. Insights into the ancestral physiological roles of globins. IUBMB Life, 56: 689-696.

Fange, R. (1992). Fish red blood cells. In "Fish Physiology" (W.S. Hoar, D.J. Randall, A.P. Farrell, eds.), XIIA, pp. 2-46. Academic Press. New York

FAO. (2016a) The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: Contributing to Food Security and Nutrition for all. Rome: FAO. 200 pp.

FAO. (2016b). Global Aquaculture Production (online query). http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en

Gabriel, N. N., Qiang, J., Ma, X. Y., He, J., Xu, P., ve Liu, K. (2015). Dietary Aloe vera improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after

Streptococcus iniae challenge. Fish physiology and biochemistry, 41(5): 1321-1332.

Galindo-Villegas, J., ve Hosokawa, H. (2004). Immunostimulants: Towards Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola: 16-19.

Gallaugher, P. E. (1994). The Role of Haematocrit in Oxygen Transport and Swimming in Salmonid Fishes. Doktora Tezi. İngiltere.

Gupta, S. ve Mishra, P. (2014). Effect of Leaf Extract of *Eclipta Alba* on Hematology of *Clarias Gariepinus* (Burchell). World Journal of Pharmaceutical Research 3(3): 4860-4870.

Jensen, S. J. K. (2003). Oxidative stress and free radicals. Journal of Molecular Structure: THEOCHEM, 666-667: 387–392.

Jolles, P., ve Jolles, J. (1984) What's new in lysozyme research? Always a model system, today as yesterday. Molecular and Cellular Biochemistry, 63: 165-189.

Katzenback, B. A., Katakura, F., ve Belosevic, M. (2012). Regulation of teleost macrophage and neutrophil cell development by growth factors and transcription factors. Kitapta Bölüm: New Advances and Contributions to Fish Biology (Ed. Hakan Türker).

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

Landini, G. F., Schwantes, A. R., ve Schwantes, M. L. (2002). *Astyanax scabripinnis* (Pisces: Characidae) hemoglobins: structure and function. Braz J Biol, 62: 595-599.

Lewis, S. M., Bain, B. J., ve Bates, I. (2006). Dacie and Lewis Practical Haematology. 10 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier. 221 pp.

Luzzatto, L., ve Battistuzzi, G. (1985) Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. In: Harris H., Hirschhorn K. (eds) Advances in Human Genetics 14. Springer, Boston, MA.

Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology, 20: 37–151.

Manal, I. (2016). Detoxification and antioxidant effects of garlic and curcumin in *Oreochromis niloticus* injected with aflatoxin B 1 with reference to gene expression of glutathione peroxidase (GPx) by RT-PCR. Fish physiology and biochemistry, 42(2): 617-629.

Manning, M. J., ve Nakanishi, T. (1996). Cellular defenses. In: Iwama GK, Nakanishi T (eds.): Fish Fisiology. XV. The fish immune system. Academic press. London, England. 159–205.

Metwally, M. A. A. (2009). Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). World Journal of fish and marine sciences, 1(1): 56-64.

Morgan, J. D., ve Iwama, G. K. (1997). Measurements of Stressed States in the Field. In: Iwama, G.K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck C.B., Eds. Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge. 247-270.

Murray, A. L., Ponald, J. P., Alcorn, S. W., Fairgrieve, W. T., Shearer, K. D., ve Roley, D. (2003). Ejects Of Various Feed Supplements Containing Fish Protein Hydrolysate Or Fish Processing By Products On The Innate Immune Functions Of Juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture, 220: 643-653.

Nauseef, W. M., ve Borregaard, N. (2014). Neutrophils at work. Nat. Immunol., 15: 602–611.

Nobahar, Z., Gholipour-Kanani, H., Kakoolaki, S. H., ve Jafaryan, H. (2014). Effect of garlic (*Allium sativum*) and nettle (*Urtica dioica*) on growth performance and hematological parameters of beluga (*Huso huso*). Iran J Aquat Anim Health, 1(1): 63-69.

Nya, E. J., ve Austin, B. (2009). Use of Garlic, *Allium sativum*, to Control *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 32: 963–970.

Primack, R. B., ve Antonovics, J. (1982). Experimental ecological genetics in Plantago. VII. Reproductive effort in populations of *P. lanceolata* L. Evolution, 36:742–752.

Quade, M. J., ve Roth, J. A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. Veterinary Immunology and Immunopathology, 58(3): 239-248.

Quiles, J., Huertas, J., Batine, M., Mataix, J., ve Tortosa, C. (2002). Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. Toxicology, 180: 79-95.

Repetto, M., Semprine, J., ve Boveris, A. (2012). Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. Lipid Peroxidation. In: Lipid Peroxidation (Ed. Angel Catala). doi:10.5772/45943

Reudler, J. H., Honders, S. C., Turin, H., ve Biere, A. (2013). Trade-offs between chemical defence and regrowth capacity in *Plantago lanceolata*. Evol Ecol, 27: 883-898.

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

Satchell, G. H. (1991). In "Physiology and Form of Fish Circulation." 233p. Cambridge University Press, Cambridge, England.

Saurabh, S., ve Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research, 39(3): 223–239. doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x

Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., ve Biswas, G. (2015). Growth Performance and Antioxidant Enzyme Activities in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles Fed Diets Supplemented with Sage, Mint and Thyme Oils. Fish Physiology and Biochemistry, 41: 165–175. DOI :10.1007/s10695-014-0014-9.

Subramanian, S., Ross, N. W., ve MacKinnon, S. L. (2008). Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 150(1): 85-92.

Sugiura, S. H. (2018) Phosphorus, Aquaculture, and the Environment. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, 26:4: 515-521.

Suomi, J., Wiedmer, S. K., ve Jussila, M. (2001). Determination of iridoid glycosides by micellar electrokinetic capillary chromatography-mass spectrometry with use of the partial filing technique. Electrophoresis, 22: 2580–2587.

Şahan, A., Özütok, S., ve Kurutaş, E. B. (2016). Determination of Some Hematological Parameters and Antioxidant Capacity in Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus* Linnaeus, 1758) Fed Ginger (Zingiber Officinale Roscoe) to *Aeromonas hydrophila*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 16(1): 197-204.

Tafi, A. A., Meshkini, S., Tukmechi, A., Alishahi, M., ve Noori, F. (2018). Immunological and Antistreptococcal Effects of *Salvia officinalis* and *Aloe vera* Extracts Supplemented Feed in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 24(3): 365-370.

Tekinay, A. A. ve Davies, S. J. (2001). Dietary carbohydrate level influencing feed intake, nutrient utilisation and plasma glucose concentration in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25(5): 657-666.

TÜİK. (2017). Su Ürünleri İstatistikleri Kültür Balıkları Üretim Miktarı.

Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R., ve Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. Veterinarni Medicina, 56(10): 486–503.

URL-1. Rainbow Trout. 07.11.2018 tarihinde http://www.seagrant.wisc.edu/home/Default.aspx?tabid=605&FishID=110 adresinden alınmıştır.

URL-2. Fish erythrocyte sizes. 09.11.2018 tarihinde http://www.genomesize.com/cellsize/fish.htm adresinden alınmıştır.

URL-3. Mean Corpuscular Volume (MCV). 09.11.2018 tarihinde https://emedicine.medscape.com/article/2085770-overview adresinden alınmıştır

URL-4. Hemogram (Tam Kan Sayımı). 11.11.2018 tarihinde http://www.anadoluissagligi.com/img/file_1922.pdf adresinden alınmıştır.

URL-5. Fish Immune System. 11.11.2018 tarihinde https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-642-54596-2_574.pdf adresinden alınmıştır.

URL-6. G6PD gene. 16.11.2018 tarihinde https://ghr.nlm.nih.gov/gene/G6PD adresinden alınmıştır.

URL-7. 18.11.2018 tarihinde https://tr.depositphotos.com/79747326/stock-photo-wild-rainbow-trout.html adresinden alınmıştır.

URL-8. 18.11.2018 tarihinde https://www.naturespot.org.uk/species/ribwort-plantain adresinden alınmıştır.

Weber, R. E., ve Voelter, W. (2004). `Novel' factors that regulate oxygen binding in vertebrate hemoglobins. Micron, 35: 45-46.

Wedemeyer, G. A. (1996). Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. Chapman and Hall, NY. 232 p.

Winterbourn, C. C., Kettle, A. J., ve Hampton, M. B. (2016). Reactive Oxygen Species and Neutrophil Function. Annu. Rev. Biochem., 85: 765–792.

Witeska, M. (2013) Erythrocytes in teleost fishes: a review, Zoology and Ecology, DOI: 10.1080/21658005.2013.846963

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : Randa Taher Abdullghani ELBESHTI

Doğum Yeri ve Yılı : 1969 - Tripoli

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : Türkçe, İngilizce

E-posta : randa.beshti@gmail.com

Eğitim Durumu

Lisans : Tripoli Üniversitesi (önceki adı Al-Fateh), 1992

Yüksek Lisans : Tripoli Üniversitesi, 2003

Yayınları

Elbeshti, R., T., A., Elderwish, N. M., Abdelali, K. M. K., Taştan, Y. (2018). Effects of Heavy Metals on Fish. Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi. 4(1): 36-47.

Mohamed, G. A., Amhamed, I. D., Almabrok, A. A., Barka, A. B. A., Bilen, S., Elbeshti, R. T. A. (2018). Effect of celery (*Apium graveolens*) extract on the growth, haematology, immune response and digestive enzyme activity of common carp (*Cyprinus carpio*). Marine Science and Technology Bulletin. 7(2): 51-59.

Bilen, S., Elbeshti, H. T., Elbesthi, R. T. A., (2017). THERAPEUTICAL EFFECTS OF TETRA (*COTINUS COGGYGRIA*) IN RAINBOW TROUT (*ONCHORHYNCHUS MYKISS*), AGAINST AEROMONAS HYDROPHILA INFECTION. International Scientific Agriculture Symposium (Agrosym 2017). Jahorina, BOSNA HERSEK.