T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ŞAHTERE OTUNUN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, IMMÜN SİSTEM VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Abdelsalam M. O. FILOGH

Danışman	**Prof. Dr. Mahmut ELP**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Hasan Hüseyin ATAR**
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Hünkar Avni DUYAR**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ**
Jüri Üyesi	**Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE**

DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

KASTAMONU – 2019

TEZ ONAYI

Abdelsalam M. O. FILOGH tarafından hazırlanan "**Şahtere Otunun Gökkuşağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) Büyüme Performansı, Kan Parametreleri, İmmün Sistem ve Antioksidan Enzimleri Üzerine Etkisi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Mahmut ELP Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Hasan Hüseyin ATAR Ankara Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Hünkar Avni DUYAR Sinop Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Nejdet GÜLTEPE Kastamonu Üniversitesi	.....

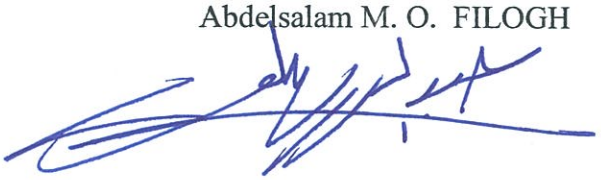
29/08/2019

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Nur BELKAYALI .....

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 atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Abdelsalam M. O. FILOGH



ÖZET

Doktora Tezi

ŞAHTERE OTUNUN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, IMMÜN SİSTEM VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Abdelsalam M. O. FILOGH
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mahmut ELP

Bu çalışmada şahtere otunun (*Fumaria officinalis*) sulu methanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının (*Onchorhynchus mykiss*), büyüme performansı, bağışıklık yanıtları, hematoloji ve antioksidan aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu maksatla, % 0 (Kontrol), %0,1 (FO1), %0,2 (FO2) ve %0,3 (FO3) bitki özütü içeren dört farklı yem konsantrasyonu spreyleme yöntemi ile hazırlanmıştır. Balıklar bu yemlerle 75 gün boyunca beslenmiş ve çalışmanın her on beşinci gününde, balıklardan kan ve doku (Karaciğer ve beyaz kas) örnekleri her bir denemedeki tekerrürlerden alınarak belirlenmiştir. Bağışıklık yanıtlarda meydana gelen değişimler kan ve serum örnekleri kullanılarak oksidatif radikal salınımı (ORS), lizozim aktivitesi (LYS), myeloperoksidaz aktivitesi (MPO) ve hematolojik yöntemleri ile belirlendi. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve glukoz-6-fosfta Dehidrogenaz aktiviteleri karaciğerden, lipid peroksidasyonu (LP) beyaz kas dokularından tespit edildi. Çalışma sonunda bunlara ek olarak büyüme performansları hesaplandı. Çalışma sonuçlarına göre ağırlık kazanımı ve SGR oranları FO3 grubunda son derece önemli miktarda artış göstermiştir ($P<0,05$). FO3 grubunda FCR verileri de düşük tespit edilmiş olmakla birlikte bu fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. ORP çalışmanın altmışıncı gününde tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir ($P<0,05$). LYS aktivitesi çalışmanın sadece altmışıncı gününde FO1 grubunda diğer gruplara oranla artış göstermiştir ($P<0.05$). MPO aktivitesi çalışmanın on beşinci gününde FO1 ve FO3 gruplarında kontrol ve diğer deneme grubuna kıyasla artış göstermiştir ($P<0,05$). Çalışmanın 45, 60 ve 75. günlerinde gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$). Hematolojik yanıtlar incelendiğinde genelde deneme grupları içerisinde kontrol grubuna kıyasla özellikle RBC, HGB ve HCT açısından bir azalma söz konusudur. SOD aktivitesi çalışmanın hiç bir örnekleme döneminde gruplar arasında farklılık oluşturmamıştır ($P>0,05$). CAT aktivitesi FO2 grubunda çalışmanın 30 ve 60. günlerinde kontrol ve diğer deneme gruplarına göre artış göstermiştir ($P<0,05$). Bununla birlikte çalışma sonunda tüm deneme gruplarında

kontrol grubuna göre azalma kaydedilmiştir (P<0,05). GPX aktivitesi çalışma sonunda tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir (P<0,05) ve en yüksek değer FO3 grubunda gözlenmiştir (P<0,05). Benzer sonuçlar G6PDH aktivitesinde gözlenmiştir. Çalışma sonunda G6PDH aktivitesi FO3 ve FO2 gruplarında önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05). LP çalışmanın hiçbir örnekleme döneminde hiçbir örnekleme grubunda farklılık oluşturmamıştır (P>0,05).
Bu çalışmanın sonuçlarına göre şahtere otu (*Fumaria officinalis*) yaprakları sulu methanolik özütü kullanımı büyüme performansını arttırırımıştır. Ayrıca çalışma verilerine göre şahtere otu (*Fumaria officinalis*) yaprakları sulu methanolik özütünün uzun süreli kullanımı büyümeyi teşvik edici etki göstermektedir ve ayrıca yine uzun süreli şahtere otunun kullanımı alabalıklarda antioksidan etki gösterdiği tesbit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, tıbbi bitki, bağışıklık yanıt, hematoloji, antioksidan aktivite, *Fumaria officinalis*.

2019, 73 sayfa
Bilim Kodu: 1207

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EFFECTS OF FUMITORY (*Fumaria officinalis*) ON GROWTH PERFROMANCE, BLOOD PARAMETERS, IMMUNE SYSTEM AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF RAINBOW TROUT (*Onchorhynchus mykiss*)

Abdelsalam M. O. FILOGH
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut ELP

Abstract: In the present study, growth performance, immune responses, haematology and antioxidant activities of fumitory (*Fumaria officinalis*) leaves aqueous methanolic extract in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) were determined. With this purpose, four different concentration of aqueous methanolic extract of the plant such as 0 % (Control), 0.1% (FO1), 0.2% (FO2) and 0.3% (FO3) were prepared and added to the feed by spraying. Fish were fed with the diet for 75 days and every 15^{th} day of the study, blood and tissue samples (liver and white muscle) were taken from each experimental groups replicates. Immunological responses were determined using blood and serum samples via determination of oxidative radical realising (ORR), lysozyme activity (LYS), myeloperoxidase activity (MPO) and haematology. In order to determine the antioxidant activity, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) and glucose-6-fosfat-dehydrogenase (G6PDH) activity were designated from liver and lipid peroxidation (LP) was designated using white muscle. At the end of the study, growth performance was also determined. The result of the study showed that a considerable weight gain and specific growth rate were determined in FO3 group compare to other experimental groups and control ($P<0.05$). Feed conversion ratio was also decreased in FO3 groups compared to all other groups, but this decrease was not significant. ORR was significantly decreased on 60^{th} day of the study in all experimental groups compared to control ($P<0.05$). LYS activity was increased only 60^{th} day of the study in FO1 group compared to other groups ($P<0.05$). MPO activity was increased on 15^{th} day of the study in FO1 and FO3 groups compared to that of control ($P<0.05$). No differences were observed on 45^{th}, 60^{th} and 75^{th} day of the study ($P>0.05$). Haematological responses showed a general decrease in experimental groups compared to control in terms of RBC, HGB and HCT. SOD activity showed no differences in any experimental time in any experimental groups compared with control ($P>0.05$). CAT was increased on 30^{th} and 60^{th} day of the study in FO2 group compared to other groups ($P<0.05$). However, significant decreased was observed at the end of the study in all experimental groups compared

to control. GPX activity was elevated in all experimental group compared to control at the end of the study and the highest GPX activity was determined on FO3 group. Similar result was also observed on G6PDH activity. At the end of the study an elevated G6PDH activity was designated on FO3 and FO2 groups ($P<0.05$). LP was determined insignificant in all experimental groups.
The result of the showed that using long term usage of fumitory (*Fumaria officinalis*) leaves aqueous methanolic extract could increase growth performance. It can also deduced from the results that fumitory (*Fumaria officinalis*) leaves aqueous methanolic extract has growth promoter effect. It is also demonstrated that an antioxidant activity in rainbow trout after long term usage of the plant.

Key Words: Rainbow trout, medicinal plant, immune response, haematology, antioxidant activity, *Fumaria officinalis*

2019, 73 pages
Science Code: 1207

TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca yardımlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Mahmut ELP'e, saha ve laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Soner BİLEN ve Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ'e ve son olarak da bu süreçte manevi desteğini hiç eksik etmeyen sevgili aileme teşekkürü borç bilirim.

Abdelsalam M. FILOGH
Kastamonu, Ağustos, 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ii
TAAHHÜTNAME iii
ÖZET iv
ABSTRACT vi
TEŞEKKÜR viii
İÇİNDEKİLER ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ xiv
TABLOLAR DİZİNİ xvi
1. GİRİŞ 1
1.1. Balıklarda Antioksidan Sistem 8
1.2. Reaktif Oksijen (ROS) Türleri 9
1.2.1. Hidroksil Radikali 9
1.2.2. Süperoksit Radikali 9
1.2.3. Hidrojen Peroksit 10
1.3. Şahtere Otu (*Fumaria officinalis*) 10
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR 12
3. YÖNTEM 25
3.1. Materyal 25
3.1.1. Balık Materyali 25
3.1.2. Deneme Yeri 26
3.1.3. Şahtere Otu (*Fumaria officinalis*) 26
3.2. Yöntem 27
3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması 27
3.2.2. Balıklardaki Büyüme Performansının Hesaplanması 28
3.2.3. İmmunolojik Analizler 29
3.2.3.1. *Oksidatif radikal Salınımı (ORS)* 29
3.2.3.2. *Lizozim Aktivitesi (LYS)* 30
3.2.3.1. *Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi* 30

3.2.4. Hematolojik Analizler 30
3.2.4.1. *Eritrosit Sayımı* 30
3.2.4.2. *Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi* 31
3.2.4.3. *Hemoglobin Miktarının Tayini* 31
3.2.4.4. *Eritrosit İndeksleri* 31
3.2.4.4.1 *Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)* 31
3.2.4.4.2. *Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH)* 31
3.2.4.4.3. *Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)* 32
3.2.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri 32
3.2.5.1. *Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi* 32
3.2.5.2. *Katalaz (CAT) Aktivitesi* 33
3.2.5.3. *Glutatyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi* 33
3.2.5.4. *Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi* 34
3.2.5.5. *Lipit Peroksidasyonu* 34
3.2.6. Deneyin Kurgulanması 34
3.2.7. İstatistiksel Analizler 35
4. BULGULAR 36
4.1. Büyüme Performansında Meydana Gelen Değişimler 36
4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler 37
4.2.1. Oksidatif Radikal Salınımı (ORS) 37
4.2.2. Lizozim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler 39
4.2.3. Myeloperoksidaz Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler 41
4.3. Kan Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler 42
4.4. Antioksidan Yanıtlar 45
4.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler 45
4.4.2. Katalaz (CAT) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler 47
4.4.3. Glutatyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler 49
4.4.4. Glukoz-6- Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinde Meydana Gelen

Değişimler 51
4.4.5. Lipit Peroksidasyonu 53
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 55
KAYNAKLAR 61
ÖZGEÇMİŞ 72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

C	Santigrat
gr	gram
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
$^{\cdot}OH$	Hidroksil
O_2	Oksijen
OH^-	Hidroksit
U	Unite
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
^{o}	Derece
%	Yüzde

Kısaltmalar

CAT	Katalaz
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleikasit
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetat
FAO	Food and Agriculture Organization
Gr +	Gram Pozitif
G6PDH	Glukoz 6-Fostat Dehidrogenaz
GPX	Glutatyon Peroksidaz
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
LYS	Lizozim
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
ORS	Oksidatif Radikal Salınımı
POD	Peroksidaz
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durum
TOS	Toplam Oksidan Durum
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Denemede kullanılan (*Oncorhynchus mykiss*) gökkuşağı alabalığı türü..... 25

Fotoğraf 3.2. Denemenin yapıldığı kafes sistemi 26

Fotoğraf 3.3. Denemede özütü kullanılan şahtere otu (*Fumaria officinalis*).....27

Fotoğraf 3.4. Toz haline getirilmiş bitkilerin sulu methanolik özütleri çıkarılma işleminde kullanılan evaporatör cihazı 28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında süperoksit anyon üretimlerinde meydana gelen değişimler (mg/ml). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3)..... 38

Şekil 4.2. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3)..... 40

Şekil 4.3. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (O.D. 540). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3)..... 41

Şekil 4.4. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (% inhibisyon). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder..... 46

Şekil 4.5. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ süperoksit dismutaz aktivitesi..... 46

Şekil 4.6. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder..... 47

Şekil 4.7. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen Gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ katala aktivitesi. 48

Şekil 4.8. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında

glutatyon peroksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder..... 49

Şekil 4.9. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ glutatyon peroksidaz aktivitesi 50

Şekil 4.10. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder. 51

Şekil 4.11. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ G6PDH aktivitesi..... 53

Şekil 4.12. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder..... 54

Şekil 4.13. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ lipit peroksidasyonu..... 54

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Şahtere otu (*Fumaria officinalis*) bilimsel sınıflandırılması 11

Tablo 4.1. Şahtere otu (*Fumaria officinalis*) methanolik özütü ile 75 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler 36

Tablo 4.2. Şahtere otu (*Fumaria officinalis*) methanolik özütü ile 75 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının kan parametrelerinde meydana gelen değişimler..... 43

1. GİRİŞ

Balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği, dünya genelinde yüz milyonlarca insan için önemli gıda, beslenme, gelir ve geçim kaynağı olan sektörlerdir. Su ürünleri yetiştiriciliği ve balıkçılık yönetimindeki teknolojik ve bilimsel gelişmeler sayesinde 2014 yılında kişi başına düşen tüketim dünya genelinde 20 kg'a ulaşmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği insan gıdası olarak tüketilen balıkların yarısını sağlamaktadır (FAO, 2017). Bununla beraber balık ihracatı miktarları özellikle gelişmekte olan ülkelerde tüm ihracatın yarısından fazlasını teşkil etmektedir (FAO, 2017). Dünya su ürünleri yetiştiriciliği üretimi 2016 yılında 80 milyon ton (231,6 milyar $) iken 30,1 milyon ton (11,7 milyar $) alg üretilmiştir. Bu 80 milyon tonun 54,1 milyon tonunu (138,5 milyar $) balıklar, 17,1 milyon tonunu (29,2 milyar $) yumuşakçalar, 7,9 milyon tonunu (57,1 milyar $) kabuklular ve 938,5 bin tonunu ise (6,8 milyar $) kaplumbağa, deniz hıyarı, kurbağa ve yenilebilen denizanası gibi canlıları kapsayan çeşitli deniz hayvanları oluşturmaktadır (FAO, 2017). Su ürünlerine olan talep artışı aşırı avlanmanın yaygınlaşmasına sebep olmuştur. Balık yetiştiriciliği balık ve balık proteini için artan pazar talebine alternatif bir çözüm sunmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörüdür (FAO, 2017). Bahsedildiği üzere tüm dünyadaki hayvansal protein eksikliğini karşılamak için balık yetiştiriciliği önem kazanmış ve bilimsel temellere dayalı yapıldığı takdirde hem gıda ihtiyacını karşılamak hem de iş imkanı oluşturmak açısından büyük önem arz etmektedir.

Son yıllarda, su ürünleri yetiştiriciliğinin dünyanın birçok bölgesinde önemi artmıştır ve birçok gelişmekte olan ülkede yoğun bir şekilde uygulanmaktadır. Ancak özellikle bulaşıcı hastalıklar başarılı bir yetiştiricilik faaliyetinin gerçekleştirilmesine karşı tehdit unsuru oluşturmaktadır (Galindo-Villegas ve Hosokawa, 2004). Kültür balıkçılığı üretimi hastalıklara karşı hassastır ve yoğun kültür şartlarında üretim kaybına yol açan salgınlar bildirilmiştir (Bondad-Reantaso vd., 2005). Bu hastalıkların başlıca etkenleri bakteriler, virüsler, mantarlar ve bir takım parazitik organizmalardır. Patojenik bakteriler kuluçkahane ve üretim tesislerinde bilhassa kötü su kalitesi ve yönetimi gibi nedenlerle ciddi kayıplara yol açmaktadırlar. Balıklar yanlış muamele edildiklerinde de kolayca strese girerek bağışıklık sistemleri

zayıflayabilir ve bunun sonucunda deride ve kuyrukta hasara neden olan mantar, özellikle orfoz yetiştiriciliğinde büyük hasara neden olan ve hemorajik septisemiye sebep olan gram negatif bakteri *Vibrio alginolyticus*, sistemik enfeksiyona neden olan ve etkilenen balığın zayıflama, anormal yüzme ve konreal hemoraji gibi semptomlar göstermesine neden olan gram pozitif bakteri *Streptococcus sp.* gibi hastalıklardan muzdarip olabilirler (Punitha vd., 2008). Aşırı stok yoğunluğu, nakil, boylama, su sıcaklığındaki değişimler, kötü su kalitesi ve besin azlığı gibi durumlar balıklarda stres ve bağışıklık sistemin baskılanması gibi fizyolojik durumları etkileyerek balığın hastalığa karşı duyarlı hale gelmesine neden olur. Ayrıca yine yüksek yoğunlukta stoklama ve sanitasyon kurallarının uygulanmaması gibi etmenler de söz konusu hastalıkların yayılmasına ve bulaşmasına neden olarak balıklarda yüksek mortaliteye neden olup üreticiler açısından istenmeyen durumlar teşkil etmektedir (Cabello, 2006; Naylor vd., 2000; Reverter vd., 2014). Ancak su ürünleri sektörünün büyümesi ve hastalıklara karşı olan bilincin gelişmesi ile birlikte hastalıkları anlamak ve tedavi etmek üzerine olan çalışmalar artış göstermiştir.

Bu durum hastalıkları iyileştirebilecek veya önleyebilecek ilaçların geliştirilmesi için araştırmacılara yardım etmektedir (Logambal vd., 2000). Enfeksiyöz bakteriyel, fungal veya parazitik hastalıkların tedavi edilmesi ve önlenmesinde kimyasal terapi yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde amoksisilin, enrofloksasin, eritromisin, furazolidon ve oksitetrasiklin gibi birçok antibiyotik balık ve kabuklu hastalıklarıyla mücadelede başarıyla kullanılmaktadır. Ancak ne var ki bu antibiyotikler ilaç direnci gösteren bakteri gelişmesi, çevresel kirlilik ve balık dokularında tüketici olan insanları olumsuz yönde etkileyebilecek kalıntılar kalmasına neden olmak gibi riskler taşımaktadır (Adel vd., 2015; Immanuel vd., 2009; Jian ve Wu, 2003; Kumari vd., 2007; Naylor vd., 2000; Siwicki vd., 1994). Bu nedenle kültür balıkçılığındaki hastalık yönetimi çalışmaları uzun süreli ve çevre dostu yöntemlere odaklanmalıdır. Ektoparazitlerin prazikantel veya triklorfon gibi ilaçlarla banyo yöntemiyle uzaklaştırılması sonucunda; parazitlerde direnç gelişmesi, hayvan sağlığına ve çevreye zarar vermesi gibi dezavantajlarının olduğu halihazırda bilinmektedir (Umeda vd., 2006; Forwood vd., 2013). Balıkta ve çevrede kimyasal maddelerin kalıntı yapması ve birikmesi antibiyotiklerin ve çeşitli kimyasalların kullanımında sınırlamaya gidilen düzenlemeler yapılmasına neden olmuştur (Alderman ve

Hastings, 1998). Bu patojenler aynı zamanda antibiyotik direnç genlerini insan patojeni bakterilere aktararak insan sağlığı için de risk oluşturma ihtimaline sahiptirler (Abutbul vd., 2004; Alderman ve Hastings, 1998; Cabello, 2006; Harikrishnan vd., 2011a).

Yetiştiricilikte aşı da hastalık salgınlarına karşı potansiyel bir tedavi olarak kabul edilmiştir. Aşıların akuakültürün antibiyotiklere bağımlılığını azaltmak veya önlemek maksadıyla bakteriyel ve viral enfeksiyonları kontrol etmede etkili bir alternatif olduğu düşünülmektedir (Harikrishnan vd., 2011a). Ancak ticari aşılar, üreticiler tarafından kullanılması maliyetli olan ürünlerdir ve tek bir aşının sadece bir patojene karşı etkili olması ve intraselüler patojenlerde henüz çok başarılı olmaması gibi etkenler de aşı kullanımının dezavantajları olduğunu gözler önüne sermektedir (Christybapita vd., 2007; Harikrishnan vd., 2011b; Kirubakaran vd., 2010; Reverter vd., 2014; Sakai, 1999). Öte yandan enjeksiyon işlemi yoğun emek gerektiren ve balığa stres yaşatan bir uygulamadır. Her ne kadar intraperitoneal enjeksiyonun en hızlı ve en etkili yöntem olduğu kanıtlanmış olsa da ilaçların gıdalara karıştırılarak verilmesi su ürünleri yetiştiriciliğinde en uygun metotdur zira balıklar böylece ilaç uygulaması nedeniyle strese maruz kalmamış olurlar (Harikrishnan vd., 2011b; Siwicki vd., 1994). Dahası bazı ülkelerde aşı temininde karşılaşılan problemler ve aşıların patojen spesifik mekanizmaları nedeniyle akuakültürde hastalıkların kontrol edilmesi hususunda immünostimülanların kullanımı daha fazla ilgi odağı olmaya başlamıştır (Vaseeharan ve Thaya, 2014).

Enjeksiyon yoluyla uygulama, immünostimulanın hızlı bir şekilde emilmesini ve işlevsel olmasını sağlarken; oral uygulamada, immünostimulan balık tarafından yavaşça emilir (Yoshida vd., 1995). Birçok araştırmacı enjeksiyon yoluyla verilen immünostimülanların, lökositlerin işlevselliğini ve balığın patojenlere karşı korunmasını arttırdığını bildirmiştir. Bununla birlikte, bu yöntem yoğun emek gerektirir, nispeten zaman alıcıdır ve balıklar 15 g'dan daha hafif olduğunda uygulaması pratik değildir (Harikrishnan vd., 2011a).

Bahsedilen ilaç tedavilerinin çevre ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel zararları ve bazı durumlarda sınırlı etkinlikleri göz önüne alındığında, hastalık yönetimi zararsız, önleyici ve kalıcı yöntemlere odaklanmalıdır. Dahası, hastalık salgınları sıklıkla balık

zindeliği ve sağlığı ile ilişkilidir, çoğu patojen fırsatçıdır ve bağışıklık sistemi baskılanmış ya da stresli balıklardan yararlanır, bu nedenle alternatif çözümler patojen enfeksiyonlarını önlemek ve bunlarla mücadele edebilmek için balıkların bağışıklık ve zindeliğini en üst düzeye çıkarmalıdır (Ashley, 2007; Davis vd., 2002; Reverter vd., 2014). Su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıkları kontrol etmenin en ümit verici yöntemlerinden biri, kemoterapi ve aşılara umut vadeden bir alternatif olarak kabul edilen immünostimülanların profilaktik uygulaması yoluyla balığın savunma mekanizmasının güçlendirilmesidir (Amar vd., 2000; Guardiola vd., 2016). Bağışıklık uyarıcılar enjeksiyon, banyo veya oral uygulama yoluyla verilebilir (Mulero vd., 1998; Sakai, 1999). Tüm bu önleyici tedbirler, doğal ve/veya uyarlanabilir bağışıklık sistemini güçlendirmeyi amaçlamakla birlikte (Harikrishnan vd, 2011c; Magnadottir, 2010) balıkları serbest radikallerden ve ROS'un etkilerinden de korumaktadır. İmmünostimülanların kullanımı, balığın bağışıklık yetkinliğini ve hastalık direncini arttırmada etkili bir araçtır (Sakai, 1999). En kanıtlanmış etkileri fagositik hücrelerin işlevini kolaylaştırmak, bakterisit ve fungisit aktivitelerini arttırmak ve ayrıca doğal antioksidanlar olarak önemli bir rol oynamaktır (Nayak, 2010; Reverter vd., 2014).

Dünyada balık yetiştiriciliğinin en yaygın ilgi alanlarından biri üretim maliyetinin nasıl düşürüleceği ve ürünlerin en kısa sürede elde edilmesidir. Bunun için kullanılan yöntemlerden biri yem dönüşüm oranını arttırmak veya balık büyümesi ve bakımı için genel koşulları yükseltmek için balık diyetlerine yeni maddeler eklemektir (Hsieh vd., 2013). Bundan dolayı son yıllarda, hem balıklar hem de diğer hayvanlar için bu maddelerin gelişimine giderek daha fazla önem verilmiştir. Balıklarda uyarlayıcı bağışıklık sistemini geliştiren birtakım biyolojik ve sentetik bileşiklerin balıkları patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı koruduğu tespit edilmiştir (Acar vd., 2015; Sakai, 1999). Glukan, kitin, laktoferrin ve levamisol gibi çok heterojen bir madde grubunun yanı sıra B ve C vitamini, büyüme hormonu ve çeşitli farklı kaynaklardan elde edilen prolaktin gibi besin faktörlerini içeren çeşitli maddeler üzerinde potansiyel bağışıklık uyarıcılar olarak çalışılmıştır (Dügenci vd., 2003; Immanuel vd., 2009; Sakai, 1999). Bu maddelerin, fagositik hücre aktivitesi, doğal öldürücü hücre aktivitesi, lizozim seviyeleri, kompleman seviyeleri ve toplam immünoglobulin (Ig) seviyeleri gibi spesifik olmayan immün elementler üzerinde

pozitif bir etkiye sahip olduğu ve bazılarının *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas salmonicida* ve *Yersinia ruckeri* gibi bakterler nedeniyle çiftliklerde rastlanan çeşitli hastalıklara karşı bir derece koruma sağladığı bildirilmiştir. (Mulero vd., 1998; Ogier de Baulny vd., 1996). Bağışıklık uyarıcıların kültür balıkçılığına etkileri, zaman, dozaj, uygulama yöntemi ve balığın fizyolojik durumu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bununla birlikte, etki doza bağımlıdır ve aşırı doz alma olasılığı vardır (Harikrishnan vd., 2011c). İmmünostimülanların biyolojik etkileri, hedef hücredeki reseptörlere ve bu reseptörler vasıtasıyla hedef hücreleri potansiyel yüksek riskli moleküller olarak tanıyan ve böylece çeşitli savunma yollarını tetikleyen bir sistem sayesinde gerçekleşir (Ringø vd., 2012).

Bitkiler birçok sayıda bileşen içerir ve antimikrobiyal özelliklere sahip olan biyolojik olarak aktif moleküllerin değerli kaynaklarıdır. Birçok bitki insanlar tarafından binlerce yıldır tıbbi etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Kimyasal çeşitlilikleri sayesinde bitkiler ister özütü çıkarılarak kullanılsın ister etken maddeleri saf halde elde edilsin, mikrobiyal gelişmenin kontrolü için önemli kaynaklardır (Negi, 2012). Bu otlar polisakkaritler, alkaloitler ve/veya flavonoidler gibi birçok farklı türde aktif bileşen içerir ve bu bileşenlerin çoğunun immünostimüle edici özelliği en yaygın olarak fare, tavuk ve insan hücre dizileri üzerinde incelenmiştir (Cao ve Lin, 2003; Lin ve Zhang, 2004).

Bitki özleri kullanılarak yapılan araştırmalar 1950'den bu yana ivme kazanmıştır. Tıbbi bitkilerin etkinlikleri, karides ve balık gibi canlılardaki viral ve bakteriyel hastalıkların kontrolünde iyi sonuçlarla test edilmiş ve ispatlanmıştır (Balasubramanian vd., 2008). Bitki özütlerinin aynı zamanda antistres, iştah uyarımı ile büyümenin arttırılması, yem lezzetinin iyileştirilmesi, azot atılımının azaltılması, bağırsak florasının ve sağlık durumunun iyileştirilmesi gibi çeşitli aktiviteleri desteklediği bildirilmiştir (Heidarieh vd., 2012; Kroismayr, 2007). Kullanımları tedavi maliyetlerini düşürebilir, ayrıca sentetik moleküllerden daha fazla biyolojik olarak çözünebilir olma eğiliminde oldukları ve bitki özü moleküllerinin çeşitliliği sebebiyle patojenlerde ilaç direnci sağlama olasılıklarının daha düşük olması gibi nedenlerle çevre dostu olabilirler (2000; Logambal vd., 2000; Reverter vd., 2014). Bu nedenle, bağışıklık sistemini güçlendirmek, balık hastalıklarını kontrol etmek ve ayrıca antibiyotikler ile kimyasal bileşikleri ikame etmek için güvenli ve çevre dostu

bileşikler sağlamak amacıyla su ürünleri yetiştiriciliğinde şifalı bitkilerin kullanımına büyük ilgi gösterilmiştir. Bazı şifalı bitkilerin balık unu proteini yerine ucuz bir protein kaynağı olarak kullanılması neticesinde etkili oldukları da kanıtlanmıştır.

İnsanlar gibi balıklar da kendilerini istilacı patojenlere karşı korumak için hem doğal hem de uyarlanabilir bağışıklık mekanizmalara bağlıdır. Balıklarda, doğal bağışıklık sisteminin ana hatları deri ve mukustur (Dügenci vd., 2003). Balıklar, omurgasızlardaki gibi doğal bağışıklık sisteminde fagozit ve granüler lökosit hücreleri barındıran en ilkel omurgalı canlılardan biridir. Ayrıca lenfositler tarafından yönetilen hem hücresel hem de hümoral immün yanıtları geliştiren ilk hayvanlardır. Balıkların ana lenfoid organları timus, ön böbrek ve dalaktır. Balıklarda doğal bağışıklık ilk savunma hattı olarak kabul edilir ve immün yanıtın önemli bir bölümünü temsil eder (Dalmo vd., 1997). Doğal bağışıklık sisteminin ana bileşenleri makrofajlar, monositler, granülositler ve lizozimler veya tamamlayıcı sistem gibi humoral elementlerdir (Galina vd., 2009; Secombes ve Fletcher, 1992). Balığın bağışıklık sisteminin uyarılması, savunma mekanizmasını (hem doğal hem de uyarlanabilir) geliştirerek balığı bulaşıcı hastalıklardan koruyabilir, böylece hayvanı hastalıklara ve dış saldırılara karşı daha dirençli hale getirir (Keleştemur ve Özdemir, 2013; Reverter vd., 2014).

Savunmanın ilk hattı, mukusta bulunan ve endotel hücreleri tarafından salgılanan maddeler ve doğrudan patojenlere saldıran makrofajlardır. Proteinler ve enzimler, bakterinin çoğalmasını engellemek veya fagositozu kolaylaştırmak için mikrop yüzeyindeki moleküllerle doğrudan etkileşime girer. En yaygın immünostimülanlar, tehlikeli olmayan mikroorganizmalar veya yan ürünleridir. Bu mikroorganizmaların bileşenleri, doğal bağışıklık sisteminin hücresel bileşenleri tarafından tanınır ve patojenik organizmalar ile aynı humoral ve hücresel yanıtı başlatır. Genel olarak immünostimülanlar doğal bağışıklık yanıtın bileşenlerini güçlendirse de bu her zaman balık sağlığının daha iyi olacağı anlamına gelmez. Bu bağlamda uygun uygulama ve dozajın belirlenmesi önemlidir zira çok yüksek dozda veya çok uzun süre kullanılan immünostimülanlar immünosüpresif etki gösterebilir (Gannam ve Schrock, 1999).

Türkiye, 9000'den fazla çiçekli bitki türüne sahip olup Avrupa ülkeleri arasında en çok çeşitliliğe sahip ülkelerden birisidir (Davis, 2002). Geleneksel tıp bilgisinin birikimi, bu bölgenin şifalı bitkilerin kullanımı açısından zengin bir geleneğe sahip olmasına aracılık etmiştir (Bilen vd., 2013).

Dünya nüfusu her geçen yıl artmaya devam etmekte buna paralel olarak insan ihtiyaçları da artmaktadır. Dünya genelinde 2030 yılında Yemek ve Tarım Organizasyonu FAO verilerine göre hayvansal protein tüketiminin 40 kg'a ulaşacağı tahmin edilmektedir (FAO 2017). Dünya genelinde ise su ürünleri tüketiminde 2014 yılında 14 kg kişi başı tüketim ile rekor seviyelere ulaşılmıştır. Bu bağlamda özellikle 2050'li yıllardan sonra insanların hayvansal protein ihtiyaçlarının % 60 yakınının su ürünlerinden temin edilecek olması su ürünleri üretimi üzerine dikkat çekmektedir. Denizde avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri üretiminin kısıtlı olması kültür koşulları altında üretime daha büyük önem verileceğini göstermektedir.

Su ürünlerinin kültür ile üretilmesi akvakültür olarak tanımlanabilir. Artan taleplerin karşılanmasında akvakültüre çok büyük görev düşmektedir. Son yıllarda teknolojinin ilerlemesi, buna paralel olarak teknolojinin akvakültrüde kullanılması verim artışına neden olmuştur (Bilen vd., 2015). Bununla birlikte üretimi yapılan türler üzerindeki stres ve yaşamsal fonksiyonların ve aynı zamanda hayvan refahının azalması, çevresel baskıların oluşması üretimi kısıtlayıcı olarak göze çarpmaktadır.

Balık üretiminde farklı dönemlerde meydana gelen ani su sıcaklığı değişimi, balıkların nakil ve aşılama veya çevresel etkilerden meydana gelen stres üretim ayağının önemli sorunu oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak balık sağlığı olumsuz etkilenmekte kayıplar meydan gelmektedir. Balık sağlığını korumada bağışıklık uyarıcılar bir alternatif olarak sunulabilmekledir (Bilen vd., 2016a). Tıbbi bitkilerin bu alanlardaki kullanımları geniş çalışma alanı bulmakta aynı zamanda antioksidan etkileri üzerine de dikkatleri çekmektedir (Sönmez vd., 2015).

Canlı vücudunda hayatın devam ettirilmesi O_2 ile mümkündür. Bununla birlikte en kritik nokta oksidatif paradokstur. Bu durum O_2'nin doğal moleküler yapısından kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda (Martinez vd., 2005). Oksidatif paradoks canlının yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirmesi açısından son derece önemli olduğu gibi,

ayrıca bağışıklık sisteminin de olumlu çalışması için son derece elzemdir. Oksijen radikallerinin normalden fazla serbest bırakılması patojenik organizmaların yok edilmesinde önemli rol oynadığı gibi hücrenin kendisine zarar vermesine hatta ilerleyen uygulamalarda kansere dahi sebep olması gibi etkileri neden olabilmektedir. Dolayısıyla oksidatif paradoksun canlı organizmanın lehine olacak şekilde dengede tutulması son derece önemlidir.

1.1. Balıklarda Antioksidan Sistem

Yaşamsal döngü içerisindeki oksijen paradoksu yada oksijenli yaşam paradoksu olarak adlandırılan (Davies, 2000) ve temel olarak tüm canlıların metabolik işlemlerinin gerçekleşmesinde hayati önem taşıyan bununla birlikte moleküler yapısı ile oksijenin son derece toksik olması (Ahmad, 1995) canlı türlerin tümü için hayatsal öenm taşımaktadır. Bilindiği üzere temelde oksijen (O_2), anerobik canlılar hariç tüm canlı hayatı için hayati önem taşımaktadır.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması oksidatif strese neden olmaktadır (Sies, 1986). Buna bağlı olarak hücre çeperlerinde membranların doymamış yağ asitlerinin okside olması ve hücrenin geçirgenliğini bozularak işlevselliğini yitirilmesi, proteinleri oksidasyonları ve hatta DNA ve steroit içeriklerin bozulması kaçınılmazdır. Bu gibi sorunların giderilmesin tüm canlılar oksijen radikallerine karşı kendilerini koruyacak sistemlere sahip olmuşlardır. Özellikle vücutta antioksidan sistem içerisinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT ve glutatyon enzimlerine bağlı (glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR)) bir savunma mekanizması söz konusudur. Bu enzimler oksidatif radikallerin yıkımında görev alırlar. Bu enzimlere ek olarak bazı enzim olmayan küçük moleküller de, örneğin, E,K ve C vitaminleri, alfa karoten, beta karoten, flavonoitler, izoflavonlar, karotenoitler, kateşin, kriptoksantin, kuversetin, likopen, lutein, resveratrol ve antosiyaninler bitkilerden temin edilerek antioksidatif işlemlerde görev alabilmektedirler.

Filogenetik açıdan balıklarda bulunan CAT, SOD ve GPX gibi enzimler kuş, ve memelilerdekine kıyasla daha az aktivite göstermektedir (Rocha-e-Silva vd., 2004).

Fakat glutatyonun, ki kan içerisinde antioksidan özellik göstermektedir, diğer çalılara nazaran çok daha yüksek seviyede olduğu bilinmektedir (Dafre ve Reischl, 1990; Hardig ve Höglund, 1983).

1.2. Reaktif Oksijen (ROS) Türleri

Moleküllerin oluşmasında serbest radikaller elektronların tekli olan bölümlerine verilen isimlerdir ve diğer moleküllerle elektron alışverişine giren moleküller olarak adlandırılmaktadır. ROS hem antioksidan sistem içerinde hem de bağışıklık yanıtta önemli rol oynamaktadır.

ROS genel olarak anabolik ve katabolik işlemlerin bu bölümde gerçekleşmesi nedeniyle hücre içerisinde mitokondrinin içerisinde, daha yoğun şeklide oluşmaktadır. ROS genellikle hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonlarından (O_2^-), ve hidroksil ($^{\cdot}OH$) radikallerinden meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

1.2.1. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikalleri farklı substratlarda farklı şekillerde oluşmakta ve hidroksit iyonunun (OH^-) doğal bir formudur. Yaşamın tüm alanlarında etkisini göstermektedir. Hidroksil radikalleri canlı içerisinde bağışıklık yanıtın bir yan ürünü olarak da ortaya çıkabilmektedir. Özellikle makrofajların bakterilere karşı bu radikali ürettiği bilinmektedir (Reiter vd., 1995). Bununla birlikte yarılanma ömrü çok kısa olan bu radikal canlı sistemler içerisinde en aktif ROS olup hücre çeperindeki tekli ve çiftli doymamış yağ asitlerine zarar vererek geri dönüşü olmayan hasarlara neden olabilir (Auroma, 1999).

1.2.2. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Bu radikal oksijenin toksik yapısı içerisinde ana etmendir ve süperoksit dismutaz tarafından bu radikale karşı savunma oluşturulmaktadır (McCord ve Fridovixh 1969). İndirgenmiş geçiş metallerinin

kontrollü oksidayonu süperoksit radikali meydana getirebileceği gibi oksihemoglobinin methemoglobine parçalanması da bu radikali oluşturabilmektedir (Buechter 1988).

Protein ayrıştırılmasında ve DNA hasarının süperoksit radikallerine maruz kalan hücrelerde hızlandığı (Imlay ve Linn, 1988) ve ayrıca bu lipitlere zarar verdiği bilinmektedir (Aikens ve Dix 1991).

1.2.3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin iki elektron ile enzimatik yollarla indirgenmesi yada süperoksitlerin dismutasyonu neticesinde oluşan bir radikaldir. Eğer moleküler oksijenden yalnızca bir elektron indirgenirse, bu halde süperokit radikali, iki elektron indirgenmesi halinde ise hidrojen peroksit ortaya çıkmaktadır.

Hidrojen peroksit canlı hücreleri içerisinde özellikli bağışıklık sistemi nötrofiller tarafından bakterilerin hücre duvarlarını parçalanması için salgılanmaktadır. Yabancı amillerin hücre duvarlarının parçalanmasında görev alan hidrojen peroksit aşırı miktarda salgılandığında hücrenin kendi çeperine zarar zarar vermektedir.

Bağışıklık yanıtın son derece önemli bir parçası olan hidrojen peroksit özellikle tıbbi bitkiler ile sistemin uyarılmasında ve buna ek olarak bakteriyolojik saldırıların bir neticesi olarak artış gösterebilmektedir (Bilen vd., 2016b; Elbeshti, 2016).

1.3. Şahtere Otu (*Fumaria officinalis)*

Şahtere otu (*Fumaria officinalis*), Fuminaria ailesi içerisinde eyer alan 55 bitki türünden birisidir (Mitich, 1997). Türkiye'de 17 türü yer alan bu bitki halak arasında tedavi edici olarak değerlendirilmektedir (Rehman vd., 2013). Bu bitkinin bilimsel sınıflandırılması Tablo 1.1'de verildiği gibidir.

Tablo 1.1. *Şahtere otu (Fumaria officinalis) bilimsel sınıflandırılması*

Alem	:	Bitkiler
Altalem	:	Tracheobionta
Üstbölüm	:	Spermatophyta
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Altsınıf	:	Dicotyledons
Ordo	:	Papaverales
Aile	:	Fumariaceae
Cins	:	Fumaria
Tür	:	*Fumaria officinalis*

Fumaria officinalis Batı Avrupa ve Merkez Avrupa'da geniş yayılım gösterir (Sharma vd., 2012). Tıbbi bitki olarak bilinen ve kullanılan şahtere otunun sindirime yardımcı olarak ve diüretik olarak da kullanılmaktadır (Sajjad vd., 2015). Ayrıca antimikrobiyal aktivitesi de mevcuttur (Bisset vd., 2001).

Fumaria officinalis ile içerik olarak en çok isoquinolin alkoloidi içermektedir (Sajjad vd., 2015). Bu özellikleri ile son derece sık kullanılan bire tıbbi bitki olan şahtere otunun bağışıklık uyarıcı ve antioksidan etkilerin olabileceği düşünülmektedir.

Bu bağlamda enzim olmayan antioksidan özelliğe sahip olan ürünlerden şahtere (*Fumaria officinalis*) bitkisinin sulu methanolik özütünün gökkuşağı alabalıklarının (*Onchorhynchus mykiss*) antioksidan sisteminde, bağışıklık yanıtlarında, hematoloji ve büyüme performansı üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmadaki temel amaç, balık üretiminde kullanılabilecek, temini ve işlenmesi kolay ve aynı zamanda antioksidan özellik gösteren yeni ürünlerin ortaya çıkarılması ve su ürünleri sektörü içeresinde kullanılmasının sağlanmasıdır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Balık üretimde temel problemlerin başında balıkların sağlıklarının yerinde olması, hastalıklara yakalanma risklerinin en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda balık sağlığının yerinde tutulması için, çeşitli etken meddeler kullanılar balıkların bağışıklık yanıtlarına meydana gelen olumlu değişimler ve buna ek olarak stresi ve stresten kaynaklanan hasarların oluşumunun önlenmesinde antioksidan içeriğe sahip katkı maddelerinin kullanıldığı çalışmalar göze çarpmaktadır. Bu bağlamda yapılan ve çalışma konusu ile alakalı olan bilimsel içerikler aşağıda özetlenmiştir.

Ocimum sanctum yaprak ekstraktının *Oreochromis mossambicus* balıklarında spesifik ve spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı hastalık direncne etkileri araştırılmıştır. Çalışmada antijen olarak koyu kırmızı kan hücreleri (SRBC) ve ısı agregakı sığır serum albümini (HA-BSA) kullanılmıştır. Nötrofil aktivitesini belirlemek için Nitroblue tetrazolium (NBT) tayini yapılmıştır. Bakteri verildikten sonra hastalık direnci için göreceli yüzde yaşama oranı (RPS) belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hem intraperitoneal olarak hem de yemlerle *O. sanctum*'un yaprak ekstresi alımı uygulandığında, *Oreochromis mossambicus*'un nötrofil aktivitesini ve antikor cevabını uyardığı ve aynı zamanda *A. hydrophila*'ya karşı hastalık direncini arttırdığı tespit edilmiştir (Logambal vd., 2000).

Dügenci vd. (2003), ökse otu (*Viscum albüm*), ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefilin (*Zingiber officinale*) sulu özütlerinin gökkuşağı alabalıklarında ve spesifik olmayan savunma mekanizmasını, hücre dışı ve hücre içi solunumsal patlama aktiviteleri, kan lökositlerinde fagositoz ve toplam plazma protein düzeyleri gibi immünostimülan olabilecek etkilerini ve balıkların spesifik büyüme oranını ve kondüsyon faktörünü araştırmışlardır. Balıklar, üç bitkinin % 0,1 ve % 1 oranında liyofilize edilmiş ekstrelerini içeren yemlerle 21 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda, bitki özütü içeren yemlerle beslenen balıkların hücre dışı solunum patlama aktivitesi kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($P < 0.001$). Özellikle, üç hafta boyunca % 1 sulu toz zencefil kökü ekstresi içeren yemle beslenen gökkuşağı

alabalıkları belirgin spesifik olmayan bir bağışıklık tepkisi göstermiştir. Fagositoz ve kan lökositlerinin hücre dışı patlama aktivitesi de aynı grupta kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. % 0.1 zencefil grubu hariç, balık yemlerine eklenen tüm bitki özleri plazmadaki toplam protein seviyesini arttırmıştır. En yüksek plazma proteinleri, % 1 zencefil ekstresi ile beslenen grupta gözlenmiştir.

Shalaby vd. (2006), kloramfenikol antibiyotiğin ve sarımsağın (*Allium sativum*) Nil tilapyasında (*Oreochromis niloticus*) büyüme performansına, ölüm oranına ve immünostimülant etkisi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Deney grupları kontrol yemi ve farklı oranlarda sarımsak (10, 20, 30 ve 40 g/kg) ve kloramfenikol (15, 30 ve 45 mg/kg) içeren yemlerle beslenmişlerdir. 90 gün süren çalışma sonunda, balıkların son ağırlıkların ve spesifik büyüme oranının sarımsak ve kloramfenikol içeren yemlerle beslenen gruplarda kontrol grubunda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Balık etindeki kül miktarının 30 g/kg sarımsak ve 15 mg/kg kloramfenikol ile beslenen gruplarda yüksek, kontrol grubunda ise en düşük olduğu bildirilmiştir. 40 g sarımsak ve kloramfenikolün tüm seviyelerini içeren yemlerle beslenen balıkların eritrosit sayısı ve hemoglobin içerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu görülmüştür. MCV ve MCHC parametrelerinde gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Plazma glukozu yemdeki sarımsak seviyesi artıkça düşerken, kloramfenikol seviyesi artıkça da artmıştır. Toplam plazma protein içeriği 10, 20 ve 30g sarımsak gruplarında ve 30 ve 45 mg kloramfenikol gruplarında kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Plazmadaki aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz aktiviteleri sarımsak ve kloramfenikol seviyelerinin artmasına bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm deneme gruplarında su, kas ve bağırsaktaki toplam bakteri yükü ve koliform seviyeleriyle birlikte balıklardaki ölüm oranları da düşmüştür.

Rao vd. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada, Hint sazanı (*Catla catla*) bağışıklığın uyarılması için %0,5 oranında *Achyranthes aspera* tohumu içeren yemlerle beslenmiştir. 28 gün süren çalışma öncesi ve sonrası balıklara tavuk eritrositleriyle ip enjeksiyonu yapılmıştır. Hemaglütinasyon antikor titreleri ve serum globülin düzeyleri deneme grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Toplam serum proteaz inhibitörleri ve alfa1-antiproteaz nedeniyle anti-

tripsin aktivitesi de, besin takviyesi yapılan grupta kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($P<0,05$). Dalak ve böbreğin RNA / DNA oranı da test grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($P<0,05$) Bütün sonuçlar, *A. aspera*'nın hint sazanının bağışıklığını geliştirdiğini doğrulamıştır.

Punitha vd. (2008), *Cynodon dactylon, Piper longum, Phyllanthus niruri, Tridax procumbens* ve *Zingiber officinalis* gibi bazı bitki özütlerini juvenil *Epinephelus tauvina* balıklarının *Vibrio harveyi* enfeksiyonuna karşı spesifik olmayan bağışıklık üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Tüm bitki özütleri 100, 200, 400 ve 800 mg kg^{-1} konsantrasyonlarında balık yemiyle karıştırılmıştır. 60 gün süren çalışmanın her 20 günde bir balıklar *V. harveyi* ile enfekte edilmiş ve bağışıklık yanıtı incelenmiştir. Bitki özütleri içeren yemlerle beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla yaşama oranı, büyüme ve immun yanıtlarında artış olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ayrıca tüm deneme gruplarının fagositik aktivite ve albümin-globülin (A-G) oranı gibi immün parametreleri de önemli ölçüde geliştiği bildirilmiştir ($P<0,01$).

Dorucu vd. (2009), çörek otu tohumu ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarında immuno-hematolojik parametrelerin ve doğal olmayan bağışıklık yanıtlar üzerindeki etkilerini tespit etmişlerdir. Balıklar 1, 2, 5 ve %5 çörek otu tohumu içeren yemlerle 21 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda hematokrit, lökosit seviyesi NBT pozitif hücre aktivasyonu, serum protein ve total immunoglobulin seviyeleri belirlenmiştir. %1 ve %2,5 çörek otu içeren yemlere beslenen deneme gruplarında kontrol grubu ile bir farklılık tespit edilmezken ($P>0,05$) %5 içeren gruplarda hematokrit seviyelerinde artış gözlenmiştir ($P<0,05$). Serum protein ve total globülin seviyeleri her iki grupta kontrol grubuna kıyasla artmıştır. NBT pozitif hücre aktivasyonu ve lökosit seviyeleri denem gruplarında kontrol grubuna kıyasla değişim göstermemiştir ($P>0,05$).

Başka bir çalışmada, gökkuşağı alabalıklarında melatoninin, antioksidan sistem üzerinde özellikle eritrositlerindeki katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ile lipid peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit (MDA) üzerine etkileri incelenmiştir. Bu maksatla melatonine maruz

bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan örnekleri incelendiğinde, melatonin uygulamasının CAT, POD ve GR aktivitelerinin kayda değer oranda arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber melatonin uygulamasının MDA seviyesini önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir (Gülçin vd., 2009).

Immanuel vd. (2009), tilapya (*Oreochromis mossambicus*) balıklarında bermuda çimeni (*Cynodon dactylon*), kış kirazı (*Withania somnifera*), bel meyvesi (*Aegle marmelos*) ve zencefilin (*Zingiber officimale*) aseton ile muamele edilmiş ekstraktlarının büyümeye, spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve yaşama oranlarına etkisini incelemişlerdir. 45 gün süren araştırma sonunda dört bitki ekstraktıyla beslenen balıkların kontrol grubuna göre daha yüksek spesifik büyüme oranına, kan değerlerine (protein, albümin, globülin, cholesterol ve trigliserid) ve lizozim aktivitesine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca *Vibrio spp*. türü ile enfekte edilen deney balıklarının yaşama oranlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada, gökkuşağı alabalıklarında zencefilin (*Zingiber officinale*) immunostimulant olarak kullanımı ve *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı etkileri araştırılmıştır. balıklar kontrol yemi (0 g zencefil) ve 0,05, 0,1, 0,5 ve 1,0 g / 100 g zencefil içeren yemlerle 14 gün süresince beslenmişlerdir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, gruplardaki ölüm oranı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 0.5 g zencefil içeren yem grubuyla beslenen balıkların ölüm oranının %0 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, büyüme, yem dönüşüm oranı ve protein veriminin deneme gruplarında önemli bir artış olduğu belirtilmiştir. Nötrofil, makrofaj ve lenfosit sayısında proliferasyon ve kontrollerle karşılaştırıldığında tüm deneme gruplarında arttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde tüm deneme gruplarında fagositik aktivite, solunum patlaması, lizozim, bakterisidal ve anti-proteaz aktivitelerinde de artış olduğu bildirilmiştir. Gruplar arasında MCV, MCH ve MCHC değerleri arasında anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir. Fakat zencefil içeren yemlerle beslenen balıkların NBT ve lizozim aktivitelerinin önemli ölçüde etkilendiği tespit edilmiştir (Nya ve Austin, 2009a).

Nya ve Austin (2009b), yapmış oldukları bir başka çalışmada gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine sarımsak (*Allium sativum*) (her 100 g'a 0, 0,05, 0,1 0,5 ve 1 g) ilavesinin *Aeromonas hydrophila*'ya karşı bağışıklık yanıtını incelemişlerdir. Çalışma sonunda sarımsak ilavesinin olduğu tüm gruplarda balıkların büyüme performansı, yemden yararlanması, protein etkinliğini, yaşama oranları ve kan parametrelerinin (eritrosit sayısı, lökosit sayısı, hematoktiti, fagositik aktivite, NBT ve lizozim değerleri) arttığı tespit edilmiştir.

Li d (2010), karbamazepin içeren ($1.0\ \mu g\ l^{-1}$, $0.2\ mg\ l^{-1}$ or $2.0\ mg\ l^{-1}$) ortamlarda, farmotik kalıntıların çevreye verdiği zararları belirlemek için model olarak tasarlanan çalışmalarında, gökkuşağı alabalıklarını farklı sürelerde (0, 60 ve 120) maruz bırakarak antioksidan (SOD, GR ve GPX enzim aktivitelerini) sevilerinde meydana gelen değişimleri ve lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. Çalışma sonunda, balıkların oksidatif stresininin arttığını, glutatyon enzimlerindeki düşüşlerden tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, gökkuşağı alabalıklarının özellikle ilaç atıklarının çevreye verdiği zararları tespit etmede model organizma olarak kullanılabileceği kanaatine varmışlardır.

Thirunavukkarasu vd. (2010), çalışmalarında, beş farklı kıyı bitkisinin (*Citrullus colocynthis*, *Suaeda monica*, *Suaeda maritime*, *Ipomea pes caprae* ve *Sesuvium portulcasturm*) ethanol özütlerinin antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre, SOD aktivitesinin *Suaeda maritime*'den elde dilen özütlerde azalma gösterirken, *Citrullus colcynthis* türünden elde edilen özütlerle beslenen balıklarda artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tilapia balıklarının (*Oreochromis niloticus*) beslenmesinde ekinezya (1 ppt) ve sarımsak (%3) ilavesinin immunostimulant etkisinin araştırıldığı dört ay süren bir çalışma sonunda balıkların ağırlık kazanımı, spesifik büyüme oranları ve yaşama oranları tüm deneme gruplarında kontrol grubundan daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Nötrofil ve hematokrit değerleri her iki deneme grubunda da control grubuna kıyasla bir artış göstermiştir. 1. ve 2. ay örneklemelerinde lenfosit sayıları ekinezya içeren yemlerle beslenen grupta anlamlı şekilde artmıştır ($P<0,004$).

Maliyet avantajı analizleri de dahil tüm veriler değerlendirildiğinde, ekinezya ve sarımsağın etkilerinin balıklarda olumlu yönde olduğu ve immunostimulant olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (Aly ve Mohamed, 2010).

Banaee vd. (2011), silimarinin (*Silybum marianum*) ekstraktının gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) biyokimyasal kan parametreleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Balıklar 28 gün boyunca 0 (kontrol), 100, 400 ve 800 mg/kg silimarinin içeren yemlerle beslenmişlerdir. Çalışmanın 7, 14 ve 28. günlerinde plazma alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH), alkalin fosfataz (ALP), kreatin kinaz (CK), glukoz, toplam protein, kreatinin, trigliserit, kolesterol, üre, ürik asit ve karaciğerdeki hücresel toplam antioksidan ve protein içeriği ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, balıklara oral olarak silimarinin uygulamasının plazmadaki glukoz ve kolesterol seviyelerini azaltırken, toplam protein ve globülin konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir ($P<0,05$). Ayrıca silimarinin, balıkların hücresel membran yapısını stabilize etmiş ve AST, ALT, ALP seviyelerini de düzenlemiştir. Her 1 kg yem için 400 mg silimarinin kullanımının, balıkların kanındaki biyokimyasal ve klinik parametreleri üzerinde hiçbir yan etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 800 mg/kg silimarinin oral uygulamasının, balığın kan biyokimyasal parametrelerinde sitotoksisite ve modifikasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir.

Lactuca indica bitkisinin ektsraktının *Epinephelus bruneus* balıklarında yemine (%1 ve %2 oranında yem ilave) spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve hastalıklara karşı direnci üzerine etkileri *(Streptococcus iniae)* incelenmiştir. Araştırma sonucunda %1 ve %2 oranında yeme ilave edilen bitki karışımın balıkların NBT seviyelerinin ve fagostik aktivitesinin kontrol grubuna göre geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca bitki özütünün iki dozunun da spesifik olmayan bağışıklık sistemi ve hastalıklara karşı direnç üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Harikrishnan vd., 2011a).

Giannenas vd. 2012 yaptıkları çalışmada karvakrolca zengin *Thymus vulgaris* (12 g/kg) ve timolca zengin simen (6 g/kg) fitogenik yem katkılarının gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, bağırsak mikrobiyotası ve antioksidan yanıtları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. 30 yetişkin gökkuşağı alabalığı (113±10,4 g ortalama ağırlık) 8 hafta boyunca doyuncaya kadar beslenmişlerdir. Çalışmanın 0 ve 5. Günlerin balıkların antioksidan durumları glutatyon redüktas, gulatyon-S- transferz ve malondialdehit yanıtları belirlenerek tespit edilmiştir. Lizozim, nitrikoksit, total komplement ve katalaz aktiviteleri kan serumunda belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre bitki özütleri ile beslenen gruplarda ağırlık kazanımında bir değişiklik gözlenmezken yem değerlendirme kontrol grubuna kıyasla artmıştır ($P<0,05$). Total aerobik sayısı fitogenik ürünlere beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla azalırken, laktobasil yükü timol verilen gruplarda karvakrol ve kontrol gruplarına kıyasla azalmıştır. Balık etlerindeki malondialdehit formasyonu dolapta bekletilen 5. Günde her iiki fitogenik bitki grubunda azalmıştır ($P<0,05$). Lizozim seviyeleri ve total komplement konsantrasyonu ve ayrıca katalaz aktivitesi pitogenik bitki ile beslenen grupalrda özelllikle karvakrol grubunda kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Timol verilen gruplarda nitritoksit sevileri kontrol grubuna kıyasla azalmıştır. Sonuç olarak yeme eklenen fitogenik yem katkıları yem dönüşüm oranlarında düşüş ve antioksidan yanıtlarda artış göstermiştir. Ayrıca total aneroblardaki oranlar ve nazı doğal bağışıklık yanıtlarda artış gözlenmiştir.

Lupin (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera indica*) ve ısırgan otunun (*Urtica dioica*) %1 ve %2 oranlarında gökkuşağı alabalıkları yemlerinin eklendiği çalışmada balıkların pepsin aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği bildirilmiştir. Ancak deney grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lipaz ve amilaz aktivitelerinde herhangi bir fark görülmediği tespit edilmiştir (Awad vd., 2012).

Su teresi (*Nasturtium nasturtium*) özütü ile gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık yanıtlarında meydana getirdiği değişimlerinin incelendiği başka bir çalışmada, balıklar yirmi bir gün boyunca %0,1 ve %1 su teresi özütü içeren yemlerle beslenmişlerdir. Kan parametrelerinden kırmız kan hücresi (RBC), beyaz

kan hücresi sayısı (WBC) hematokrit, hmoglobin, kırmızı kan hücreleri indeksi belirlenmiştir. Buna ek olarak çalışma sonunda bağışıklık parametrelerinden peroksidaz, lizozim ve komplement aktivitesi ile total protein, albümin ve globülin seviyeleri belirlenmiştir. Sonuçlara göre %1 su teresi içeren yemlere beslene alabalıkların hematolojik ve immünolojik parametrelerinden hemoglobin, MCHC, lizozim ve komplment aktivitesi, toplam protein ve gloobulin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği rapor edilmiştir (Asadi vd., 2012).

Kızak ve Çelik (2012), Çoruh alabalığı (*Salmo coruhensis*) üzerinde farklı oranlarda dozlarda (0, 10, 20 ve 40 g/kg yem) farklı sürelerde (2 ay ve 3 ay) kefir ile beslendikleri çalışmalarında kan ve karaciğer dokularındaki antioksidan aktivitelerde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda elde ettikleri verilere göre, yaşama oranları gruplar arasında farklılık göstermiştir. Spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranı ve ayrıca kondisyon faktörü değerlendirildiğinde doza bağlı olarak gruplara arasında bir farklılık tespit edilememiştir. Bunula birlikte 30. Gün verileri değerlendirildiğinde 20 ve 40 gr gruplarında özellikle total oksidan durum ve toplam antioksidan durumun azaldığını tespit etmişlerdir. Karaciğer MDA seviyeleri kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir. GPX enzim aktivitesi tüm gruplarda artış gösterirken CAT aktivitesi azalmıştır. GSH (Glutatyon) düzeyi 2 aylık gruplarda değişiklik göstermezken, 3 aylık gruplarda artış göstermiştir.

Bilen ve Bilen (2012), tetra (*Cotinus coggygria*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin kültürü yapılan alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme oranı (SBO), yem değerlendirme oranı (YDO) ve yaşama oranları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Gökkuşağı alabalıkları kontrol grubu dahil olmak üzere %1 ve %1,5 tetra ile %1 ve %1,5 defne içeren beş farklı deneme yemi ile 8 hafta süreyle beslendiği çalışma sonunda balıkların ortalama ağırlıkları, yaşama oranları, spesifik büyüme oranları ve yem değerlendirme oranları arasında kontrol grubuyla istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak, tetra ve defnenin alabalıkların büyüme performansı ve yemden yararlanma üzerine etkisinin önemsiz olduğunu saptamışlardır.

Silimarinin (*Silybum marianum*) ekstraktının gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) bazı bağışıklık parametreleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, balıklar 30 gün boyunca 1 kg yem başına 0.0, 0.1, 0.4 ve 0.8 g silimarinin ekstraktı içeren yemlerle beslenmişlerdir. Kırmızı kan hücresi (RBC), beyaz kan hücresi sayımı (WBC), hematokrit (Hct), hemoglobin (Hb), diferansiyel lökosit gibi hematolojik parametreler ve peroksidaz, lizozim ve kompleman aktiviteleri gibi immünolojik parametreler, total protein, albumin ve globulin düzeyleri çalışmanın 7, 15 ve 30. günlerinde ölçülmüştür. Sonuçlar, 15 ila 30 günlük deney periyodundan sonra balıkta silimarinin oral yolla uygulanmasının, kontrol grubuna kıyasla, lizozim ve komplоment aktivite, toplam protein ve globülin seviyeleri dahil olmak üzere hematolojik ve immünolojik parametreleri arttırabileceğini göstermiştir (Ahmadi vd., 2012).

Awad vd. (2013), Nigella sativa tohum yağları ısırgan otu (Kuercetin) içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık yanıtlarda meydan gelen değişimleri incelemişlerdir. Bu maksatla gökkuşağı alabalıkları %0,1, %0,5 ve % 1 Kuercetin ve % 2, ve %3 *N. sativa* yağı içeren yemlerle beslemişlerdir. Çalışma sonunda balıkalrın sıvısal bağışıklık yanıtlarından lizozim, antiproteas, total protein, myeloperoksidaz, baktrial aktivite ve IgM titreleri belirlenmiştir. Denem guplarında tüm parametrelerin kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Yüksek dozla beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla çok yüksek artış gözlenmiştir ($P<0,05$). Bu yüzden, çalışma sonuçlarına göre ilgli içerikler alabalıkların beslenmesinin bağışıklık parametreleri olumlu etkileyeceği sonucuna varılmıştır.

Keleştemur ve Özdemir (2013), gökkuşağı alabalıklarını farklı oranlarda vitamin E ve A içeren yemlerle 12 hafta boyunca beslemişler ve serum antioksidan aktivitesinde meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. Çalışmada farklı oranlarda vitamin içerikleri ile beslenen alabalık yavrularının A ve E vitami içeren yemlerle beslenen gruplarda özellikle strese maruz bırakılmış grupta, MDA seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir. 30 ve 0 mg/kg E vitamini içeren gruplarda SOD seviyelerinde bir artış olduğu bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada farklı oranlarda (%0, %3, %6 ve %12) yeme eklenen ısırgan otunun (*Urtica dioica*) Avrupa Mersin balığında (*Huso huso*) kan değerlerinde ve immun sisteminde meydana getirdiği değişimleri incelenmiştir. 8 hafta süren çalışma sonunda %3 grubunda diğer gruplara oranla lizozim aktivitelerinin ve kırmızı kan hücrelerinin (RBC) arttığı ve %12 ve %6 gruplarının kontrol grubuna göre daha iyi kan parametrelerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ısırgan otu Avrupa Mersin balıklarının bağışık sisteminde iyileştirici bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Binaii vd., 2014).

Rutilus frisii kutum balıklarının diyetlerine nane (*Mentha piperita* L.) bitkisinin %0, %1, %2 ve %3 oranlarında ilavesinin büyüme performansına, vücut kompozisyonuna, kan parametrelerine ve immun sistemine etkileri araştırılmıştır. Nane bitkisiyle zenginleştirilmiş yemlerle beslenen balıkların kontrol grubuyla kıyaslandığında büyüme performansının arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte balıkların immun sistemi ve kan parametreleri de kontrol grubundan daha iyi sonuçlar göstererek, nane bitkisinin kullanımını teşvik edilmesi gerektiği rapor edilmiştir (Adel vd., 2015).

Sönmez vd. (2015), adaçayı, nane ve kekik bitkilerinin yağlarını (500, 1000 ve 1500 mg/kg) içeren yemlerle 60 gün boyunca besledikleri gökkuşağı alabalığı yavrularının antioksidan sisteminde meydan gelen değişimleri tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda kontrol grubuna göre SOD, G6PDH ve GPX aktiviteleri tüm deneme gruplarında artış göstermiştir. Fakat, deneme gruplarının CAT, GST ve GR enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre azalmıştır. Benzer şekilde lipit peroksidasyonunda da azalma gözlenmiştir. 500 mg/kg oranlarında kullanılan adaçayı ve kekik yağlarının hem büyüme açısından hem de antioksidan sistemi açısından verimli olacağı değerlendirilmiştir. Çalışma verilerine göre balıkların büyüme performansları adaçayı ve kekik yağı içeren yemlerle beslenen gruplarda yükselirken nane yağı ile beslenen gruplarda ise azalma gözlenmiştir.

Şahan vd. (2016), nil tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarını 3 ay boyunca %0,1, %0,5 ve %1 zencefil (*Zingiber officinale*) içeren yemlerle beslemişler ve balıklarının büyüme parametreleri ve oksidatif stres seviyelerini araştırmışlardır. Çalışma

sonunda karaciğer, solungaç ve bağırsak dokularındaki SOD ve CAT enzim aktiviteleri %0,5 ve %1,0'lık zencefil gruplarında kontrol grubunda göre kıyasla artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Büyüme performansı açısından gruplar arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, 10 hafta süresince nil tilapia balıklarını (*Oreochromis niloticus*) selenyum (4 mg/kg yem) ve E vitamin (200 mg/kg yem) içeren yemlerle beslemişler ve SOD, GSH ve MAD seviyesinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda SOD ve GCH seviyeleri azalırken MDA seviyelerinin arttığı belirlenmiştir (Elgaml vd., 2015).

Yonar (2015), triklorfon (11, 22 mg/l) ve propolis (10 mg/kg canlı ağırlık) ile simultane muameleye tabi tuttukları sazan balıklarının antioksidan sisteminde oluşturduğu etkileri incelemişlerdir. Balıkların solungaç, karaciğer ve böbreklerden örnek alarak MDA, GSH, SOD, CAT ve GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimleri belirlemişlerdir. Çalışma sonunda triklorform uygulamasının sazan balıklarında MDA seviyelerinde azalmaya neden olurken, GSH, SOD, CAT ve GPX aktivitelerinde artışlar meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Japon levreklerinde (*Lateolabrax japonicus*) magnezyum ve E vitamininin, serum biyokimyası üzerine ve hepatik antioksidan kapasitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada balıkları farklı dozlarda magnezyum (0, 520 ve 1570 mg/kg) ve E vitamini (0, 60 ve 200 mg/kg) içeren yemlerle 2 ay boyunca beslemişlerdir. Çalışma sonunda 520 mg/kg magnezyum ve 60 mg/kg E vitamini içeren yemlerle beslenen balıkların en iyi büyüme performansına ve kas lipit içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. SOD, CAT ve GPX aktivitelerinin en yüksek seviyelerine 520 mg/kg magnezyum ve 60 mg/kg E vitamini gruplarında ulaştığı rapor edilmiştir. Fakat, aynı gruplarda MDA seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir (Zhang vd., 2015).

Özlüer-Hunt vd. (2016), çalışmalarında, gökkuşağı alabalıklarını %20, %40 ve %60 oranlarında maya nükleotidi proteini ile hazırladıkları yemlerle beslemişler ve bağışıklık yanıt, kan parametreleri ve antioksidan sistem üzerindeki değişimleri

incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre SOD ve CAT aktivitelerinde herhangi bir değişim gözlenmezken, MDA sevileri uygulama yapılan tüm gruplarda azalma göstermiştir. Lizozim, myeloperoksidaz ve nitrit oksit seviyeleri de kayda değer oranda artmıştır.

Amer (2016), 75 gün boyunca tilapia balıklarını (*Oreochromis niloticus*), %0, 0,5, 1 ve %1,5 oranında *Spirulina platensis* içeren yemlerle beslediği çalışmasında balıkların büyüme performansları ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Çalışma sonuçlarına göre, %1 *S. platensis* ile beslenen balıkların FCR değerlerinde azalma gözlenirken, ağırlık kazanımları artmıştır. Benzer şekilde *S. platensis* ile beslenen gruplarda, GR artarken MDA seviyelerinde azalma olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde *S. platensis* ile beslenen grupların CAT aktivitelerinde de artış gözlenmiştir.

Şahan vd. (2017), gökkuşağı alabalıklarını %10, 20 ve 30 oranında kuşburnu içeren yemlerle beslemiş ve çalışma sonunda balıkların karaciğer antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimleri incelenmiştir. % 20 ve % 30 kuşburnu içeren yemlerle beslenen balıkların SOD ve CAT değerlerinde artış gözlenirken MDA seviyelerinde bir değişiklik tespit edilememiştir.

Bahi vd. (2017), çipura (*Sparus aurata*) yemlerine çemen otunun hem tek hem de probiyotiklerle beraber kullanımın büyüme performansına, bağışıklık sistemine ve gen ekspresyonlarına etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre çemen otu ilave edilmiş yemlerle beslenen çipura balıklarının büyüme performansının ve bağışıklık yanıtlarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu bildirmişlerdir

Zhao vd. (2017), japon balığının (*Carassius auratus*), böbrek ve dalaklarındaki antioksidan savunma mekanizmasında meydana gelen değişimleri hipoksik koşullar altında incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar 1 ve 2 mg/l oksijen içeren su içerisinde bekletilmiştir. . Uygulamaya maruz bırakılan balıklarda MDA seviyesinin önemli derecede arttığı belirlenirken, oksijen seviyesinin 4 mg/l olduğu ortamda balıkların böbreklerdeki SOD ve CAT seviyeleri artarken dalakta GPX ve CAT sevileri artış

göstermiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hipoksik koşullarda tutulan japon balıklarının antioksidan sisteminin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir.

3. YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Balık Materyali

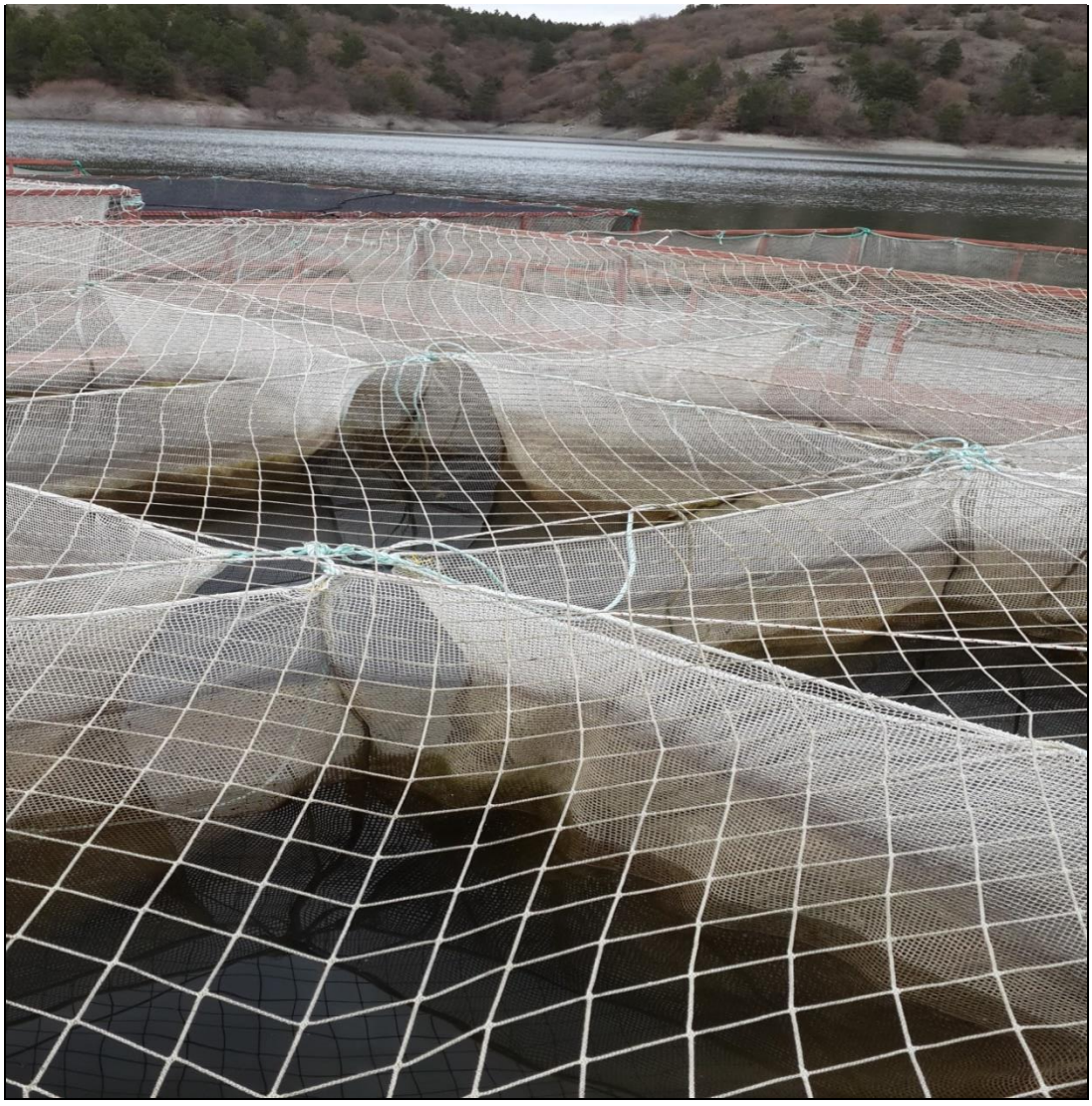
Deneyde, 2017 yılında Germeçtepe İç Su ve Deniz Balıkları Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretimi yapılan ve ortalama ağırlıkları 12,28±0,02 g olan toplam 480 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W, 1792) (Şekil 3.1.) yavrusu kullanılmıştır. Araştırma biriminin yavru büyütme kafeslerinden rastgele seçilen balıklardan 12 adeti 1,5x1,5 m ebatlarındaki ağ kafeslere 40'ar adet yerleştirilmiştir.



Fotoğraf 3.1. Denemede kullanılan (*Oncorhynchus mykiss*) gökkuşağı alabalığı türü

3.1.2. Deneme Yeri

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su ve Deniz Balıkları Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Germeçtepe Baraj Göletinde (Şekil 3.2.) toplam 75 günde tamamlanmıştır.



Fotoğraf 3.2. Denemenin yapıldığı kafes sistemi

3.1.3. Şahtere Otu (*Fumaria officinalis*)

Çalışmada, gökkuşağı alabalıklarının antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için şahtere otu (*Fumaria officinalis*) **(**Şekil 3.3.) yaprakları

kullanılmıştır. Bu bitkiler Kastamonu İli içerisinde yer alan aktarlardan temin edilmiştir ve Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'na getirilerek gölge ortamda tüm nemini kaybetmesi için kurutulmuştur. Kurutulan bitki yaprakları yüksek hızlı bitki değirmeninde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Toz aline getirilen bitki saplarının sulu methanolik özütü çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016b).



Fotoğraf 3.3. Denemede özütü kullanılan şahtere otu (*Fumaria officinalis*)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması

Bu çalışmada kullanılan Şahtere Otu (*Fumaria officinalis*) yaprakları daha önce belirtildiği üzere Kastamonu İli içerisinde yer alan aktarlardan temin edilmiştir. Toz haline getirilmiş bitkilerin sulu methanolik özütleri çıkarılma işleminde (Bilen, vd., 2016b) (Şekil 3.4.) kısaca, % 40'lık methanol hazırlanmış ve 1 L karışım içerisine 100 g bitki tozu eklenmiş ve güneş görmeyen yerde günde iki defa ters yüz edilerek üç gün boyunca beklenmiştir. Daha sonra bu örnekler Whatman filtre kâğıdından (47

mm) geçirilerek iri partiküller ayrılmıştır. Süzülmüş sıvı kısım vakum evaporatöre transfer edilmiş ve burada tüm sıvı kısım giderilinceye kadar 75 C°'de bekletilmiştir (Şekil 3.4.). Çalışma sonunda özüt miktarını net olarak belirlemek için 50 g saf su 50 C°'de ısıtılmış, evaporatör balonu içinde yer alan özüte eklenmiş ve çıkan örnek tartılarak toplam özüt miktarı belirlenmiştir. Daha sonra bu özütler kullanılacak doza göre fosfat bufer (PBS) içerisinde hazırlanmış ve çalışmada kullanılıncaya kadar –20 C°'de saklanmış, çalışma müddetince de +4 C°'de tutulmuştur.



Fotoğraf 3.4. Toz haline getirilmiş bitkilerin sulu methanolik özütleri çıkarılma işleminde kullanılan evaporatör cihazı

3.2.2. Balıklardaki Büyüme Performansının Hesaplanması

Balıkların canlı ağırlıkları, deneme başlangıcında ve sonunda tüm deneme gruplarında balıklara tek tek anestezi uygulandıktan sonra 0,1 g'a duyarlı hassas terazi ile tartılarak belirlenmiştir.

Balıkların spesifik büyüme oranı aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

SBO= 100 x (Ln Wf – Ln Wi / t)

SBO : Spesifik büyüme oranı

Wf : Periyot sonundaki bireysel ağırlık

Wi : Periyot başındaki bireysel ağırlık

t : Zaman (gün olarak)

Deney grupları için periyodik olarak tüketilen yem miktarları ayrı ayrı hesaplanarak bulunmuştur. Her periyotta tüketilen toplam yem miktarı tanktaki balık sayısına bölünerek ortalama bireysel yem tüketim miktarı hesaplanmıştır. Yemden yararlanma oranı;

YDO = Periyot süresince tüketilen yem miktarı (g) / Periyottaki CAA (g)

YDO : Yemden yararlanma oranı

CAA : Canlı ağırlık artışı

şeklinde hesaplanmıştır.

3.2.3. İmmunolojik Analizler

3.2.3.1. Oksidatif Radikal Salınımı (ORS)

Süperoksit radikal salınımları ORS yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Siwicki ve Anderson, 1993). Kısaca, balıklardan alınan kan örneklerinden 0,1 ml örnek % 0,2 ORS içeren 0,1 ml solüsyon ile karıştırılmıştır ve karışım 25 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Karışım içerisinden 50 µl süspansiyon alınmış ve bunun üzerine 1,0 ml N,N-dimethil formamid eklenmiş ve karışım 3000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra bu karışım ayrı bir tüp içerisine alınmış ve 540 nm optik yoğunlukta N,N-dimethil formamid kör örneğine karşı okunmuştur. Sonuçlar 4 ile çarpılarak tespit edilmiştir.

3.2.3.2. Lizozim Aktivitesi (LYS)

Plazmadaki lizozim aktivitesi Ellis (1990)'in türbidimetrik yöntemi değiştirilerek belirlenmiştir. Buna göre 100 µl *Micrococcus lysodeikticus* süspansiyonu (0,02 g *Micrococcus lysodeikticus* bakteri hücresi, Sigma-Aldrich, 100 ml fosfat tamponlu tuz çözeltisi içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır) 10 µl balık plazmasıyla 2 tekerrürlü olacak şekilde karıştırılmıştır. 530 nm'deki absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler 0 ve 4. dakikalarda ölçülmüştür.

3.2.3.3. Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi

Myeloperoksidaz aktivitesi Sahoo vd., (2005)'nın yönteminde ufak değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre numunelerden 10'ar µl serum alınarak kuyucuklara 2 tekerrürlü olarak aktarılmıştır. Ca^{+2} veya Mg^{+2} içermeyen Hank'in Denge Tuz Çözeltisi (HBSS)'nden 125 µl kuyucuklara eklenmiştir. Ardından 35 µl TMB substrat solüsyonu (1 tablet 3,3 ', 5,5'-Tetrametilbenzidin Dihidroklorür, Sigma-Aldrich, 10 ml 0.05 M fosfat-sitrat tamponu içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır) ve 35 µl 5 mM taze hidrojen peroksit (Sigma-Aldrich) ilave edilmiştir. Absorbans değerlerindeki değişimler 0 ve 4.5'inci dakikalarda 450 nm'de kaydedilmiştir. MPO aktivitesi IU/ml olarak verilmiştir. IU: 0.5 ml'lik reaksiyon karışımındaki aborbans değerininin dakikada 0.001 artması için gereken enzim miktarı olarak tanımlanır (ΔA 450 / min / ml).

3.2.4. Hematolojik Analizler

Çalışmanın her 15. gününde hematolojik olarak meydana gelen değişimler incelenmiştir.

3.2.4.1. Eritrosit Sayımı

Kan örneği eritrosit pipetine alınarak 1/200 oranında Dacie solüsyonu ile seyreltilerek ve toplam eritrosit sayısı Thoma lamı kullanılarak hesaplanmıştır (Blaxhall ve Daisley 1973).

3.2.4.2. Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi

Hematokritin ölçülmesinde mikrohematokrit yöntem kullanılacaktır. Hematokrit tüpleri kan ile doldurulacak ve hematokrit santrifüjde 10500 *g* devirde 5 dk santrifüj edilecektir. Sonrasında skala kullanılarak % hematokrit değer ölçülecektir (Blaxhall ve Daisley 1973).

3.2.4.3. Hemoglobin Miktarının Tayini

Hemoglobin miktarının tayini için cyanomethemoglobin metodundan yararlanılacaktır (Blaxhall ve Daisley 1973) Bu amaçla 20 µl kan örneği 4 ml Drapkin solüsyonu içerisine konulacaktır. Devamında 10 dakikalık inkübasyondan sonra karışım 540 nm'de okunacak ve sonuçlar g/dl olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.4. Eritrosit indeksleri

3.2.4.4.1 Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis vd., 2006).

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı Kan Hücre Sayısı

MCV (fl)= Hct x 10/RBC(106µL-1)

3.2.4.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis vd., 2006).

Hb: Hemoglobin

MCH (pg)= [Hb (g dL-1) x 10]/RBC(106/mm-1)

3.2.4.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis vd., 2006).

MCHC (g-1) = [Hb (g dL-1) x10]/Hct

3.2.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Antioksidan enzim analizleri belirlemek için balıkların karaciğer örnekleri kullanılmıştır. Balıklar örnekleme dönemlerinde yüksek dozda karanfil yağı ile bayıltılmışlardı. Bu balıklardan karaciğer ve kan örnekleri alınmıştır. Karaciğer örnekleri ultra saf suda yıkanmış ve sıvı azot tankına ependorf tüpler içinde aktarılarak dondurulmuştur. Bu örnekler laboratuvara getirilmiş ve burada -80°C'de saklanmıştır. Karaciğer dokularının analizlere hazırlanması için 0,1 g ağırlığında parçalara bölünmüş ve üzerlerine 1 ml EDTA'lı fosfat buffer eklenerek homojenizatörde parçalanmıştır. İyice parçalanan dokular 16000 *g*'de 45 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan süpernatantlar analizler için kullanılmıştır.

3.2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

SOD analizi SIGMA 19160-1KT-F SOD Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. SOD enzimi süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonla katalizler. Bu bağlamda çalışmada, 20 µl örnek serumu 20 µl ultra distile su ile karıştırılmıştır. Bunun üzerine 200 µl çalışma solüsyonu eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra blank solüsyonu olarak hazırlanan çukurlara 20 µl dilisyon sıvısı eklenmiştir. Bunların üzerine 20 µl enzim çalışma solüsyonu eklendikten sonra 37 C°'de 20 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar 450 nm dalga boyunda okunmuş ve SOD aktivitesi aşağıdaki fromül kullanılarak hesaplanmıştır.

SOD aktivitesi={[(Ablank1-Ablank3)-(Aörnek-Ablank2)]/(Ablank1-Ablank3)}x100 (3.1)

3.2.5.2. Katalaz (CAT) Aktivitesi

Katalaz analizi Cayman 707002 kodlu Catalase Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, doku örnekleri PBS solüsyonu ile (pH 7,4) yıkanmıştır. Dokular 50mM potasyum fosfat ve 1 mMEDTA içeren solüsyonda homojenize edilmiştir. Homojenize dokular 10000 g'de 15 dakika + 4 C°'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası serum kısmı ayrılmış ve çalışmada kullanılmıştır. Kit içerisinde 10 µl katalaz formaldehit standartı ile 9,99 ml örnek sıvısı karıştırılmış ve 4,25 mM formaldehit stok solüsyonu oluşturulmuştur. Kuyucuklara 100 µl yöntem solüsyonu, 30 µl methanol, ve 20 µl standart eklenmiştir. Pozitif gruba standart yerine katalaz konulmuştur. Örek çukurlarında ise standart yerine çalışılan örnek eklenmiştir. Örnekler 20 dakika inkübe edilmiştir. Tüm çukura, sonrasında, 30 µl potasyum hidroksit ve 30 µl katalaz purpald (707017) eklenmiştir. Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bunu üzerine 10 µl katalaz potasyum periodat eklenmiş ve 5 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar 540 nm de okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre değerlendirilmiştir.

CAT aktivitesi= µM Örnek/20 dakika x seyreltme miktarı (nmol/min/ml)

3.2.5.3. Glutatyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi

Glutatyon peroksidaz analizi Cayman 703102 kodlu Glutathione Peroxidase Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, doku örnekleri katalaz aktivitesinde olduğu gibi hazırlanmıştır. Toplam 190 µl örnek içeren kutucuklara GPx eklenmiştir. 25 C°'de yürütülen işlemlerin sonunda örnekler 340 nm dalga boyunda okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$\Delta A_{340}/dk = \left| A_{340}\ (Zaman2) - A_{340}\ (Zaman1) \right| / Zaman2 - Zaman1$

GPX aktivitesi=ΔA_{340}/dk/0,00373μM^{-1} x0,19 ml/0,02ml x seyreltme nmol/dk/ml

3.2.5.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi

SPI-BIO 0112 kodlu G6PDH activity Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Doku homojenatları katalaz aktivitesinde olduğu gibi hazırlanmıştır. 96'lık çukurlara 150 µl yöntem sıvısı konulmuştur. G6PDH pozitif kontrol için ilgili çukurlara 10 µl kofaktör, 10 µl enzim karışımı ve pozitif kontrol eklenmiştir. Örnek çukurlarına ise pozitif kontrol yerine 10 µl örnek serumu eklenmiştir. Örnekler 37 C°'de 20 dakika inkübe edilmiş 530-540 nm ölçüm yapılmış ve emisyon ise 585-595 nm de belirlenmiştir. Sonuçlar aşağıdaki formüllere göre belirlenmiştir.

NADPH(µM)=CSF-(y kesim)/NADPH eğim (CF/µM) (3.5)

G6PDH(nmol/dk/ml)=(NADPH(µM)/20 dk)x 2x seyreltme (3.6)

3.2.5.5. Lipit Peroksidasyonu

Cayman 10009055 kodlu TBARS Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Dokuları hazırlamak için 25 mg doku ile 250 µl RIPA sıvısı karıştırılmıştır. 1600 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Serum analiz için ayrılmıştır. 100 µl örnek üzerine 100 µl SDS solüsyonu eklenmiştir. Bunları üzerine 4 ml renk aktivatörü eklenmiştir. Örnekler kaynatılmıştır. Daha sonra buz içine transfer edilerek 10 dakika bekletilmiştir. 10 dakika sonunda 1600 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında beklenmiştir. Örnekler 530-540 nm'de okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

MDA(µM)= ((Doğrulama abs)-(ykesim))/Eğim

3.2.6. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar iki hafta boyunca aynı tip yemle beslenerek adaptasyon sürecine alınmış ve çalışma başlamadan önce ölen balıklar deneme ortamından uzaklaştırılmıştır ve yerine aynı gramajda yenileri eklenmiştir. Balıklar çalışmada kullanılan 12 adet kafese 40'ar adet stoklanmıştır. Sahtere sulu methanolik özütü çıkarılmış ve yemlere spreyleme yöntemiyle %0,1, %0,2 ve %0,3 oranlarında

katılmıştır. Balıklar çalışma süresinde doyana kadar günde iki defa beslenmişlerdir. Çalışmanın 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerinde balıkların karaciğer, beyaz kas doku örnekleri ve buna ek olarak kan örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde immünolojik analizler ve hematolojik değişimler, doku örneklerinden ise antioksidan aktivite tespitleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Deneyde elde edilen bütün verilerin ortalama ve standart sapma (±Std) değerleri Microsoft Office Excel programı yardımıyla hesaplamıştır. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 22 paket programı kullanılmıştır. Veriler ANOVA testine tabi tutulduktan sonra gruplar arasındaki farklılıklar % 95 güven aralığı içeresinde Fisher LSD testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Büyüme Performansında Meydana Gelen Değişimler

Araştırma 75 gün sürmüş ve çalışma sonucunda balıkların büyüme performanslarında meydana gelen değişimler Tablo 4.1'de ifade edilmiştir. Çalışma başlangıcında ortalama ağırlıkları yaklaşık 12 g olan gökkuşağı alabalıkları 75 gün boyunca şahtere otu sulu methanolik özütü içeren yemlerle beslendikten sonra çalışma sonu olan 75. günde elde edilen büyüme performansı verilerine göre en yüksek ağırlık artışı FO3 ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında gözlenmiştir.

Tablo 4.1. *Şahtere otu (Fumaria officinalis) methanolik özütü ile 75 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler*

	Başlangıç Ağırlığı (g)	**Bitiş Ağırlığı (g)**	**Ağırlık Kazanımı (%)**	**SBO**	**YDO**
Kontrol	12,45±0,2	69,14±0,3^{b}	454,94±7,86^{b}	2,28±0,01^{b}	1,4±0,007
FO1	12,34±0,16	65,10±0,5^{b}	427,99±8,96^{b}	2,22±0,02^{b}	1,4±0,01
FO2	12,10±0,04	68,78±0,32^{b}	468,89±38,42^{b}	2,31±0,09^{b}	1,43±0,03
FO3	12,23±0,07	87,88±0,2^{a}	618,18±44,62^{a}	2,62±0,08^{a}	1,35±0,3

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. KS: Kiraz sapı; SBO: Spesifik Büyüme Oranı; YDO: Yem değerlendirme oranı. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılıkları ifade eder. Veriler ± Standart Hata olarak ifade edilmiştir.

Tablo 4.1'de görüldüğü üzere, başlangıçta ortalama ağırlıkları 12,26±0,14 g olan gökkuşağı alabalıkları çalışma sonunda sırasıyla kontrol grubunda 69,14±0,3, FO1 grubunda 65,10±0,5, FO2 grubunda 68,78±0,32 ve FO3 grubunda 87,88±0,2 g olarak tespit edilmiştir. Bu bağlamda en yüksek ağırlık FO3 grubunda tespit edilmiş bunu sırasıyla kontrol, FO2 ve FO1 grupları takip etmişlerdir. Kontrol, FO2 ve FO1 grupları arasında istatistiksel yönden bir farklılık gözlenmezken bunlardan farklı olarak FO3 grubu son ağırlığı tüm bu gruplarınkinde kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir.

Grupların ağırlık kazanımları (%) değerlendirildiğinde grupların son ağırlık değerlendirmesi ile aynı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Buna göre en yüksek ağırlık kazanımı (%), 618,18±4,62 ile FO3 grubunda gözlenmiştir (P<0,05). Ağırlıkça büyüme oranı sırasıyla FO2 grubunda 468,89±3,42, kontrol grubunda 454,94±7,86 ve FO1 grubunda ise 427,99±8,96 olarak tespit edilmiş ve bu gruplar arasında kendi içlerine bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

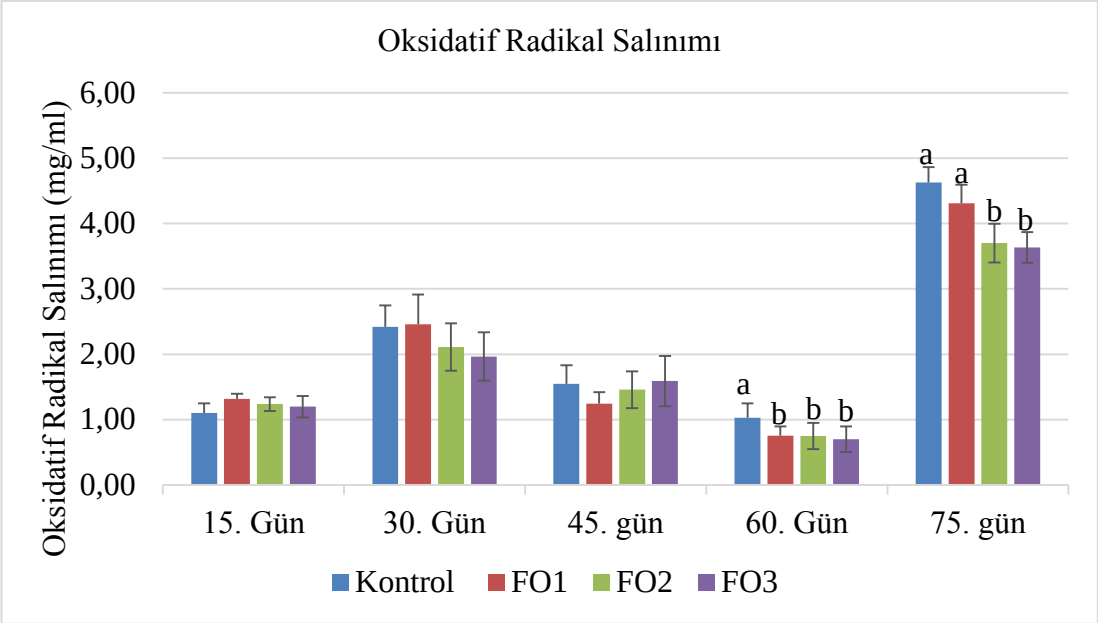
Grupların SBO oranları incelendiğinde en yüksek SBO oranı 2,62±0,08 ile FO3 grubunda gözlenmiştir (P<0,05). Diğer gruplarda ise SBO oranı sırasıyla FO2 grubunda 2,31±0,09, kontrol grubunda 2,28±0,01 ve FO1 grubunda 2,22±0,02 olarak tespit edilmiştir. Bu gruplar arasında SBO değerlerinde farklılık gözlenmekle beraber Fo2, kontrol ve FO1 grupları arasında istatistiksel açıdan bir farklılık gözlenmemiştir (P>0,05).

YDO oran da gruplar arasında değişkenlik göstermiştir. Tablo 4.1'de de görüldüğü üzere en düşük yem değerlendirme oranı 1,35±0,3 ile FO3 grubunda gözlenmiştir. Bunu sırasıyla kontrol 1,4±0,007, FO1 1,4±0,01 ve FO2 1,43±0,03 grubu takip etmiştir. Burada da görüldüğü üzere en düşük YDO oranı FO3 grubunda görülmesine rağmen tüm gruplar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde gruplar arasında istatistiki olarak bir farklılık olmadığı gözlenmiştir (P>0,05).

4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler

4.2.1. Oksidatif Radikal Salınımı (ORS)

75 gün süren bu çalışmada 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerde balıklardan kan örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların süperoksit anyon üretimlerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.1.'de ifade edilmiştir.



Şekil 4.1. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında süperoksit anyon üretimlerinde meydana gelen değişimler (mg/ml). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3).

Şekil 4.1'de görüldüğü üzere çalışmanın 15. Gününde şahtere otu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının süperoksit radikal salınımlarında sırasıyla kontrol grubunda FO1 grubunda 1,32± 0,08 mg/ml, FO2 grubunda 1,24±0,11 mg/ml, FO3 grubunda 1,2±0,28 mg/ml ve son olarak en düşük kontrol grubunda 1,10±0,15 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında yukarıda da belirtildiği üzere süperoksit radikal salınımlarında 15. günde gruplara arasında değişkenlik olmamakla birlikte bu farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz olarak belirlenmiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. gününde elde edilen veriler göre en yüksekten düşüğe doğru süperoksit radikal salınımları sırası ile FO1 grubunda 2,46±0,45 mg/ml, kontrol grubunda 2,42±0,32 mg/ml, FO2 grubunda 2,11±0,36 mg/ml ve son olarak en düşük FO3 grubunda 1,96±0,37 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın 15. gün verilerine paralel olarak gruplar arasında değişkenlik olmakla birlikte bu farklılıkların önemsiz olduğu belirlenmiştir (P>0,05).

Çalışmanın 45. gününde ise FO3 grubunda süperoksit anyon üretimi FO3 grubunda 1,59±0,38 mg/ml, kontrol grubunda 1,55±0,49 mg/ml, FO2 grubunda 1,46 ±0,28 mg/ml ve en düşük olarak da FO1 grubunda 1,25±0,17 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P<0,05).

60. gün süperoksit anyon üretimi verileri değerlendirildiğinde en yüksek değer kontrol grubunda (1,03±0,22 mg/ml) tespit edilmiştir (P<0,05). Kontrol grubu en yüksek değere ulaşırken, diğer deneme grupları arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

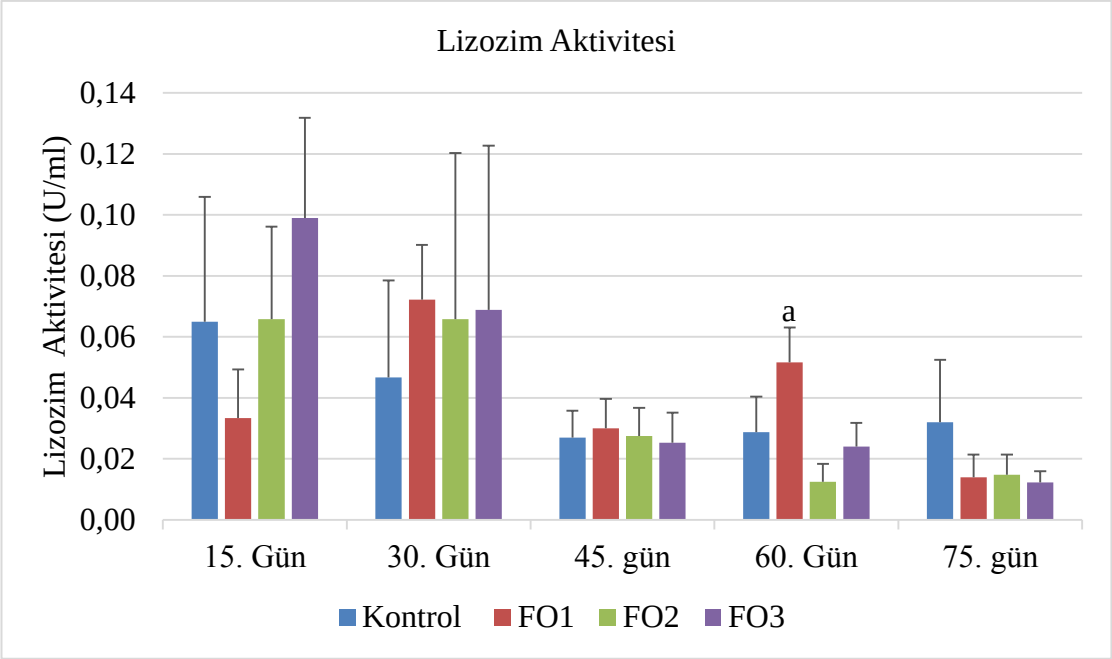
Çalışmanın son örnekleme döneminde ise 60. gün verilerinde olduğu gibi en yüksek değer kontrol grubunda tespit edilmiştir (4,63±0,23 mg/ml). Bunu sırasıyla FO1 (4,31±0,29 mg/ml), FO2 (3,7±0,3 mg/ml) ve FO3 (3,63±0,24 mg/ml) takip etmiştir. BU gruplar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ve FO1 grubu arasında farklılık göstermezken (P>0,05) bu iki grup FO2 ve FO3 grubundan önemli derecede yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). FO2 ve FO3 grupları ise kendi içlerinde birbirleri ile benzerlik göstermişlerdir (P>0,05).

4.2.2. Lizozim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışmanın her 15, 30, 45, 60 ve 75. Günlerinde alınan kan örneklerinde elde edilen serumlardaki lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.2.'de ifade edilmiştir.

Bu verilere göre genel olarak değerlendirme yapıldığında gruplara arasında farklılık olmadığı, sadece 60. Gün örneklemesinde FO1 grubunun lizozim aktivitesinde diğer gruplara kıyasla bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (P<0,05).

Çalışmanın 15. gününde lizozim aktivitesi sırasıyla FO3 grubunda 0,10±0,05 U/ml, Kontrol ve FO2 grubunda 0,07±0,07 ve 0,07±0,05 U/ml ve FO1 grubunda ise 0,03±0,02 U/ml olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında lizozim aktivitesi değişkenlik göstermiş olmakla birlikte bu farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz olarak tespit edilmiştir (P>0,05).



Şekil 4.2. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3).

30. gün verileri değerlendirildiğinde tüm deneme gruplarında aynı lizozim aktivitesi sonuçları elde edilirken bunda farklı olarak kontrol grubunda bir düşüş gözlenmiştir. Bu farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz tespit edilmiştir ($P>0,05$).

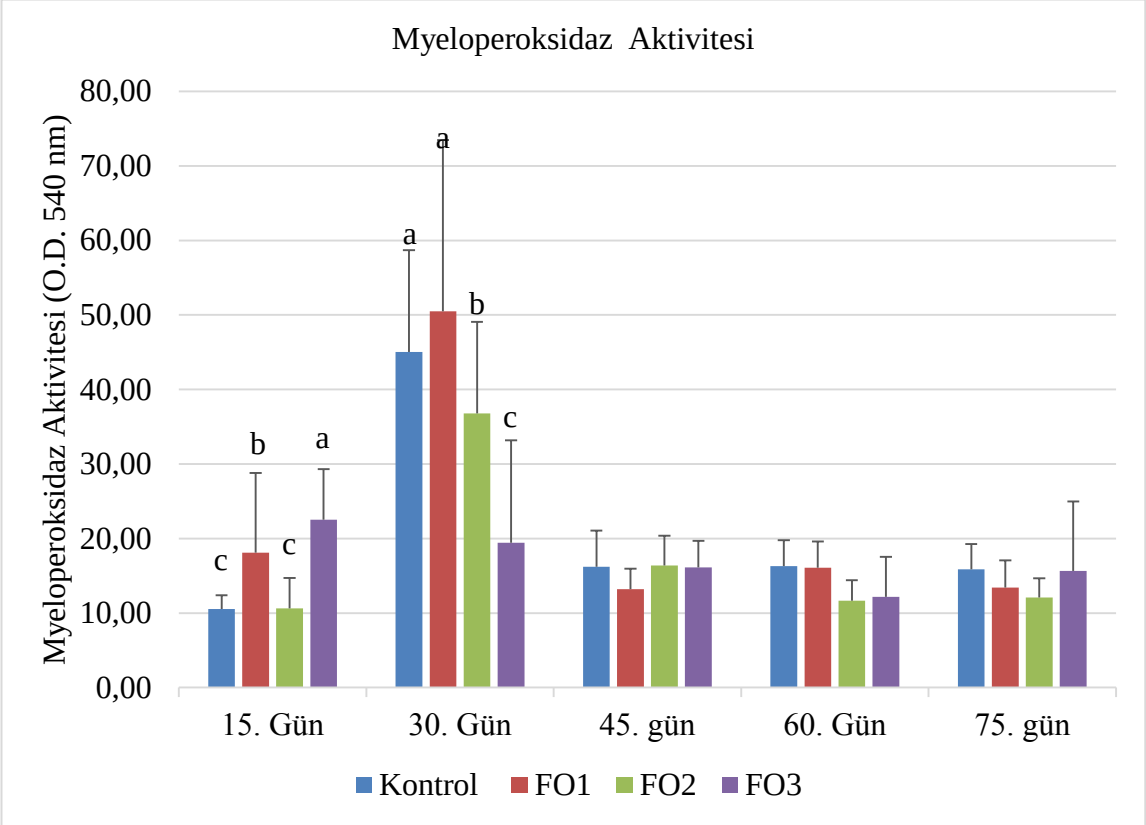
Çalışmanın 45. gününde ise tüm gruplarda aynı değerler elde edilmiştir. Bu değerler arasında bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$).

60. gün verileri kontrol edildiğinde en yüksek lizozim aktivitesi FO1 grubunda tespit edilmiştir ($P<0,05$). Diğer tüm gruplar arasında lizozim aktivitesi değişkenlik gösterinken gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir ($P>0,05$).

Çalışama sonunda en yüksek lizozim aktivitesi kontrol grubunda elde edilirken diğer örnekleme dönemlerine benzer olarak gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir ($P>0,05$).

4.2.3. Myeloperoksidaz Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışma boyunca her 15 günde bir balıkların serumlarından yapılan analizler neticesinde elde edilen myeleperoksidaz aktiviteleri Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Şahtere otu methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarında myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (O.D. 540). Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günündeki kendi aralarındaki farklılığı ifade eder (n=3).

Çalışmanın 15. gününde grupların myeloperoksidaz aktiviteleri sırası ile FO3 grubunda 22,53±6,77, FO1 grubunda 18,09±10,71, FO2 grubunda 10,63±4,06 ve kontrol grubunda 10,56±1,83 olarak tespit edilmiştir. Bu bağlamda en yüksek myeleperoksidaz aktivitesi FO3 grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$). Daha sonra ise FO1 grubunun myeleperoksidaz aktivitesi FO3 grubuna düşükken bundan farklı olarak FO1 ve kontrol gruplarına göre kayda değer derecede yüksek tespit edilmiştir. Bunlardan farklı olarak en düşük myeleperoksidaz aktivitesi kontrol grubunda tespit

edilirken kontrol grubu ve FO2 grubun arasında bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

30. gün örnekleme sonuçları değerlendirildiğin myeloperoksidaz aktivitesi gruplar arasında sırasıyla, FO1 grubunda 50,47±23,01, kontrol grubunda 45,04±13,66, FO2 grubunda 36,80±12,27 ve FO3 grubunda 19,45±13,73 olarak tespit edilmiştir. Bu verilere göre en yüksek myeloperoksidaz değeri FO1 grubunda tespit edilmişken FO1 ve kontrol grupları arasında bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05). Bundan farklı olarak bu ilki grubun MPO değerleri FO2 ve FO3 gruplarından önemli derecede yüksek olmuştur (P<0,05). En düşük MPO değeri FO3 grubunda gözlenmiş (P<0,05) ve FO2 değeri FO3 değerinden yüksek tespit edilmiştir.

Çalışmanın 45. gününde kontrol 16,23±4,82, FO1 13,22±2,74, FO2 16,39±3,99 ve FO3 16,13±3,55 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek MPO değeri sırasıyla FO2, kontrol, FO3 ve FO1 gruplarında gözlenmiştir. Gruplar arasında farklılıklar oluşmakla birlikte bu farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz olarak tespit edilmiştir (P>0,05).

Çalışmanın 60. gününde kontrol 16,29±3,47, FO1 16,06±3,53, FO2 11,6±2,73 ve FO3 12,16±5,39 olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın 60. Günün benzer olarak en yüksek MPO değerleri sırasıyla kontrol, FO1, FO3 ve FO2 gruplarında gözlenmiş olmakla birlikte bu gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Çalışmanın 75. gününde kontrol 15,88±3,39, FO1 13,4±3,69, FO2 12,1±2,56 ve FO3 15,63±9,32 olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın yetmiş beşinci gününde de gruplar arasında MPO aktiviteleri değişkenlik göstermekle birlikte bu farklılık önemsiz olarak tespit edilmiştir (P>0,05).

4.3. Kan Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışma süresince her 15 günde bir olmak üzere balıklardan alına kan örneklerinden hematolojik analizler yapılmıştır. Bu analizlerin sonuçları Tablo 4.2'de ifade edilmiştir.

Tablo 4.2. *Şahtere otu (Fumaria officinalis) methanolik özütü ile 75 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının kan parametrelerinde meydana gelen değişimler*

Günler	Gruplar	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
15.Gün	Kontrol	1,19±0,03^{a}	7,63±0,45	26±0,81^{a}	217,82±3,29	67,93±1,50	67,93±0,36
	FO1	1,23±0,03^{a}	7,93±0,29	26,12±0,46^{a}	215,32±2,05	68,48±1,74	68,48±0,90
	FO2	1,01±0,04^{b}	7,70±0,37	22,50±0,83^{b}	222,26±1,72	73,01±1,28	73,01±0,37
	FO3	0,94±0,03^{b}	7,20±0,28	21,22±0,84^{b}	226,49±1,86	79,17±1,39	79,17±0,56
30.Gün	Kontrol	0,37±0,04^{b}	7,27±0,01^{a}	16,75±3,08^{b}	229,22±1,92^{b}	230,19±1,03^{a}	31,88±0,00
	FO1	1,03±0,04^{a}	7,92±0,2^{a}	23,12±0,86^{a}	241,97±0,74^{a}	77,43±1,34^{b}	34,34±0,48
	FO2	0,96±0,04^{a}	5,67±0,36^{b}	20,47±1,23^{a}	248,95±4,36^{a}	62,26±0,00^{b}	29,46±0,00
	FO3	1,04±0,04^{a}	7,72±0,37^{a}	23,52±0,81^{a}	245,38±1,57^{a}	73,92±1,73^{b}	32,78±0,83
45.Gün	Kontrol	1,23±0,03^{a}	8,10±0,45	28,15±0,81^{a}	229,22±1,92^{a}	65,87±2,82^{c}	28,71±1,06
	FO1	1,01±0,03^{b}	7,52±0,23	24,44±0,81^{b}	241,97±0,74^{b}	74,72±1,14^{b}	30,88±0,46
	FO2	0,96±0,04^{b}	7,58±0,47	25,20±1,63^{b}	248,95±4,36^{b}	74,65±2,31^{b}	29,56±1,01
	FO3	0,88±0,04^{c}	7,53±0,14	22,47±0,59^{b}	245,38±1,57^{b}	86,45±4,40^{a}	32,64±0,94
60.Gün	Kontrol	1,11±0,08^{b}	8,10±0,15^{a}	26,1±1,81^{a}	225,19±6,28^{b}	53,15±15,7^{b}	31,57±1,98
	FO1	0,90±0,02^{b}	6,36±0,36^{b}	22,1±1,81^{b}	225,97±7,52^{b}	67,09±4,01^{a}	29,12±1,06
	FO2	0,96±0,06^{b}	5,27±0,64^{c}	23,13±1,57^{b}	240,06±2,06^{a}	63,75±1,15^{a}	26,54±0,27
	FO3	1,28±0,03^{a}	7,80±0,35^{a}	29±1,12^{a}	226,09±4,28^{b}	60,81±1,76^{a}	26,87±0,38
75.Gün	Kontrol	1,45±0,10	8,95±0,15^{a}	34,83±2,06^{a}	240,88±2,60	62,69±3,49	25,98±1,18
	FO1	1,31±0,04	7,66±0,23^{b}	28,97±2,07^{b}	237,71±3,37	58,76±1,26	24,73±0,49
	FO2	1,28±0,06	6,85±0,20^{b}	30,57±1,34^{b}	238,83±1,71	54,02±2,39	22,58±0,85
	FO3	1,24±0,05	6,82±0,11^{b}	29,28±1,2^{b}	235,68±1,18	55,33±2,05	23,47±0,84

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

Çalışma boyunca her on beş günde bir olmak üzere balıklardan immünolojik analizlerde kullanılmak üzere alınan kar örneklerinden aynı zamanda hematolojik değişimler de belirlenmiştir. Çalışmanın 15. Gününde RBC değerleri kontrol (1,19±0,03) ve FO1 (1,23±0,03) grubunda benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak FO2 (1,01±0,04) ve FO3 (0,94±0,03) grubunda önemli derece de azalmıştır

(P<0,05). Denem grupları ile kontrol grubu arasında hemoglobin içerikleri açısından değişiklik gözlenmezken hematokrit seviyeleri yine RBC seviyelerine benzer bir şekilde kontrol (%26±0,81) ve FO1 (%26,12±0,46) grubunda benzerlik gösterirken (P>0,05), bundan farklı olarak FO2 (%22,50±0,83) ve FO3 (%21,22±0,84) gruplarında önemli derece azalma gözlenmiştir (P<0,05). Çalışmanın 15. gününde hematolojik indekslerde gruplar arasında bir değişiklik gözlenmemiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. Günde RBC sayıları kontrol grubunda önemli derecede düşüş göstermiştir (0,37±0,04) (P<0,05). Tüm deneme gruplarının RBC sayıları kontrol grubuna kıyasla önemli derecede artarken grupların kendi içlerinde bir farklılık gözlenmemiştir (P>0,05). Hemoglobin seviyeleri kontrol (7,27±0,01), FO1 (7,92±0,2) ve FO3 (7,72±0,37) gruplarında benzerlik göstermiştir. Bunlardan farklı olarak FO2 grubunda önemli derecede azalmıştır (P<0,05). Bunlardan farklı olarak hematokrit seviyeleri tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir (P<0,05). Hematolojik indekslerde MCV değeri tüm denem gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış gösterirken (P<0,05) MCH değeri ise tam aksine tüm deneme gruplarında azalma göstermiştir (P<0,05).

Çalışmanın 45. gününde kontrol grubu RBC değer, tüm gruplara kıyasla artış göstermiştir. En düşük RBC değeri FO3 grubunda gözlenmiştir. HGB değeri gruplar arasında farklılık göstermiş olmakla birlikte bu farklılıklar gruplar arasında önem teşkil etmemiştir (P<0,05). Hematokrit seviyeleri PRC seviyelerine benzer olarak kontrol grubunda tüm gruplara kıyasla yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). MCV değeri kontrol grubunda diğer gruplara kıyasla azalma gösterirken (P<0,05), MCH değeri artmış (P<0,05), MCHC değerinde ise gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir.

Altmışıncı gün sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek RBC değeri FO3 grubunda kaydedilirken diğer gruplar arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. HGB değeri kontrol ve FO3 grubunda benzerlik gösterirken (P>0,05), diğer gruplarda önemli derecede azalmıştır. En düşük HGB değeri FO2 grubunda gözlenmiştir. Benzer sonuçlar hematokrit seviyeleri için de gözlenirken, grupların MCHC değerleri arasına bir farklılık oluşmamıştır. RBC değerleri kontrol grubuna kıyasla denem

gruplarında farklılık oluşturmamıştır. HHGB değeri kontrol grubunda diğer gruplara kıyasla en yüksek değer ulaşırken ($P<0,05$), benzer sonuçlar HCT içinde gözlenmiştir. Hematokrit indekslerde gruplar arasında bir farklılık oluşmamıştır.

75. gün sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek hemoglobin değeri kontrol grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$). Benzer sonuçlar hematokrit için de gözlenirken diğer veriler açısından gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$).

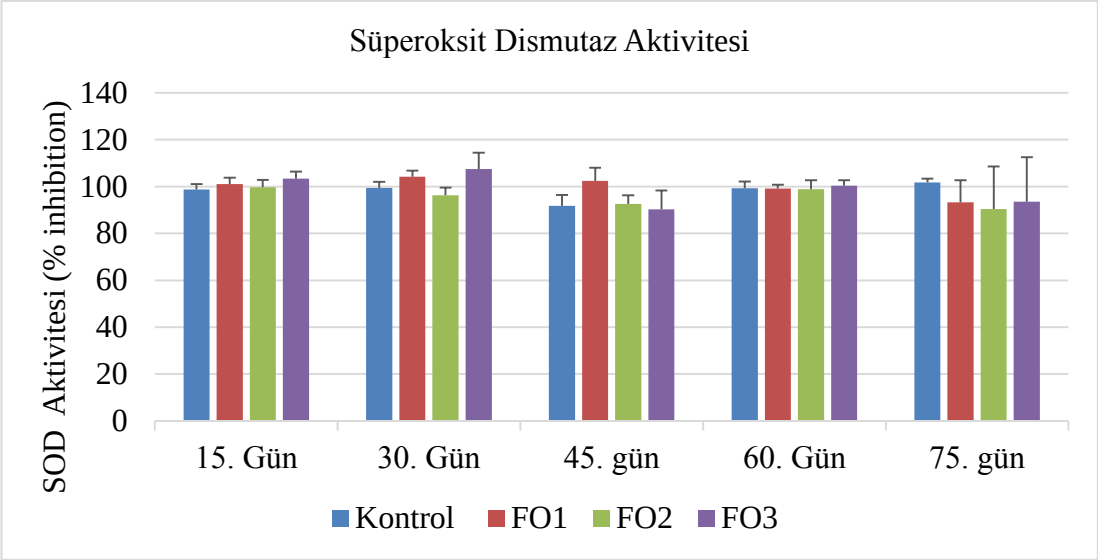
4.4. Antioksidan Yanıtlar

4.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler

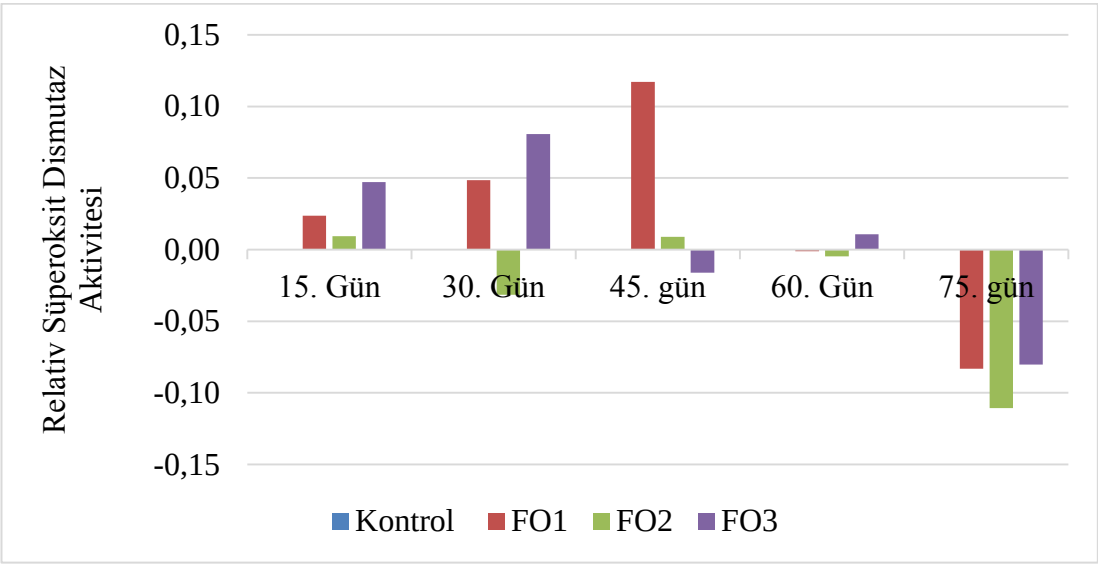
Yetmiş beş gün süren çalışma sonunda örnekleme günleri olan 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerinde SOD aktivitelerinde meydan gelen değişimler Şekil 4.4'te verilmiştir.

Çalışma verileri değerlendirildiğinde tüm örnekleme dönemleri dikkate alındığında gruplar arasında değişken SOD aktivitesi tespit edilirken bunların hiçbir örnekleme döneminde gruplar arsında farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Grupların relativ SOD değişimleri Şekli 4.5'de ifade edilmiştir.Grupların relativ SOD değişimleri gruplar arasındaki değişkenliğin kontrol grubuna kıyasla son derce küçük olduğunu ortaya koymaktadır.



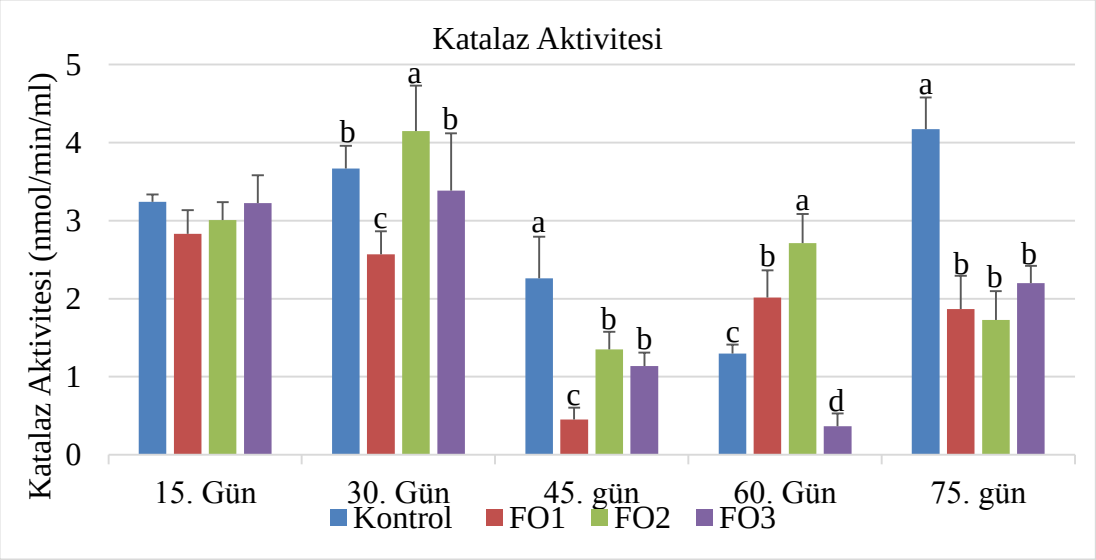
Şekil 4.4. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (% inhibisyon). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.



Şekil 4.5. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ süperoksit dismutaz aktivitesi

4.4.2. Katalaz (CAT) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışma boyunca her on beş günde bir olmak üzere yapılan CAT aktivitesi değerlendirme sonuçları Şekil 4.6'te ifade edilmiştir.



Şekil 4.6. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışmanın 15. gününde CAT kontrol grubunda 3,24±0,10 nmol/min/ml, FO1 grubunda 2,83±0,3 nmol/min/ml, FO2 grubunda 3,01±0,23 nmol/min/ml ve FO3 grubunda 3,22±0,36 nmol/min/ml olarak tespit edilmiştir. CAT değeri gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir ($P>0,05$).

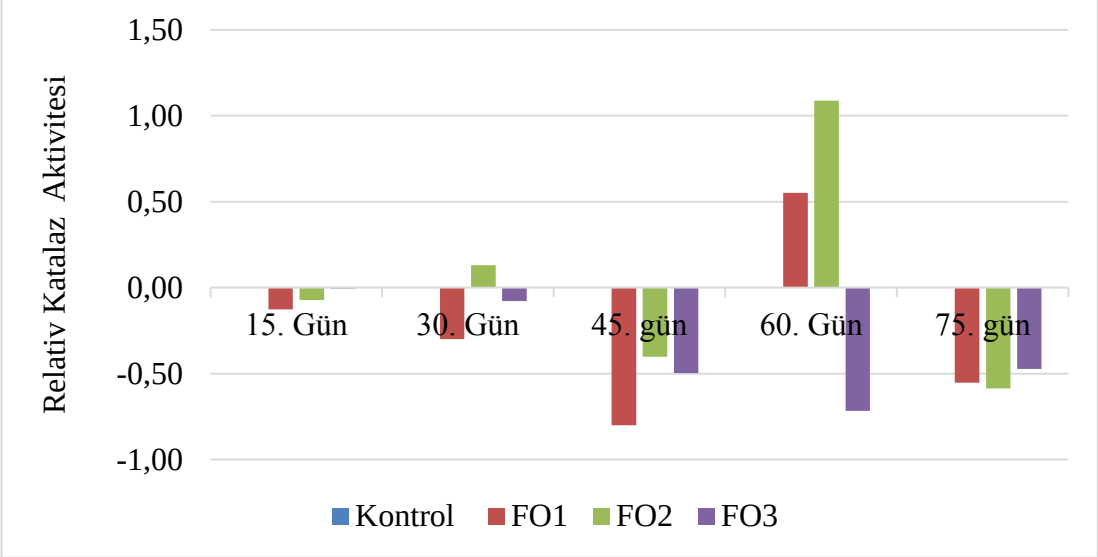
Çalışmanın 30. Gününde en yüksek CAT değeri FO1 grubunda (4,15±0,58 nmol/min/ml) grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$). Kontrol grubu ile (3,67±0,29) ile FO3 grubu (3,38±0,73) arasında bir farklılık gözlenmezken ($P>0,05$) bunlardan farklı olarak en düşük CAT değeri FO1 grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$).

Çalışmanın 45. gününde en yüksek CAT değeri kontrol grubunda gözlenmiştir ($P<0,05$). Diğer tüm grupların CAT değerleri kontrol grubuna kıyasla azalma

göstermiştir. FO2 ve FO3 grupları arasında farklılık gözlenmezken en düşük CAT değeri FO1 grubunda gözlenmiştir (P<0,05).

Çalışmanın 60. gününde en yüksek CAT aktivitesi FO2 grubunda gözlenmiştir (P<0,05). FO1 grubu CAT değeri FO2 grubundan düşük iken kontrol ve FO3 grubuna kıyasla yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). Kontrol grubu CAT aktivitesi FO3 grubunda önemli derecede yüksek tespit edilirken bundan farklı olarak en düşük CAT değeri FO3 grubunda gözlenmiştir.

Grupların örnekleme dönemlerine göre relativ CAT aktivitesi Şekil 4.7'da verilmiştir.

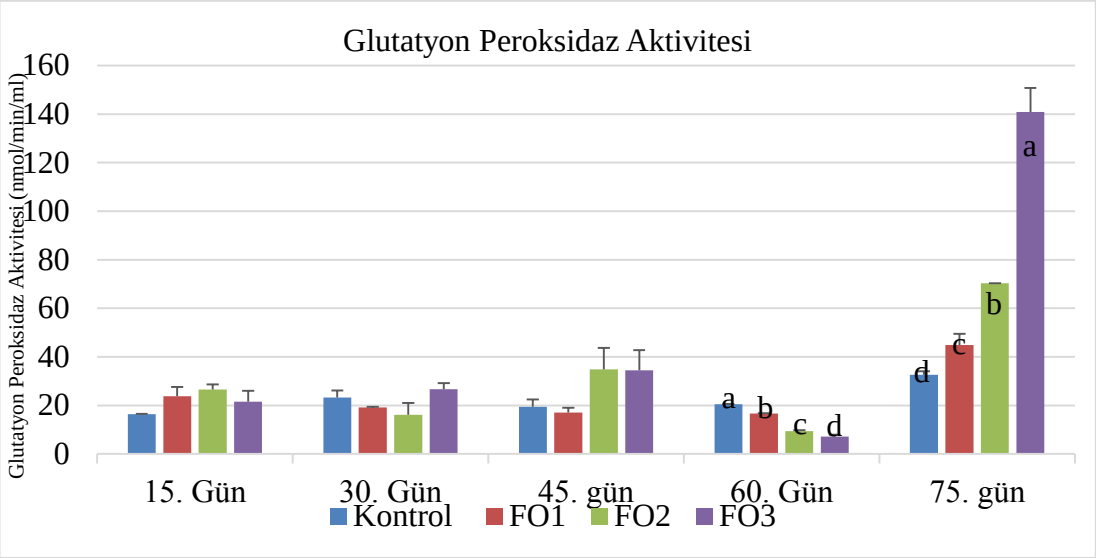


Şekil 4.7. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ katalaz aktivitesi

Çalışmanın son örneklemesi ola 75. günde ise en yüksek CAT değeri kontrol grubunda gözlenmiştir (P<0,05). Diğer tüm denem grupları CAT aktivitesi değişkenlik göstermekle birlikte kontrol grubunda kıyasla düşük tespit edilirken bundan farklı olarak grupların kendi arasında bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

4.4.3. Glutatyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler

Yetmiş beş gün süren bu çalışmada 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılanan GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında glutatyon peroksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

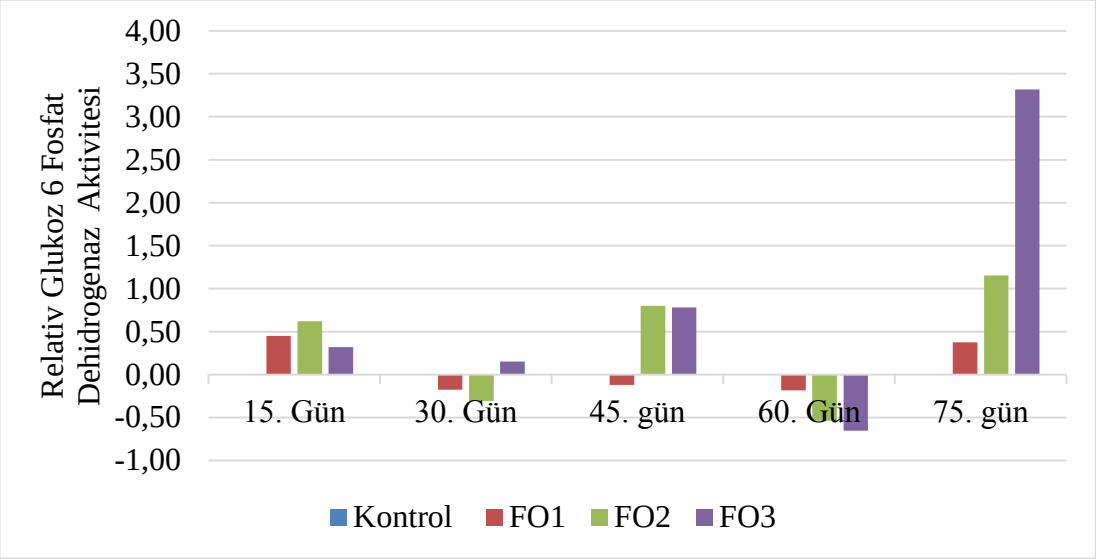
Çalışmanın on beşinci gününde en yüksekten düşüğe doğru sırasıyla GPX aktivitelerindeki değişim sırasıyla FO2 (26,5±2,19 nmol/min/ml), FO1 (23,73±3,91 nmol/min/ml), FO3 (21,58±4,4 nmol/min/ml) ve kontrol (16,36±0,15 nmol/min/ml) grubun şeklinde olmuştur. Gruplar arasında GPX aktivitesi değişkenlik göstermiş olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Çalışmanın otuzuncu gününde GPX değeri sırasıyla FO3 (26,72±2,46 nmol/min/ml), kontrol (23,21±2,94 nmol/min/ml), FO1 (19,10±0,37) ve FO2 (16,13±4,87

nmol/min/ml) olarak tespit edilmiştir. Bu değerler farklılık göstermekle birlikte gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Kırk beşinci günde ise GPX değerleri kontrol grubunda 19,37±3,10 nmol/min/ml, FO1 grubunda 17,04±2 nmol/min/ml, FO2 grubunda 34,85±8,84 nmol/min/ml ve FO3 grubunda ise 34,50±8,29 nmol/min/ml olarak tespit edilmiştir. GPX değeri FO2 ve FO3 grubunda diğer iki gurubu göre neredeyse iki kat değişim göstermiş olmakla birlikte bu farklılık istatistiksek açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Grupların relativ GPX aktiviteleri Şekil 4.9'da verilmiştir.



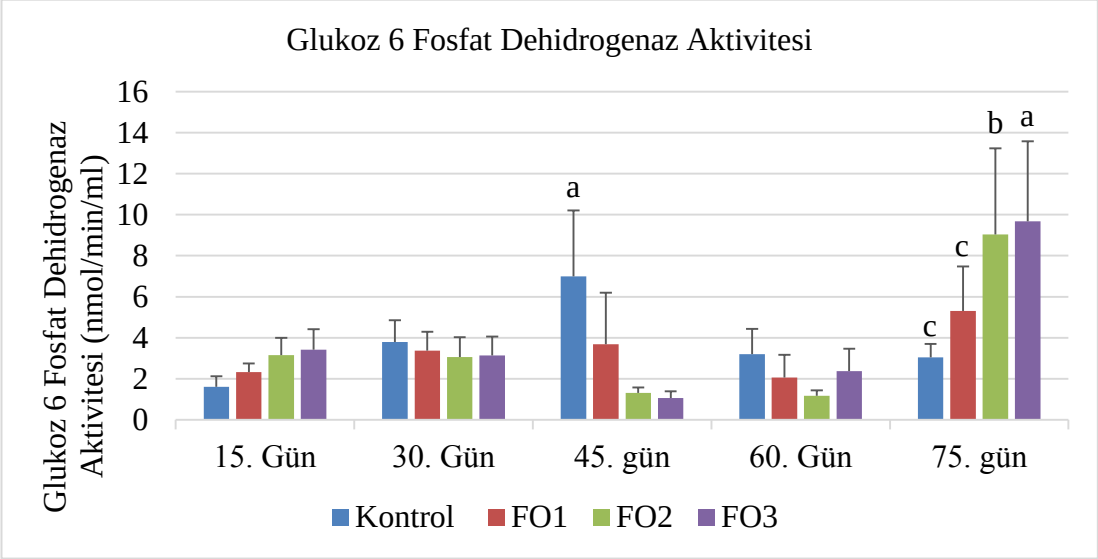
Şekil 4.9. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ glutatyon peroksidaz aktivitesi

GPX aktivitesi 60. günü sonuçlarına göre en yüksek GPX aktivitesi kontrol grubunda gözlenmiştir (P<0,05). Diğer tüm deneme grupları kontrol grubuna kıyasla GPX aktivitesi yönünden düşüş gösterirken gruplar kendi içlerinde de farklılık göstermiştir. Buna göre sırasıyla yüksekten düşüğe doğru GPX aktivitesi FO1, FO2 ve FO3 gruplarında gözlenmiştir.

Çalışmanın son örnekleme döneminde tüm deneme gruplarının GPX aktivitesi kontrol grubuna kıyasla önemli bir artış göstermiştir (P<0,05). GPX aktivitesi grupların kendi içlerinde de farklılık göstermiş olup sırasıyla FO3, FO2 ve FO1 gruplarında belirlenmiştir (P<0,05).

4.4.4. Glukoz-6- Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler

Yetmiş beş gün süren bu çalışmada 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılanan G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Bu çalışmada çalışmanın 15. gününde elde edilen antioksidan verilerinde, G6PDH verilerinde göre gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Gruplar arasındaki G6PDH aktiviteleri son derecede değişkenlik göstermiş ve sırasıyla kontrol grubunda 1,61±0,51 nmol/min/ml, FO1 grubunda 2,33±0,42 nmol/min/ml, FO2 grubunda 3,15±0,85 nmol/min/ml ve FO3 grubunda 3,42±1 nmol/min/ml olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü üzere doza bağımlı olarak artan bir G6PDH aktivitesinden söz

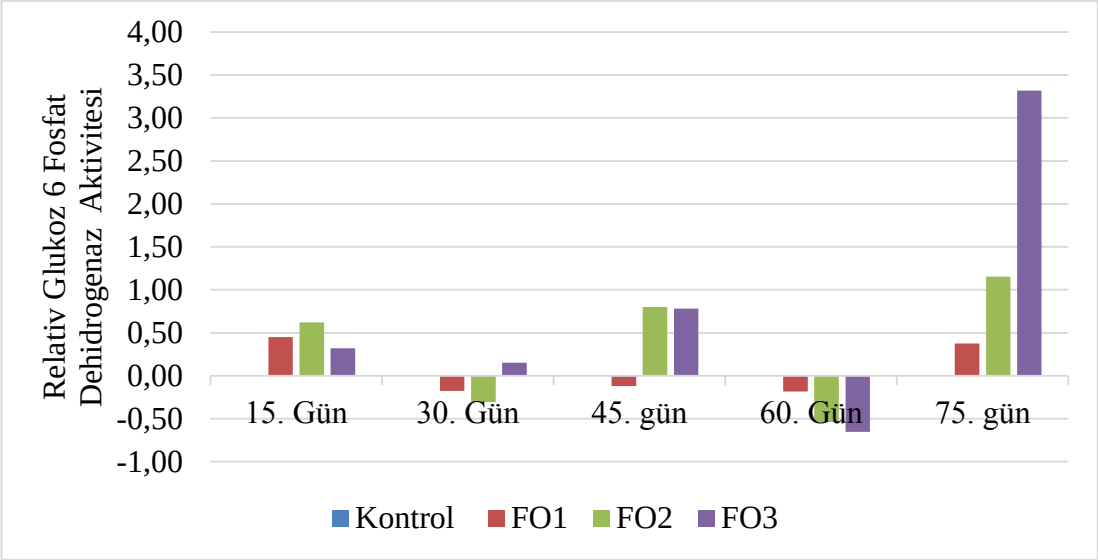
etmek mümkündür. Bu artış net olarak gözlemlenmekle birlikte gruplar arasında bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Çalışmanın 30. Gününde G6PDH aktivitesi gruplar arasında değişkenlik göstermiştir. Bununla birlikte gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Çalışmanın 45. Gününde en yüksek G6PDH değeri kontrol grubunda tespit edilmiştir (P<0,05). Diğer tüm deneme grupları arasında G6PDH aktivitesi değişkenlik göstermiş olmakla birlikte bu farklılıklar istatistiki açıdan önemsiz tespit edilmiştir (P>0,05).

Çalışmanın 60 gününde G6PDH aktiviteleri sırasıyla kontrol grubunda 3,21±1,23 nmol/min/ml, FO3 grubunda 2,37±1,09 nmol/min/ml, FO1 grubunda 2,05±1,11 nmol/min/ml ve FO2 grubunda 1,17±0,27 nmol/min/ml olarak tespit edilmiştir. En yüksek G6PDH aktivitesi kontrol grubunda gözlenmiş olmakla birlikte gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

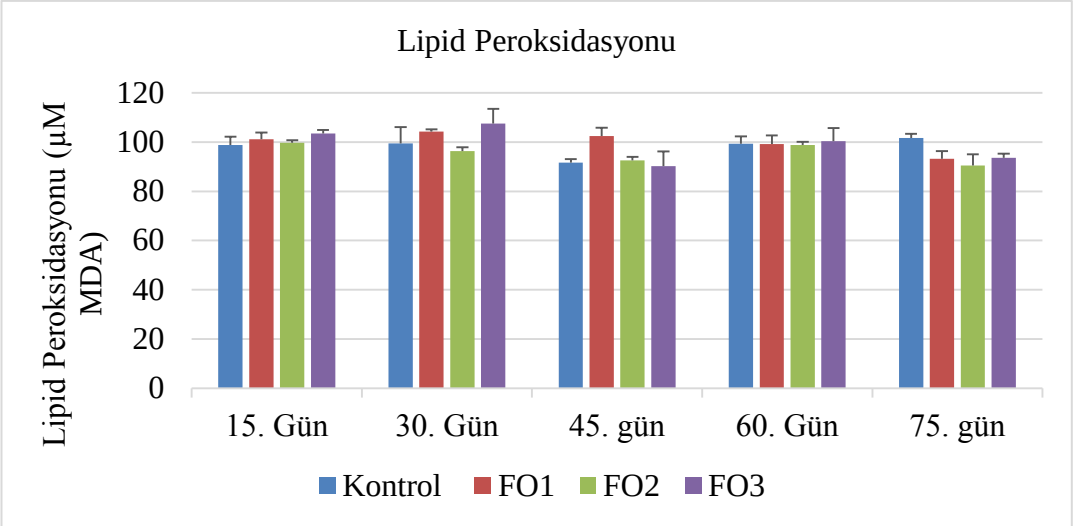
Çalışmanın 75. gününde ise en yüksek G6PDH aktivitesi FO3 (9,68±3,91 nmol/min/ml) grubunda gözlenmiştir (P<0,05). FO2 (9,03±4,21 nmol/min/ml) G6PDH aktivitesi FO3 grubundan düşükken bundan farklı olarak diğer gruplardan yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). Kontrol (3,04±0,65 nmol/min/ml) ve FO1 (5,31±2,16 nmol/min/ml) grubu G6PDH aktiviteleri birbirine benzerlik gösterirken (P>0,05), diğer gruplardan kayda değer derecede düşük tespit edilmişlerdir. Çalışmada elde edilen relativ G6PDH verileri Şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ G6PDH aktivitesi

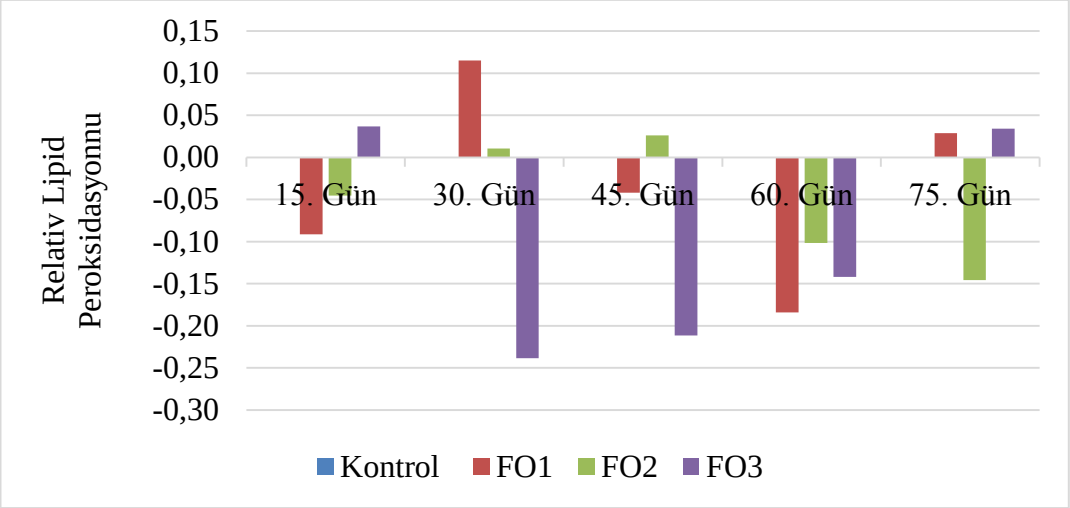
4.4.5. Lipit Peroksidasyonu

Yetmiş beş gün süren bu çalışmada 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılanan lipit peroksidasyonunda meydana gelen değişimler µM MDA) Şekil 4.12'da verilmiştir.



Şekil 4.12. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışma sonuçlarına göre tüm örnekleme dönemlerinde lipit peroksidasyonu farklı değerler göstermiştir. Bununla birlikte tüm örnekleme gruplarında ve tüm örnekleme dönemlerinde bu farklılıklar istatistiki açıdan önemsiz olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. Şahtere methanolik özütü ile yetmiş beş gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında relativ lipit peroksidasyonu

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı oranlarda şahtere methanolik özütü ile 75 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının büyüme performanslarında, bağışıklık yanıtlarında (SAP, LYS, MPO) ve antioksidan sistemlerinde meydana gelen değişimlerden SOD, CAT, GPX, G6PDH aktiviteleri ve lipit peroksidasyonunda meydana gelen değişimler 15, 30, 45, 60 ve 75. günlerde belirlenmiştir. Buna ek olarak aynı örnekleme günlerinde kan parametrelerinde meydana gelen değişimler de incelenmiştir. Humoral bağışıklık yanıtların değişmediği yada uzun dönemde azaldığı, antioksidan parametrelerde denemenin son dönmelerinde atışlar gözlendiği tespit edilmiştir. Kan parametrelerindeki değişimlerde kontrol grubunun daha verimli sonuçlar ortaya koyduğu göstermiştir. Bununla birlikte büyüme performansı değerlendirildiğinde FO3 grubunda büyüme performansı açısından önemli bir farklılık tespit edilmiştir. Bu bağlamda yemde % 0,3 şahtere otu sulu methanolik özütü kullanımının gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansları önemli derecede arttıracağı kanaatine varılmıştır.

Çalışma sonuçlarına en iyi büyüme performansı verilerine göre en iyi değerler FO3 grubunda elde edilmiştir. Çalışma sonunda bu grup 87,88±0,2 gr ortalama ağırlığa ulaşarak yaklaşık olarak %30 daha hızlı büyüme performansı göstermiştir. Bir diğer önemli husus bu büyüme performansı elde edilirken FCR değerlerinde de istatistiki olarak önemli olmasa da düşüş gözlenmiştir. Tıbbi bitkilerin kullanıldığı bir çok çalışmada bu özütlerin balıkların büyümesine etki ettiği bildirilen çalışma mevcuttur (Awad ve Awad 2017). Bununla birlikte bu bitkilerin ve özütlerin kullanım balıkların büyüme performansını etkilemede dozlarının, zamanlamanın, balık türlerinin ve fiziksel şartların da etkilediği bilinmektedir (Harikrishnan vd. 2011a, Gannam ve Schrock, 1999). Sindirim enzim aktivitelerinde meydana gelen yükselmeler balıkalrın büyüme performansını da önemli derecede arttırmaktadır (Awad vd 2012). Bu bağlamda çalışmada kullanılan şahtere otunun sulu methanolik özütü içerisinde yaralan fenolik bileşiklerin ya da diğer içeriklerin balıkların daha hızlı büyümesini sağlayan büyüme hormonları üzerinde etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca şahtere otu içeriğinin sindirim enzimlerini de aktive ederek yemden

yararlanmayı etkilediği ifade edilebilir. Çalışma sonuçlarına benzer olarak, Mahdavi vd (2013), *Aloe vera* özütü ile 0,1, 0,5 ve %2,5 oranında besledikleri sazan balıklarında büyümeyi teşvik ettiğini, ağırlık kazanımı ve SGR değerlerini arttırdığını tespit etmişleridir. Awad vd. (2012), iki ay boyunca besledikleri gökkuşağı alabalıklarında yemlere kattıkları acıbakla, mangon ve ısırgan otunun, gökkuşağı alabalıklarının ağırlık kazanımlarını, SGR ve sindirim enzim aktivitelerini arttırdığını tespit etmişleridir. Bir başka çalışmada, katuk (*Sauropus androgynus*) yaprak özütünün lahos balıklarında (*Epinephelus coioides*) büyüme performanslarında artışa neden olduğunu tespit edilmiştir (Santoso vd., 2013). Khalafalla (2009) Nil tilapia balıklarında yaptıkları çalışmada 12 hafta boyunca balıkları besledikleri farklı tıbbi bitki özütlerinin büyüme performansını arttırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmalardan farklı olarak Bilen ve Bilen (2012), gökkuşağı alabalıklarını 8 hafta boyunca besledikleri tetra ve defne yaprakları içeren yemlerin balıkların büyüme performansı üzerinde bir etkilerinin olmadığı tespit etmişlerdir. Kızak ve Çelik (2012), Çoruh alabalığı *(Salmo coruhensis)* ile yaptıkları çalışmada kefir uygulamasının büyüme performansı üzerinde bir etki oluşturmadığını tespit etmişlerdir.

Reaktif oksijen türlerinin giderimi yaşamsal faaliyetlerin devam ettirilmesinde son derece büyük önem arz etmektedir. Bununla birlikte bağışıklık yanıtın bir sonucu olarak da patojenlerin yok edilmesinde önemli etkiye sahip reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikalinin yıkımındaki dengeye de dikkat edilmesi gerekmektedir. SOD enzimi bu anyonların temizlenmesi işlemini sürdürmekte ve reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikalinin yıkımında önemli rol almaktadır. SOD aktivitesindeki artışlar hücre içerisinde süperoksit radikallerindeki artışa bağlı olarak artış gösterdiği düşünülebilir. Bu bağlamda devreye ORS aktivitesi girmektedir. Bu çalışmada önemli bir bağışıklık parametresi olan ORS aktivitesi de kontrol edilmiştir. Hem SOD hem de ORS'nin birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmesi mümkün değildir. Bu iki değerlendirme ele alındığında teorik olarak ORS'nin arttığı durumlarda SOD aktivitesinin de artması gerekmektedir. Zira ORS artışı süperoksit radikal salınımının hücre tarafından arttırıldığını SOD aktivitesindeki artış ise artan süperoksit radikallerinin yıkımının arttığını ve hücrenin bu şekilde uyarıldığını ifade edebilir.

ORS özellikle patojenlerin vücut içerisinde büyüme ve çoğalmaların önleyen en kritik yapılardandır (Divyagnaneswari vd., 2007). Çalışma sonuçlarını bağışıklık yanıtlar üzerinde meydan getirdiği değişimler incelendiğinde çalışma genelinde ORS aktivitelerin değişmediği yada çalışma sonunda azaldığı gözlenmektedir. Artan antioksidan yanıtlar bunun bir sebebi olabilir. Tetra (*Cotinus coggygria*) ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının oksidatif radikal salınımlarının gökkuşağı alabalıklarında artığı tespit edilmiştir (Bilen vd., 2011). Bilen vd (2016b), istiridye mantarı (*Pleurotus ostreatus*) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) sulu methanolik özütü ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarını ORS aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Zencefil uygulanan gökkuşağı alabalıklarında artan bir süperoksit radikal salınımından bahsetmek mümkündür (Nya ve Austin, 2009a). Bilen vd. (2018), *Anethum graveolens* ve *Lepidium sativum* ile besledikleri sazan balıkların benzer olarak artan bir ORS aktivitesi tespit etmişlerdir. Bundan farklı olarak Bilen ve Bulut (2010), defne yaprağı içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde bir değişiklik tespit edememişlerdir.

Doğal bağışıklık sistemde antiproteaz, proteaz, lizozim, antikorlar, komplemen ve litik faktörler serum içerisinde yer alan ve mikroorganizmaların koloni oluşturmasın engelleyen ve dokulara tutunma özelliklerini engelleyen peptitler yer alır (Alexander ve Ingram, 1992). Bu çalışmada lizozim yanıtları değerlendirdiğinde genel olarak istatistiki açıdan önemli olmasa da artış gözlendiği ve çalışma sonunda ise azalmalar olduğu gözlenmektedir. Bu bağlamda, şahtere otunu litik özellik gösterdiği söylenebilir. Tıbbi bitkiler ile beslenen balıkların lizozim aktivitelerinde genel olarak bir artıştan söz etmek mümkündür (Abarike vd., 2019, Altunoglu vd 2017). Abarike vd (2019), *Astragalus membranaceus, Angelica sinensis* ve *Crataegus hupehensis* 1/1 oranında karışımın hazırladıkları yemlerle besledikleri Nil tilapialarında (*Oreochromis niloticus*), *Achyranthes aspera* içeren yemlerle beslenen *Labeo rohita* balıklarında (Rao vd 2006), *Solanum trilobatum* ile beslenen Mozambik tilapialarında (*Oreochromis mossambicus*) (Divyagnaneswari vd. 2007), *Astragalus radix* ve *Ganoderma lucidum* beslenen sazan balıklarında (Yin vd. 2009) lizozim aktivitelerinde artış tespit edilmiştir.

Myeleperoksidaz aktivitesi, 15 günlük süre içerisinde artmış, sonrasında ise değişim göstermiştir. Bu durum şahtere otunun antioksidan özelliklerine bağlanabilir. Myeleperoksidaz mikroorganizmaların öldürülmesinde önemli işlevi vardır. Bu bağlamda artması bağışıklık yanıtın uyarıldığı anlamına gelir. Bu çalışmaya benzer olarak Christybapita vd (2007), *Eclipta alba* özütü ile besledikleri Mozambik tilapialarında (*Oreochromis mossambicus*) myeloperoksidaz aktivitelerinde bir değişim tespit edememişlerdir.

Çalışma verilerine göre SOD aktiviteleri çalışmanın hiçbir örnekleme döneminde değişiklik göstermemiştir. SOD aktivitesinde değişim gözlenmemesi ORS etkileri ile de açılanabilir. Önceki çalışmalarda, Li vd. (2010), gökkuşağı alabalıklarında karbamaepin uygulamasının SOD aktivitelerini kayda değer azalttığını belirlemişlerdir. *Suaeda maritime*'den elde dilen özütlerle muamelenin SOD aktivitesinde düşüşlere neden olduğunu ifade edilmiştir (Thirunavukkarasu vd. 2010). Sönmez vd., 2015, nane yağı ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında SOD aktivitesinde azalmalar tespit etmişlerdir. Selenyum ve alfa-tokoferol içeren yemlerle beslenen Nil tilapialarında (*Oreochromis niloticus*) SOD aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Elgaml vd., 2015). Thirunavukkarasu vd., 2010, *Citrullus colcynthis* uygulamasının SDO aktivitesinin arttırdığını tespit edilmiştir. A ve E vitamini katkıları ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının SOD aktivitelerinde artışlar gözlenmiştir (Keleştemur ve Özdemir, 2013). Adaçayı ve kekik yağı içeren yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularında SOD aktivitelerinde önemli artışlar tespit edilmiştir (Sönmez vd. 2015).

CAT, SOD enzimi vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırılan süperoksit radikallerini H_2O_2'ye dismutasyonunu katalizlemek vazifesini yerine getiren ve hücre içerisinde peroksizomlarda bulunan antioksidan enzimlerdir. SOD aktivitesindeki artışlara bağlı olarak CAT aktivitesi artış göstermesi beklenmektedir. Bu çalışmada, CAT aktivitesi, SDO aktivitesinden bağımsız olarak değişkenlik göstermiş ve çalışmanın farklı dönemlerinde deneme gruplarında artış göstermiştir. Gülçin vd., (2009), melatonin ile beslenen gökkuşağı alabalıklarda CAT aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. Farklı oranlarda kefir içeren yemelrle beslenen Çoruh alabalıklarında CAT aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir (Kızak ve Çelik, 2012). Sönmez vd., (2015) nane ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarda CAT azalması yada değişimin gözlenmemesi sonucuna

ulaşmışlardır. Zhang vd., (2015), magnezyum ve E vitamini ile zenginleştirilmiş yemlerle beslenen japon levreklerinde (*Lateolabrax japonicus*), Amer (2016), zencefil ile beslenen tilapia balıklarında, Şahan vd., 2016, *Spirulina platensis* ile beslenen tilapia balıklarında, CAT aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir.

GPX enzimi, gulutatyon redüktaz enziminin çalışması için gerekli olan NADPH ve GSSG oluşumunu katalizlemektedir. Bu çalışmada şahtere otu sulu methanolik özütü ile beslenen gökkuşağı alabalıklarda GPX aktivitesinde çalışma sonunda artış gözlenmiştir. Bu bağlamda GPX aktivitesinin şahtere otu sulu methanolik özütünün uzun süreli kullanımı ile birlikte olumlu olarak etkilendiği söylenebilir. Zhang vd., 2015, çalışmamıza benzer olarak, magnezyum ve E vitamini ile beslenen japon levreklerinde GPX aktivitesinde artış belirlemişlerdir. Yine trikolorfon uygulanan tilapia balıklarında GPX aktivitesinde artış tespit edilmiştir (Yanr vd., 2015). Kekik ve adaçayı uyguladıkları gökkuşağı alabalığı yavrularında çalışmamıza benzer olarak GPX aktivitelerinde artış tespit edilmiştir (Sönmez vd. 2015). Çalışma sonuçlarının aksine Li vd. (2010), karbamaepin uygulamasının gökkuşağı alabalıklarında GPX aktivitelerinde düşüşlere neden olduğunu tespit etmişlerdir.

G6PDH enzimi NADPH üreterek pentoz fosfat yolunu katalizler. Dolayısıyla üretilen NADPH, gulutatyon redüktaz ve CAT enzimleri için esansiyeldir. Dolayısıyla G6PDH enzimi H_2O_2 dekompozisyonu için hayati önem sahiptir. G6PDH aktivitesi genel olarak tüm şahtere otu sulu methanolik özütü uygulanan gruplarda özellikle çalışma sonuda artış göstermiştir. Bu veriler GPX aktivitesinde çalışma sonunda meydana gelen artışları desteklemektedir. Bu sonuçlar ayrıca, Sönmez vd. (2015)'nin alabalıklarda yaptıkları çalışma ile örtüşmektedir.

Lipit peroksidasyonu oksijen serbest radikalllerinin salınımı sonucu oluşan malondialdehit (MDA) miktarlarının tespit ile belirlenir ve oksidatif stresin belirlenmesinde son derece önemli bir etmendir. Temel olarak MDA seviyelerindeki artış oksidatif stresin artığına ve hücrelerin lipid peroksidasyonlarının yükseldiğine bir işaret olarak gösterilmektedir (Yagi, 1984). Bu çalışmada balıkların lipit peroksidasyonlarında olumlu yada olumuz bir etkiden söz edilmesi mümkün değildir. Antioksidat aktivite gösteren şahtere otu malondialdehit miktarlarında

değişime sebep olmamıştır. Çalışmadan farklı olarak, selenyum ve alfa-tokoferol uygulanan tilapia balıklarında MDA seviyelerinin yükseldiği belirlenmiştir (Keleştemur ve Özdemir (2013). Şahan vd., (2017), kuşburnu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında MDA seviyelerinde düşüş tespit etmişlerdir. Benzer olarak spirulina ile beslenen Mozambik tilapialarında (Amer, 2016) ve melatonin ile beslenen alabalıklarda MDA seviyelerinde önemli düşüşler tespit edilmiştir (Gülçin vd., 2009).

Tüm bu veriler ışığında alabalıkların oksidatif stres açısından şahtere otu ile beslenmelerinin uygun olacağı genel bağlamda şahtere otunun gökkuşağı alabalıklarda oksidatif stres üzerinde etkili bir antioksidan özellik gösterdiği söylenebilir. Bununla birlikte bu uygulamanın zaman ve doz değişkenlerinin dikkate alınması gerekmektedir. Bu çalışmada en dikkat çeken sonuç şahtere otunun gökkuşağı alabalıklarında %3 oranında kullanımının balıkların büyüme performansını neredeyse %30 oranında arttırmasıdır. Ayrıca yüksek dozda kullanımın balıkların yaşama oranları , bağışıklık ve antioksidan yanıtları açsından olumsuz etkiler oluşturmaması da en göze çarpan sonuçlar olarak değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

Abarike, E. D., Jian, J., Tang, J., Cai, J., Yu, H., & Chen, L. (2019). Traditional Chinese Medicine Enhances Growth, Immune Response, and Resistance to *Streptococcus agalactiae* in Nile Tilapia. *Journal of aquatic animal health*.

Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Gültepe, N., & Türker, A. (2015). Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae. Aquaculture*, 437, 282-286.

Adel, M., Amiri, A. A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., & Esteban, M. Á. (2015). Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry *Caspian white fish (Rutilus frisii kutum*). *Fish & shellfish immunology*, 45(2), 841-847.

Ahmad S. (1995) Preface. In: Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. *Chapman & Hall, NY*.

Ahmadi, K., Banaee, M., Vosoghei, A. R., Mirvaghefei, A. R., & Ataeimehr, B. (2012). Evaluation of the immunomodulatory effects of silymarin extract (*Silybum marianum*) on some immune parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 42(2).

Aikens, J., Dix, T.A. (1991). Perhydroxyl radical ($HOO^{\cdot}$) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *The Journal of Biolocigal Chemistry*, 69(B), 893-896.

Alderman, D., & Hastings, T. (1998). Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance–potential for consumer health risks. *International journal of food science & technology*, 33(2), 139-155.

Alexander, J. B., & Ingram, G. A. (1992). Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 249-279.

Altunoglu, Y. C., Bilen, S., Ulu, F., & Biswas, G. (2017). Immune responses to methanolic extract of black cumin (*Nigella sativa*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 67, 103-109.

Aly, S., & Mohamed, M. (2010). *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5).

Amar, E. C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N., & Watanabe, T. (2000). Effects of dietary βcarotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss. Fisheries Science*, 66(6), 1068-1075.

Amer, S. A. (2016). Effect of *Spirulina platensis* as feed supplement on growth performance, immune response and antioxidant status of mono-sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Benha Veterinary Medical Journal*, 30(1), 1-10.

Asadi, M., Mirvaghefei, A., Nematollahi, M., Banaee, M., & Ahmadi, K. (2012). Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) extract on selected immunological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Open Veterinary Journal*, 2(1), 32-39.

Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3), 199-235.

Auroma, O.I. (1999). Freeradicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pasific J. Clin. Nutr*., 8(1), 53-63.

Awad, E., & Awad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish & shellfish immunology*, 67, 40-54.

Awad, E., Austin, B., & 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.

Awad, E., Austin, D., & Lyndon, A. R. (2013). Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss (*Walbaum). *Aquaculture*, 388, 193-197.

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

Balasubramanian, G., Sarathi, M., Venkatesan, C., Thomas, J., & Hameed, A. S. (2008). Studies on the immunomodulatory effect of extract of *Cyanodon dactylon* in shrimp, Penaeus monodon, and its efficacy to protect the shrimp from white spot syndrome virus (WSSV). *Fish & shellfish immunology*, 25(6), 820-828.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A. R., & Rafei, G. R. (2011). Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of

rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish physiology and biochemistry*, 37(4), 885-896.

Bilen, S., Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Veterinary and Animal Advances*, 9(8), 1275-1279. DOI: 10.3923/javaa.2010.1275.1279

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

Bilen, S., & Bilen, A. M. (2012). Growth promoting effect of tetra (*Cotinus coggygria)* and laurel *(Laurus nobilis*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*. *Alinteri Zirai Bilimler Dergisi*, 22, 26-33.

Bilen, S., & 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).

Bilen, S., Yılmaz, S., & 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).

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

Bilen, S., Altunoğlu, Ç.Y., Ulu, F., Biswas, G. (2016a). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 57, 206-212. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.08.040

Bilen, S., Ünal, S., & Güvensoy, H. (2016b). 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., Özkan, O., Alagöz, K., & Özdemir, K. Y. (2018). Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 495, 611-616.

Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., ... & Bankehsaz, Z. (2014). Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish & shellfish immunology*, 36(1), 46-51.

Bisset, N. G. and Wichtl, M. Herbal Drugs and phytopharmaceuticals, 2nd ed. London: *CRC Press*; 2001. pp. 214–6.

Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973). Routine Hematological Methods for use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771–781.

Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary parasitology*, 132(3-4), 249-272.

Buechter, D.D., 1988. Free radicals and oxygen toxicity. *Pharmaceutical Research*, 5 (5), 253-260

Cabello, F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*, 8(7), 1137-1144.

Cao, L.-Z., & Lin, Z.-B. (2003). Regulatory effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on cytotoxic T-lymphocytes induced by dendritic cells in vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24(4), 321-326.

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

Dafre, A.L., Reischl, E. (1990). High hemoglobin mixed disulfide content in hemolysates from stressed shark. *Comp. Biochem. Physiol.* 96(B), 215–219.

Dalmo, R., Ingebrigtsen, K., & Bøgwald, J. (1997). Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of fish diseases*, 20(4), 241-273.

Davies, K.J.A., 2000. An overview of oxidative stres. *IUBMB Life*. 50, 241-244.

Davis, K. B., Griffin, B. R., & Gray, W. L. (2002). Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection. *Aquaculture*, 214(1-4), 55-66.

Divyagnaneswari, M., D. Christybapita, and R. D. Michael. 2007. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by Solanum trilobatum leaf fractions. *Fish and Shellfish Immunology* 23:249–259.

Dorucu, M., Colak, S. O., Ispir, U., Altinterim, B., & Celayir, Y. (2009). The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow

trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 2(1), 27-33.

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

Elbeshti, H.T. (2016). Gökkuşağı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı *Cotinus coggygria* bitki özütünün in vivo tedavi edici etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Elgaml, S. A., Khalil, R., Hashish, E. A., El-Murr, A. (2015). Protective effects of selenium and Alpha-tocopherol against lead-induced hepatic and renal toxicity in oreochromis niloticus. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(1), 1.

Ellis, A. E. (1990). Lysozyme assays. Tech. *Fish Immunol*. 101–103. FAO, 2012. *The State of World Fisheries* and *Aquaculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.* p. 230.

FAO, (2017). The state of World fisheries and aquaculture. *Roma. ISBN* 978-92-5-109185-2.

Forwood, J., Harris, J., & Deveney, M. (2013). Efficacy of bath and orally administered praziquantel and fenbendazole against *Lepidotrema bidyana* Murray, a monogenean parasite of silver perch, Bidyanus bidyanus (Mitchell). *Journal of fish diseases*, 36(11), 939-947.

Galina, J., Yin, G., Ardo, L., & Jeney, Z. (2009). The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish physiology and biochemistry*, 35(4), 669-676.

Galindo-Villegas, J., & Hosokawa, H. (2004). Immunostimulants: towards temporary prevention of diseases in marine fish. Advances en Nutricion. *Acuicola VII Memorias del VII Simposium Internationale de Nutricion Acuícola*, 16-19.

Gannam, A. L., & Schrock, R. M. (1999). Immunostimulants in fish diets. *Journal of Applied Aquaculture*, 9(4), 53-89.

Giannenasa, I., Triantafilloub, E., Stavrakakisa, S., Margaronic, M., Mavridisd, S., Steinere, T., Karagounic, E. (2012). Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350–353, 26–32.

Guardiola, F., Porcino, C., Cerezuela, R., Cuesta, A., Faggio, C., & Esteban, M. (2016). Impact of date palm fruits extracts and probiotic enriched diet on antioxidant status, innate immune response and immune-related gene

expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & shellfish immunology*, 52, 298-308.

Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Hisar, O., Köksal, E., Reiter, R. J. (2009). Melatonin administration increases antioxidant enzymes activities and reduces lipid peroxidation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) erythrocytes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(3), 241-245.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine (3rd ed.) *Clarendon Press*, Oxford.

Hardig, J., Hoglund, L.B. (1983). Seasonal and ontogenetic effects on methaemoglobin and reduced glutathione content in the blood of reared baltic salmon. *Comp. Biochem. Physiol.* 75(A), 27–34.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011a. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317,1-15.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Jawahar, S., & Heo, M.-S. (2011b). *Solanum nigrum* enhancement of the immune response and disease resistance of tiger shrimp, *Penaeus monodon* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 318(1-2), 67-73.

Harikrishnan, R., Kim, J.-S., Kim, M.-C., Balasundaram, C., & Heo, M.-S. (2011c). *Lactuca indica* extract as feed additive enhances immunological parameters and disease resistance in *Epinephelus bruneus* to *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 318(1-2), 43-47.

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A. R., Akbari, M., Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A. A., & Behgar, M. (2012). Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish physiology and biochemistry*, 38(4), 1169-1174.

Hsieh, S.-L., Wu, C.-C., Liu, C.-H., & Lian, J.-L. (2013). Effects of the water extract of *Gynura bicolor* (Roxb. & Willd.) DC on physiological and immune responses to *Vibrio alginolyticus* infection in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & shellfish immunology*, 35(1), 18-25.

Imlay, J.A., Linn, S. (1988). DNA damage and oxygen radical toxicology. *Science*, 240, 1302-1309.

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

growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of fish biology*, 74(7), 1462-1475.

Jian, J., & Wu, Z. (2003). Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture*, 218(1-4), 1-9.

Keleştemur, G. T., & Özdemir, Y. (2013). Effects of dietary viamin A and E on growth performance and antioxidant status in blood of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) exposed to flow rate stress. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3), 821-827.

Khalafalla, M. E. (2009). Utilization of some medical plants as feed additives for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, feeds. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 2(2), 10-19.

Kirubakaran, C., Alexander, C. P., & Michael, R. D. (2010). Enhancement of non-specific immune responses and disease resistance on oral administration of *Nyctanthes arbortristis* seed extract in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture research*, 41(11), 1630-1639.

Kızak, M. K., Çelik, H. T. (2012). The effects of different dosage of kefir with different durations on growth performances and antioxidant system in the blood and liver tissues of Çoruh trout (*Salmo coruhensis*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 1-2.

Kroismayr, A. (2007). Experimental studies of the gastrointestinal effects of essential oils in comparison to avilamycin in weaned piglets: na.

Kumari, J., Sahoo, P., & Giri, S. (2007). Effects of polyherbal formulation 'ImmuPlus' on immunity and disease resistance of Indian major carp, Labeo rohita at different stages of growth.

Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates, I. (2006). Dacie and Lewis Practical Haematology, ed: Lewis SM., Bain BJ., Bates I., Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia.

Li, Z. H., Li, P., Randak, T. (2010). Effect of a human pharmaceutical carbamazepine on antioxidant responses in brain of a model teleost in vitro: an efficient approach to biomonitoring. *Journal of Applied Toxicology*, 30(7), 644-648.

Lin, Z.-b., & Zhang, H.-n. (2004). Anti-tumor and immunoregulatory activities of Ganoderma lucidum and its possible mechanisms. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25, 1387-1395.

Logambal, S., Venkatalakshmi, S., & Michael, R. D. (2000). Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia*, 430(1-3), 113-120.

M. Mahdavi, A. Hajimoradloo, R. Ghorbani 2013. Effect of *Aloe vera* extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) *World J. Med*. Sci., 9 (2013), pp. 55-60

Magnadottir, B. (2010). Immunological control of fish diseases. *Marine biotechnology*, 12(4), 361-379.

Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A. (2005). Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15, 75–88.

McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, 244(22), 6049-6055.

Mitich, L. W. (1997). Fumitory (*Fumaria officinalis* L.). *Weed technology*, 11(4), 843-845.

Mulero, V., Esteban, M., Munoz, J., & Meseguer, J. (1998). Dietary intake of levamisole enhances the immune response and disease resistance of the marine teleost gilthead seabream (*Sparus auratal*.). *Fish & shellfish immunology*, 8(1), 49-62.

Nayak, S. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & shellfish immunology*, 29(1), 2-14.

Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017.

Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International journal of food microbiology*, 156(1), 7-17.

Nya, E. J., & Austin, B. (2009a). Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases*, 32(11), 971-977.

Nya, E. J., & Austin, B. (2009b). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases*, 32(11), 963-970.

Ogier de Baulny, M., Quentel, C., Fournier, V., Lamour, F., & Le Gouvello, R. (1996). Effect of long-term oral administration of beta-glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus maximus*. *Diseases of aquatic organisms*, 26(2), 139-147.

Özlüer-Hunt, A., Özkan-Yılmaz, F., Berköz, M., Engin, K., Gündüz, S. G., & Yalın, S. (2016). Effects of dietary nucleotide yeast on immune responses and antioxidant enzyme activities of rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). *Israeli Journal Of Aquaculture-Bamidgeh*, 68.

Punitha, S., Babu, M. M., Sivaram, V., Shankar, V., Dhas, S., Mahesh, T., Citarasu, T. (2008). Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi infection*. *Aquaculture international*, 16(6), 511-523.

Rao, Y. V., B. K. Das, P. Jyotyrmayee, and R. Chakrabarti. (2006). Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of Labeo rohita infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology* 20:263–273..

Rehman, S., Latif, A., Ahmad, S., & Khan, A. U. (2013 . Antibacterial Screening of Fumaria officinales Linn. A Drug of choice in Complementary and Alternative Medicine.

Reiter, R.J., Melchiorri, D, Sewerynek, E, Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., Ortiz, G.G., Acuña-Castroviejo, D.J. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Pineal Res.*, 18(1),1-11.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.

Ringø, E., Olsen, R. E., Vecino, J. G., Wadsworth, S., & Song, S. (2012). Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. *J Mar Sci Res Dev*, 1, 104.

Rocha-e-Silva, T.A.A., Rossa, M.M., Rantin, F.T., Matsumura- Tundisi, T., Tundisi, J.G., Degterev, I.A. (2004). Comparison of liver mixed-function oxygenase and antioxidant enzymes in vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol*. 137(C), 155–165.

Şahan, A., Duman, S., Çolak, S. Ö., Çınar, E., Bilgin, R. (2017). Determination of some hematological and non-specific immune defences, oxidative stress and histopathological status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed rosehip

(*Rosa canina*) to *Yersinia ruckeri*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 17,91-100.

Şahan, A., Özütok, S., 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 Sicences*, 16(1), 197-204.

Sahoo, P. k., Kumari, J., ve Mishra, B. K. (2005). Non- specific immune responses in juveniles of Indian major carp. *Journal of Applied Ichthyology*, 12 (2),151-155.

Sajjad, S., Aghajanshakeri, S., Anousheh, D., & Mikaili, P. (2015). Ethno-botanical, Bioactivities and Medicinal Mysteries of Fumaria officinalis (*Common Fumitory*). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 5(11).

Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1-2), 63-92.

Santoso, U., Lee, M. C., & Nan, F. H. (2013). Effects of dietary katuk leaf extract on growth performance, feeding behavior and water quality of grouper *Epinephelus coioides*. *Aceh International Journal of Science and Technology*, 2(1), 17-25.

Secombes, C., & Fletcher, T. (1992). The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 53-71.

Shalaby, A., Khattab, Y., & Abdel Rahman, A. (2006). Effects of Garlic (*Alliums ativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 12(2), 172-201.

Sies, H. (1986) Biochemistry of oxidative stress. *Ang. Chem.-Int.*, 25, 1058–1071.

Siwicki A. K., Anderson, D.P. (1993). Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Pages 1–24 in A. K. Siwicki, and D. P. Anderson, editors. *The Nordic Symposium on Fish Immunology, Lysekil, Sweden.*

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

Sönmez, A.Y., Bilen S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., 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.

Thirunavukkarasu, P., Ramkumar, L., Ramanathan, T. ve Silambarasan D. (2010). Anti Oxidant activity of selected coastal medicinal plants. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(2), 134-137.

Umeda, N., Nibe, H., Hara, T., & Hirazawa, N. (2006). Effects of various treatments on hatching of eggs and viability of oncomiracidia of the monogenean *Pseudodactylogyrus anguillae* and *Pseudodactylogyrus bini*. *Aquaculture*, 253(1-4), 148-153.

Vaseeharan, B., & Thaya, R. (2014). Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. *Aquaculture international*, 22(3), 1079-1091.

Yagi, K. 1984. Assay for plasma lipid peroxidase. *Methods in Enzymology*, 109, 328-331. doi: 10.1016/S0076- 6879(84)05042-4.

Yin, G., Ardo, L., Thompson, K. D., Adams, A., Jeney, Z., & Jeney, G. (2009). Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(1), 140-145.

Yonar, M. E., Yonar, S. M., Pala, A., Silici, S., & Saglam, N. (2015). Trichlorfon-induced haematological and biochemical changes in *Cyprinus carpio*: ameliorative effect of propolis. *Diseases of aquatic organisms*, 114(3), 209-216.

Yoshida, T., Kruger, R., & Inglis, V. (1995). Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants. *Journal of fish diseases*, 18(2), 195-198.

Zhang, C. X., Huang, F., Li, J., Wang, L., Song, K., & Mai, K. S. (2015). Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, body composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed oxidized oil. *Aquaculture Nutrition*. 22(3), 708-722.

Zhao, Y., Jiang, X., Kong, X., Di, G., Nie, G., & Li, X. (2017). Effects of hypoxia on lysozyme activity and antioxidant defences in the kidney and spleen of *Carassius auratus*. *Aquaculture Research*. 48(1), 223-235.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Abdelsalam M. O. FILOGH
Doğum Yeri ve Yılı : 1973 – Benghazi- Libya
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce, Türkçe
E-posta : afilogh55@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Alfajer aljaded Benghazi - Libya 1991
Lisans : Zooloji Bölümü - Bingazi Üniversitesi / Libya 1996
Yüksek Lisans : Libyan Academy for Graduate Studies (Libya Yüksek Lisans Çalışmaları Akademisi) Bingazi - Libya 2007

Mesleki Deneyim

1999'dan beri Bingazi Üniversitesi Fen Fakültesi Zooloji Bölümünde teknisyen
2002 Elektron mikroskobu eğitimi kursu, Assiut Üniversitesi, Mısır
2004 Mumyalama sanatı üzerine bir eğitim kursuna katılım - Zooloji Bölümü - Bingazi Üniversitesi
2007 Deniz Biyolojisi Araştırma Merkezi tarafından "Deniz ortamında ağır metal riskleri" başlıklı bir derste düzenlenen balıkçılar için eğitim kursuna katılım
2007 Çevre yüksek lisans derecesi Bilim ve Mühendislik Bölümü - Libya Lisansüstü Çalışmalar Akademisi - Bingazi - Libya, Gri Mullet Mugil cephalus dokularındaki Bazı Ağır Metallerin (Demir, Bakır, Çinko) seviyelerinin Belirlenmesi başlığı ile solungaçları Juliana lagününden - Bingazi ve vücut ağırlığı ve cinsiyeti ile ilişkisi.
2009'dan beri Bingazi Üniversitesi'nde birçok ders vermektedir.

Yayınlar

Achuthan Nair, G., Youssef, A. K., El-Mariami, M. A., Filogh, A. M., & Briones, M. J. (2005). Occurrence and density of earthworms in relation to soil factors in Benghazi, Libya. *African Journal of Ecology, 43*(2), 150-154.

Nair, G. A., El-Mariami, M. A., Briones, M., Filogh, A. M., & Youssef, A. K. (2005). Earthworm resources of Benghazi, Libya. *Journal of environmental biology, 26*, 175-178.

Bilen, S., Filogh, A. M., Ali, A. B., Kenanoğlu, O. N., & Zoral, M. A. (2019). Effect of common mallow (Malva sylvestris) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities, haemotological and immune responses of common carp (Cyprinus carpio). *Aquaculture International*, 1-12.

Uluslararası bilimsel toplantılarda bildiriler

Filogh,A and Elp, M. Haematological Responses in Rainbow Trout Fed Diet with *Fumaria officinalis* Aqueous Methanolic Extract. International Congress on Engineering and Life Science ICELIS. 11-14 April 2019 Kastamonu- Turkey

Elp, M., Adem, S.A., Muftah, K. M. and. Filogh, A. M . Fish Fauna of Germeçtepe Dam Lake (Kastamonu-TURKEY) International Congress on Engineering and Life Science ICELIS. 26-29 April 2018 Kastamonu- Turkey