

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

ALABALIK YEMİNDE BİTKİ EKSTRAKLARI
KULLANIMININ BÜYÜME, YEMDEN YARARLANMA
VE VÜCUT KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Ebru YILMAZ

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 27/06/2014

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

ÇANAKKALE

Ebru YILMAZ tarafından Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN yönetiminde hazırlanan ve 27/06/2014 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Alabalık Yeminde Bitki Ekstratları Kullanımının, Büyüme, Yemden Yararlanma ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkisi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

.....

Başkan

Prof. Dr. Murat YİĞİT

.....

Üye

Prof. Dr. Cengiz ATAŞOĞLU

.....

Üye

Prof. Dr. Ali TÜRKER

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Hasan KAYA

.....

Üye

Sıra No:.....

Bu tez çalışması Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, tarafından 2013/102 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Ebru YILMAZ

TEŞEKKÜR

Birlikte çalışma onuruna eriştiğim, doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, insani değerleri ile örnek aldığım, her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN'e,

Doktoram süresince desteklerini benden esirgemeyen, önerilerinden faydalandığım, deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen Sayın Prof. Dr. Murat YİĞİT'e ve Sayın Prof. Dr. Cengiz ATAŞOĞLU'na,

Yardımlarını, desteklerini ve fikirlerini hiçbir zaman unutmayacağım, bugünlere gelmemi sağlayan hocalarım merhum Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk DURDU, Sayın Prof. Dr. Cavit BİRCAN, Sayın Prof. Dr. Ferda AKAR, Sayın Prof. Dr. Şükrü KIRKAN ve Sayın Doç. Dr. Mehmet BOZKURT'a,

Doktora eğitimim boyunca her türlü problemimde benden yardımlarını esirgemeyen, deneyimlerini benimle paylaşan Arş. Gör. Sevdan YILMAZ'a,

Laboratuvar çalışmalarımıdaki yardımlarından dolayı, Yrd. Doç. Dr. Hasan KAYA, Nergiz SOYTAŞ'a,

Doktoram süresince sevgi ve dostluklarını benden esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Fethiye Çobanlar Alabalık işletme sahibi Adnan ÇOBAN'a ve işletmedeki tüm çalışanlara,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen canım anneme, babama ve kardeşim Arş. Gör. Eren Alper YILMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ebru YILMAZ

Çanakkale, Haziran 2014

SİMGELER VE KISALTMALAR

EPA.	Eikosapentaenoik Asit
DHA.	Dokosaheksaenoik Asit
YDO	Yem Dönüşüm Oranı
SBO.	Spesifik Büyüme Oranı
NK.	Doğal öldürücü hücre
CRP.	C-reaktif protein
IL-2.	Interlökin-2
IPN.	Enfeksiyöz Pankreatik Nekrosis
RES.	Retikuloendotelyal Sistem
IFN.	Interferon
PAMP.	Patojen Bağlantılı Moleküler Örgü
LPS.	Lipopolisakkarit
PRR.	Örgü (patern) tanıma reseptörü
BHR.	B Hücre Reseptörleri
THR.	T Hücre reseptörleri
RAG.	Rekombinasyon Etkinleştirici Gen
MHC.	Ana Doku Uyumluluk Kompleksi
TLR.	Toll Benzeri Reseptör
LA.	Lizozim Aktivitesi
MPO.	Miyeloperoksidaz Aktivitesi
MDP.	Muramil Dipeptid
NBT.	Nitroblue Tetrazolium
IPP.	İzopentenil Difosfat
GPP.	Geranil Difosfat
FDP.	Farnezil Difosfat
2,3 – BPG.	Bifosfogliserat
ATP.	Adenozin Trifosfat
GTP.	Guanozin Trifosfat
MoAb.	Monoklonal Antikor Hücreleri
EGS.	Eozinofilik granular hücreler
Hct	Hematokrit
RBC	Kırmızı kan hücre sayısı
Hb.	Hemoglobin

MCV.	Ortalama Eritrosit Hacmi
MCH.	Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin
MCHC	Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu
NPC.	Niemann-Pick C1
SCP-2.	Sterol Taşıyıcı Protein-2
GLİ.	Glikoz
ALB.	Albumin
GLO.	Globulin
TPROT.	Toplam protein
TRİ.	Trigiliserit
KOL.	Kolestrol
OBA.	Ortalama Başlangıç Ağırlık
OSA.	Ortalama Son Ağırlık
AA.	Ağırlık artışı
YT.	Yem Tüketimi
K0.	Kontrol
K.	Karvakrol
T.	Timol
KM.	Kuru madde
VSİ.	Visserosomatik İndeks
HSİ.	Hepatosomatik İndeks
DSİ.	Dalak Somatik İndeks
MFİ.	Mezenterik İndeks
Cu.	Bakır
Mn.	Mangan
Zn.	Çinko

ÖZET

ALABALIK YEMİNDE BİTKİ EKSRATLARI KULLANIMININ BÜYÜME, YEMDEN YARARLANMA VE VÜCUT KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Ebru YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

27/06/2014, 141

Bu çalışmada karvakrol ve timol esansiyel yağlarının alabalık yemine eklenmesinin büyüme performansı, yem değerlendirme, biyometrik ölçümler, kan parametreleri ve balık dokularındaki iz elementleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla karvakrol (K) veya timol (T) 1, 3 ve 5 g/kg oranlarında (sırasıyla K1, K3 ve K5 veya T1, T3 ve T5 grupları) deneme yemlerine ilave edilmiştir. 60 gün süren denemede, en iyi büyüme ve yemden yararlanma oranları 5 g/kg karvakrol eklenen grupta (K5) elde edilmiş ve 5 g/kg timol eklenen yemle beslenen gruptan (T5) istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Gruplarda balık eti besin kompozisyonu incelendiğinde nem ve yağ oranının tüm gruplarda benzer olduğu, proteinin T1 grubunda düştüğü ve külün de K5 grubunda düştüğü tespit edilmiştir. Dalak, karaciğer, iç organ indekslerinde önemli bir fark görülmezken, iç organ yağ indeksi en yüksek K5' de ve en düşük K1'dedir. Deneme sonunda yapılan kan analizlerinde hemaoglobin miktarı en yüksek T1, en düşük K3 gruplarında tespit edilmiş ve istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Hct, RBC, MCV miktarlarında önemli bir değişim olmamıştır. MCH ve MCHC miktarları en yüksek T1 grubunda tespit edilmiştir. Çalışmada, karvakrol ve timol ile beslenen balıklarda lizozim ve miyeloperoksidaz değerleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Esansiyel yağlarla beslenen gruplarda toplam protein, globulin, kolesterol miktarı artarken, glikoz, trigiliserid miktarı azalmıştır. Sonuç olarak alabalık yemlerine 1 g/kg ve 3 g/kg oranında karvakrol ve timol ilavesi bazı hematolojik, immunolojik, biyokimyasal parametreler ve biyometrik ölçümleri geliştirmiştir.

Anahtar sözcükler: Karvakrol, Timol, Büyüme Performansı, Yem Değerlendirme, Biyometrik İndeksler, Kan Parametreleri, Gökkuşacağı Alabalığı.

ABSTRACT

EFFECTS OF PLANT EXTRACTS IN RAINBOW TROUT FEED FOR GROWTH PERFORMANCE, FEED UTILIZATION AND BODY COMPOSITION

Ebru YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Aquaculture

Advisor : Prof. Dr. Sebahattin ERGÜN

27/06/2014, 141

The present study investigated the effects of dietary incorporation of essential lipids of carvacrol and thymol on growth performance, feed utilization, biometric parameters, blood parameters and trace elements in fish tissues of rainbow trout. Carvacrol (K) or thymol (T) was added into diets at levels of 1, 3, 5 g/kg diet (K1, K3 and K5 or T1, T3 and T5 groups, respectively). The experiment was conducted for a period of 60 days and the best growth and feed utilization was recorded in K5 with a carvacrol incorporation of 5 g/kg diet, which was statistically different than the results obtained in the T5 group with 5 g/kg diet thymol incorporation. Moisture and lipid levels in fish meat samples from all experimental groups showed similarities in terms of statistical evaluations. Protein and ash contents showed a decline in T1 and K5 groups, respectively. Spleen, liver, and viscerosomatic indexes did not show any significant differences, while visceral fat index was highest in the K5 group, and lowest in K1 group. Based on the blood analysis conducted at the end of the study, hemoglobin was highest in T1, but lowest in K3 groups with a significant difference. Hct, RBC, MCV amounts did not differ significantly. MCH and MCHC amounts were highest in T1. It has been found that during the course of the study lizozim and myeloperoxidase amounts increased in fish fed with carvacrol and thymol compared to those of the control group. In the experimental groups fed on essential lipids, the total protein, globulin, cholesterol amount tended to increase, while glucose, triglyceride amounts declined. As a result of the study, the incorporation of dietary carvacrol and thymol at levels of 1 g/kg diet or 3 g/kg diet has improved some hematological, immunological, biochemical and biometric parameters in rainbow trout.

Keywords: Carvacrol, Thymol, Growth Performance, Feed Evaluation, Biometric Indices, Blood Parameters, Rainbow Trout.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Gökkuşacağı Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	4
2.2. Balıklarda Büyüme Performansı	5
2.3. Balıklarda Bağışıklık Parametreleri	8
2.3.1. Bağışıklık sistemi bileşenleri; dokular ve organlar	10
2.3.2. Balıklarda bağışıklık sistemi	11
2.3.3. Doğal immün sistem	12
2.3.4. Edinsel immün sistem.....	13
2.3.5. Balıklarda fagositoz.....	16
2.3.6. Balıklarda lizozim ve miyeloperoksidaz enzimleri	17
2.4. Balıklarda Kullanılan İmmunostimulantlar	20
2.4.1. Sentetik kimyasallar	20
2.4.2. Biyolojik maddeler	21
2.4.2.1. Bakteriyel türevleri	21
2.4.2.2. Polisakkaritler	21
2.4.2.3. Beslenme faktörleri	22
2.4.2.4. Hormonlar ve sitokinler	22
2.4.2.5. Hayvan ekstratları	22
2.4.2.6. Bitki ekstratları.....	22
2.5. Esansiyel Yağlar	23
2.5.1. Esansiyel yağların su ürünlerinde kullanımları	24
2.6. Balık Hematolojisi.....	28
2.6.1. Kan biyokimyası.....	29
2.6.1.1. Katı cisimler.....	29

2.6.1.1.1 Eritrosit.....	30
2.6.1.1.1.1. Balık hemoglobinleri	30
2.6.1.1.1.2. Hemoglobinin yapısı	31
2.6.1.1.1.3. Allosterik kontrol.....	32
2.6.1.1.1.4. Balıklarda hemoglobin üzerine yapılan çalışmalar	33
2.6.1.1.2 Lökosit.....	35
2.6.1.1.2.1. Lenfoid seri hücreleri	36
2.6.1.1.2.2. Monosit seri hücreleri.....	37
2.6.1.1.2.2. Monosit seri hücreleri	37
2.6.1.1.2.2.1. Monosit ve makrofajlar	37
2.6.1.1.2.2.2. Dendritik hücreler	37
2.6.1.1.3 Trombosit	37
2.6.1.2. Kan plazması.....	41
2.6.1.2.1. Glikoz	41
2.6.1.2.2. Kan proteinleri	42
2.6.1.2.2.1. Albumin.....	42
2.6.1.2.2.2. Toplam protein	42
2.6.1.2.3. Kan yağları	43
2.6.1.2.3.1. Kolesterol	43
2.6.1.2.3.2. Triglisericid	44
2.7. İz Elementleri	48
2.7.1. Bakır	49
2.7.1.1. İşlevi ve metabolizması.....	50
2.7.1.2. Yetersizlik ve toksisite durumu	50
2.7.1.3. Gereksinimi.....	50
2.7.1.4. Bakır kaynakları.....	50
2.7.1.5. Esansiyel element olarak bakır	51
2.7.2. Mangan	51
2.7.2.1. İşlevi ve metabolizması.....	51
2.7.2.2. Yetersizlik ve toksisite durumu	52
2.7.2.3. Mangan kaynakları.....	52
2.7.3. Çinko	53
2.7.3.1. İşlevi ve metabolizması.....	53
2.7.3.2. Yetersizlik ve toksisite durumu	53
2.7.3.3. Gereksinimi.....	54

2.7.3.4. Çinko kaynakları.....	54
2.7.3.5. Esansiyel element olarak çinko.....	54
BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM	57
3.1. Materyal	57
3.1.1. Deneme Yeri.....	57
3.1.2. Balık Materyali	58
3.1.3. Denemede kullanılan esansiyel yağ bileşenleri	59
3.1.4. Deneme yemi.....	60
3.2. Yöntem	61
3.2.1. Denemenin yürütülmesi.....	61
3.2.2. Suyun fiziksel ve kimyasal analizleri	61
3.2.3. Büyüme performansı ve yemden yararlanmanın hesaplanması	61
3.2.4. Biyometrik analizler	62
3.2.5. Balık yemi ve etlerinde kimyasal besin madde analizleri	62
3.2.5.1. Nem analizi	62
3.2.5.2. Protein analizi	63
3.2.5.3. Yağ analizi	63
3.2.5.4. Kül analizi.....	64
3.2.6. Balıklardan kan örneklerinin alınması ve analizleri	64
3.2.7. Hematolojik analizler	64
3.2.7.1. Eritrosit sayımı.....	64
3.2.7.2. Hematokrit seviyesinin tespit edilmesi	64
3.2.7.3. Hemoglobün miktarının tayini.....	64
3.2.7.4. Eritrosit indeksleri.....	65
3.2.7.4.1. Ortalama eritrosit hacmi (MCV).....	65
3.2.7.4.2. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobün (MCH)	65
3.2.7.4.3. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobün konsantrasyonu (MCHC)	65
3.2.8. İmmunolojik analizler.....	65
3.2.8.1. Lizozim aktivitesi.....	65
3.2.8.2. Myeloperoksidaz aktivitesi	65
3.2.9. Biyokimyasal analizler	66
3.2.10. Karaciğer, et ve pilorik kesede mineral analizleri	66
3.2.11. İstatistik analizler.....	66
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	67

4.1. Büyüme Performansı, Yem Tüketim Sonuçları	67
4.2. Balık Etinin Besin Kompozisyon Sonuçları.....	71
4.3. Biyometrik Ölçümler.....	74
4.3.1. İç organ yağ indeksi (Mezenterik indeks) bulguları.....	74
4.3.2. Dalak somatik indeksi (Spleen-somatik indeks) bulguları.....	75
4.3.3. Visserosomatik indeks (VSI) ve hepatosomatik indeks (HSİ) bulguları.....	75
4.4. İmmunolojik Bulgular	77
4.5. Biyokimya Bulguları	81
4.6. Yağ Bulguları	85
4.7. Hematolojik Bulgular	88
4.8. İz element Bulguları	94
BÖLÜM 5 – SONUÇLAR VE ÖNERİLER	102
5.1. Sonuçlar.....	102
5.2. Öneriler.....	103
KAYNAKLAR	104
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Yemlerine bitkisel ürünler eklenen balık türleri	2
Şekil 2.1. Dünyada Gökkuşacağı alabalığının en çok üretildiği alanlar	4
Şekil 2.2. Yetiştiricilik üretiminin türlerine göre dağılımı.....	5
Şekil 2.3. Balığın immun sistemi üzerine çeşitli faktörlerin etkisi	9
Şekil 2.4. Patojen ile karşılaşan balığın etkileşiminin şematik gösterimi	12
Şekil 2.5. PAMP-PRR bağlanması.....	13
Şekil 2.6. Doğuştan ve edinsel bağışıklık sistemleri arasındaki etkileşim.....	15
Şekil 2.7. Fagosit reseptörleri.....	17
Şekil 2.8. Fagositoz, fagozom ve fagolizom oluşumu	17
Şekil 2.9. Balıkların genel kan tablosu.....	29
Şekil 2.10. Balıklarda kan hücreleri, a) eritrosit, b) lenfosit, c) monosit, d) trombosit, e) asidofilik granulosit, f) nötrofilik granulosit, g) basofilik granulosit.....	30
Şekil 2.11. Gökkuşacağı alabalığı kan lökositlerinin flow sitometrik analizi	36
Şekil 2.12. Gökkuşacağı alabalığındaki kan hücreleri a) nötrofil, b) lenfosit, c) trombosit ve d) monosit	38
Şekil 2.13. Trigliserid.....	45
Şekil 3.1. Deneme yerinin krokisi.....	57
Şekil 3.2. Fethiye Çobanlar Söğütlüdere Tesisi	57
Şekil 3.3. Denemede kullanılan tanklar	58
Şekil 3.4. Deneme balıkları.....	58
Şekil 3.5. Denemede kullanılan Gökkuşacağı Alabalığı (Orijinal)	59
Şekil 3.6. Karvakrol	59
Şekil 3.7. Timol.....	59
Şekil 4.1. Deneme süresince gruptaki balıkların ortalama ağırlıkları.....	68
Şekil 4.2. Deneme sonunda gruptaki balıkların balık eti nem, protein dağılımı.....	72
Şekil 4.3. Deneme sonunda gruptaki balıkların balık eti yağ, kül dağılımı.....	72
Şekil 4.4. Denemede lizozim aktivitesi bulgularındaki değişimler.....	78
Şekil 4.5. Deneme süresince miyeloperoksidaz aktivitesi bulgularındaki değişimler.....	79
Şekil 4.6. Denemede grupta göre serum glikoz ve protein bulguları.....	82
Şekil 4.7. Denemede grupta göre albümin ve globulin bulguları	82
Şekil 4.8. Deneme süresince yağlarının dağılımları.....	87

Şekil 4.9. Deneme sonunda grupların hematokrit, hemoglobin, kırmızı kan hücre parametrelerinin dağılımları.....	90
Şekil 4.10. Deneme sonunda grupların, eritrosit hacmi, ortalama eritrosit hemoglobini, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu parametrelerinin dağılımları.....	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Tıbbi bitkilerin ve esansiyel yağ bileşenlerinin alabalıkların büyüme performansı üzerine etkileri.....	7
Çizelge 2.2. Tıbbi bitkilerin ve esansiyel yağ bileşenlerinin alabalıkların besin değeri üzerine etkileri	8
Çizelge 2.3. Zebra balığında doğuştan ve kazanılmış bağışıklık sistemi bileşenleri.....	15
Çizelge 2.4. Tıbbi bitkilerin balıkların bazı bağışıklık parametreleri üzerine etkileri.....	19
Çizelge 2.5. Balıklarda kullanılan immunostimulantlar.....	20
Çizelge 2.6. Timolün ve karvakrolün kimyasal özellikleri ve yapıları	27
Çizelge 2.7. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri.....	38
Çizelge 2.8. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri	46
Çizelge 3.1 Denemede kullanılan yemin besin madde içeriği	60
Çizelge 3.2 Denemede kullanılan suyun fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.....	61
Çizelge 4.1. Denemede elde edilen büyüme performansı ve yem tüketim sonuçları	67
Çizelge 4.2. Tıbbi bitkilerin balıkların büyüme performansı üzerine etkileri.....	69
Çizelge 4.3. Denemede elde edilen balık eti kompozisyonu bulguları	71
Çizelge 4.4. Tıbbi bitkilerin balıkların besin kompozisyonu üzerine etkileri	73
Çizelge 4.5. Farklı oranlarda timol ve karvakrol ile beslenen alabalıkların 60. gün iç organ indeksleri	74
Çizelge 4.6. Tıbbi bitkilerin balıkların biyometrik ölçümleri üzerine etkisi.....	76
Çizelge 4.7. Deneme süresince lizozim aktivitesi (LA) ve myeloperoksidaz bulgularındaki değişimler.....	77
Çizelge 4.8. Tıbbi bitkilerin balıkların lizozom ve myeloperoksidaz aktiviteleri üzerine etkileri.....	80
Çizelge 4.9. Deneme süresince glikoz, toplam protein, albümin ve globülin bulgularındaki değişimleri	81
Çizelge 4.10. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri	84
Çizelge 4.11. Deneme süresince yağ bulgularındaki değişimler.....	86
Çizelge 4.12. Deneme boyunca hematolojik bulgulardaki değişimler.....	89
Çizelge 4.13. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri.....	92

Çizelge 4.14.	30. gün ve 60. günde karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların kas dokularında biriken iz element konsantrasyonları	95
Çizelge 4.15.	30 ve 60 günde karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların karaciğer dokularında biriken iz element konsantrasyonları	96
Çizelge 4.16.	30. ve 60. günde karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların plorik kesede biriken iz element konsantrasyonları	97
Çizelge 4.17.	30. ve 60. günde timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların kas dokularında biriken iz element konsantrasyonları.....	98
Çizelge 4.18.	30. ve 60. günde timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların karaciğer dokularında biriken iz element konsantrasyonları	99
Çizelge 4.19.	60 gün timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların plorik kese dokularında biriken iz element konsantrasyonları.....	100

BÖLÜM 1

GİRİŞ

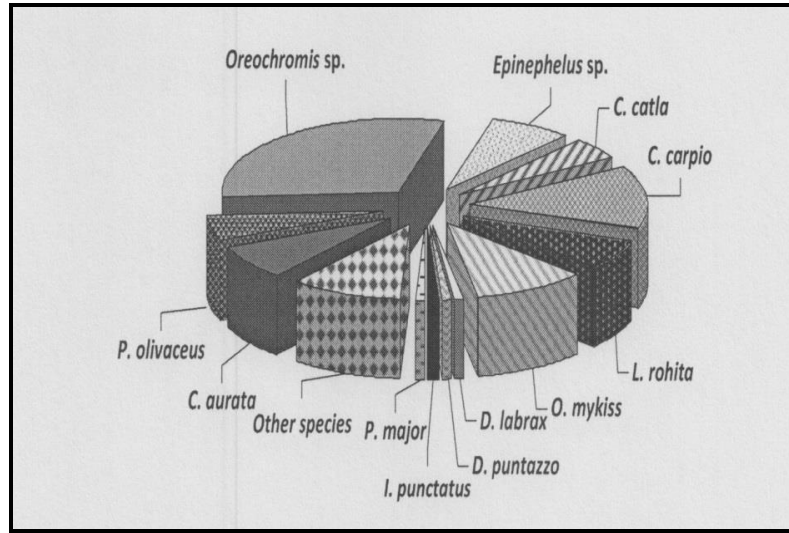
Su ürünleri sektörü son yıllarda üretim açısından oldukça hızlı bir büyüme göstermiştir. Ancak, çiftliklerde yoğun ve stresli yetiştirme koşulları ile görülen hastalıklar su ürünleri yetiştiriciliğinde ciddi problemlere ve ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır (FAO/WHO/OIE 2006). ABD ve Avrupa (ABD yemek ve ilaç yönetimi / ABD çevresel koruma örgütü. 1804/1999, 37/2000, 82/2001, 178/2002, 74/2003, 28/2004, 726/2004 ve 834/2007 sayılı Konsey Tüzüğü; 119/1992, 47/1997, 336/1999 ve 71/2003 sayılı İtalyan kararnameleri) su ürünlerinde kullanılan ilaçların sayısını sınırlamıştır (Ji ve ark., 2007a). Aşı, hastalığı önlemenin en etkili yöntemlerinden biridir. Ancak, maliyetinin yüksek olması ve aşıya dirençli mikrobiyal suşlar gelişebildiğinden dolayı son yıllarda su ürünleri hastalıklarının tedavisinde, (immunokompetans) bağışıklık yeteneğinin güçlenmesi ve patojenlere karşı direnç gibi konularda alternatif stratejilerin geliştirilmesi öngörülmektedir. Sentetik veya doğal bağışıklık sistemini güçlendirici maddeler (probiyotikler, kompleks karbonhidratlar, beslenme faktörleri, hormonlar, sitokinler, hayvan, bitki ve yosunlardan elde edilen ürünler) balık gelişimini desteklemenin yanında olumsuz etkilerde neden olabilmektedir (Anderson, 1992; Galeotti, 1998; Sakai, 1999). Bununla birlikte hormonlar, vitaminler ve kimyasalların kullanımı balıklarda yan etkilere neden olabilmektedir.

Son yıllarda, tıbbi bitkilerin su ürünlerinde kullanımı bilimsel araştırmaların ilgi çekici bir konusu haline gelmiştir (Jeney ve ark., 2009; Chakraborty ve Hancz, 2011). Yapılan araştırmaların % 83'ü 2006-2011 yıllarında, % 15'i 2001-2005 yıllarında, geriye kalan kısım ise 2001 yılından önce yapılmıştır. Bu araştırmaların büyük çoğunluğu Asya'da gerçekleştirilmiştir. Ülkelere göre dağılımlar; Hindistan % 30,2, Kore % 19,8, Tayland % 7,5, Çin % 5,7, İran % 6,6, Mısır % 6,6, Türkiye % 3,8, İsrail % 2,8, Birleşik Krallık % 4,7, Yunanistan % 0,9 ve Macaristan % 0,9 olarak bildirilmiştir. Amerikada yapılan deneyler hakkında herhangi bir veriye ulaşılamamıştır.

Tıbbi bitkiler büyümeyi etkileyici, iştah arttırıcı, antimikrobiyal, immünostimülant, antienflamatuar, antistres, antikanser özellikleri ile bilinmektedir. Son zamanlarda balık sağlığının iyileştirilmesine yönelik ve hastalık yönetimi ile ilgili su ürünleri alanında 60'dan fazla bitki türü ile araştırma yapılmıştır. En çok çalışılan bitkiler Çin, Hindistan, Tayland ve Kore de geleneksel tıpta kullanılanlardır. Örneğin, *Achyranthes aspera* (kaba saman), *Aegle marmelos* (hint ayvası), *Angelica sinensis* (melek otu), *Astragalus*

membranaceus (çin geveni kökü), *Azadirachta indica* (nim ağacı), *Crataegi fructus* (alıç meyvesi), *Cynodon dactylon* (ayrık otu), *Echinacea purpurea* (mor ekinezya otu), *Eclipta alba* (dul avrat otu), *Lonicera japonica* (japon hanımelisi), *Punica granatum* (nar), *Scutellaria baicalensis* (baykal kasidesi), *Solanum nigrum* (köpek üzümü), *Tinospora cordifolia* (guduchi) ve *Whitania somnifera* (hint ginsengi). Bununla birlikte, tüm dünyada tedavi amacıyla ve mutfakta kullanılan diğer bitkiler şunlardır; sarımsak tozu, yeşil çay, tarçın, zerdeçal, mango, nane, hindistan cevizi, kekik, fesleğen, ışgın, biberiye, zencefil. Bitkisel ilaçlar genellikle tohum, tomurcuk ve yapraklar gibi bitkisel materyaller ile farklı aquatik, organik çözücü (ethanol, metanol, etil asetat, hekzan, bütan, aseton, benzin, petrol) veya uçucu yağ gibi bileşenler içeren bitkisel kökenli ürünler tarafından oluşturulmaktadır. Çalışmalar, Asyada yaygın olan balık türleri üzerinde yapılmıştır.

Genel olarak % 29 tilapya (mozambik tilapya ve nil tilapyası), % 25.2 sazan (sazan, Güney Asya sazanı ve Asya köpekbaş sazanı), % 7.5 japon balığı, % 7.5 orfoz balığı (*Epinephelus tauvina* ve *bruneus*), % 5.6 Japon pisi balığı (*Paralichthys olivaceus*) üzerinde çalışılmıştır, geri kalan balık türleri ise *Pseudosciaena crocea*, *Sebastes schlegeli*, Japon yılan balığı, *Oplegnathus fasciatus* ve *Channa punctatus*dur. Batı ülkelerinde kültürü yapılan balık türleri arasında, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) % 10.3 ile en çok incelenen türlerden biri olmuştur. Yayın balığı (*Ictalurus punctatus*), sivriburun karagöz (*Diplodus puntazzo*), çipura (*Pagrus major*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) ile ilgili çalışmalar azdır. Deniz çipurası (*Sparus aurata*), kalkan balığı, dil balığı ve atlantik salmonu ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır (Galeotti ve ark., 2013).



Şekil 1.1. Yemlerine bitkisel ürünler eklenen balık türleri (Galeotti ve ark., 2013)

Tıbbi bitkiler, immunostimulan (uyarıcı) olarak en çok oral yoldan kullanılırken nadiren enjeksiyon ve immersiyon yöntemiyle de kullanılabilir. Oral yöntem, immunostimulan (uyarıcı) olarak minimum düzeyde etkinlik sağlamasına karşın, ürün balık tarafından yavaşça absorbe edildiğinden dolayı, balık çiftlikleri tarafından en çok kullanılan yöntem olarak kabul edilir (Galeotti ve ark., 2013). Bu yöntem balıkların stresten uzak kalmasını, minimum maliyet ve çaba ile tedavisini sağlar (Sakai, 1999). Su ürünlerinde temel hedefler balık performansını geliştirmeye yönelik olduğu kadar balık sağlığını korumaya dayalıdır. Bu durum ticari balık yemlerinde fonksiyonel besin takviyesi olarak görev yapan yeni maddelerin değerlendirme süreçlerini başlatmıştır. Bu ürünler immunostimulanlar, probiyotikler, prebiyotikler, bitki türevleri ve fitojeniklerdir (Galeotti ve ark., 2013). Bu ürünlerin birçoğu kümes hayvanları, domuz ve sığır üretimi için geliştirilirken, bunların balık yemindeki potansiyelinin araştırılması oldukça yenidir.

Son zamanlarda antibiyotiklere alternatif uygulamalar su ürünleri yetiştiriciliğinde daha çok dikkat çekmeye başlamıştır (Bricknell ve Dalmo, 2005; Balcázar ve ark., 2006). Tüketicilerin artan duyarlılığı ile iyi bir korelasyon oluşturan bu eğilimlere kimyasal içermediği ve çevre dostu olduğu için talep artmaktadır (Francis ve ark., 2005; Rawling ve ark., 2009). Bu tür uygulamalar gökkuşuğu alabalığı da dahil olmak üzere çeşitli tatlı su balık türlerinin yemlerinde olumlu etki göstermeye başlamıştır (Düğenci ve ark., 2003). İnsanlarda bitkisel maddelerin veya bitki özlerinin farmakolojik etkisi, iyi bilinmektedir fakat hayvan beslenmesinde bununla ilgili yapılan çalışmaların sayısı oldukça düşüktür. Bu tezde kekik esansiyel yağının önemli bileşenlerinden olan timol ve karvakrolün gökkuşuğu alabalığında büyüme performansı, yem kullanımı, biyometrik ölçümler, kan parametreleri ve iz element biyoakümülyasyonu üzerine etkileri incelenmiştir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Oncorhynchus mykiss Kuzey Amerikaya ait bir tür olup 1880 yıllarında Avrupa'ya getirilmiştir (Alpbaz, 2005). Gökkuşığı alabalığı dünyada birçok ülkede üretilmektedir, en çok üretildiği ülkelerin başında Avrupa, Kuzey Amerika, Şili, Avustralya ve Japonya gelmektedir. Üretimin çoğu tatlı su tankları, gölet ve kafeslerde olmaktadır, çok küçük bir bölümü ise deniz kafeslerinde yapılmaktadır (FAO/WHO/OIE, 2006). Şekil 2.1' de gökkuşığı alabalığın en çok üretildiği ülkeler verilmiştir.

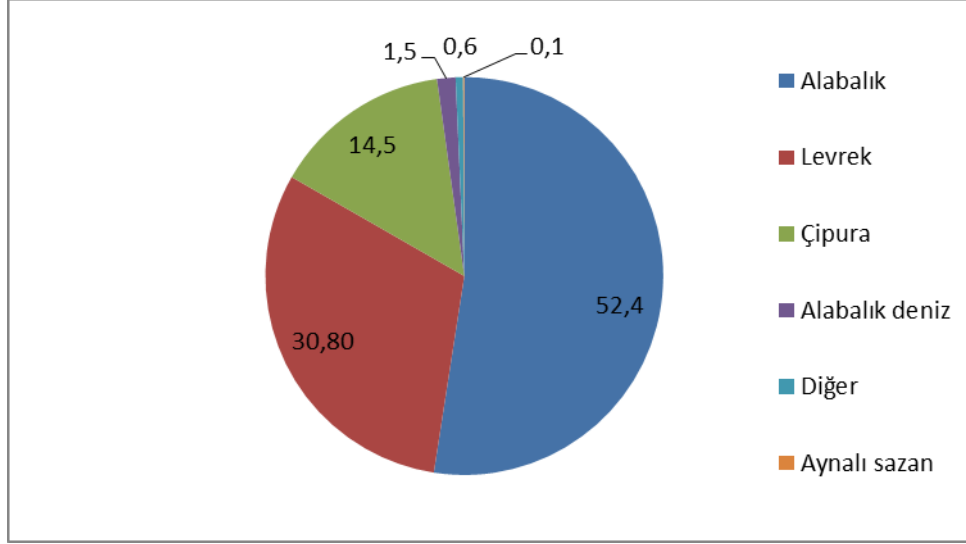


Şekil 2.1. Dünyada Gökkuşığı alabalığının en çok üretildiği alanlar (FAO/WHO/OIE, 2006)

Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hızlı büyüme özelliği ve besleyici kalitesinden dolayı pek çok ülkede doğadaki en popüler balık türlerinden biri olarak kabul edilir (Tikeogly, 2000). Çevre koşullarına karşı çok iyi uyum gösterir (Simonović, 2001). Gökkuşığı alabalığında yumurtlama ve yumurta kuluçkalanması için 10-12 °C, besi için 15-17 °C sıcaklık değerleri en iyi verim sağlamak için en uygun değerlerdir (Alpbaz, 2005).

Alabalıklar için istenen minimum oksijen miktarı 6-7 mg/lt dir (Çağiltay, 2011). Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan türdür. Kültür balıklarının türlere göre dağılımında en yüksek yetiştiriciliği yapılan balık,

iç sulardaki alabalık olup, toplam su ürünleri yetiştiriciliğinin % 52.4 'nü oluşturmaktadır. Bunu % 30.8 ile levrek, % 14.5 ile çipura takip etmektedir. Alabalık (deniz) ve aynalı sazan (iç su) üretimlerini de diğerlerini takip etmektedir (TUİK, 2012).



Şekil 2.2. Yetiştiricilik üretiminin türlerine göre dağılımı (TUİK, 2012)

2.2. Balıklarda Büyüme Performansı

Balıklarda büyüme; besin tüketimi, değerlendirilmesi ve buna bağlı olarak vücutta meydana gelen boy ve ağırlık artışı olarak ifade edilebilir (Nikolsky, 1963). Büyüme bir zaman dilimi içindeki enerji dengesinin pozitif olmasının sonucu olarak ortaya çıkan hücre sayısı ve büyüklüğündeki artış anlamına gelmektedir. Balıkta bağırsak mukozası, deri dokusundaki sürekli yenilenmeler gibi artışlar ise büyüme kavramı içinde değerlendirilmez (Mommsen, 1998). Büyüme ve yem dönüşüm oranı su ürünlerinde başarıyı etkileyen iki kritik değişkendir. Balığın üremesini ve büyümesini yem kalitesi, yem alımı, su sıcaklığı gibi parametreler etkiler. Ticari yem, sadece besin içeriği dengelenmiş yem demek değildir aynı zamanda kolay sindirilebilen ve minimum atık bırakan yemdir (Okumuş, 2000; Hasan, 2001). Günlük besleme oranı ve beslenme zamanı, büyümeyi ve yem dönüşümünü etkileyen önemli faktörlerdendir. Optimal beslenme sıklığı, türlere, yaşa, çevresel faktörlere ve yem kalitesi gibi etkenlere bağlı olarak farklılık gösterebilir (Goddard, 1996). Günümüzde alabalıkların beslenmesinde daha verimli ve çevreye daha az etki yapacak yemlerin üretilmesi için araştırmalar yapılmaktadır (Torstensen ve ark., 2008; Overland ve ark., 2009; Sarker ve ark., 2011; Collins ve ark., 2012). Balıklar pazar boyuna kolay ulaşabilmek için azotsuz enerji kaynakları (lipitler ve sindirilebilir karbonhidratlar) ile

yüksek proteinli yemlere ihtiyaç duymaktadırlar. Balık yemleri genellikle % 25-50 ham protein içerir, salmon yemleri ise % 40-50 oranında ham protein içerirler. Balık unu protein içeriği yüksek olan maddelerden biridir ve salmon yemlerinde % 25-65 oranında bulunur (Akyurt ve Erdogan, 1994; Akiyama, 1988).

Karnivor türlerin doğal besinleri içerisinde karbonhidrat çok az miktarda bulunurken herbivor türler yüksek karbonhidratlı besinleri çok miktarda tüketmektedir. Karbonhidrat molekülleri tüm türler tarafından kolaylıkla sindirilebilen basit şekerlerden sadece bakteriler tarafından sindirilebilen selüloz ve lignin gibi karmaşık bileşiklere kadar değişmektedir. Ancak karbonhidratlar ucuz enerji kaynaklarıdır ve balık yemleri içinde kullanılmaları ekonomik anlamda bir avantaj sağlamaktadır. Fakat balık yemlerinde karbonhidratların hangi oranlarda kullanılacağı konusunda görüş ayrılıkları da vardır. Bazı araştırmacılar alabalıkların karbonhidratları az oranda sindirebildikleri için yemlerinde %12 oranında olması gerektiğini bazıları *O. Tshawytscha* türünde yemin içinde % 28'in üzerinde desktrin bulunmasının herhangi bir sorun yaratmadığını ve nişastanın pişirilerek verilmesinin metabolize enerjii arttıracığını bildirmektedirler (Smith, 1989). Gökkuşuğu alabalığı ve diğer hayvanlar arasındaki besin gereksinimi farklılığı, içerdikleri esansiyel minerallerin farklılığından kaynaklanmaktadır. Alabalıklar yetiştikleri sudan mineral ihtiyaçlarının büyük bir kısmını temin ederler. Bir başka önemli fark gökkuşuğu alabalığı yemlerinde enerji kaynağı olarak protein, yağ ve karbonhidrat tercih edilir. Protein ve enerji tüm hayvanlar için gökkuşuğu alabalıkları da dahil olmak üzere gereken esansiyel yem bileşenleridir. Gökkuşuğu alabalığı yemlerinde başlıca 10 aminoasit büyüme ve gelişme için gereklidir. Bununla beraber yemin gereksinimleri 4 aminoasit (arginin, lizin, metionin ve triptofan) ile karşılanmıştır. Yemler bu 4 amino asiti yeterli düzeyde içerecek şekilde formüle edilmişlerse diğer aminoasitlerin yemde yeterli seviyede bulunması önemsizdir aynı zamanda aminoasitlerin yemlerde bulunması balık türleriyle de yakından ilişkilidir. Örneğin lizinin gökkuşuğu alabalığı yemlerindeki oranı % 1.3 - % 2.9 arasında değişmektedir. Proteinler balıklarda optimum büyüme için gereken besin kaynaklarıdır. Balık yemlerinde en pahalı makronutrientlerdir (Pillay, 1990). Enerji amacı ile kullanıldıklarında amino asitlerine parçalanırlar (katabolizma) ve amonyak atılımı meydana gelir. Ancak proteinin enerji amacı ile kullanılması doku oluşumunu sınırlayacağından büyümeyi yavaşlatmaktadır. Hem bu açıdan hem de yemin ekonomikliği açısından enerji gereksinimi için yağlar ve karbonhidratlardan yararlanmak daha doğrudur. Enerji kaynağı olarak çok fazla oranda protein kullanılması, branşiyal sistemden çok fazla miktarda nitrojenin amonyak olarak atılmasına neden olmaktadır (Cho ve ark., 1982).

Gökkuşığı alabalığı yemlerinin % 0.5 ve % 1 arasında yağ asidi içermesi gereklidir. Çoğu balık türleri gibi alabalık yemlerinde EPA ve DHA içerir. Alabalıklara, aynı zamanda az miktarda n-6 yağ asitleri özellikle araşidonik asit, fosfolipid ve prostaglandin sentezi için gerekir (Cho ve Cowey, 1991). Vitaminler gökkuşığı alabalığı diyetleri için gerekli besinlerdir (McLaren ve ark., 1947). Alabalık yemlerine beş adet iz elementi (bakır, iyot, demir, manganez ve çinko) takviyesi yapılması uygun görülmektedir bunun nedeni yemde bulunan balık unu mineral yönünden zengin bir hammaddedir. Su ürünlerinde, yaşama oranını, büyüme performansını ve besin kullanımını geliştirmek için balık yemlerine büyüme arttırıcı katkı maddeleri eklenir. Yem takviyeleri probiyotikler, maya, amino asitler, antioksidanlar, karnitin, renklendiriciler, enzimler, lipid türevleri, nutrasötikler, vitaminler, hormonlar, aromatik bileşikler, bitki ekstratları ve bazı organik asit ve organik tuzlardır (Goda, 2008). Balık diyetlerinde bitkisel ürünlerin kullanımı, su ürünleri yetiştiriciliğinde çok güncel bir kavramdır ve gelecekteki yapılacak çalışmalarda bitkisel ürünler büyüme arttırıcı ve sağlığı geliştirici olarak görülmektedir (Gatlin ve ark., 2007). Alabalıklarda kullanılan tıbbi bitkiler ve esansiyel yağ bileşenlerinden timol ve karvakrolün büyüme performansı, yem tüketimi ve nutrient kullanımına etkisi üzerine yapılan çalışmalar Çizelge 2.1 ve 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Tıbbi bitkilerin ve esansiyel yağ bileşenlerinin alabalıkların büyüme performansı üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak
Maça (<i>Lepidium meyenii</i>)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	YDO (↓), SBO (↑)	Lee ve ark.,2004
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	YDO (↓), SBO (↑)	Nya ve Austin, 2009a
<i>Origanum heracleoticum</i> L. (Karvakrol ve Timol)	<i>Ictalurus punctatus</i>	Timol YDO (↔) Karvakrol YDO (↓) Karışım YDO (↔)	Zheng ve ark., 2009
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	YDO (↓), SBO (↑)	Farahi ve ark., 2010
Karvakrol + Timol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	YDO (↓), SBO (↑)	Ahmadifar ve ark., 2011
Defne yaprağı	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	YDO (↓), SBO (↑)	Çağiltay ve ark.,2011

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

Çizelge 2.2. Tıbbi bitkilerin ve esansiyel yağ bileşenlerinin alabalıkların besin değeri üzerine etkileri

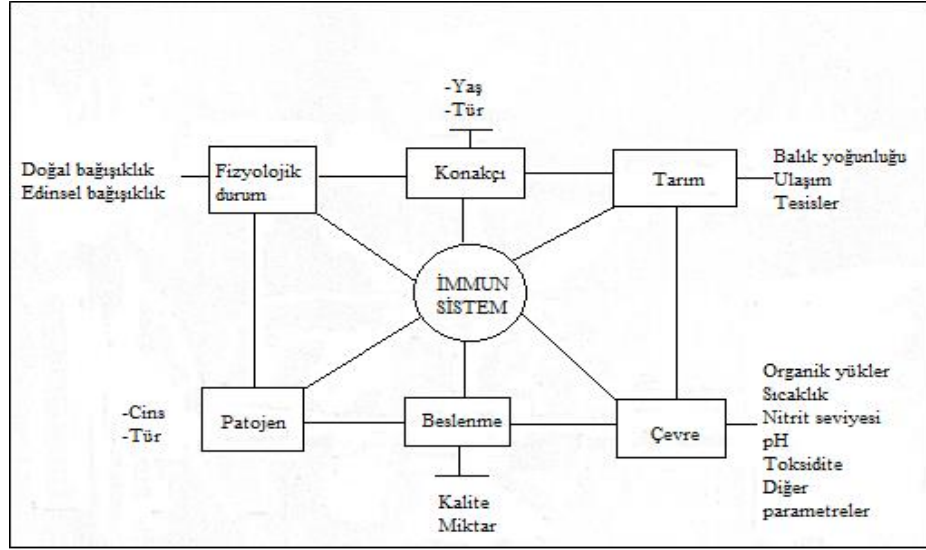
Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak
<i>Origanum heracleoticum L.</i> (karvakrol ve timol)	<i>Ictalurus punctatus</i>	Protein(\leftrightarrow), yağ(\leftrightarrow), kül(\leftrightarrow), nem(\leftrightarrow), Karışım	Zheng ve ark., 2009
Karvakrol + Timol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Protein(\uparrow), nem (\downarrow), yağ (\leftrightarrow) (whole body)	Ahmadifar ve ark., 2011
Defne yaprağı	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Protein(\leftrightarrow), kül(\leftrightarrow), nem(\leftrightarrow), yağ (\uparrow)	Çağıltay ve ark.,2011
Oğul otu ve defne yaprağı	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Protein(\leftrightarrow), yağ(\leftrightarrow), nem (\leftrightarrow), kül(\leftrightarrow)	Fahari ve ark., 2012

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : \downarrow Önemli azalış \uparrow Önemli artış \leftrightarrow Önemli Değişim yok

2.3. Balıklarda Bağışıklık Parametreleri

Bütün omurgalılar gibi balıklar da, hüresel ve doğal bağışıklık yanıtına ve temel görevi savunma olan merkezi organlara sahiptir (Zapata ve ark., 1996; Tort ve ark., 2003; Cabezas, 2006; Nelson, 2006). Balıkların savunma sistemi memelilerinkine benzerdir. Balıklardaki hüresel savunma sistemleri, teleostlardaki T ve B lenfositlerinin yanı sıra makrofajlara benzeyen fagositik hücreleri, nötrofilleri ve doğal öldürücü (NK) hücreleri içerir. Teleostlar ayrıca tamamlayıcı (klasik ve alternatif yollar), lizozim, doğal hemolisin, transferin ve C-reaktif protein (CRP) gibi değişik salgısal savunma unsurlarına da sahiptirler. Ayrıca sitokinler (interferon ve interlekuin 2 (IL-2) gibi) ve makrofaj uyaran faktörleri de içerdiği rapor edilmiştir (Secombes ve ark., 1996; Sakai, 1999). Bunun aksine, balıklar ve memeliler arasında bağışıklık sisteminin morfolojisi oldukça farklıdır. Örneğin balıklarda kemik iliği ve lenf boğumları yoktur ve ilk böbrek büyük bir lenfoid organ görevi görmektedir (Press ve Evensen, 1999). Bağırsak ile ilgili lenfoid dokular ayrıca lenfoid organlar olarak bilinir ve sazanda bağışıklık yanıtında rol aldığı görülmektedir

(Joosten ve ark., 1996). Pisibalığı gibi bazı teleostların, kan damarları sisteminden farklı olan lenfatik bir sisteme sahip oldukları görülmüştür, ancak diğer türlerde bu tarz bir sistem gözlenmemiştir (Hølvold, 2007). Balıkların sağlığı, yaşadıkları çevre ve balığın bazı büyük bileşenleri arasındaki ilişkiye bağlıdır (Şekil 2.3). Çevre, balık sağlığı matrisinin en önemli unsuru olabilir, çünkü çevresel durum balığın psikolojik sağlığını, yetiştirilen türlerin beslenme rejimini, büyüme oranını, doğal ve edinilen direnci ve bağışıklığı devam ettirmeyi etkiler. Bu faktörlerden birinde sorun yaşandığında balıklar enfeksiyona daha duyarlıdır (Magnadóttir, 2010; Plumb ve Hanson, 2011).



Şekil 2.3. Balığın immun sistemi üzerine çeşitli faktörlerin etkisi (Magnadóttir, 2006; Plumb ve Hanson, 2011)

Bir hastalık genetik bozukluktan kaynaklanabildiği gibi fiziksel bir yaralanma, beslenme ile ilgili bir düzensizlik veya kirlilik gibi abiyotik faktörler, patojenler veya bütün bu faktörlerin kombinasyonundan kaynaklanabilir. Hastalığa yol açan birçok etken olabilir. Konakçı (host) ile hastalık oluşturan sebepler arasında karışık ilişkiler mevcuttur. Bakterilerin birçok ilaca karşı direnç göstermesi (çoklu ve çapraz direnç) su ürünlerinde önemli bir sorun haline gelmiştir (Aoki ve ark., 2008; Alderman ve Hasting, 2003; Horsberg, 2003). Vibriosis, enterik kızıl ağız hastalığı, frunkulosis ve enfeksiyöz pankreatik nekrosis (IPN) aşılama, etkili bir profilaksidir. Aşılama, balık hastalıklarının kontrolünde en etkili yöntem olabilir bununla beraber bakteriyel böbrek hastalığına neden olan *Renibacterium salmoninarum* bakterisine karşı henüz ticari bir aşı yoktur. İmmunostimulantlar örneğin, sentetik kimyasal maddeler, bakteri türevleri, polisakaritler ya da hayvan ve bitki özleri bulaşıcı hastalıklara karşı direnci arttırırlar.

İmmunostimulantlar, balıklarda immunokompetans (bağışıklık tepkisi verebilme yeteneği) ve hastalıklara karşı direnci arttırmada kullanılırlar (Sakai, 1999; Klesius ve ark., 2001; Subasinghe, 2009). Vitaminler, karotenoidler, probiyotikler, prebiyotikler, simbiyotikler ve bitkisel ilaçlar gibi yem katkıları balıklarda denenmiştir. Genel olarak bu etkiler, stresi azaltma, doğuştan gelen bağışıklığın etkisinin artırılması ve hastalıklara karşı direncin geliştirilmesi için yararlı olmuştur (Austin ve Brunt, 2009; Hoffmann, 2009; Magnadóttir, 2010; Nayak, 2010).

2.3.1. Bağışıklık sistemi bileşenleri; dokular ve organlar

İmmun organlar balıkların farklı türleri arasında çeşitlilik gösterir. Çenesiz balıklarda gerçek lenfoid organlar yoktur. Bunun yerine bu balıklarda bağışıklık hücresi üretimi, diğer organların içinde bulunan lenfoid doku bölgeleri ile gerçekleşir (Zapata ve ark., 1996). Memelilerde mevcut olan üretken ve ikincil lenfoid organların çoğu, lenf nodülleri ve kemik iliği haricinde, balıklarda da bulunur (Zapata ve ark., 1996; Press ve Evensen, 1999; Alvarez-Pellitero, 2008; Jimeno, 2008). Balıklarda en önemli immunkompetan organ ve dokular; timus, dalak, karaciğer, mukozal lenfoid dokular ve böbrektir (Press ve Evensen, 1999; Shoemaker ve ark., 2001).

Böbrekler salmonid balıklarda genellikle uzun, ince, koyu kahverengi-kırmızı renkte organ olup vücudun sırt kısmında (dorsal) vertebraların altında bulunur. Böbrekler bir çifttir. Birbirine çok yakın seyreden böbrekler orta hat boyunca iç içe girerler. Böbreklerin posterior ucu boşaltım görevi görür (Press ve Evensen, 1999; Tort ve ark., 2003). Anterior (ön) böbrek olarak adlandırılan kısım, hematopoez ve balıklarda bağışıklıkta önemlidir ve lenfo miyeloid bölgedir (Press ve Evensen, 1999). Böbrek olgunlaştıkça kan akışı yavaşlar ve antijenlere maruz kalır. Organın yapısında baskın olarak makrofajlar özellikle de melanomakrofajlar ile birlikte lenfositler ve plazma hücreleri de bulunur. Alabalıklarda self ve nonself maddeler, böbrek sinuzoidal endotelial hücreleri ve makrofajlar tarafından endosite edilerek idrar yolu ile dışarı atılırlar. Antijenik maddeler ise antijen sunan hücreler tarafından işlenerek T- hücrelerine sunulur ve böylece spesifik immun yanıt başlatılır (Zapata ve ark., 2006).

Timus, solungacın dorso-lateral bölgesinde yer alan iki loblu ilk lenfoid organdır. Timusun boyutu mevsim değişimlerine ve hormon döngülerine takiben değişir (Meseguer ve ark., 1995; Zapata ve ark., 1996; Press ve Evensen, 1999; Galindo-Villegas ve Hosokowa, 2004). Lenfositler birincil lenfoid organ olan timus ve kemik iliği içerisinde

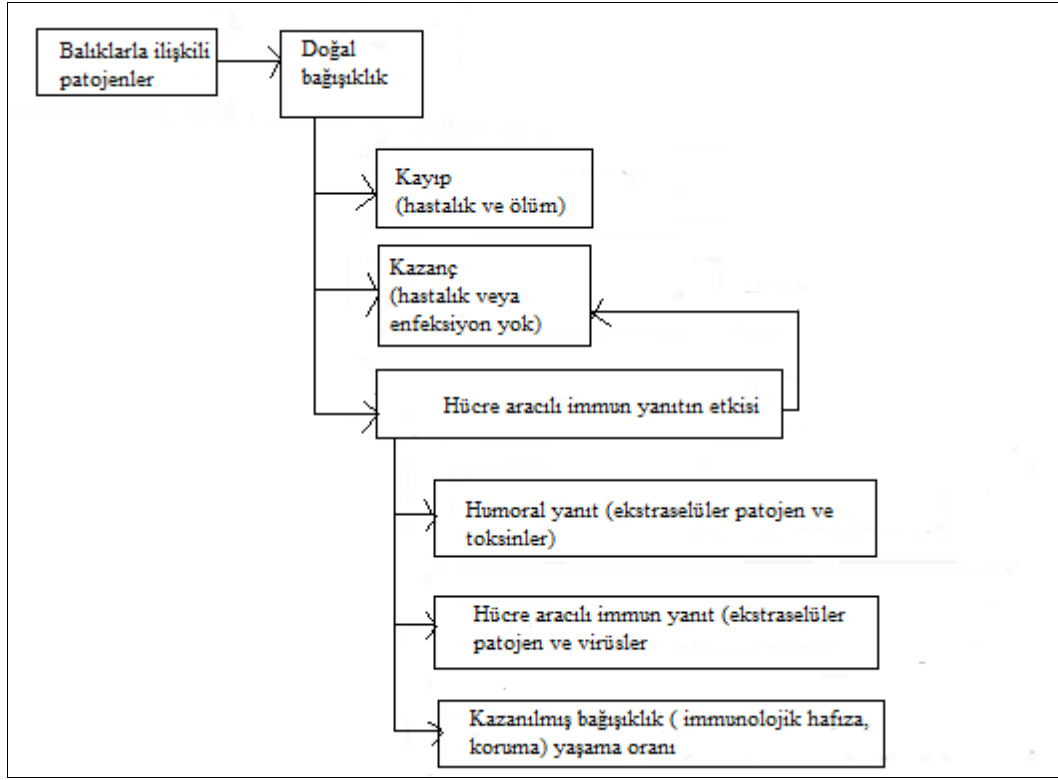
gelişirler. Balık kanında lenfositler dalak ve böbreğe uğramadan önce timusdan geçerler (Tatner ve Findlay, 1991).

Balıkta ikincil lenfoid organ olan dalak, çok fonksiyonlu bir organdır, lenf nodülleri dokulardaki ve lenf dolaşımındaki antijenleri süzerken, dalak kandaki antijenleri süzer. Bu süzme işlemi antijenleri ve yaşlı kan hücrelerini kandan uzaklaştırır. Bunun yanında dalak, kan hücrelerinin depolanması, immun yanıt oluşumu ve fetal dönemde eritrosit yapımında da rol oynar. Aynı zamanda dalak, dolaşıma immunoglobün üreten plazma hücreleri de yüksek miktarda içermektedir (Manning, 1994; Zapata ve ark., 1996 Galindo-Villegas ve Hosokowa, 2004). Balıklarda dalak memelilerde olduğu gibi lenfositçe zengin beyaz pulpa ve eritrositçe zengin kırmızı pulpa bölgelerine ayrılmıştır. Farklı büyüklükteki lenfositler, çok sayıda ve olgun plazma hücreleri ve makrofajlar içerir. Beyaz pulpa melanomakrofaj merkezleri ve elipsoidler olmak üzere iki bölüme ayrılmıştır. Elipsoidlerin plazma filtrasyonunda ve özellikle bağışıklık kompleksinde özel bir fonksiyonunun olduğu bilinmektedir. Birçok makrofaj, melanomakrofaj merkezlerinde düzenlenir. Melanomakrofaj merkezleri antijenleri immun kompleksleri halinde, uzun süre saklarlar. Teleostlarda dalakta lenfoid doku gelişimi zayıf olmasına rağmen, antijenik uyarımdan sonra lenfoid dokuda artış görülmektedir. Bu nedenle dolaylı olarak, bu grup balıklarda T ve B benzeri hücrelerin var olabileceği düşünülmektedir (Espenes ve ark., 1995; Zapata ve ark., 1996; Galindo-Villegas ve Hosokowa, 2004).

Balıklarda karaciğerin immun sistemde fazla bir rolü bulunmamaktadır. Ancak, retikuloendotelial sistem (RES) icinde karaciğerin de yabancı partikülleri yakalayıcı bir rolü bulunmaktadır. Karaciğer makrofajları (Kupffer hücreleri) birçok balık türünde tespit edilmiştir. Balık karaciğeri akut faz proteinlerinin üretiminde de rol oynamaktadır (Channonachookhin ve ark., 1991 ; Magnadottir ve ark., 2005; Boshra ve ark., 2006).

2.3.2. Balıklarda bağışıklık sistemi

Bağışıklık sisteminin klasik ayrımı doğuştan bağışıklık ve sonradan kazanılan bağışıklık şeklindedir. Bağışıklık sistemini doğuştan ve sonradan kazanılan diye ayırmak yaygın bir uygulama olmasına rağmen, hem balık hem de memeli immünolojisindeki (bağışıklık bilimi) son araştırmalar bunların bağımsız sistemlerden ziyade birleşik sistemler olduğunu göstermektedir. Bu yüzden doğuştan immun yanıt sonradan immun yanıtı aktifleştirmede önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.5).

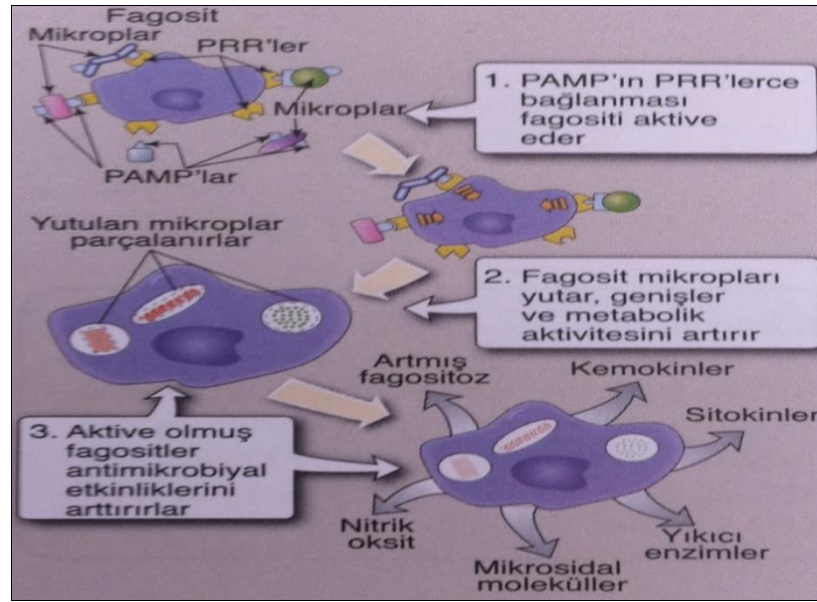


Şekil 2.4. Patojen ile karşılaşan balığın etkileşiminin şematik gösterimi (Shoemaker ve ark., 2001)

2.3.3. Doğal immün sistem

Balıklardaki bağışıklık sistemi doğal immün sistem ve edinsel immün sistem olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır (Fearon ve Locksley, 1996; Shoemaker ve ark., 2001; Medzhitov, 2007; Jimeno, 2008). Doğal immün sistemi, balığın immün savunmasında önemli rol oynar. 3 bölüme ayrılmıştır; 1- fiziksel bariyerler; saldırgan mikroplara karşı vücudu koruyan ilk mekanik bariyerler olarak deride epidermis ve keratinositler, gastrointestinal, solunum sistemi ve üro genital yollardaki mukozanın epitelyum tabakası ve solunum yolundaki siliyalar sayılabilir. Deri, muköz zarlar, solunum yolu ve idrar yolu fiziksel bariyerlerdir. 2- humoral parametreler; CRP, IFN, lizozim, transferrin, lektinler, antimikrobiyal peptitler 3- hücre bileşenleri; spesifik olmayan sitotoksik hücreler (NK hücreleri), monositler / makrofajlar, trombositler, granülositler, lenfositler (Jansson, 2002; Bounocore ve Scapigliati, 2009; Magnadóttir, 2010; Rodriguez-Tovar ve ark., 2011). Bir patojenle karşılaşınca cevabı, doğumdan itibaren oluşturabilen ve konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip savunma sistemidir. Doğal immün sistem mikroplar tarafından üretilen fakat konak tarafından üretilmeyen korunmuş, yapısal özellikleri olan patojenle ilişkili molekülleri (PAMP) tanımak için sınırlı sayıda

tanıma reseptörünü (PRP) kullanır. Ayrıca PRR'nin etkinleştirilmesi çoğu kez konak hücrenin aktive olmasını sağlar ve hücrenin böylelikle antimikrobiyal madde salgısı artar (Şekil 2.5). Tipik PAMP'lar; bakteriyel lipopolisakarit, fragellins, teikoik asit, peptidoglikan, bakteriyel CpG ve virüs bağlantılı çift-şeritli RNA gibi glikoproteinler ve polisakkaritlerdir. Bakteriyel lipopolisakarit (LPS), gram negatif bakterilerin dış zarlarında bulunan bir ana bileşendir. Peptidoglikanlarda gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunurlar (Medzhitov ve Janeway, 2002; Cabezas, 2006; Hølvold, 2007; Whyte, 2007; Alvarez - Pellitero, 2008; Jimeno, 2008; Magnadóttir, 2010; Ellis, 2001).



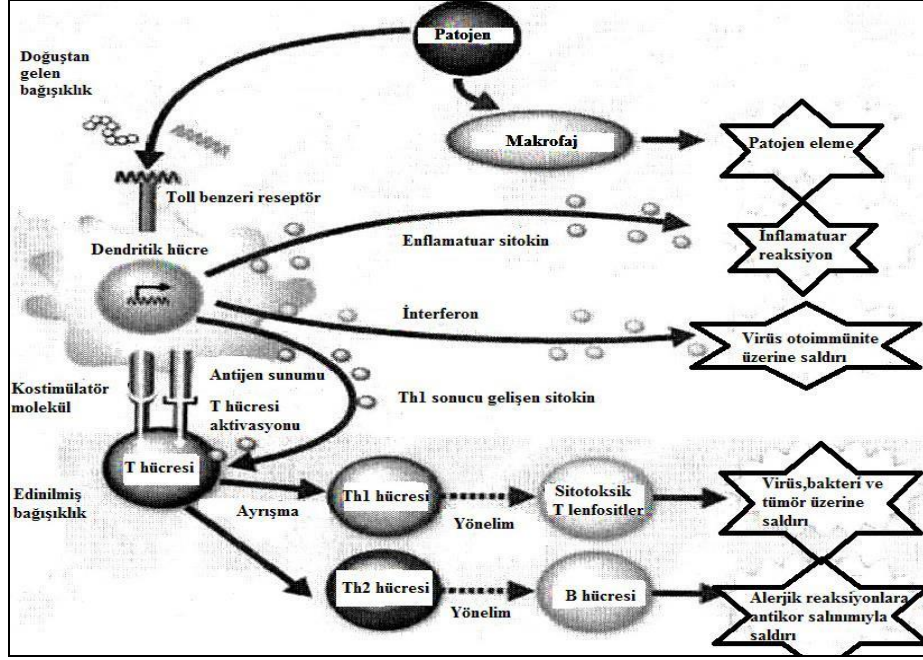
Şekil 2.5. PAMP-PRR bağlanması fagositleri aktive eder. Mikrobiyal yüzeylerdeki PAMP'ların fagositlerin yüzeylerindeki PRR'lere bağlanmaları mikropları yutmaları ve parçalamaları için fagositleri aktive eder (Harvey, 2013)

2.3.4. Edinsel immün sistem

Edinsel immün sisteminin aktivasyonu, spesifik reseptör seçimi, hücre çoğalması ve protein sentezini gerçekleştiren nispeten yavaş fakat uzun ömürlü bir süreçtir (Magnadóttir, 2010). Edinsel immün sistemi, işlevlerini yapmak için bazıları doğal immün sistem tarafından da kullanılan çok sayıda molekül kullanmaktadır. B ve T lenfositlerin antijen-spesifik B Hücre Reseptörleri (BHR) ve T hücre reseptörleri (THR)' ni de içeren hücreler, edinsel immün sisteme özgüdür. B hücreleri memelilerin B hücrelerinin B1 alt grubuna benzer, T-hücreleri, hücre-aracılı yanıtta sorumlu iken B-hücreleri, humoral yanıt olarak immün sisteme katılmaktadırlar (King ve ark., 2001; Jansson, 2002; Galindo-Villegas ve

Hosokowa, 2004; Magnadóttir, 2010). Ayrıca, edinsel immun sisteminin diğer ögesi rekombinasyon etkinleştiren genlerdir (Rag; özellikle Rag 1 ve 2 genleri). Bu genler yeniden gen düzenlemesiyle Ig üst familyasını (T- ve B-hücre reseptörleri) ve ana doku uyumluluk kompleksini (MHC) oluşturur. Diğer taraftan, edinsel immun sistemin anahtar humoral parametresi, ya B-lenfosit algılayıcılar olarak ifade edilen ya da plazmada salgılanan Ig'lerdir (antikorlar).

Edinsel immun sistemin aktifleşme hareketi, lenfositlerin aktifleşmesi ve çoğalması, organize lenfoit dokuda yer alır. B-hücreleri çoğalır, bellek B hücrelerine ve spesifik antikor salgılayan plazma hücrelerine ayrılır. Ayrıca, T-hücreleri yüzeylerinde çok çeşitli zar ile bağlı THR'lerini taşırlar. Her bir T hücresi ana doku uyumluluk molekülleri (MHC) içindeki spesifik bir peptid epitopunu tanıyan tek spesifik THR'lerini üretirler. Epitoplara BHR veya THR'lerle birleşmesi uyarı iletim yolunun başlamasına ve hem çözünebilir (sitokinler, kemokinler) hem de hücre yüzey (reseptörler ve yapışma) moleküllerinin ekspresyonuna sebep olur (King ve ark., 2001; Jansson, 2002; Galindo-Villegas ve Hosokowa, 2004; Alvarez-Pellitero, 2008; Buonocore ve Scapigliati, 2009; Magnadóttir, 2010; Rodriguez-Tovar ve ark., 2011). İlk enfeksiyona direnç ve bunu atlama, doğuştan ve kazanılan savunma mekanizması arasındaki karmaşık etkileşimlerin sonucudur. IgM ya hücre yüzeyine bağlı monomerik bir molekül olarak bulunur ya da disülfid bağlarıyla ve birleştirici J zinciri ile bağlı 10 H ve L zincirli bir pentamer olarak salgınır. Çoğu B hücresinin yüzeyinde IgM bulunur. Genel olarak IgM antijenik uyarımı takiben oluşturulan ilk immünoglobülinidir. IgM hem antijeni etkisiz hale getirmede hem de komplmanın klasik yoldan aktivasyonunu sağlamada etkilidir. Balıklardaki doğuştan ve kazanılan bağışıklık sistemlerinin özeti Şekil 2.7' de gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Doğuştan ve edinsel bağışıklık sistemleri arasındaki etkileşim. Th1: Yardımcı T hücresi 1, Th2: Yardımcı T hücresi 2 (Jimeno, 2008)

Balıklardaki bağışıklık reaksiyonu içsel ritim ve çevresel değişkenlerden etkilenir, bu değişkenlerin en önemlisi sıcaklıktır. Diğer bir faktör ise, beslenmedir. Popülasyonun ve stresin bağışıklık sistemini baskılayan etkilerinin, mikroorganizmayı hastalığa karşı daha toleranslı yaptığı iyi bilinen bir gerçektir. Balıklarda doğuştan ve edinilen bağışıklık sistemleri aktiviteleri veya faktörlerinin, içerdiği hücreler ve hücresel işaretler Çizelge 2.3’ de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Zebra balığında doğuştan ve kazanılmış bağışıklık sistemi bileşenleri (Lieschke ve Trede, 2009)

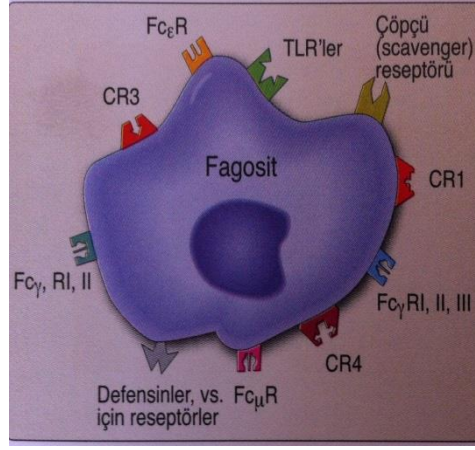
	Doğal immün sistem	Edinsel immün sistem
Anatomik özellikler	Yüzeyleri mukus kaplı koruyucu antibakteriyel molekülleri içerir	Lenfatik dolaşım vardır İkincil lenfoid organlar; anterior ve posterior böbrek, dalak, bağırsakla ilişkili lenfoid doku

Çizelge 2.3' ün devamı. Zebra balığında doğuştan ve kazanılmış bağışıklık sistemi bileşenleri (Lieschke ve Trede, 2009)

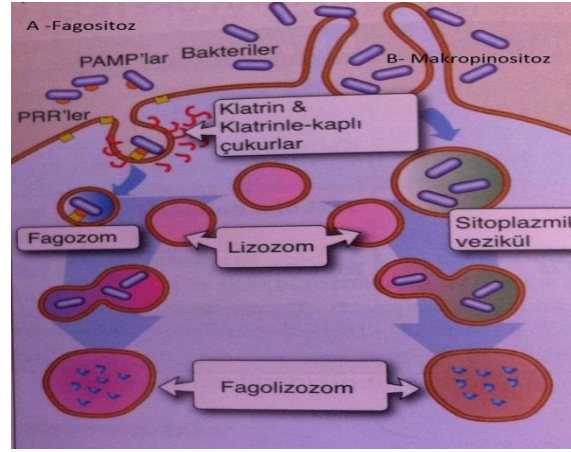
Hücre tipleri	Makrofaj Granülosit; nötrofil, eozonofil, bazofil Doğal öldürücü hücreler Trombositler	B lenfosit T lenfosit Antijen sağlayan hücreler
Hücresele bağışıklık	Fagositoz (makrofaj) Mikrobiosidal/statik biyokimyasal yollar (peroksit, nitrik oksit üretimi) Hematopoetik hücreleri düzenleyen lökosit öncüsü proliferasyon, lökosit fonksiyonu	Tetrapodlarla karşılaştırıldığında korunmuş T hücre reseptör yapısı V(D) J rekombinasyonu Karakteristik sitotoksik T-hücre tepkisi, aşı reddi, antiviral yanıt
Hücresele Ontogeni	Erken segmentasyondan oluşan fagositler Böbrek interstisyumunda bulunan hematopoiez	Organogenezis boyunca ortaya çıkan lenfositler Timus kökenli T lenfofoiez Yetişkin böbrek interstisyumunda bulunan B lenfofoiez

2.3.5 Balıklarda fagositoz

Fagositoz, makrofaj, dentritik hücre, nötrofil ve hatta B lenfosit gibi hücrelerin mikropları ve katı maddeleri yutup parçalamalarıdır. Fagositoz 4 aşamada gerçekleşir, mikropların fagositler tarafından tanınması, bağlanması, mikropların yutulması ve parçalanmasıdır. Balık vücuduna gelen bir molekül fagosite bağlandığında fagositoz başlatılır. Bağlanma fagosit yüzeyindeki çeşitli reseptörler ile olur (Şekil 2.7). Hücre zarına tutunan mikroorganizma veya yabancı partikül psödopod denen sitoplazma ve hücre zarı uzantıları aracılığı ile yakalanır ve hücre içine alınarak veya endositozla hücre içine çekilir (Şekil 2.8). Balıklarda fagositik olan monosit/makrofaj ve granülositler (nötrofiller ve bazı durumlarda eosinofiller) antijenik partikülleri etkisiz hale getirerek sindirebilen hücrelerdir (Siwicki ve ark, 1985; Ainsworth, 1992; Secombes ve Fletcher, 1992; Secombes, 1994). Balıklarda fagositozun, istilacı mikroorganizmalara karşı savunmada rol oynayan önemli bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir (Mac Arthur ve Fletcher, 1985).



Şekil 2.7. Fagosit reseptörleri (Harvey, 2013)



Şekil 2.8. Fagositoz, fagozom ve fagolizom (Harvey, 2013)

2.3.6. Balıklarda lizozim ve miyeloperoksidaz enzimleri

Balıklarda lizozim, bakteriyel hücre duvarlarının peptidoglikan katmanlarının bileşenleri olan N-asetil glukosamin ve N-asetilmuramik asiti hidroliz eden bir enzimdir. Salmonidlerde, lizozim serumda, lökositlerin içindeki salgılarda, mukoza membranlarında, dokularda ve özellikle bağırsak ve böbreklerde tespit edilmiştir (Grinde ve ark., 1988; Lie ve ark., 1989). Lizozim, balık dahil omurgalıların çoğunda bulunur ve mikroorganizmaların istilasına karşı savunma görevi üstlenir (Evelyn, 2002). Lizozim bakteriyi eriten kandaki önemli bir enzimdir. Lizozimin ana kaynağı monosit, makrofaj ve nötofildir. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar, bağırsak eozonofilik granüler hücrelerin, granül içindeki enzimlerine yöneliktir (Sveinbjornsson ve ark., 1996). Bu enzimin bakteriyel hareketi, bakteri duvarlarının peptidoglikan hidralizasyonunu içerir.

Lizozim önceleri gram pozitif bakteriye karşı savunma görevi görürken, sonraları gram negatif bakteriye karşı da aynı görevi görmüştür. Üstelik bu enzim patojenik hücreler ve bağışıklık sisteminin opsoninini tetikleyici bir rol üstlenir (Magnadottir, 2005). Balıklarda lizozim bazı özelliklere sahiptir bunlar; 1- Bu enzim *Micrococcus lysodeikticus* hücrelerini parçalar, 2- kalın kitin selüloz tarafından kolayca adsorbe edilir, 3-düşük molekül ağırlıklı bir proteindir, 4- daha yüksek bir sıcaklıkta asidik pH değerine sabittir, fakat alkali koşullarda inaktivite olur (Salton, 1957; Jolles, 1969).

Lizozim bakteriyel hücre duvarına zarar veren ve bulaşıcı hastalıklara karşı vücut savunmasında önemli bir rol oynayan enzimdir (Asadi ve ark., 2012). Pisi balığında, lizozim monositlerde ve nötrofillerde histokimyasal olarak tanımlanmıştır (Murray ve Fletcher, 1976). Bu hücrelerin seviyesi serum lizozim seviyesi ile beraber artar çünkü bu hücreler serum lizozim aktivitesine katkıda bulunur (Fletcher ve White, 1973). Son araştırmalarda lizozimin coho salmonu yumurtasında olduğu belirtilmiştir (Yousif ve ark., 1991). Yumurta sarısındaki lizozim enzimi miktarı 1900 µg/ml'dir. Gökkuşluğu alabalığının böbreğinden saflaştırılmış, 2 lizozim varyantının gram negatif türlerin bakteriyel suşlarının üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırılmıştır (Grinde, 1989).

Miyeloperoksidaz, lizin ve lizozim gibi enzimler doğada mikrop öldürücü olarak görev yapar. Bu enzimlerin aktivasyonu bakteri, virüs ve mantar gibi patojen istilalarının yıkımına yol açar (Yano, 1992). 1941 yılında Agner tüberküloz ampiyemli hastaların pürülan sıvısından peroksidaz aktivitesi olan, Fe içeren bir protein izole etmiş ve bu proteini yeşil rengi nedeniyle verdoperoksidaz olarak adlandırmıştır fakat sonraki çalışmalar doku dağılımını myeloid hücrelerle sınırlandırmışlar bu da proteinin miyeloperoksidaz olarak yeniden adlandırılmasına neden olmuştur (Nauseef ve Malech, 1986). Miyeloperoksidaz öldürücü fagosit aktivitesi ile konak savunmasında önemli bir rol oynar ve nötrofillerinin fagolizozomlarında hipoklorik asiti ve diğer toksik ajanları üreterek mikropları öldürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür (Babior, 2000). Bu özellikler göz önünde bulundurularak Çizelge 2.4 'de görülen çalışmalar yapılmıştır.

Çizelge 2.4. Tıbbi bitkilerin balıkların bazı bağışıklık parametreleri üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynakça
<i>Eclipta alba</i>	<i>O.mossambicus</i>	LA (↑), MPO (↑)	Christyapita ve ark., 2007
<i>Origanum heracleoticum L</i>	<i>Ictalurus punctatus</i>	LA (↑)	Zheng ve ark., 2009
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LA (↑), hastalığa karşı direnç (<i>Aeromonas hydrophila</i>)	Nya ve Austin 2009a
Defne	<i>O. mykiss</i>	LA (↔)	Bilen ve Bulut 2010
Bakla, Isırgan otu, Mango	<i>O. mykiss</i>	LA (↑)	Awad ve Austin 2010
<i>Nyctanthes arbortristis</i>	<i>O.mossambicus</i>	LA (↑), MPO (↑)	Kirubakaran ve ark., 2010
<i>Tinospora cordifolia</i>	<i>O.mossambicus</i>	LA (↑), MPO (↑)	Alexander ve ark., 2010
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LA (↑), hastalığa direnç (<i>Aeromonas hydrophila</i>)	Nya ve Austin 2011
Çay	<i>O. mykiss</i>	LA (↑), MPO (↑)	Sheikhzadeh ve ark., 2011
<i>Cotinus coggyria</i> (Tetra yaprağı)	<i>O. mykiss</i>	LA (↑)	Bilen ve Bilen., 2012

LA: Lizozim aktivitesi MPO: Miyeloperoksidaz aktivitesi Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

2.4. Balıklarda Kullanılan İmmunostimulantlar

Son yıllarda hastalıklara karşı dirençli bireyler elde etmek ve balıkların bağışıklık sistemini aktif hale geçirmek için sentetik ve biyokimyasal maddelerden oluşan immunostimulantlar kullanılmaya başlanmıştır (Anderson, 1992). Birçok maddenin, balıkların immun yanıtını artırdığı kanıtlanmıştır. Anderson (1992) immunostimulantları bağışıklık sisteminin bileşenlerinin hareketine göre (hücre uyarıcısı, enflamatuar madde v.s.) gruplandırırken, Galeotti (1998) kökenlerine göre (sentetik kimyasal, bakteriyel türevleri, beslenme faktörleri, hayvan türevleri, bitki türevleri ve hormonlar) gruplandırmıştır Çizelge 2.5’de balıklarda kullanılan immunostimulantlar verilmiştir.

Çizelge 2.5. Balıklarda kullanılan immunostimulantlar (Sakai, 1999 ve Galeotti, 1998)

Sentetik kimyasallar	Levamisole, FK-565, Fluoro-quindone, Avridin
2 Biyolojik maddeler	
	MDP (Muramyl dipeptit)
	β -glukan
2.1. Bakteriyel türevleri	Peptidoglukan (<i>Brevibacterium lactofermentum</i> ; <i>Vibrio</i> sp.)
	FCA
	EF203
	LPS (lipopolisakkarit)
	<i>Clostridium butyricum</i> hücreleri
	<i>Achromobacter stenohalis</i> hücreleri
	<i>Vibrio anguillarum</i> hücreleri (vibrio vaccine)
2.2. Polisakkaritler	Kitin, Kitosan, Lentinan, Schizophyllan, Oligosakkarit
2.3. Vitaminler	Karatonler, Vitamin A, Vitamin D, Vitamin E, Vitamin C, Vitamin B ₆ , Vitamin B ₁₂
2.4. Hormonlar, sitokinler ve diğerleri	Laktoferrin, İnterferon, Büyüme hormonu, Prolaktin
2.5. Esansiyel Yağlar	

2.4.1. Sentetik kimyasallar

Levamisol insanlarda ve hayvanlarda nematod enfeksiyonlarına karşı kullanılan geniş spektrumlu bir antihelmintiktir. Küçük enfeste akvaryum balıklarının tedavisi problem olduğu için levamisol gibi antihelmintik ilaçlar sudan emilebildiği için bu balıklarda kolayca uygulanabilmektedir. İnternal nematodların tedavisinde levamisol

banyo, yem içinde ve enjeksiyon şeklinde uygulanabilir. Bu ilacın 200 mg/kg'a kadar balık dozu veteriner hekimlerce uygulanabilmektedir (Timur ve Timur, 2003). Gökkuşığı alabalıklarına 2 saat boyunca 5, 10 ve 25 µg/ml dozlarda levamisol uygulanıldığında *Y.ruckeri* bakterisine karşı direnç gösterdikleri tespit edilmiştir (Ispir, 2009). FK-565, laktol tetrapeptid (FK-156) çok yakından ilişkili bir peptiddir (Raa, 1996). Kitao ve Yoshida (1986) gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) yaptıkları çalışmada FK-565'in *A. salmonici*'da bakterisine karşı direnci arttırdığını bildirmişlerdir.

2.4.2. Biyolojik maddeler

2.4.2.1. Bakteriyel türevleri

Muramil dipeptid (MDP) *Mycobacterium*'dan elde edilmiştir (Secombes, 1994). Gökkuşığı alabalıklarında yapılan çalışmada balıklara muramil dipeptid (MDP) enjekte edilmiş ve çalışma sonunda MDP enjekte edilen balıklarda *A. salmonici*'da bakterisine karşı direnç, solunum patlaması ve fagositik aktivitede artış gözlenmiştir (Kodama ve ark., 1993).

LPS gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşeni olan lipopolisakkaritlerdir. LPS *A. hydrophila* neden olduğu hastalıkları önlemekte ve gökkuşığı alabalıklarında doğuştan immun yanıtı iyileştirmede rol oynamaktadır (Nya ve Austin, 2011). LPS'nin *L. rohita*'ya karşı etkileri incelendiğinde lizozim, toplam globulin düzeyi, miyeloperoksidaz ve solunum patlaması faaliyetlerinde artış olduğu görülmüştür (Nayak ve ark., 2008).

Freund's complete adjuvant (FCA) *Mycobacterium butyricum* öldürücü içeriği bulunan mineral yağ adjuvanıdır. Gökkuşığı alabalıklarına *V. Anguillarum* enfeksiyonuna karşı enjekte edildiğinde fagositik aktivite ve lökositlerin NK hücrelerinin aktivitesine karşı artış olduğu gözlenmiştir (Kajita ve ark., 1992).

V. anguillarum alabalıklarda hareketsizleştirilmiş bütün hücre aşılıları içindeki en başarılı aşıdır (Sakai, 1999).

2.4.2.2. Polisakkaritler

Kitin bazı mantarların hücre duvarını, kabuklu ve böceklerin başlıca bileşenini oluşturan bir polisakkarittir (Sakai, 1999). Gökkuşığı alabalıklarında *V. anguillarum* enfeksiyonuna karşı kitin kullanıldığında, balığın direncini ve makrofaj aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Sakai ve ark., 1992). Ayrıca, gökkuşığı alabalıklarına immersiyon ve enjeksiyon yolu ile kitosan verildiğinde NBT, miyeloperoksidaz ve toplam

immüoglobulin konsantrasyonu gibi immünolojik parametrelerde artış gözlenmiştir (Anderson ve Zeeman., 1995).

2.4.2.3. Beslenme faktörleri

C vitaminin yüksek oranda yemde bulunmasının *A. hydrophila*'ya karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirilmiştir (Tewary ve Patra, 2008). Benzer olarak alabalıklarda E vitamini eksikliğinin *Y. ruckeriye* karşı düşük koruma gösterdiği tespit edilmiştir (Blazer ve Wolke, 1984).

2.4.2.4 Hormonlar ve sitokinler

Gökkuşığı alabalıklarına verilen eksojen büyüme hormonunun lökositlerin süperoksit anyon üretimini artırdığı belirlenmiştir (Sakai ve ark., 1995a,b). Benzer olarak prolaktin gökkuşığı alabalıklarında lökositlerin süperoksit anyon üretimini arttırmıştır (Sakai ve ark.,1996). Demir bağlayan bir glikoprotein olan laktoferrin tek zincirli bir peptiddir ve molekül başına 2 demir bağlama bölgesi bulunmaktadır (Sakai, 1999).

2.4.2.5. Hayvan ekstratları

Yılan balıklarına Ete ekstratı verildiğinde *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı fagositik ve yaşama oranı aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Davis ve Hayasaka, 1984). Gökkuşığı alabalıklarında Hde ekstratı verildiğinde *V. anguillarum* enfeksiyonuna karşı fagositik, NK hücre aktivitelerinde ve yaşama oranında artış bildirilmiştir (Sakai ve ark., 1991).

2.4.2.6. Bitki ekstratları

Son yıllarda yapılan araştırmalar hayvan yemlerinde büyümeyi destekleyici olarak antibiyotik yerine kullanılan bitki ekstraktlarına (fitobiyotikler); aromatik bitkiler (zencefil, zerdeçal, kişniş), bitkisel ürünler (kökler, yapraklar, kabuklar), esansiyel yağlar ve reçinelere yöneliktir. (Botsoglou ve ark., 2002; Jamroz ve Kamel, 2002; Alcicek ve ark., 2003; Athanasiadou ve Kyriazakis, 2004; Christaki ve ark., 2004; Giannenas ve ark., 2005; Mao ve ark., 2005; Kommera ve ark., 2006; Peeter ve ark., 2006; Yuan ve ark., 2006; Vieira ve ark., 2008). Su ürünleri yetiştiriciliğindeki fitojenik maddeler, aynı zamanda hastalık kontrolünde, balığın direncini arttırmada, gıdaları bozulmalara karşı korumada da etkilidir (Gatlin ve ark., 1992; Jian ve Wu, 2003). Aynı zamanda bitki ekstratları endojen sindirim enzim salgılanmasını, antibakteriyel, antiviral, antioksidan ve antihelmintik hareketleri ve immun yanıtının aktivasyonunu iyileştirir. İzopren türevleri, flavonoidler,

glukozinolatlar ve diğerk bitki metabolitleri sindirim sisteminin fiziksel ve kimyasal fonksiyonunu etkileyebilir. Intestinal mikroflora üzerindeki stabilize edici etki besin metabolizması ile ilişkili olabilir (Horton ve ark., 1991; Baratta ve ark., 1998; Jamroz ve ark, 2003).

2.5. Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar bitkilerin çiçek, tomurcuk, tohum, yaprak, dal, ağaç kabuğu, ot, ağaç, meyve ve kök gibi kısımlarından elde edilirler (Bakkali ve ark., 2008). Esansiyel yağların kimyasal bileşenleri ekstraksiyon metodlarına ve iklim, toprak yapısı, mevsim, bitkinin yaşı gibi şartlara bağlı olarak değişim gösterir. Esansiyel yağlar izole edildikleri bitkisel maddelerin koku ve uçuculuk gibi aromatik özelliklerini taşımaktadırlar (Oyen ve Dung, 1999). Esansiyel yağların kimyasal bileşimleri ve konsantrasyonları değişkenlik gösterir. Örneğin kekik esansiyel yağının önemli bileşenlerinden olan timol ve karvakrolün oranı % 3 ile % 60 aralığındadır (Lawrence ve Reynolds, 1984). Tarçın esansiyel yağında sinemaldehit oranı % 60-75 aralığındadır (Duke, 1986). Esansiyel yağlar terpenler ve phenylpropenlerden olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Terpenler, 5- karbonlu yapılar (İzopren) olarak bilinir, 1 izopren birimden oluşan yapılara Hemiterpen, 2 izopren birimden oluşan yapılara Monoterpen, 3 izopren birimden oluşan yapılara Sesquiterpen, 4 izopren birimden oluşan yapılara Diterpen denir. Terpenler stereokimyası, oksijen varlığı, çift bağ, halkalı yapı içerip içermemesine göre türevlerine ayrılır. Phenylpropen, 6 karbon aromatik halkaya bağlı 3 karbon yan zinciri ile aromatik halka oluşturur. Terpenlerden farklı olarak, yaklaşık 50 phenylpropen tanımlanmıştır. Terpenler ve phenylpropenler mevalonik asit ve şikimik asit yolu ile sentezlenir. 6 karbonlu ara ürün mevalonik asit fosforili, dekarboksili ve dehidrate olarak izopentenil difosfat'ı (IPP) meydana getirir. IPP ve DMAPP 1:1 oranında birleştiğinde on karbonlu geranil difosfatı (GPP) oluştururlar. GPP, IPP molekülüne bağlanabilir ve onbeş karbonlu farnezil difosfat (FDP) oluşur. Timol ve karvakrol GPPden türetilen Monoterpenoid veya izoprenoidler olarak sınıflandırılır. Esansiyel yağlar son zamanlarda hayvansal üretimde antibiyotiklere alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Ticari olarak temin edilebilen ürünlerdir. Esansiyel yağlar antioksidan olarak, tatlandırıcı olarak, sindirim sürecini uyarıcı olarak görev yapar ve hiperkolestrolemi üzerinde etkilidir (Yu ve ark., 1994; Case ve ark., 1995; Anonymous, 1998; Craig, 1999; Krause ve Ternes, 1999; Langhout, 2000; Williams ve Losa, 2001, 2002; Botsoglou ve ark., 2002). Esansiyel yağ karışımlarının etki mekanizmalarının daha çok flavonoid ve glukozinolat gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklandığı ve bu bileşiklerin antibiyotik ve antioksidan aktivitesine sahip oldukları belirtilmektedir (Burda ve Oleszek, 2001).

Esansiyel yağ karışımlarının rasyondan herhangi bir dönemde çıkarılmasına gerek kalmadan kullanılabilceği, aynı zamanda antibiyotiklere karşı bir direnç oluşturmadığı bildirilmektedir (Gill, 1999). Gökkuşığı alabalığına ait anaç yemlerindeki esansiyel yağ asidi içeriğinin, sperm kalitesi ve spermin yaşama gücünde olumlu etkisi olduğu belirlenmiştir (Watanabe ve ark., 1984). Esansiyel yağların birlikte kullanıldıklarında aralarında oluşturdukları sinerjik etkiden dolayı antibakteriyel etkileri tek başına kullanımlarından daha güçlüdür (Burt, 2004; Lee ve ark., 2004).

2.5.1. Esansiyel yağların su ürünlerinde kullanımları

Son yıllarda bitki ekstraktları örneğın esansiyel yağlar hayvan üretiminde büyümeyi arttırıcı alternatif ürünler olarak kullanılmaktadır (Thakare, 2004; Westendarp, 2005). Esansiyel yağların gıda sanayi, parfüm endüstrisi, tıp gibi geniş kullanım alanları vardır (Isman, 2000; Daferera ve ark., 2003). Ayrıca, esansiyel yağlar genellikle gıda katkılarına ve antibiyotiklere alternatif olarak kullanılır. (Calsamiglia ve ark., 2006). Esansiyel yağların in vivo antibakteriyel etkileri hakkında bilgi sınırlıdır. Domuz ve kümes hayvanlarının bağırsaklarında taşıdığı patojenleri kontrol etmek için antibiyotiklere alternatif olarak esansiyel yağların kullanımı artmaktadır. (McIntosh ve ark., 2003; Bampidis ve ark., 2006; Busquet ve ark., 2006; Calsamiglia ve ark., 2007; Jang ve ark., 2007; Fraser ve ark., 2007; Muhl ve Liebert, 2007; Cross ve ark., 2007; Yang ve ark., 2007; Benchaar ve ark., 2008; Windisch ve ark., 2008; Maenner ve ark., 2011). Esansiyel yağlar su ürünlerinde koruyucu ajan olarak kullanılmıştır, ancak son zamanlarda bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için anti-bakteriyel maddeler olarak, in vivo kullanılmaktadır (Yeh ve ark., 2009; Randrianarivelo ve ark., 2010). Örneğın sazan filetoları karvakrol ve timole daldırılarak düşük olan raf ömürleri uzatılmıştır (Kim ve ark., 1995; Mejlholm ve Dalgaard, 2002; Mahmoud ve ark., 2004). Kekik esansiyel yağı ile alabalık filetosunun raf ömrü 7-8 gün uzamıştır (Pyrgotou ve ark., 2010). Su ürünlerinde esansiyel yağların in vivo kullanımına dair örnekler azdır fakat ümit vericidir. Yapılan bir çalışmada tarçın esansiyel yağının (*Litopenaeus vannamei*) beyaz karidesde gözlenen *Vibrio alginolyticus* patojenine karşı antibakteriyel etki yarattığı tespit edilmiştir (Yeh ve ark., 2009). Başka bir çalışmada *Cinnamosma fragrans* endemik bitkisinden elde edilen esansiyel yağ direkt olarak suya katıldığında karides larvalarının (*Penaeus monodon*) yaşama oranını arttırırken, bakteriyel konsantrasyonu azaltmıştır (Randrianarivelo ve ark., 2010). Benzer şekilde *C. Fragrans* bitkisinden elde edilen iki esansiyel yağ (B8: linalool ve B143: 1,8-cineole) karides larvalarının (*Penaeus monodon*) yetiştiği suya katıldığında *Vibrio* konsantrasyonlarında ve toplam heterotrofik aerobik

bakteri konsantrasyonunda azalma tespit edilmiştir (Sarter ve ark., 2011). 4 tıbbi bitkinin (ayrık otu, yalancı süs biberi, hint ayvası ve zencefil) aseton ile ekstratının tilapya (*Oreochromis mossambicus*) diyetlerine ilavesi değerlendirilmiştir. Bitki ekstratları ile beslenen tilapyalarda lökosit değerinin, fagositik indeksinin ve lizozim faaliyetinin arttığı, spesifik olmayan bağışıklık değerinin ve büyümenin iyileştiği görülmüştür. Aynı zamanda 15 gün süresince tıbbi bitkiler ile beslenen tilapyalarda *V. vulnificus* karşı %100 ölüm gözlenirken, 30 gün süresince beslenen tilapyalarda ölüm oranı % 63–80'e düşmüştür (Immanuel ve ark., 2009). Yayın balıkları kekik esansiyel yağı ekstratı ile beslendiklerinde *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı ölüm oranında düşüş gözlenmiştir (Zheng ve ark., 2009).

Esansiyel yağlar bağırsak mikrobiyotasında da etkilidir. Gökkuşluğu alabalıklarında kekik esansiyel yağı yeme eklenerek, 16S rRNA gen analizi ve PCR-TTGE moleküler profillemeye yöntemleri kullanılarak bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonu belirlendi. Kontrol grubu ile deneme grubu kıyaslandığında esansiyel yağın bağırsak mikrobiyotasını önemli oranda değiştirmedeği tespit edilmiştir ($P>0.05$). Kekiğin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesinde bazı balık patojenleri ve bağırsaktan izole edilen çeşitli bakteriler kullanılmıştır (Cosentino ve ark., 1999; Burt, 2004). Literatürde fitojeniklerle ilgili kümes hayvanları ve domuzlar üzerinde yapılan çalışmalar vardır. Aynı zamanda balık ve karides fitojeniklerinin faydalı olduğu düşünülmektedir. Fitojeniklerle yapılan çalışmada kekik, anason ve limon kabuğu bitkileri *Pangasius catfish* (panga balığı), kırmızı tilapya (*Oreochromis niloticus* X *O.Mossambicus*) balıklarının yemlerine eklendiğinde büyüme performansının da olumlu etki yaptıkları bildirilmiştir *Pangasius* balığına Biomin PEP125 ticari yem karışımı verildiğinde büyüme oranının % 6 arttığı ve FCR'ı iyileştirdiği tespit edilmiştir. Benzer bir çalışma tilapyalarda yapılmıştır aynı karışım (Biomin PEP125) 90, 120 ve 240 ppm oranlarında verildiğinde balıklarda FCR ve ağırlık artışının iyileştiği görülmüştür, en iyi sonuç 120 ppm oranında yem katkısı katılan yemde gözlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalar esansiyel yağların hangi dozlarda patojenlere, bakteri ve parazitlere etkili olduğunun araştırılmasına yöneliktir (Griessler ve Encarnaçao., 2009). Rojas ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada kekik esansiyel yağı belirli bir dozda (doz makalede belirtilmemiştir) Atlantic salmon balığı yeminde 30 gün boyunca *Saprolegnia* parazitine karşı kullanıldığında ölüm oranının azaldığı gözlenmiştir. Hastalığın ilk belirtileri ortaya çıktıktan sonra kullanılan tedavi edici dozu, önleyici dozu kadar etkili değildir fakat kontrol grubuna göre olumlu sonuç alınmıştır. Bir başka çalışmada biberiyenin tilapya balıklarında *Streptococcus iniae* patojenine karşı etkisi araştırılmış ve mortalitenin azaldığı bildirilmiştir (Abutbul ve ark., 2004). *Myxosporean*

balık parazitine karşı diğer anti parazitik ilaçlar ile birlikte kekik esansiyel yağı kullanıldığında mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etkisinin olduğu bildirilmiştir (Athanassopoulou ve ark., 2000). Tilapya balıklarında yapılan bir çalışmada karvakrolun tek başına ve simen ile kombinasyonu sonucu balıkların *Edwardsiella tarda* patojen bakterisine karşı ölüm oranı araştırılmıştır ve karvakrolün simen ile kompozisyonu sonucu bakterilere karşı daha etkili olduğu görülmüştür (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn., 2010).

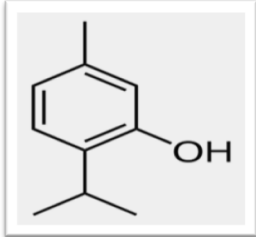
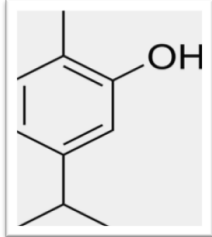
Normal koşullarda ve stresli koşullarda beyaz karideslere (*Litopenaeus vannamei*) 30 ppm konsantrasyonunda kekik (timol ve karvakrol) içeren kapsüllü iki karışım 28 gün boyunca verildiğinde büyümede önemli bir değişim gözlenmemiştir fakat FCR'nin iyileştiği bildirilmiştir. 29. günde karides, *Vibrio harveyi* bakterisine (106 CFU/ml) dozda 24 saat boyunca maruz bırakılmıştır. 56. gün sonunda timol ve karvakrol ile beslenen grubun yaşam oranı kontrol grubuna göre artmıştır. Aynı zamanda fitojenik içeren yemle beslenen grupta FCR oranı ve ortalama günlük ağırlık artışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha iyidir (Cardozo ve ark., 2008). Yapılan başka bir çalışmada 6 adet fitojenik (hint yağı, amla bitkisi, aspera, manyok, deniz marulu ve *Sargassum wightii*) ve *Artemisa franciscana* ile zenginleştirilmiş yem juvenile karideslerine verildiğinde *Vibrio parahaemolyticus* mikroorganizmasına karşı yaşama oranını iyileştirdiği kontrol grubuna göre patojen yükünün azaldığı bildirilmiştir (Immanuel ve ark., 2004).

Origanum vulgare Akdeniz bölgesi civarında geniş bir dağılım gösteren aromatik bir bitkidir (Kokkini ve ark., 2004). Kekik esansiyel yağı timol, karvakrol ve onların öncülleri, y-terpinen ve p-simenden oluşmaktadır. Timol ve karvakrol, gıda endüstrisinde sağlığı destekleyen doğal maddeler olarak kabul edilmektedir (Shoji ve Nakashims, 2004). Timol (2-izopropil-5-metilfenol), birçok esansiyel yağın bileşeni olarak bulunan bir monoterpendir (Gomez-Carneiro ve ark., 1998). Timolün mayalar, mantarlar ve bakteriler üzerinde antimikrobik etkisi vardır (Shapiro ve ark., 1994; Manou ve ark., 1998). Karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol) monoterpenik bir fenoldür ve tatlandırıcı ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılır (Knowles ve ark., 2005). Timol ve karvakrol mikrobiyal sitoplazmik zarın geçirgenliğini artırabilir bunun nedeni timolün gram negatif bakterilerin dış kabuğunu parçalayarak, lipoprosakkartilerin serbest kalmasına yol açması ve ATP için stoplazmik membranın geçirgenliğini artırabilmesidir (Ultee ve ark., 2000; Ultee ve Smid, 2001).

Timolün yaygın olarak antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir (Juven ve ark., 1994; ve Deans., 2000). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada timolün hayvanların karaciğer, beyin,

böbrek ve kalplerinde yer alan çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek seviyede korumaya yardımcı olduğu bildirilmiştir (Youdim ve Deans, 1999 ; Youdim ve Deans, 2000). Karvakrol timolün bir izomeridir ve kekik, zater ve mercanköşk bitkilerinden izole edilen esansiyel yağlarda bulunur (Çizelge 2.6). (Guenther, 1949). Timol gibi, karvakrol de antimikrobiyal aktivite gösterir (Juven ve ark., 1994 ; Didry ve ark., 1994). Çizelge 2.6'da timol ve karvakrolün kimyasal yapıları ve özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.6 Timolün ve karvakrolün kimyasal özellikleri ve yapıları (Agricultural Research Service, 2002; Lee ve ark., 2003)

	Timol	Karvakrol
Moleküler ağırlığı	(C ₁₀ H ₁₄ O)	(C ₁₀ H ₁₄ O)
Sinonim	5-metil-2-(1-metiletil)fenol	2-metil-5-(1-metiletil)fenol
Neden meydana geldiği	Dağ kekiği (ballıbabagiller)	Mercanköşk (ballıbabagiller)
Görünümü	Beyaz kristal	Açık sarı görünümlü renksiz beyaz kristaller
Koku	Keskin	Kokusu timole benzer
Kaynama noktası °C	233	237
Yoğunluk g/mL	0.969	0.976
Biyolojik aktivite	Antimikrobiyal Antienflamatuvar Antioksidant Antiseptik Karminatif (Gaz giderici) Tatlandırıcı	Antimikrobiyal Antienflamatuvar Antioksidant Antiseptik Karminatif (Gaz giderici) Tatlandırıcı
Yapı		

2.6. Balık Hematolojisi

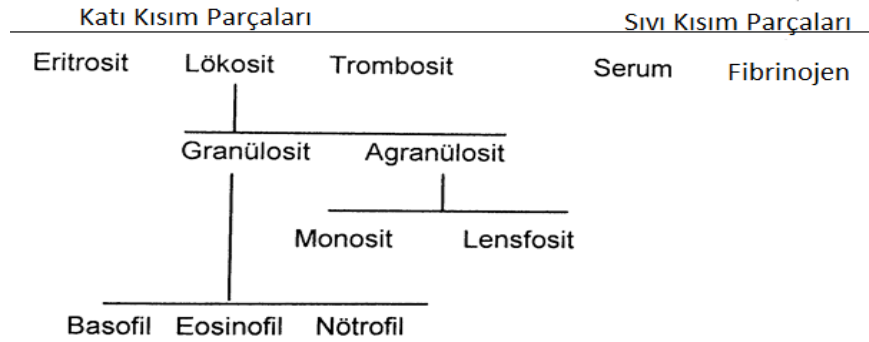
Balıkların hematolojik parametreleri; balık yetiştiriciliğinde balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan indikatörlerdir (Aldrin ve ark., 1982). Balıklarda hematoloji, farklı yaşam ve çevre şartları altında balık sağlığı ile ilgili yapılan çalışmaların artışına bağlı olarak gün geçtikçe daha da önem kazanmaktadır (Hickey, 1976; Joshi ve ark., 1980).

Hematolojik parametrelerdeki değişiklikler, çevresel strese karşı balık fizyolojik tepkilerinin işaretidir. Balıkların strese yol açan şartlarının neler olduğunun tespitinde (hastalık, parazit enfeksiyonları, kötü yönetim, kirleticilerin biyolojik birikimi), farklı balık taksonları arasındaki filogenetik ilişkilerin açıklanmasında ve fizyolojik sağlık durumunun tespit edilmesinde, farklı kan hücrelerinin tanımlanması yararlıdır (Kakuta ve Nakai, 1992; Anderson ve Zeeman, 1995; Sasal ve ark., 1997; van Ginneken ve ark., 2005; Bartoli ve Gibson, 2007; Clauss ve ark., 2008). Balıklardaki eritrositler (kırmızı kan hücreleri) kan hücreleri arasında en fazla miktara sahip hücrelerdir ve memeliler dışında diğer omurgalı canlıların kan hücrelerine benzer yapıdadır. Hematokrit teleostlarda % 20-40 oranında, insanda % 40-45 oranında ve diğer deniz memelilerinde % 65 oranında değişmektedir (Stark ve Schuster, 2012). Balıklarda hematokrit ve eritrosit değerleri sırayla ışınılar, köpekbalıkları ve teleostlar olarak artış gösterir. Genellikle eritrositlerin çapları teleostlarda küçüktür, amfibilerde, elasmobranchilerde, diphnoilerde (akciğerli balıklar) büyüktür örneğin *Amphiuma* spp., RBC (Kırmızı kan hücre sayısı) $65 \mu\text{m}$ çapındadır. RBC nin boyutu DNA (Deoksiribonükleik asit) ile ilişkilidir (Filho ve ark., 1992; Hrubec ve Smith, 2000; Kapoor ve Khanna, 2004; Campbell ve Ellis, 2007; Davis ve ark., 2009; Arikan ve ark., 2010; Dove ve ark., 2010). Lökositler, granülosit (nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller) ve agranülositler (lenfositler ve monositler) olarak ayrılır ve boyutları türden türe değişiklik gösterir. Periferik kan lökositlerinin yaklaşık olarak % 60'ını oluşturan nötrofiller sayısal olarak en büyük lökosit popülasyonunu oluştururlar. Değişken sayıda nükleer segmentlerden dolayı polimorfonükleer (PMN) hücreler olarakta adlandırılırlar. Nötrofiller bakterileri öldürmede çok etkilidir. Teleost kanında en çok nötrofil bulunurken, diğer iki granülosit (eozinofiller ve bazofiller) az miktarda bulunur. Balık nötrofilleri birçok durumda fagositik özellik gösterir (Tavares-Dias, 2006). Bazofillerin asidik sitoplazmik granülleri düz kasların kasılmasına neden olan vazoaaktif aminleri (örn: histamin) içermektedir ve kolaylıkla bazik boyalar ile boyanır. İki loplulu hücreler periferik kanda düşük sayıda veya dokularda yerleşik mast hücreleri olarak bilinen şekilde bulunurlar. Teleostlarda granülositlerin kompozisyonu, bazı türlerde oldukça değişken bir

özelliğe sahip olup, nötrofil ve eozinofiller görülmez, bazofiller ise, nadiren tanınabilir. Eozin - seven (eozin, histolojide kullanılan bir boyadır) granüllerden dolayı isimlendirilen eozinofiller bazik protein içeren stoplazmik granül taşıyan çift loplü granüositlerdir. Balık kanında trombositler, RBC'den sonra en bol bulunan ikinci kan hücreleridir, pıhtılaşmada ve kanalikül sistemlerde rol oynar. Balık trombositleri memeli trombositlerinden daha farklı bir yapı ve kökene sahiptirler uzun (oval, iğ, koni) ve yuvarlaktırlar, amfibi, sürüngen ve kuş trombositleri benzerler (Kapoor ve Khanna, 2004; Dove ve ark., 2010).

2.6.1. Kan biyokimyası

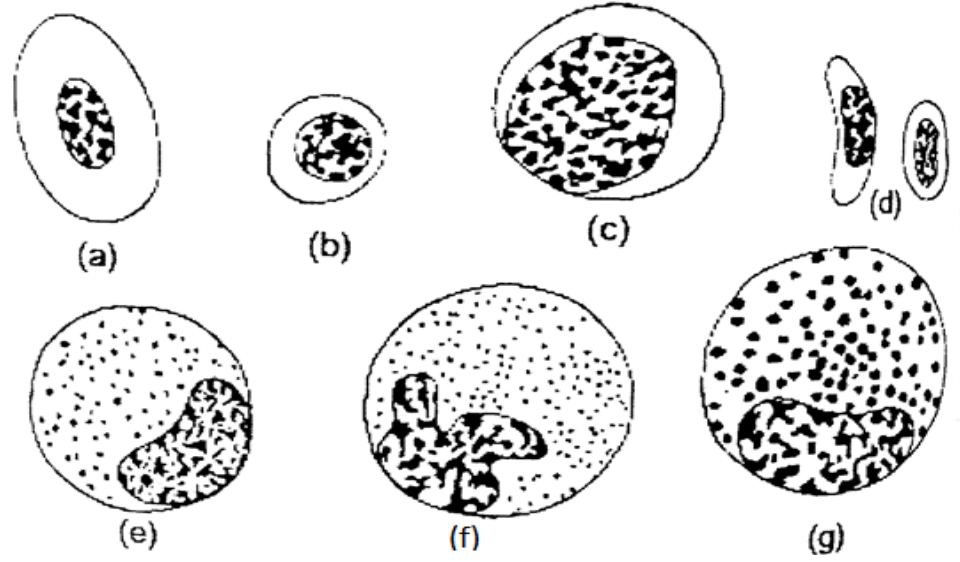
Kan, hücreler arası maddesi sıvı olan bir dokudur. Bu temel maddeye plazma adı verilir. Kanın plazma dışında kalan kısmını ise kan hücreleri oluşturur. Diğer dokulara benzemeksizin kan doku hücreleri sabit değildir. Devamlı olarak kan dolaşımı içinde bir yerden diğerine hareket ederler. Kanın en önemli görevi organizmada normal şartların devamlılığını sağlamaktır. Çoğu memelide vücut ağırlığının %7-8'ini kan teşkil eder. Total kanın %45-65'ini plazma, %35-55'ini ise kan hücreleri oluşturur. Balıklarda kanın hacmi diğer omurgalıların hacminden daha az olup 2 ile 17 ml/g arasında değişir. Balıkların kanı sıvı plazma ve katı cisimler olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Balıkların genel kan tablosu (Lagler, 1962)

2.6.1.1. Katı cisimler

Katı cisimler kan hücreleri ve onların atıklarıdır. Balıkların kan hücreleri ise, eritrositler, lökositler ve trombositler olmak üzere başlıca 3 tiptir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Balıklarda kan hücreleri, a) eritrosit, b) lenfosit, c) monosit, d) trombosit, e) asidofilik granulosit, f) nötrofilik granulosit, g) basofilik granulosit (Lagler, 1962)

2.6.1.1.1. Eritrosit

Balık eritrositleri kuş ve sürüngenlerin eritrositlerine benzemektedir. Eritrositlerin görünüşleri yassı ve oval olup ender olarak ortası çukur bir diski andırır, çekirdek içerirler (Saunders, 1966; Saunders, 1968). Ortalama çapları türden türe değişmektedir. 1 mm^3 kanda 20.000-3.000.000 adet/kg arasında değişim göstermektedirler. Bu miktar balıkta herhangi bir parazit ve hastalık olduğunda düşüş kaydeder. Özellikle eritrosit miktarındaki değişimler balıkta herhangi bir hastalık belirtisi olarak kabul edilir. En önemli işlevleri içerdikleri hemoglobin sayesinde solungaçlardan dokulara O_2 ve dokulardan solungaçlara CO_2 taşımalarıdır. Kırmızı kan hücreleri sudaki erimiş oksijenin % 99' unu taşımaktadırlar. Hemoglobin ise bir solunum pigmentidir. Atomların ortasında bir demir atomu bulunan bir pigmente heme adı verilir, heme hem kana kırmızı rengi verir hem de oksijeni kendine bağlayarak taşır. Her bir heme grubu iki veya dört aminoasit grubundan oluşur. Bunun protein kısmını ise globin molekülü oluşturur. Kanın oksijen taşıma kapasitesi bir solunum pigmenti olan hemoglobinin miktarına bağlıdır o da eritrositlerin sayısına göre değişir. Çünkü kanın oksijen bağlama kapasitesini arttıran hemoglobindir (Karataş, 2010).

2.6.1.1.1.1. Balık hemoglobinleri

Hemoglobin, üzerinde yoğun olarak çalışılan bir proteindir. Nitekim, hemoglobinin moleküler analizi özellikle kristalografik yapısının anlaşılması, proteinlerin yapı fonksiyonu ilişkisi, ligand bağlama, konformerler arasındaki yapısal geçişler ve allosterik

etkileşimleri biyolojideki birçok çağdaş fikirler ve kavramlar için araştırma alanı oluşturmuştur (Perutz, 1984; Berenbrink, 2006). Kırmızı hücreler ya da eritrosit içindeki hemoglobin gibi proteinler büyük miktardaki gaz çözünmesini kolaylaştırarak ve onu dokulara taşıyarak oksidatif katabolik reaksiyonlardan kaynaklanan elektronların son alıcısını harekete geçirir, oksijen ihtiyacını karşılayabilmek için hayvanların aerobik yeteneği hemoglobinlerin rolüne bağlıdır (Giardina ve ark., 2004). Hemoglobinin işlevi hayvanların farklı metabolik ihtiyaçlarına ve çevresel değişikliklere uyum sağlamış görünmektedir (Riggs, 1976). Omurgalılar arasında balıklar, genotipik özellikleri nedeniyle ve evrim zincirindeki konumlarından dolayı üzerinde yoğun olarak araştırma yapılan hayvanlardır. Bu özellikler farklı balık türlerinin (oksijen uygunluğu, sıcaklık, basınç, tuzluluk gibi) farklı koşullarla nasıl mücadele ettiğini gösterir. Balıklar yüksek sayıda hemoglobin içeren hayvan grubudur (Giardina ve ark., 2004). Literatürde balıkların biyokimyasal adaptasyonlarını rapor eden çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu raporlara göre, balıklar çevresel değişikliklere göre değişikliğe uğrayabilen yüksek genotipik esnekliğe sahiptirler. Erkek Pacu ve dişi Tambaquinun birleşmesi ile oluşan Tambacu gibi melezlerin oluşumu gibi farklı türler arasındaki genetik varyasyonlardan dolayı yeni türlerin oluşumu ve onların ataları ile aynı özelliklere sahip olan türlerin varlığı tespit edilmiştir (Almeida-Val ve Val, 1992). Ortak bir atadan gelen alfa ve beta alt birimlerinin oluşumunu sağlayan ata genin çoğalması en az 450 yıl önce gerçekleşmiştir ve bu zaman süreci içerisinde büyük değişimler görülmüştür. Omurgalıların hemoglobin evrimi çok fazla sınırlamalara tabi olmuştur. Hemoglobinlerin evrimi çevresel ve fizyolojik değişiklikler ile ilişkilidir (Brittain, 2005).

2.6.1.1.1.2. Hemoglobinin yapısı

Hemoglobin globin olarak bilinen polipeptid zincirlerinden oluşur ve her bir zincir heme diye adlandırılan bir prostetik gruba sahiptir. Globinler, tüm organizma ve dokularda bulunur, kuarter yapıları farklıdır, oksijen taşıma ve depolama dışında önemli görevleride vardır (Weber ve Voelter, 2004; Fago ve ark., 2004). Globin genlerinin organizasyonu memeliler, kuşlar ve kurbağalarda tam olarak tanımlanmıştır. Memelilerde, alfa ve beta globin genleri farklı kromozomlar üzerinde yer almaktadır. İnsanda, alfa globin geni 16. kromozom ve beta globin geni 11. kromozom üzerinde bulunur. Tavuklarda, alfa ve beta globin genleri farklı kromozomlar üzerinde de vardır. Örneğin amfibilerden *Xenopus*'da genler aynı kromozom üzerinde bulunur. Teleostlarda (Atlantik salmon, sazan ve zebra balığında) yetişkin alfa globin geni beta globin geni ile bitişik olarak bağlantılıdır ve embriyon globinler yetişkin globinlerinden tamamen farklıdır

(Maruyama ve ark., 2004). Hemoglobin molekülü 4 globin zinciri içerir, tetramer formdadır ve beta zincirleri 141, alfa zincirleri 146 aminoasitten meydana gelmektedir. Hemoglobin molekülünün yapısında yer alan her globin zincirlerine bir tane de hem plağı bağlanmıştır. Bu yapı, hemoglobin molekülüne oksijen bağlanmasını sağlamaktadır.

2.6.1.1.1.3. Allosterik kontrol

Hemoglobin oksijeninin geri dönüşümlü olarak bağlama yeteneği başlıca 3 unsurdan etkilenir; 1- Ortamın pH'ı 2- Ortamın pH'ı ya da $p\text{CO}_2$ (Bohr Etkisi) 3- Ortamdaki 2,3-bisfosfogliserat konsantrasyonu. Bunlara toplu halde allosterik faktörler denir, çünkü bunların hemoglobin molekülünün bir bölgesi ile etkileşimleri molekül üzerindeki farklı bölgelerdeki hem gruplarının oksijen bağlanmasını etkilemektedir. Hemoglobinlerde allosterik özellikleri açıklayan ve en çok kabul gören modellerden biri Monod ve arkadaşları tarafından 1965 yılında önerilmiştir. Hemoglobin oksijene bağlandığında farklı afinite oluşumları mevcuttur. Düşük afinite durumu (gergin) taut form veya T, yüksek afinite durumu relaks form veya R olarak bilinir. T formu hemoglobinin oksijene ilgisinin düşük olduğu, R formu ise hemoglobinin oksijene ilgisinin yüksek olduğu formdur (Brittain, 2005). Bununla birlikte, diğer ligandlar oksijen hemoglobine bağlandığında onun yardımcı etkisini azaltırlar. Onlar fizyolojik ihtiyaçlar doğrultusunda gaz için afinite durumunu ayarlar. Bu mekanizmalar hemoglobin fonksiyonunun "ince ayarını" oluşturmaktadır, farklı bölgelere bağlanma esnasında O_2 tutucu bu durumu etkiler çünkü onlar heteroik allosterik etkileşimleri temsil ederler (Giardina ve ark., 2004). Bu tür değişikliklere neden olan kimyasal türler allosterik efektör ve ajanlar olarak adlandırılırlar bunlar tercihen T ve R dir ve oksijen afinitesini artırır veya azaltırlar (Tsuneshige ve ark., 2002). Heterotropik efektörler önceden belirtilenlere ek olarak farklı alt bölgeler oluşturabilirler. Hoplosternum littorale balığında bu şekilde bölgeler saptanmıştır. Efektörün bağlanması hem normal hem de tek hörgüçlü develerden ve matrinxa balığından (*Brycon cephalus*) hemoglobine bağlanan fosfatlar için ilk olma özelliği taşıyan klasik durumlara özgü olabilir. Heterotopik efektörler, daha önce belirtilenlere ek olarak, farklı substratlara neden olabilir, "tamoatá" (*Hoplosternum littorale*) balığında belirlenen hemoglobin gibi (Amiconi ve ark., 1985; Bonilla-Rodriguez ve Poy., 2004; Peres ve ark., 2004). Ph düşürüldüğünde veya hemoglobin yüksek CO_2 parsiyel basıncında bulunuyorsa oksijenin hemoglobinden ayrılması kolaylaşır, her iki halde de hemoglobinin oksijene ilgisi azalır ve bu yüzden oksijen dissosiasyon eğrisinde sağa doğru kayma meydana gelir. Oksijen bağlanmasındaki bu değişikliğe Bohr etkisi denir. Çoğu hemoglobin için bohr etkisi H^+ konsantrasyonunda bir artış, pH'da azalma, oksijen afinitesinde düşüşü ifade eder

(Giardina ve ark., 2004; Jensen, 2004). Bu koşullar altında, hemoglobin daha düşük bir oksijen afinitesi gösterir ve gaz dokularda serbest kalır. Protein temel olarak çevreden bir proteini kaldırırken, gaz değişim organlarında aksi görülebilir yani protonlar serbest bırakılabilir ve oksijen tutulabilir (Perutz, 1978). Alkalın, Bohr etkisinde önemli bir rol oynar. Özellikle egzersiz sırasında laktik asit iskelet kas dokularından serbest kalır, akciğer ve solungaçların doygunluğunu artırır (Yokoyama ve ark., 2004). Bohr etkisine neden olan kalıntılar tespit edilmiştir. Bunlar; deoksijen formunda Asp94 α ile iyonik bir etkileşimi şekillendiren His146 β 'dan dolayı temel bir kalıntı. Bir diğer önemli kalıntı Val1 β dir ve katılımı çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler; 1- Klorür varlığı, 2- Kalıntının asetilasyon veya formilasyonu 3- N ucu ile bağlantılı CO₂ oranı (Giardina, 2004). Organik fosfatlar, oksijen afinitesini düşürürler. Fosfatın deoksi-hemoglobine bağlanmasından sorumlu olan kalıntılar pozitif yüklüdür. Alfa zincirlerinden Val1 amino grubu ve beta zincirlerinden His2, Lys82 ve His143 grubudur (Val ve Almeida-Val, 2000). Kan oksijen afinitesi, hemoglobin konsantrasyonuna bağlıdır onun duyarlılığı heterotopik efektörler ile ilişkilidir (Arnone, 1972).

2.6.1.1.1.4. Balıklarda hemoglobin üzerine yapılan çalışmalar

Balıkların çoğunluğunda, eritrositler ovaldir ve memelilerdekinden daha büyüktür, sayıları 800 bin ile 3,5 milyon/mm³ arası değişmektedir. Lökosit sayıları 20-50 bin arasındayken bazı türlerde 100.000/mm³'e kadar artmaktadır (Tocidowski ve ark., 1997; Junqueira ve Carneiro., 1991). Balıkta eritropoez (alyuvar oluşumu) hücre kitlesini takiben yumurta kesesi içinde başlar. Eritrositlerin üretimi gastrointestinal sistemin ön dalak dokusu üzerinde ve dalakta görülürken (*Cyclostoma*, *Sarcopterygii* ve *Chondrichthyes* de görüldüğü gibi), teleostlarda böbreklerde gözlenir (Glomski ve ark., 1992). Gökkuşuğu alabalıklarında, embriyon globinleri notokordun altında, 6-7 günlük embriyoların içinde yer alırken, olgun globinler kanda, böbrekte ve karaciğerdeki eritroid hücrelerde bulunur (Maruyama ve ark., 2004). Hemoglobinler balık adaptasyonunda önemlidirler çünkü organizma ile çevre arasında bir ara yüzey oluştururlar (Landini ve ark., 2002). Balıklar oksijen tüketiminde karasal hayvanların aksine çok değişik zamansal, mekansal ve çevresel değişimlere maruz kalırlar. Birçok amazon balığı hipoksiye maruz kaldığı zaman havadan doğrudan oksijeni temin ederken zorlanırlar. Solungaçları, ağız, mide, bağırsak, ve yüzme kesesi vaskularizasyonlarında anatomik değişiklikler meydana gelir (Val., 1996; de Oliveira ve ark., 2001). Bu tür değişimler havalandırma sıklığı, havalandırma hacmi, eritrosit, hematokrit ve hemoglobin sayısındaki artış, organik fosfat konsantrasyonlarında değişiklikler, farklı fonksiyonel özelliklere sahip iso-hemoglobin varlığını ve metabolik

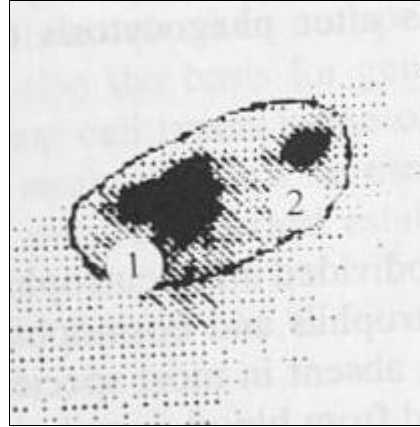
depresyon gibi değişimlerinde beraberinde getirirler (Val, 1996; Riggs, 1979). *Prochilodus nigrans* balığında eritrositlerin içinde GTP ve ATP seviyelerinin mevsimsel değişimi hemoglobin O₂ afinitesinin değişimine bağlıdır. GTP ve ATP seviyeleri yükseldiğinde yaz boyunca düşük afinite gözlenmiştir. GTP ve ATP seviyeleri düştüğünde kış boyunca yüksek bir O₂ afinitesi gözlenmiştir (Almeida-Val ve Val., 1992). *Pterygoplichthys mustiradiatus* balığı hipoksik koşullara maruz kaldığında organik fosfatların intra eritrosit seviyelerindeki değişimlere göre yüksek bir oksijen afinitesi görülmektedir (Val ve ark., 1990). Amazon balıkları hipoksiye maruz kaldıklarında ATP ve GTP konsantrasyonlarında düşüş vardır. Çevre sıcaklığında bir artış meydana geldiğinde, organik fosfat konsantrasyonlarında bir azalma gözlenmiştir. Hipoksiye maruz kalan balıklarda trifosfat nükleotid konsantrasyonunda bir azalma bildirilmiştir (Weber, 1996). Ortam sıcaklığı arttığında, sudaki oksijen konsantrasyonu düşer. Cinsiyet, yaş, mevsim ve çevre koşulları hemoglobin konsantrasyonlarını etkileyebilir (Glomski ve ark., 1992). Örneğin, Tambaqui (*Colossoma macropomum*) balığında günlük ve mevsimsel dalgalanmalar sırasında suda meydana gelen fizikokimyasal parametrelerdeki değişikliklere direnç ve sudaki oksijen miktarı ve pH değişimlerine karşı bir tolerans mevcuttur (Marcon ve Filho, 1999). Crucian sazan (*Carassius carassius*) gibi bazı türlerde, Kuzey Avrupa kışlarında uzun süre boyunca anoksi ve hipoksiye karşı büyük bir direnç sağlayan son ürün etanoldür (Nilsson, 2001). Balık türlerinde mevcut hemoglobinlerin çeşitli formları izohemoglobin olarak adlandırılır. Bu çeşitli formların kökeni polimorfizmdir. Nötr mutasyonlar sonucunda hemoglobin çeşitliliğini açıklayan teoriler tarafsızlık ve seleksiyonist teoriler olarak adlandırılmaktadır. Memeliler ve kuşlar karşılaştırıldığında hemoglobin bileşeni sadece balıkta değil sürüngen ve amfibilerde de önemlidir. Balık türlerinin büyük çoğunluğunda simetrik hemoglobinler mevcuttur, bu aynı globin zincirlerinden iki çift olması demektir. Bununla birlikte, bir tek-hemoglobin molekülünden az üç farklı globin zinciri içeren bazı mevcut asimetric hemoglobinlerde vardır (Dafré ve Reischl, 1997; Val ve Almeida-Val, 2000). Yayınlarda balık hemoglobinleri elektroforetik davranışlarına göre katodik ya da anodik olarak sınıflandırılırlar. Katodik hemoglobinler (II. sınıf hemoglobin) olarak adlandırılır en yüksek izoelektrik noktasına, düşük O₂ afinitesine sahiptirler. Anodik hemoglobin (sınıf I), daha düşük bir afiniteye ve yüksek proton bağlama duyarlılığına sahiptir (Pérez ve ark., 1995; Fago ve ark., 2002). Kullanılan analitik yöntem izohemoglobin sayısının tespitini belirleyebilir. Alabalık kanına ilişkin (*Oncorhynchus mykiss*), hemoglobin formları sayısı hakkında tartışmalar vardır, analitik yöntemle bağlı olarak 6-9 fraksiyon rapor edilmiştir. Hızlı Performanslı Sıvı Kromatografisi 9 fraksiyon gösterir bunlardan 5'i alfa 4'ü beta zinciri olarak tanımlanmıştır. Bu çokluk eritrosit içinde daha iyi bir pH tamponlama ve

yüksek hemoglobin konsantrasyonu sağlayacaktır. Alabalık hemoglobin I (Toplamın % 20'si) Bohr etkisine ve organik fosfat duyarlılığına sahip değilken hemoglobin IV (Toplamın % 60' ı) Bohr etkisine ve organik fosfat duyarlılığına sahiptir (Gabbianelli ve ark., 2004). Hemoglobin IV üç tip alfa ve üç tip beta zincirinde oluşan büyük bir O₂ taşıyıcısıdır. Hemoglobin I' in alfa ve beta zincirleri Hemoglobin IV'den farklıdır (Cepreganova ve ark., 1992; Frey ve ark., 1998). Alabalıklarda hemoglobin I Bohr etkisi göstermez oksijen afinitesi pH' a bağlı değildir. Hemoglobin IV, Bohr etkisi ve organik fosfata duyarlılık gösterir. Düşük pH, yüzme kesesi ve retina içine oksijen salınımı sağlayan bir Root etkisi gösterir. Hemoglobin IV pH 6 da tamamen oksijensiz iken pH 7,8' de oksijenlidir. Hemoglobin I' in görevi, acil durumlarda gaz temini için dokularda oksijeni muhafaza etmek, Hemoglobin IV' in görevi ise yüzme kesesi içinde yüksek basınca karşı oksijeni salıvermektir. Bir çok balık türünde çeşitli değişimlerden kaynaklanan durumlar sonucu dokulara oksijenin yeterli gelmesi durumu araştırılmıştır (Frey ve ark., 1998; Gabbianelli ve ark., 2004).

2.6.1.1.2. Lökosit

Balıklarda lökositler oval benzeri veya elips şeklindeki kan hücreleri olup büyüklükleri 10-33 μ arasında değişir (Şekil 2.11) Bunların sayısı 1 mm³ kanda 20.000-150.000 arasındadır. Yani eritrositlerden daha azdır. Lökosit hücreleri granüler ve granülsüz olmak üzere ayrılır. Granüler olanlar lökositlerin %4-40 arasında değişen kısmını oluştururken granülsüz lökositler ise % 60-96'sını oluşturur. Bunların ortalama çapları 10 μ dur. Granülositler bir takım granüller içerirler. Bu granüller boyama reaksiyonuna göre yani asit, baz ve nötr boyalarla boyanabilme kabiliyetine göre asidofil, bazofil ve nötrofil olmak üzere başlıca 3 tiptedir (Karataş, 2010). Nötrofil ve asidofiller balıklarda en yaygın görülen hücrelerdir, bazofiller ise birçok balık türünde bulunmaz. Granülositlerde, makrofajlar gibi kandan (monosit), lenfoid organlardan (böbrek) ve periton boşluğundan kolaylıkla izole edilebilirler. Balık kanında gronulosit sayıları stresli koşullarda artış göstermektedir. İzole edilen granülositlerin, en göze çarpan özelliği, sitoplazmalarında granülün bulunmasıdır, bu granüller hücrelerin tanımlanmasını sağlar. Salmonidlerin nötrofillerinde, hücrelerin tanımlanmasını sağlayan polimorfonükleerler bulunmaktadır. Son yıllarda salmonlarda nötrofil-özel monoklonal antikor hücreleri (MoAb) gündemdedir. İzole edilen gronulositler (özellikle nötrofiller) hareketli, fagositik ve reaktif oksijen türleri üretir, fakat onların bakteriyel aktiviteleri makrofajlar ile karşılaştırıldığında nispeten zayıftır. Eozinofilik granular hücreler (EGS), bağırsağın, solungacın, derinin, meninkslerin (beyin ve omurilik zarlarının) ve kan damarlarının

çevresindeki stratum granulosumlarında bulunur, bu hücreler eozonofil olarak kabul edilmezler daha çok mast hücrelerinin yerine kullanılırlar (Vallejo ve Ellis, 1989). Asidofil (eozinofil) lökositler sitoplazmalarında geniş kırmızı granülleri olan lökosit hücreleridir. Nükleuslarındaki loplasma, nötrofil lökositlere göre daha az belirgindir. Görevleri çok az bilinmektedir. Bazı bulgular bu hücrelerin kanın histamin kaynağını oluşturduğunu göstermektedirler. Bazofil lökositler kanda normal olarak çok az sayıda bulunurlar. Sitoplazmalarında bazik boyalarla boyanan granülleri içerir. Bazofil lökositlerin granüllerinde histamin ve heparin bulunur. Nötrofil lökositler birçok akut inflamasyonda çok önemli hücrelerdir. Bunlar damar duvarından ameboid aktivite ile zarar gören dokuya göç ederler. Bu hücrelerin görevi bakterilerin ve zarar görmüş doku parçacıklarının fagositozudur. Zarar verici etki yok edilene kadar lökositler sayıca çoğalırlar. Nötrofil lökositler segmentli veya lobüllü çekirdekleri ile tanınırlar. Sitoplazmadaki ince granüller çok hafif iz gibi boya alırlar (Şekil 2.11). Çok loblu çekirdek ve çok sayıda stoplazmik granüle sahip olan beyaz kan hücreleri granülosit olarak bilinir. Tek loblu ve loblara ayrılmamış bir çekirdeği olan ve sitoplazmasında çok az veya hiç granüle sahip olmayanlar ise granülsüz lökositler olarak bilinirler. Granülsüz lökositler lenfoid veya miyeloid seri öncü hücrelerden türerler ve dolaşımdaki lökositlerin yaklaşık olarak %35-38'ini oluştururlar (Timur ve Timur, 2003).



Şekil 2.11. Gökkuşağı alabalığı kan lökositlerinin flow sitometrik analizi

2.6.1.1.2.1. Lenfoid seri hücreleri

Lenfositler immün yanıtta rol oynayan önemli hücrelerdir, makrofaj aktivite artarken, özel immün yanıt tarafından antikor üretirler (Şekil 2.14) (Jalali ve ark., 2009). Lenfositler görevleri yönünden iki gruba ayrılırlar. Bunlardan bir kısmı antikor (humoral immünite) yapımını üstlenirken, diğer grupta yer alanlar ise hücre bağışıklığını (cellular immünite) sağlarlar (Timur ve Timur, 2003).

2.6.1.1.2.2. Monosit seri hücreleri

Miyeloid öncü hücrelerden farklılaşan mononükleer hücreler, dolaşımında monosit olarak veya dolaşım sistemini terk edip dokulara girdikleri zaman makrofaj olarak bilinirler. Bu hücreler vücudun çöpçü hücreleridir. Bu hücreler, hücre artıkları, yabancı hücre ve partikülleri toplar veya fagosite eder ve enzimatik yolla yıkarlar. Hem miyeloid hem de lenfoid kökenli diğer bir fagositik hücre grubu dallanmış sitoplazmik uzantılarından dolayı dendritik hücreler olarak bilinmektedir (Timur ve Timur, 2003).

2.6.1.1.2.2.1. Monosit ve makrofajlar

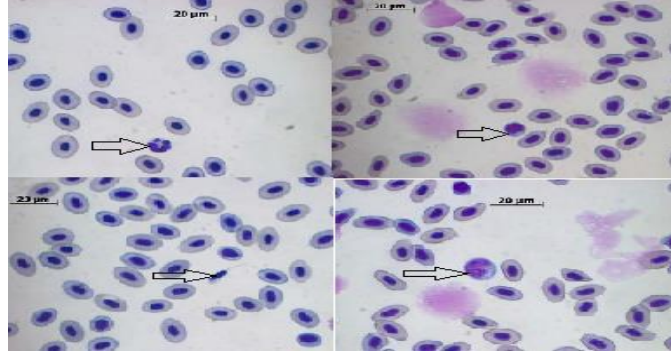
Monositler büyük mononükleer hücrelerdir (Şekil 2.14). Hem monosit hem de makrofajlar aktif olarak fagositoz yoluyla çevrelerini kontrol altında tutarlar ve hücre artıkları uzaklaştırmak için çöpçü olarak hizmet ederler (Harvey, 2013). Makrofajlar kandan (monosit), lenfoid organlardan (böbrek) ve periton boşluğundan kolaylıkla izole edilebilirler (Secombes, 1990). İzole edilen makrofajlar çeşitli şekillerde tespit edilebilir örneğin, mononükleer, spesifik olmayan esteraz pozitif ve peroksidaz negatiftir. İşlevsel olarak bu hücreler, oksijen ve azotun serbest radikallerini salgılayabilir ve çeşitli patojenleri (bakteri, helmint larvaları) öldürebilirler (Secombes, 1990). Bu hücrelerin yüzey belirteçleri hakkında bilinenler sınırlı olsada, antikora, tanımlayıcı reseptörlere ve MHC sınıf II moleküllerine sahip olduğu bilinmektedir (Secombes ve Fletcher,1992; Secombes, 1994).

2.6.1.1.2.2.2. Dendritik hücreler

Bütün vücutta, fakat esas olarak olası mikrobiyal giriş yollarında (örneğin; deri, akciğer, gastrointestinal yol) bulunan bu hücreler dallanmış sitoplazmik uzantıları nedeniyle dendritik hücre olarak isimlendirilmiştir. Diğer fagositler gibi, dendritik hücreler fagositoz yoluyla çevrelerindeki hücre ve partikülleri aktif olarak yutan hücrelerdir (Harvey, 2013).

2.6.1.1.3. Trombositler

Balık trombositleri kuş ve sürüngenlerinkine benzemektedirler, oval, sitoplazmaları renksiz, çekirdekli ve küçük hücrelerdir (Şekil 2.12). Trombositler pıhtılaşma sürecinde önemlidirler, protrombini trombine dönüştürürler (Fange, 1992). Bu özellikler göz önünde bulundurularak Çizelge 2.7 'de görülen çalışmalar yapılmıştır.



Şekil 2.12. Gökkuşığı alabalığındaki kan hücreleri a) nötrofil, b) lenfosit, c) trombosit ve d) monosit (Awad ve Austin, 2010)

Çizelge 2.7. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak
Sarımsak	<i>O. niloticus</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↔), MHC (↔), MCHC (↔)	Shalaby ve ark., 2006
<i>Cnidium officinale</i> , <i>Crataegi Fructus</i>	<i>P. major</i>	Hct (↔), Hb (↑), HDL-CHO (↑)	Ji ve ark., 2007b
<i>Curcuma Longa</i>	<i>L. rohita</i>	RBC (↑), Hb (↔)	Sahu ve ark., 2008
Ginseng	<i>O. niloticus</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↓), MCH (↓), MCHC (↔),	Goda (2008)
<i>Garcinia kola</i>	<i>C. gariepinus</i>	RBC (↔), Hb (↔)	Dada ve Ikuerowo 2009

Çizelge 2.7'nin devamı. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Hct (↑) , MCHC (↑), MCV(↓), MCH(↓)	Nya ve Austin 2009a
Zencefil	<i>O. mykiss</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↔), MCV (↔), MCH (↔), MCHC (↔)	Nya ve Austin 2009b
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Hb miktarında 20-30 g/kg grupta kontrol grubuna göre artış, Ht miktarı 30 g/kg grupta artmış, MCV (↔), MCHC (↔)	Farahi ve ark., 2010
<i>Artemisia cina</i>	<i>C. garipepinus</i>	Hct (↑), Hb (↑)	Abdelhadi ve ark., 2010
<i>Aegle marmelos</i>	<i>C. carpio</i>	RBC (↑), Hb (↑)	Pratheepa ve ark., 2010
<i>Lupinus Perennis,</i> <i>Mangifera İndica, Urtica</i> <i>Dioica</i>	<i>O. mykiss</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↔), MCV (↔), MCH (↔), MCHC (↔)	Awad ve Austin, 2010
<i>Andrographis</i> <i>paniculata</i>	<i>O.</i> <i>mossambicus</i>	RBC (↑), Hb (↑), MCV (↓), MHC (↓), MCHC (↔),	Prasad ve Mukthiraj 2011

Çizelge 2.7'nin devamı. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak
<i>Euphorbia</i> <i>Hirta</i>	<i>C. carpio</i>	RBC (↑), Hb (↑)	Pratheepa ve Sukumaran 2011
<i>Kalopanax</i> <i>Pictus</i>	<i>E. bruneus</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑)	Harikrishnan ve ark., 2011a
<i>Alnus firma</i>	<i>P. olivaceus</i>	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑)	Harikrishnan ve ark., 2011b
Su teresi	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	RBC(↔), Hct(↔), MCV(↔), MCH (↔). Hb ve MCHC miktarları %1 lik grupta kontrol grubuna göre artmıştır.	Asadi ve ark., 2012
Timol-karvakrol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Ht(↔), Hb(↔), RBC(↔), MCH(↔), MCHC(↔)	Ahmadifar ve ark., 2011
<i>Epilobium</i> <i>Hirsutum</i>	<i>C. carpio</i>	RBC (↔), Hct (↔), Hb (↔)	Pakravan ve ark., 2011

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı kan hücre sayısı, Hb: Hemoglobin, MCV: Ortalama Eritrosit Hacmi, MCH: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin, MCHC: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu. Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

2.6.1.2. Kan plazması

Kanın sıvı kısmı renksiz madde olan kan plazmasından ibarettir. Balıklar yüksek memelilerle karşılaştırıldığında düşük seviyede plazma proteini içerirler. Plazmada erimiş halde anorganik iyonlar, kan proteinleri (osmotik basıncı kontrol eden albümin, lipitleri taşıyan lipoproteinler, hemoglobinin pigmentini bağlayan globülinler, bakırı sağlayan seruloplazmin, kanın pıhtılaşmasını sağlayan fibrinojen ve anorganik iyodu bağlayan iyoduroforin), glikoz, lipidler, aminoasitler, vitaminler, atılacak maddeler, erimiş gazlar, hormonlar ve enzimler bulunmaktadır. Balık kanında az bulunan fibrinojen ve protrombin benzeri proteinler, balık kanının çabuk pıhtılaşmasında önemli rol oynamazlar. (Karataş, 2010).

2.6.1.2.1. Glikoz

Glikoz en çok ölçülen kan metabolitlerinden biridir. Kan glikozu balıkların karaciğerinde glikojen olarak depo edilip, organizmanın gereksinimi olduğu zamanlarda glikoza çevrilerek kana verilir. Çoğunlukla balığın yaşadığı ortamın kirlenmesi veya herhangi bir nedenden dolayı oluşan stres faktörü balıktaki kas aktivitesinin artmasına neden olur. Buna bağlı olarak kan glikoz miktarında artış kaydedilir. Ayrıca amonyak miktarındaki artışta kan glikoz düzeyini arttırıcı yönde etki yapar (Karataş, 2010). Kırmızı kan seviyesi hücrelerindeki serbest glikoz çok az miktardadır ve hemotokritteki küçük çaplı değişimler kan glikozu seviyesi üzerinde küçük miktarda etki yaratır. Dinlenme halindeki kan glikoz seviyesi Afrika akciğerli balıklarında 0,2 mM' dan ton balığında 15 mM'a kadar değişim gösterir (Arthur ve ark., 1991). Tüm kan glikozu seviyesindeki türler arası değişimler balıkların hareketlerindeki farklılıklara dayandırılır. Pelajik türlere göre bentik türler daha düşük kan glikoz seviyesine ulaşmaya meyillidirler (Umminger, 1977). Glikoz seviyesi farklı türler içindeki bireyler arasında değişiklik gösterir. Laboratuvar ortamında tutulan 26 levrek balığında (*Paralabrax clathratus*) kandaki glikoz seviyesi 0,3-8,8 mM arasında değişim göstermiştir Bu bireysel değişimlerin bazıları balıkların üretim koşullarına, beslenmelerine, boylarına ve yaşlarına bağlıdır (Bever ve ark., 1977). Birçok kemikli balıklarda kan glikoz düzeyi, yakalanmaları ve kassal aktiviteleri esnasında artarken, dinlenme durumunda artış söz konusu değildir. Kandaki glikoz seviyesi balıkta stresin göstergesidir. Genellikle stres çeşitli süre ve kapsamda hiperglisemiye (kan şekerinde artış) neden olur. Stresin şiddeti hipergliseminin süresini ve seviyesini belirler. Artan kan glikozunun kaynağı katekolamin uyarımına tepki olarak harekete geçen hepatik glikojendir. Strese tepki

olarak glisemikteki tür içi ve türler arası değişimler katekolamin salgısındaki ve hepatic glikojendeki farklılıkları yansıtabilir (Mazeaud ve Mazeaud, 1981). Beslenme ile ilgili durumlar kan glikoz seviyesini etkiler. Bütün türlerde yemek sonrası kan şekeri miktarı yemdeki karbonhidrat seviyesine bağlı olarak değişim gösterir (Hilton ve Atkinson, 1982; White ve Fletcher, 1985; Suarez ve Mommsen, 1987; Moon 1988). Kandaki glikoz seviyesi üzerine açlığın etkisi zamana ve türlere bağlıdır. Gökkuşığı alabalığında ve levrekteki kandaki glikoz seviyesi 6 hafta açlıktan sonra düşer (% 25-30'dan daha fazla düşüş) (Moon ve ark., 1989). 150 günlük açlık döneminden sonra benekli köpek balığı ve levrekte kan glikoz seviyesi değişmemektedir (Zammit ve Newshore, 1979; Bever ve ark., 1977). 36 aylık açlık döneminden sonra kandaki glikoz seviyesi 9 mM da sabit olarak kalmaktadır (Cornish ve Moon, 1985). Glikoz kullanımındaki azalış sonucu metabolik stres meydana gelebilir ya da aminoasit ve yağ asitlerinden elde edilen glikoneojenez aktifleştirilir (Suarez ve Mommsen, 1987). Kan glikoz seviyesinde üreme dönemlerine bağlı olarak türlerde değişimler gözlenir. Gökkuşığı alabalığı ve benekli köpek balığında en düşük kan glikoz seviyesi gonad gelişimi ve yumurtlama döneminde görülürken (3, 9 ve 0, 5) en yüksek kan glikoz (11,7 ve 1,0) ise yumurtlama sonrası dönemde görülür (Miller ve ark., 1983; Gutierrez ve ark., 1988).

2.6.1.2.2. Kan proteinleri

2.6.1.2.2.1. Albumin

Albumin 68-70 kDa lık bir moleküler kütleyle sahiptir. Albumin yağ asitleri, bilirubin ve kanda bulunan taşıyıcı proteinlerle ilişkilidir. Lamprey, hagfish ve teleost gibi ilker türlerde bulunurken, elasmobranchlarda (yassısolungaçlıgillerde) bulunmaz (Fellows ve ark., 1980; Fellows ve Hird, 1981). Brom krezol yeşili metodu plazma albüminini ölçmek için kullanılır. Teleostlarda plazma albümi seviyesi 1-2.4 g dl⁻¹ arasında değişim gösterir ve % 25 ve 50 arasında toplam proteini oluşturur (Fellows ve ark., 1980; Miller ve ark., 1983; Sandness ve ark., 1988). Balık plazmasında albüminin varlığı elektroforetik hareketlilik, yağ asidi ve moleküler kütle üzerinde doğrulanmıştır (Fellows ve Hird, 1981; Davidson ve ark., 1988). Agnatha (çenesiz balıklar), yassı solungaçlıgiller ve teleost plazması insanlarda bulunan albümine benzer moleküler bir yapıda olan tüm proteinleri içerir (Fellows ve Hird, 1981; Davidson ve ark., 1988).

2.6.1.2.2.2. Toplam protein

Kan serumunda yer alan protein, başlıca Albumin (osmotik basıncı ayarlar), Globulin (kanın hastalıklara karşı bağışıklığını sağlar), lipoprotein (yağları taşır), glikoprotein

(balıkların soğuğa karşı dayanıklılığını sağlar) den ibarettir. Balıkların beslenmesinin bir göstergesi olan protein ayrıca kullanılan yemlerin verimliliğini de belirlemede bir belirteçtir. Protein miktarı organizmanın büyümesi ile değişmekte kural olarak yaş ile de artmaktadır. Toplam plazma proteini plazmanın kırılma indisi ile belirlenebilir. Proteinler plazma çözeltisinin yaklaşık %80'ini oluşturduğu için bu kırılma indisinin ölçümü toplam plazmadaki değişiklikleri göstermek için kullanılır. Fakat kalorimetrik teknikler ve reflaktometre ile ölçülen toplam protein arasında fark görülebilir (Gowenlock, 1988). Kan proteini hayvansal organizmada en basit değere sahip olup, balık organizmasının da durumunu karakterize eden iyi bir fizyolojik indeks olabileceği gibi protein metabolizmasında güvenilir bir göstergesi olabilir. Araştırmacılara göre balıkların kan serumu proteinleri konusundaki çalışmalar tüm dokuların protein kompozisyonları ile sabit bir dinamik denge içinde olduklarını göstermiştir. Organizmayı etkileyen faktörler kanın protein konsantrasyonunda ve çeşitli protein fraksiyonların oranlarında kesin değişiklik yapmaktadır (Karataş, 2010). Balıklardaki toplam protein 2-8 g dl⁻¹ arasında değişim göstermiştir ve türler arasında bu değer sabittir (Fletcher, 1975; Fellow ve ark., 1980; Miller ve ark.,1983; Sandnes ve ark., 1988; Hunn ve Greer, 1990). Balık kanındaki proteinler immunité reaksiyonlarına, pH değişikliklerine karşı tampon görevi ile suyun kapillar duvarlardaki hareketi için önemli olan osmotik basınçta görev alır (Karataş, 2010). Birçok çalışmada mevsimler değişimlerinin toplam protein üzerine etkisi incelenmiştir. Haider (1970)'e göre alabalıklarda plazmada protein seviyesi en yüksek kış aylarında gözlenirken, Schotfeldt (1975)'e göre en yüksek yaz sonundadır.

2.6.1.2.3. Kan yağları

Balıklarda trigliserid ve fosfolipidler en çok bulunan yağ kategorisindedir. Toplam plazma yağ seviyeleri birçok faktörden etkilenir (yem, stres ve üreme durumu). Lipoprotein, kolesterol, NEFA (Kandaki lipidlerin metabolik aktif şekilleri ve göç, açlık, yumurtlama gibi faktörlerden etkileniyor) ve trigliserid (plazmadaki trigliserid seviyesi balığın yaşam döngüsü boyunca değişim gösterir ve cinsel olgunlaşma, yumurtlama ve beslenme durumu gibi faktörlerden etkilenir) lipid sınıfındadırlar (McDonald ve Milligan, 1992).

2.6.1.2.3.1. Kolesterol

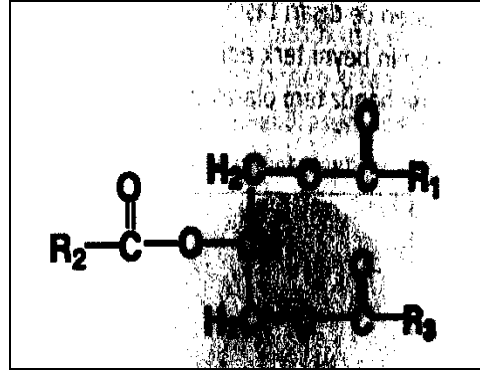
Dört adet halka içeren bir yapıya sahip olan kolesterol, 3 numaralı karbonuna bağlı hidroksil grubu sayesinde amfipatik özelliktedir. Kolesterol steroid hormonların safra tuzlarının ve D vitamininin öncül maddesi, hücre zarının bileşenlerinden biridir. Kolesterol

kanda lipoproteinlerle taşınmaktadır. Kolesterol yaşam için gerekli bir maddedir, ancak kanda düzeyinin belirli sınırlar arasında tutulması gerekir. Plazmada esterleşmemiş yani serbest halde bulunan kolestrol total kolestrolün %30'unu oluşturur. Lipoproteinlerin kolestrol taşımaları ile ilgili birçok araştırma yapıldığı halde kolestrolde zengin hücre zarı mikro bölgeleri ve bu bölgelerin hücre içi kolestrol taşınması ve metabolizması ile ilgili araştırmalara son yıllarda önem verilmeye başlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar eski görüşlerin aksine klatrin kaplı çukurların kolestrol içerdiği, kaveolaların hücre kolestrolünün %10'unu barındırdığını, dezmozomların düşük lipid içeriklerinin %40'ının kolestrolde olduğu belirlenmiştir. Hücre içi kolesterol transferinde görev yapan Niemann-Pick C1 (NPC), kaveolin ve sterol taşıyıcı protein-2 (SCP-2) gibi proteinlerin varlığı gösterilmiştir. Ayrıca hücre yüzeyinde bazı protein ve lipidlerin etrafını çevreleyen halkasal kolesterol bölgeleri tespit edilmiştir (Schroeder ve ark., 2001). Kolesterolün başlıca sentez yeri karaciğer, bağırsak, adrenal korteks, cilt ve testisdir. Sentezin %10'u karaciğer, %15'i bağırsak, cilt ve diğer organlarda gerçekleşmektedir. Çekirdeğe sahip bütün hücreler kolesterol sentezleyebilmektedirler. Kolesterol vücutta yıkılamaz ve sadece karaciğer vasıtasıyla atılarak uzaklaştırılır. Hidroksil grubu aracılığıyla yağ asitleri ile esterleştikten sonra daha hidrofobik özellik kazanır. Bitkiler kolesterol sentezleyemez (Edwards ve Ericsson, 1998). Kolesterol, gelişmiş canlıların hücrelerinin büyümesi ve yaşayabilmeleri için önemlidir. Ayrıca, kolesterol progesteron, testosteron, östradiol ve kortizol gibi steroid hormonlarının bir öncüsüdür (Moerland, 1995; Stacey ve Sorensen, 1995; Aengwanich ve Tanomtong, 2004). Kolesterol konsantrasyonu balıkların beslenme, hareket ve cinsel gelişimindeki farklılıklarından dolayı türler arası değişim göstermektedir (McDonald ve Milligan, 1992).

2.6.1.2.3.2. Trigliserid

Doku ve vücut sıvılarında yağ asitleri genellikle esterleşmiş şekilde bulunmaktadır. Triasilgliserol sentezi başlıca karaciğer ve yağ dokusunda gerçekleşmektedir. Üç karbonlu üç hidroksil gruplu bir alkol olan gliserol ana yapısına üç tane yağ asidinin ester bağı ile takılması sonucunda oluşan trigliserid hidrofobik özelliktedir (Şekil 2.13). Takılı yağ asitleri birbirinin aynı olduğu gibi farklı olabilir. Genelde 2 numaralı karbona bağlı olan yağ asidi doymamış bir yağ asididir. İçerdikleri yağ asitlerinin cinsine göre trigliseridler oda ısısında katı veya sıvı olabilirler. Hayvan kaynaklı trigliseridler daha fazla doymuş yağ içerdiklerinden daha yüksek ergime ısısına sahiptirler. Trigliseridler adipoz dokuda depolanır ve enerji deposu olarak görev yaparlar, ayrıca yağ asitlerinin taşınmasına da katkıda bulunurlar. Trigliseridler plazmada fosfolipidler ve kolestrolde sonra miktarda 3.

büyük lipid alt grubunu oluştururlar. Zincir uzunluğuna özgün yağ asidi KoA ligazlar ile asil KoA türevlerine çevrilen yağ asitleri fosfatik asitle birleşerek triasilgliserolleri oluştururlar. Fosfatidik asit ise kademeli olarak iki yağ asil KoA'nın gliserol-3 fosfata takılması ile olur. Gliserol 3 fosfat asiltransferaz ile önce 1. Karbona sonra lizofosfatidik asit asiltransferaz ile 2. karbona yağ asidi ester bağı oluşumu ile takılır. Fosfatidik asidin 3. Karbonundaki fosfat grubu fosfatidik asit fosfatazla kırıldıktan sonra bu pozisyona diasilgliserol asiltransferazlı bir yağ asidi takılması ile triasilgliserol sentezi tamamlanmış olur. Dihidroksiaseton fosfatın 1. karbonuna bir yağ asidi takılmasını takip eden bir indirgenme reaksiyonuyla lizofosfatidik asit oluşabilmektedir (Hergenç, 2012). Genellikle yassısolungaçlıgiller, teleostlara göre daha düşük seviyede plazmada trigliserid bulundurur ve bu durum hayvanın fizyolojik ve beslenme durumunda bağlıdır (Kapoor ve Khanna, 2004). Bu özellikler göz önünde bulundurularak Çizelge 2.8 'de görülen çalışmalar yapılmıştır.



Şekil 2.13. Trigliserid (R: yağ asidi) (Hergenç, 2012)

Çizelge 2.8. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynakça
Hindistan cevizi, hint fesleğeni, <i>Withania somnifera</i> (dunal otu)	<i>E. tauvina</i>	Albumin (↔), globulin (↔)	Sivaram ve ark., (2004)
Sarımsak	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑),	Sahu ve ark., (2007a)
Mango	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑), glikoz(↓),	Sahu ve ark., (2007b)
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Globulin (↑), toplam protein (↑), albumin (↔)	Nya ve Austin (2009a)
Zencefil	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Toplam protein (↑), albumin (↔), globulin (↑),	Nya ve Austin (2009b)
Sarımsak	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑),	Sahu ve ark., (2007a)
Mango	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑), glikoz(↓),	Sahu ve ark., (2007b)
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Globulin (↑), toplam protein (↑), albumin (↔)	Nya ve Austin (2009a)

Çizelge 2.8'in devamı. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynakça
Sarımsak	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑),	Sahu ve ark., (2007a)
Mango	<i>L. rohita</i>	Toplam protein(↑), globulin (↑), albumin (↑), glikoz(↓),	Sahu ve ark., (2007b)
Sarımsak	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Globulin (↑), toplam protein (↑), albumin (↔)	Nya ve Austin (2009a)
Zencefil	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Toplam protein (↑), albumin (↔), globulin (↑)	Nya ve Austin (2009b)
Zencefil	<i>O. mossambicus</i>	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz(↓), kolesterol(↓), trigliserid(↓)	Immanuel ve ark., (2009)
<i>Cynodon Dactylon</i>	<i>O. mossambicus</i>	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz(↓), kolesterol(↓), trigliserid(↓)	Immanuel ve ark., (2009)
<i>Withania somnifera</i> (dunal otu)	<i>O. mossambicus</i>	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz(↓), kolesterol(↓), trigliserid(↓)	Immanuel ve ark., (2009)
<i>Ocimum basilicum</i> , <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Juglans regia</i> ve <i>Mentha</i> <i>piperita</i>	<i>C. carpio</i>	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz (↓)	Abasali ve Mohamad (2010)
<i>Aleo vera</i>	<i>C. carpio</i>	Toplam protein(↑), globulin(↑)	Alishahi ve ark., (2010)

Çizelge 2.8' in devamı. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynakça
Yalancı teşbih ağacı, Zerdeçal ve hint fesleğeni	<i>C. aurata</i>	Toplam protein(↓), glikoz(↓), kolesterol(↓), trigliserid(↓)	Harikrishn ve ark (2010a)
Yalancı teşbih ağacı, zerdeçal ve hint fesleğeni	<i>C. aurata</i>	Toplam protein(↓),glikoz(↓), kolesterol(↓)	Harikrishn ve ark (2010b)
<i>Eriobotrya Japonica</i> (Malta eriği)	<i>E. bruneus</i>	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz (↓)	Kim ve ark., (2011)
<i>Alnus firma</i>	<i>P. olivaceus</i>	Globulin(↑), toplam protein(↑), kolesterol (↑)	Harikrishnan ve ark., (2011b)

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

2.7. İz Elementleri

Birçok modern ürünlerin imalatı, ticareti, kullanımı ve bertarafı suya iz elementi salınımına neden olur. Ağır metaller kirliliğin en önemli formlarındandır, balık dokularında birikebilirler, insan dokularında da birikince hastalığa neden olurlar (Oymak ve ark., 2009; Rodriguez ve ark., 2003; Yılmaz ve ark., 2007). Ağır metaller şu şekilde kategorize edilebilir; potansiyel toksinler (alüminyum, arsenik, kadmiyum, antimon kurşun, cıva) muhtemel esansiyeller; nikel, vanadyum, kobalt ve esansiyeller; bakır, çinko, selenyum vs. (Szentmihalyi ve Then, 2007; Tuzen ve Soylak, 2007; Ni ve ark., 2007; Jayaraju ve ark., 2008). Esansiyel metaller aşırı yüksek dozda alınırsa toksik etki yaratabilir. Araştırmacılar da gıda ürünlerinde özellikle balık ve balık ürünlerinde ağır metal seviyesinin belirlenmesi ilgi odağı olmuştur. Deniz canlılarında su ortamından gelen kirlenmeler birikir ve bu nedenle su ortamında kirlilik izleme sistemleri kullanılmaktadır. Balıklar, yüksek protein içeriği, düşük doymuş yağ asidi ve omega yağ asitleri içerdiğinden dolayı yaygın olarak tüketilirler. Balıklar sularda atıklardan ve kimyasal kirlenmelerden kaynaklı kirliliğe maruz kalırlar. Balık kasının, yaygın kirlenici konsantrasyonlarının belirlenmesi ve sağlık risklerinin değerlendirilmesi için analiz edilmesi gerekir çünkü insanlar tarafından tüketilen asıl kısımdır. Balıklar, özellikle

kirletici ağır metal düzeylerinden dolayı onları tüketen insanlar için potansiyel risk taşımaktadır (Ashraf, 2005). Balıklarda ağır metallerin birikimi boyuta göre değişim gösterir, küçük balıklarda ağır metal birikimi yüksek konsantrasyondadır. Ağır metal birikimi farklı bölgelerin bir fonksiyonu olarak değişiklik gösterir (Yıldırım ve ark., 2009).

Metal konsantrasyonlarının analizi için hedef doku olarak genellikle karaciğer ve kas kullanılır. Kas yenilebilir kısımdır, karaciğer ve solungaçlar da biyolojik birikim sürecinde bir rol oynamaktadır. Ağır metaller karaciğer gibi aktif dokularda birikir. Karaciğerde metaller yüksek sistin içeriğine ve düşük molekül ağırlığına sahip metallotioninlere bağlanır. Farklı balık türleri ile yapılan çalışmalarda iz elementleri metallotioninler aracılığı ile detoksifikasyon için özellikle karaciğerde birikmiştir (Oymak ve ark., 2009; Kargin, 1998).

2.7.1. Bakır

2.7.1.1. İşlevi ve metabolizması

Bakır (Cu) tüm hayvanlar için gerekli bir eser elementtir (O'Dell, 1984; Mertz, 1986; Lall, 1989). Bakır oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinde oluşan bir kaç enzimin önemli bileşenlerindedir ve serbest iyonlardansa hücredeki proteinlere sıkıca bağlıdır. Cu, metaloenzimlerin hücresel enerji üretimini (sitokrom c oksidaz), serbest radikalın zararına karşı hücrelerin korunmasını (süperoksit dismutaz), beyin nörotransmitterini (dopamin hidroksilaz ve peptidil α -amini monooksijenaz), kollajen sentezi (lizil oksidaz) ve melanin üretimini içine alır. Bakır hücre ve plazmada oluşan proteine (seruloplazmine) bağlıdır ve demir kullanımında bulunur. Seruloplazmin, demir'i dokulara taşınabilir olmasını sağlayacak forma dönüştürmenin yanısıra bakırı da taşır. Seruloplazmin demir proteinden (transferrinden) farklılık gösterir bu şekilde özellikle P-Fenilen diamine karşı oksidatif etki gösterir. Seruloplazminin görevi enzimatik görünür fakat kendine özgü görevi bilinmemektedir. Enzimatik görevinin dışında bakır proteinleri ve şelatlarda diğer metabolik rollerde etkindirler. Zehirli etkileri üzerine yapılan çeşitli araştırmalara rağmen balığın demir metabolizması açık bir şekilde belirlenmemiştir. Deniz balığında, pisibalığında ve memelilerde bakır ve bakıra bağlı enzimlerin dağılımı benzerdir (Syed ve Coombs, 1982). En yüksek konsantrasyonlar beyinde, kalpte, karaciğerde ve gözlerde oluşur. Yüksek bakır değerleri iriste bulunur. İriste bakır genel olarak melaninlerle birleşir ve çoğunlukla proteine bağlıdır. Deniz omurgasızları özellikle yumuşakçalar büyük miktarda bakır toplar.

Mavi renkte, bakır içeren bir karışım olan hemosiyanin, yumuşakçaların ve kabukluların hemolenflerinde bulunur. Bu organizmaların hemolenflerinde bakır, oksijen

taşıyıcı olarak görev alır. Balıklarda bakır eksikliğinin klinik belirtileri henüz saptanmamıştır. Bakır iyonu, bazı enzimler ve pigmentlerin esansiyel bileşeni olan bir koenzimdir. Bu esansiyel hemoglobin sentezi için, iskelet oluşumu ve sinir sisteminde lesitin seviyesini korumak için gereklidir Bu nedenle, hayvan vücudunda temel bakır iyonları her zaman küçük bir miktarda vardır. Bakır kan plazmasında ki albümin ile birleşerek karaciğer ve diğer organlara dağılır. Farklı dokularda bakır içerikleri farklıdır (Harper, 1985).

2.7.1.2. Yetersizlik ve toksisite durumu

Gatlin ve Wilson (1983) , kedi balığında c sitokrom oksidaz ve bakır-çinko süperoksit dismutazı gözlemleniler (Satoh ve ark., 1983b). Bakır, yemlerde ve sucul ortamlarda fazlaca vardır bundan dolayı bakır eksikliği sadece ağır koşullarda yaşayan balıklarda görülür. Düşük bakır değeri, *Vibrio salmonicida*'dan kaynaklanan bir soğuksu bakteri hastalığı olan Hitra hastalığını taşıyan Atlantic somon balığında görülmüştür (Poppe ve ark., 1986). Bakır eksikliği evcil hayvanlarda kolay teşhis edilir. Belirtileri, anemi, kemik deformasyonları, tüyün renksizleşmesi, omurilikte demiyelinizasyon, kalp kaslarında fibröz, gastrointestinal bozukluk ve aortik yırtılmalarıdır. Deney kaynaklı üretilen ya da doğal sularda bulunan kirleticilerden kaynaklanan bakır zehirlenmesi, solungaçlara ciddi zarar verebilir ve karaciğer ve böbreklerde nekrotik değişiklikler yaratabilir. Bu elementin oral zehirlenmesi, 730 mg bakır diyetiyle beslenen gökkuşağı alabalığında görülmüştür (Lanno ve ark., 1985). Zehirlenme belirtileri büyüme de azalma ve karaciğerde yüksek bakırdır. Fakat 665 mg'a kadar bakır içeren diyet herhangi bir zehirlenme belirtisine neden olmamıştır (Knox ve ark., 1982; Lanno ve ark., 1985).

2.7.1.3. Gereksinimi

Balık türlerinin diyetteki bakır gereksinimleri şu şekilde belirtilmiştir: gökkuşağı balığı ve sazan için 3 mg/kg (Ogino ve Yang, 1980), kedibalığı için 5 mg/kg (Gatlin ve Wilson, 1986) ve Atlantik somonu için 5 mg/kg (Lall ve Hines, 1987; Lorentzen ve ark., 1998). Diyetteki bakır ihtiyacı, hayvanın psikolojik durumuna, sudaki bakır konsantrasyonuna bağlıdır (Knox ve ark., 1982).

2.7.1.4. Bakır kaynakları

Bakırın ve çinkonun antagonist etkileri gökkuşağı balığında gözlenmemiştir. Bitkilerin ve hayvanların işlenmiş yemlerinin bileşenleri, bulaşıcılardan kaynaklanan çeşitli bakır içerikleri gösterir. Yoğun protein içeren gıdalar işlemden geçirilince oluşan

nemlenme, protein fraksiyonundan bakır alımı için uygun ortam sağlar. Yüksek bakır konsantrasyonları (>85 mg/kg), kurutulmuş balık çözümleri ve peynir altı suyu ürünlerinde saptanmıştır. Taneli tahılların bakır özü 5 - 20 mg arasında değişiklik gösterir (Knox ve ark., 1982).

2.7.1.5. Esansiyel element olarak bakır

Bakır, redoks potansiyeli olarak mitokondriyal sitokrom c oksidazı tarafından kullanıldığı ve diğer bir çok enzime etken olduğundan tüm oksijenli organizmalar için ana elementtir (Solomon ve ark, 1993). Bakır teleost balığında mikrobeseleyici olarak rol oynar, çevresel ve besinsel koşullarda bakır oranı düşükse balıkta gelişim geriliği olduğu gözlenmiştir (Ogino ve Yang, 1980; Gatlin ve Wilson, 1986; Kamunde ve ark., 2002). Daha güncel bir kanıt olarak zebra balığı model sistemi teleost balığı embriyoları için bakırın gerekliliğini kaçınılmaz bir şekilde göstermiştir. Özellikle bakırın içselleştirilmesinde faydalanılan ve yüksek korumalı bir zar geçirgenliğine sahip bir protein olan yüksek duyarlılığa sahip bakır iletilici 1 (Ctr1), zebra balığında doğuştan vardır ve beyinde ve bağırsaklarda bol miktarda bulunmaktadır. Gelişmekte olan zebra balıklarında Ctr1 zayıflığı erken dönem larva ölümleriyle sonuçlanmıştır. Bu da bakırın önemini ve merkezi sinir sistemi gelişimi için ctr1 yoluyla bakır naklinin önemini göstermektedir (Mackenzie ve ark., 2004). Zebra balığı mutanı olan Calamity, Menkes hastalığı geninde (ATP7A) savunucudur. ATP7A geni, bakırın emilimi ve homeostazı için gerekli olan bir bakır iletilicisi P türü ATPaz ailesinin üyesidir (Lutsenko ve Petris, 2002; Lutsenko ve ark., 2007). Menkes hastalığına sahip insan hastaları bakır eksikliğinden kaynaklanan ve normalde bebeklik döneminde ölüme sebep olan bazı ciddi fonksiyon bozuklukları göstermiştir (Kaler, 1998). Zebra balıkları Menkes hastalarına benzer bir fenotip göstermiştir fakat Calamity embriyolarındaki bakır metabolizması normal gelişimi insan geni olan ATP7A RNA enjeksiyonu ile yenilenebilir (Mendelsohn ve ark., 2006).

2.7.2. Mangan

2.7.2.1. İşlevi ve metabolizması

Deney hayvanlarındaki mangan gerekliliği belirlenmiştir ve bu elementin balık beslenmesindeki önemi bilinmektedir. Mangan, balık ve hayvan dokularında geniş çapta bulunur. En yüksek konsantrasyonu kemiklerde bulunur ama karaciğer, kas, böbrek, deri ve gonadal dokularda da önemli miktarlarda magnezyum vardır. Dokularda mangan, sitoplazma ya da diğer hücre organellerindense, mitokondride daha çok bulunur. Mangan ya büyük oranda enzimleri (metal enzim komplekslerini oluşturan) harekete geçiren

kofaktör olarak ya da karbonhidrattaki belirli metaloenzimlerin, lipidlerin ve protein metabolizmalarının ayrılmaz kısmı olarak iş görür. Mangan kimyası magnezyum ile benzer olduğundan birçok enzim magnezyum ya da mangan iyonları tarafından aktif edilebilir. Mangan tarafından aktifleştirilmiş belirli olmayan enzimler, kinaz, transferaz, hidrolaz ve dekarboksilaz içerir. Belirli enzimler mangan aktivasyonu için özgündür. Metaloenzim içeren mangan; arjinaz, piruvat karboksilaz ve süperoksit dismutaz içerir. Manganın, lipide ve karbonhidrat metabolizmasında ve beyin fonksiyonundaki enzimatik işlevi Keen ve arkadaşları (1984) tarafından kapsamlı olarak ele alınmıştır. Manganın sudan alınımı ispatlanmıştır fakat solungaçlardan ya da gastrointestinal bölgeden mangan alımı net bir şekilde anlaşılamamıştır (Miller ve ark., 1980; Srivastava ve Agrawal, 1983). Mangan biyokimyasal süreçte, bozuk glikoz toleransının iyileştirilmesinde hayati bir rol oynar ve şeker hastalığında indirekt bir rolü vardır (Korc, 1983; Choudhury ve ark., 2007).

2.7.2.2. Yetersizlik durumu

Mangan eksikliği sazanda, tatlısu çipurasında ve gökkuşığı balığında büyümede azalma ve iskelette anormalliğe neden olur (Ishak ve Dollar, 1968; Ogino ve Yang, 1980; Yamamoto ve ark., 1983). Gökkuşığı balığında, az oranda mangan alımı bakır aktivitelerini, kalp kaslarında ve karaciğerde çinko süperoksit dismutasyonunu azaltır. Karaciğer mangan süperoksit dismutasyon aktivitesi, 2.4 mg/kg içeren bir diyetle beslenen kedi balığında etki etmedi (Gatlin ve Wilson, 1984b). Alabalıkta, mangansız balık diyeti zayıf kuluçka performansına neden olmuştur. Balıkların ihtiyacı olan diyetlerdeki mangan oranları; kanal balığı için 2.4 mg/kg, Sazan ve gökkuşığı balığı için 12-13 mg/kg, Atlantik somonu için 7.5 - 10.5 mg/kg dır (Gatlin ve Wilson, 1984b; Ogino ve Yang, 1980; Satoh ve ark., 1987; Maage ve ark., 2000). Genç bir balığın mangan gereksinimleri 2 ile 15 mg/kg olarak değişse bile, anaç somonu ve alabalık bu elemente oldukça fazla (>30 mg/kg diyet) ihtiyaç duyuyor (Lall, 1985).

2.7.2.3. Mangan kaynakları

Ringa balığı ve kapelinde mangan kısmen düşüktür (4-12 mg/kg). Diğer balık ürünlerinde mangan seviyeleri 4-38 mg/kg şeklindedir. Buğday unları, pirinç kepeği, alfaalfa ve damıtılmış kurutulmuş eriyebilir mısır en yüksek mangan oranı olan bitkilerdir. Mısırdaki kısmen mangan düşüktür (4-11 mg/kg), diğer taneli tahıllarda 8-50 mg/kg arası değişir. Mangan oksitte bulunan mangan, Atlantik salmonu ve gökkuşığı alabalığı tarafından etkili biçimde kullanılmıyor. Mangan karbonattaki mangan limiti sazan için düşüktür (Satoh ve ark.,1987).

2.7.3. Çinko

2.7.3.1. İşlevi ve metabolizması

Çinko canlılarda, çinkoya bağlı enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesinde katalizör rolü üstlenir. Yaklaşık 20 çinko metaloenzimi belirlenmiştir. Belirlenen enzimler: karbonik anhidraz, alkalın fosfat, karboksipeptidaz A ve ilgili peptidazlar, alkol dehidrojenleri ve süperoksit dismutazdır. Bu yüzden çinko, karbonhidratın, lipidin ve protein metabolizmasının birçok sürecini düzenler. Enzim fonksiyonunda ki rolüne ek olarak, çinko, nükleoproteinlerde yapısal role sahiptir ve prostaglandinlerin metabolizmasında bulunur. Çinkonun metabolik süreçteki rolü bilinse de, biokimyasal özellik ile patolojik belirtiler arasındaki bağ hakkında çok az şey bilinmektedir. Çinko eksikliğinin bazı klinik belirtileri, nükleik asit ve protein metabolizmalarındaki bozukluklardan kaynaklanabilir. Balık, çinkoyu hem sudan hem beslenme kaynaklarından sağlar (Hogstrand ve Wood, 1996; Alsop ve Wood, 1999). Balıkta, çinko alımı solungaçlar ve gastrointestinal kanaldan gerçekleşir. Ama diyetteki çinko daha etkili kullanılır. Tatlısuda, diyetteki çinko seviyesi yeterli olduğunda bile sudan kaynaklı aktif bir çinko alımı olur. Çinko emilimi, az çinko içeren diyetle beslenmiş gökkuşağı alabalığında nispeten daha yüksektir (Spry ve ark., 1988). Gökkuşağı balığındaki solungaçlar diyet ile alınan çinkonun boşaltımında da önemli bir rol oynar (Hardy ve ark., 1987). Çinkonun emilimi ve düzenlenmesindeki mekanizma hakkında çok az şey bilinmektedir. Kışın dil balığında tüm sindirim bölgesi çinko emebilir ama bağırsağın en üst kısmı en yüksek kapasiteye sahiptir. Mide ise en düşük kapasiteye sahiptir (Shears ve Fletcher, 1983). Su ile taşınan kalsiyum solungaçtan çinko akışına karşı etkili bir yavaşlatıcıdır (Alsop ve Wood, 1999).

Çinko kalsiyumun solungaçlardan akışını yavaşlatır bu yüzden sudaki kalsiyum balığı çinko zehirlenmesine karşı korur. Sazan yüksek miktarda çinkoyu iç organlarında depolayabilirken alabalığın sudaki çinkoya dayanma oranı düşüktür (McKee ve Wolf, 1963).

2.7.3.2. Yetersizlik durumu

Gökkuşağı balığında çinko eksikliği büyümede sıkıntıya, yüksek ölüm oranına lens kataraktına, yüzgeçde ve deride aşınmaya ve vücutta cüceliğe neden olur (Ogino ve Yang, 1978; Satoh ve ark., 1983a). Balık ununda mevcut olan fazla mineral, çinko emilimini ve muhafaza edilmesini etkileyip katarakta neden olabilir (Ketola, 1979). Kuyruk yüzgeci çinko konsantrasyonu, gökkuşağı balığındaki çinko durumu için iyi bir göstergedir (Wekell ve ark., 1986). Kedibalığında, çinko bakımından fakir olan diyetler büyüme de azalma, iştahsızlık, kemikte çinko ve kalsiyum değerlerinin ve serumda çinko konsantrasyonun

azalmasına neden olur (Gatlin ve Wilson, 1983). Çinko içeriği az olan anaç balık diyetlerinde yumurta üretimi ve kuluçka performansı azalmıştır (Takeuchi ve ark., 1981). Artan diyetteki çinko değerleri (500 – 1000 mg çinko/kg) hemoglobin hepatik bakır konsantrasyonlarının düşüşüne yol açmıştır (Knox ve ark., 1982, 1984). Fakat kedi balığı bakır seviyesi 200mg/kg bakır içeren diyetle beslendiğinde zarar görmemiştir (Gatlin ve ark., 1989). Sazan balıklarının diğer balıklara göre dokularında özellikle iç organlarında yüksek miktarda çinko içerdiği gözlenmiştir (Jeng ve Sun, 1981).

2.7.3.3. Gereksinimi

Minimum çinko ihtiyacı, yaşa, cinsel organların gelişimine, diyetin bileşenlerine, suyun sıcaklığı ve kalitesine göre çeşitlilik gösterir. Diyetteki kalsiyum ve fosfor seviyeleri, protein kaynağı, fitik asit, çinkonun türü ve kalsiyum içeriği çinko emilimini ve atılımını etkiler (Takeda ve Shimma, 1977; Gatlin ve Wilson, 1984a; Hardy ve Shearer, 1985; Richardson ve ark., 1985; Wekell ve ark., 1986; Satoh ve ark., 1987, 1989; McClain ve Gatlin, 1988).

2.7.3.4. Çinko kaynakları

En yüksek çinko oranı besinini süzerek alan çift kabuklu deniz sürüngenlerinde (>1200 mg Zn/kg) ve ıstıdyelerde görülmüştür. Balık yemleri arasında tahıl taneliler 15-30 mg çinko/kg miktarında çinko içerir. Çinkonun çoğunun tahılın kepeğinde ve tohumunda olduğu görülmüştür. Yumurta albumini, düşük çinko içerdiğinden dolayı diyetlerde kullanılır (Eisler, 1980). Çinko sülfat ve çinko nitrat gökkuşağı alabalığı tarafından ilave besin olarak etkili bir şekilde kullanılır. Aynı zamanda cüceliği ve katarakt problemlerini de azaltıcı yönde etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Satoh ve ark., 1987). Diyetteki kalsiyum fitat ve fosfor tarafından azalan çinko oranını telafi etmek amacıyla hazır yemlere yüksek oranda çinko takviyesi yapılmalıdır (Satoh ve ark., 1987).

2.7.3.5. Esansiyel element olarak çinko

Çinko ana elementtir ve çinkonun gerekliliği kaçınılmaz bir şekilde kanıtlanmıştır (Mulkidjanian, 2009; Mulkidjanian ve Galperin, 2009). Öncelikle yeryüzü yatağının oluşumuyla ilgili ilk görüşlerde olduğu gibi prebiyotik yeryüzü atmosferinin azalan metan, amonyak, hidrojen ve su buharı karışımı ile değil, karbondioksit ile dolduğu görülmüştür. Yeni hipotezde ise tartışılan konu karbondioksit yoğunluğu altında atmosferin yüksek basıncı ile çinko güneş ışığında ilk katmanlara kadar çökebilir. Çinko ve çinko oksitler ultraviyole ışınlarını emme konusunda yüksek kapasiteye sahiptir. Bu yüzden de güneş

panelleri ve güneş kremleri gibi birçok modern çağ araçlarında kullanılır. Bu yeni hipotezde, ilkel yeryüzünde çelik yüzeyler tarafından absorblanan güneş enerjisinin ilk biyopolimerler için bloklar oluşturmayı sağlayarak karbondioksiti azalttığı savunulur. Çinko böylece basit bloklardan daha uzun biyopolimerler oluşturmayı ve ilk polimerlerin ışıkla ayrışmalarını engelleyen sentez için katalizör olabilir. Ayrıca bazı araştırmacılar ultraviyole ışınlarının RNA benzeri ışığın etkilemediği polimerleri de zenginleştirdiğini öne sürmektedirler. Bu tezlerini, evrimsel en eski proteinlerin çinko olduğunu kanıtlayarak desteklemektedirler (Mulkiğjanian ve Galperin, 2009). Çinkonun gerekliliği ile ilgili ilk kaydedilmiş bilimsel kanıt 1869da Fransız botanikçi ve kimyager Jules Raulin *Aspergillus Niger* küfünün çinkonun yokluğunda yetişmediğini gösterdiği zaman ortaya konmuştur (Vallee, 1986). Bu bulguyu çinkonun tanımlanan her bitki ve dokuda bulunduğunun keşfi izlemiştir. İlk çinko enzimi bundan 71 yıl sonra Keilin ve Mann karbonik anhidrazı yalıtıldığında ortaya çıkmıştır. En iyi tahminle her insanda yüzde 10u saf genleri temsil eden yaklaşık 3000 çinko proteini bulunmaktadır (Andreini ve ark., 2005; Passerini ve ark., 2007). Benzer şekilde ardışık balık genlerinin yüzde 10 u çinko proteini içermektedir. Bu proteinlerin büyük çoğunluğu çinkoyu protein yapısı oluşturmada bir bağ olarak ya da birlikte farklı gen ürünleri oluşturmada kullanılmaktadır (Andreini ve ark., 2005; Passerini ve ark., 2007; Maret ve Li, 2009). Çinkonun proteinlerde yapısal ve katalitik etkilerinin yanısıra, genomik ve genomik olmayan hücre uyarımı yapmasında rol oynayan bir uyarıcı madde olması, nöromodilatör ve hatta aktarıcı madde olmasıyla da önemlidir (Laity ve Andrews, 2007; Hirano ve ark., 2008; Besser ve ark., 2009 ; Hoffmann, 2009; Sensi ve ark., 2009 ; Hershinkel ve ark., 2010). Çinkonun gerekliliği ile ilgili bu keşif İran'da testis körelmesi, kuru ve sert deri, büyüme geriliği, zihinsel gerilik gibi ergenlik öncesi erkek çocuklarının belirtilerini taşıyan yetişkin erkeklerle karşılaşan Ananda Prasad'a atfedilmiştir. Bu durum daha sonra çinko emilimini olanaksız kılan bir alışkanlık olan jeofajiye (toprak yeme alışkanlığına) bağlamıştır. 1974'Te ABD Milli Bilim Akademisi'nin Araştırma Komitesi'ne bağlı Gıda ve Beslenme Kurulu tarafından önerilmiş bir harcırağ kurulmuştur. Buna benzer olarak Ziraat Kurulu balıklar için bazı besinsel çinko standartları getirmiştir. Bu standart yayın balığı için 20 mg kg⁻¹ iken gökkuşağı alabalığı, pullu sazan ve tatlısu çipurası için 30 mg kg⁻¹ dir. Öte yandan çinkonun önceden bilinen faydaları ve biyoelverişlilik ile toplu değişimlilik konuları göz önüne alındığında Avrupa Birliğinde yemlerin maksimum 200 mg kg⁻¹ çinko içermesine izin verilmektedir (EC, 2003). Balıkta çinko eksikliği anoreksiya, kemik erimesi, gelişim bozukluğu, katarakt, ölümlere ve sarsıcı sonuçlara yol açmaktadır (Gatlin ve Wilson, 1983; Eid ve Ghonim, 1994).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneme yeri

Deneme, Fethiye'ye 45 km mesafede olan Çobanlar Alabalık tesisinde yürütülmüştür. Şekil (3.1)



Şekil 3.1. Deneme yerinin görünüşü (Google earth/2014)



Şekil 3.2. Fethiye Çobanlar Söğütlüdere Tesisi

Denemede 21 adet 960 litre polyester (3 X 0.8 X 0.4 m) tanklar kullanılmıştır (Şekil 3.3 ve 3.4). Deneme sürekli akan sistemde sürdürülmüş olup günlük olarak suyun 6-8 defa değişimi gerçekleştirilmiştir. Deneme grupları, günlük vücut ağırlığının yaklaşık %2'si oranında ticari pelet yemle beslenmiştir.



Şekil 3.3 Denemede kullanılan tanklar



Şekil 3.4. Deneme balıkları

3.1.2. Balık materyali

Deneme balıkları Çobanlar Alabalık çiftliğinden temin edilmiştir. Denemede ortalama 10.79 ± 0.57 g (ağırlık \pm SE) olan 420 adet yavru gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır Şekil (9).



Şekil 3.5. Denemede kullanılan Gökkuşığı Alabalığı (Orijinal)

3.1.3. Denemede kullanılan esansiyel yağ bileşenleri

Denemede kullanılan timol ve karvakrol esansiyel yağları Sigma firmasından temin edilmiştir.



Şekil 3.6. Karvakrol



Şekil 3.7. Timol

3.1.4. Deneme yemi

Denemede amlı Bioaqua firmasından temin edilen 2 mm yavru alabalık yemi kullanılmıştır. Yemin besin madde içeriği izelge 8’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan yem hammadde miktarları ve deneme yemlerinin besin madde içeriği (kuru maddede, %)

Yemin Kimyasal Analizi 2 mm (BioAqua)	
Ham Protein (%)	49
Ham Yağ(%)	19
Ham Selüloz(%)	3
Ham Kül (%)	13
Enerji(kcal/kg)	4329
Amino asitler(%)	
Lizin	4.7
Methionin+Sistin	2.4
Vitamin (per kg feed)	
A (IU)	2500
D3 (IU)	3050
E (mg)	240
K (mg)	10
C (mg)	250
Makro elementler (%)	
Kalsiyum	1-2
Toplam Fosfor	1.5
Sodyum	0.2/1
İz elementleri (µg/g)	
Cu	12.00±0.58
Mn	54.63±1.07
Zn	160.77±4.24

Ticari yavru alabalık yemi üzerine karvakrol ve timol püskürtme yöntemi ile 1,3,5 g/kg oranlarında eklenmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin yürütülmesi

Deneme Fethiye de Çobanlar Alabalık tesisinde gerçekleştirilmiştir. Her deneme grubu 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. 60 gün süren denemede balıklar vücut ağırlıklarının % 2'si oranında günde iki kez elle yemlenmişlerdir. Analizler Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Besleme ve Yem Analiz Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2.2. Suyun fiziksel ve kimyasal analizleri

Su analizleri Aydın Devlet Su İşleri 21. Bölge Müdürlüğü Laboratuvarında yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan suyun fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Parametreler	Denemede Kullanılan Su
pH	8.040
Çözünmüş Oksijen	7.5 mg/L
Sıcaklık	7 °C
Amonyum	0.001 mg/L
Toplam Alkalinite	115 mg/L
EC ₂₅	1408 µmhos/cm
Nitrat	3.282 mg/L
Sülfat	5.38 ppm

3.2.3. Büyüme performansı, yemden yararlanmanın hesaplanması

Deneme gruplarında büyüme performansı ve yemden yararlanma değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

Canlı Ağırlık Artışı (g)

CAA = Son Ağırlık (g) - Başlangıç ağırlığı (g)

YDO = Yem Tüketimi (g)/Ağırlık artışı (g)

Yem Dönüşüm Oranı

Spesifik Büyüme Oranı (%)

SBO = [(Ln Son ortalama ağırlık (g) - Ln Başlangıçtaki ortalama Ağırlık (g)) x 100]/

Deneme gün sayısı

3.2.4. Biyometrik analizler

Deneme sonunda, balık içorgan indekslerinin incelenmesinde aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

Visserosomatik İndeks (%)

VSİ = (İç organ ağırlığı (g) / Balık ağırlığı (g)) x 100

Hepatosomatik İndeks (%)

HSİ = (Karaciğer ağırlığı (g) / Balık ağırlığı (g)) x 100

Spleensomatik İndeks (%)

SSİ = (Dalak ağırlığı (g) / Balık ağırlığı (g)) x 100

İç Organ Yağı İndeksi (%)

İOYİ = (İç organ yağının ağırlığı (g) / Boş balık ağırlığı (g)) x 100

3.2.5. Balık yemi ve etinde kimyasal besin madde analizleri

Besin madde analizleri (nem, protein, yağ ve kül) için balıklar homojen edildikten sonra analizleri yapılmıştır. Analizlerde kullanılacak yöntemler aşağıda yer almaktadır. Nem, protein ve kül AOAC (2000) ve yağ analizi ise Folch ve ark., (1957) metoduna göre yapılmıştır.

3.2.5.1. Nem analizi

Nem analizi için öncelikle petri kutuları daraları alınır. Daha sonra homojenize edilmiş örnekten darası alınan petrilere 5 g tartılarak sabit bir ağırlığa ulaşana kadar (16-18 saat) 105°C deki etüvde kurutulmuştur. Bu işlemin ardından oda sıcaklığına kadar soğumaları için desikatöre yerleştirilmiş ve 0,1 mg duyarlı hassas terazide tartılarak sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

Nem (%) = (Kuru örnek+dara – İlk örnek ağırlığı) x 100 / İlk örnek ağırlığı (g)

3.2.5.2. Protein analizi

Protein tayini Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır (AOAC 1998). Bu yöntemde göre; Kjeldahl tüpleri içerisine homojenize edilmiş örnekten 0.5 g tartılmış ve 15 ml %96'lık H₂SO₄ ve 1 adet kjeldahl tableti ilave edilmiştir. Bir tane kör tüp hazırlanarak içerisine sadece kjeldahl tableti ve 15ml H₂SO₄ ilave edilmiştir. Tüpler yaş yakma bloğuna yerleştirilmiş ve içerisindeki örnek yeşil sarı saydam bir renk oluşturuncaya kadar 90 C'de yaklaşık 2 saat yakma işlemi uygulanmıştır. Yakma işleminin ardından bu tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış ve soğumadayken çeker ocak açık tutulmuştur, tüpler soğuduktan sonra tüplere 20 ml saf su eklenir. Yakma işlemi sonrasında protein tüpleri ve içerisinde 25 ml borik asit bulunan balonlar distile cihazında NaOH ile distile edilir. Elde edilen destilat 0.1N'lik HCl ile titre edilerek sarfiyat belirlenmiş ve protein oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000).

% Ham Protein = (Titrasyonda harcanan – Kör örnek) x 0.1 x 14.007 x 6.25 / Örnek ağırlığı x 100

Çözelti Hazırlama

Borik asit hazırlanması: 40 gr borik asit tartılır ve erlenmayere konular üzerine 800 ml saf su eklenir ve manyetik balık atılıp ısıtılarak manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Soğuduktan sonra üzerine 10 ml bromgreen ile 7 ml metilred ilave edilip karıştırılmıştır.

Bromgreen hazırlanması: 0.1 gr bromgreen %96 lık alkol ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Metilred Hazırlanması: 0.1 gr metil kırmızısı %96'lık alkolle 100 ml'ye tamamlanmıştır.

0,1 N HCl hazırlanması: 500 ml saf su üzerine 8.3 ml HCl eklenir. Üzeri 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

NaOH Hazırlanması: Az miktarda saf su balona konmuştur ve üzerine 400 gr NaOH'a eklenerek karıştırılmıştır. saf suyun hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.5.3. Yağ analizi

Yağ analizi için 1 gram balık örneği tartılmıştır. Alınan örnek deney tüplerine konularak üzerine metanol-kloroform karışımı eklenip bekletilmiştir. Bekletilen örnekler süzme işleminden geçirildikten sonra ilk tartımı yapılan balonlara alınarak evaporatörde yağ ekstraksiyonu yapılmıştır. Balonlar 70 °C sıcaklıkta 1 saat etüv de bekletilir. Etüvden çıktıktan sonra nem tutmaması için desikatöre alınmıştır. Desikatöre alınan balonlar sabit tartıma geldikten sonra hassas terazide tartılmıştır. Sonra aşağıdaki formül kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır. (Folch ve ark, 1957 ; Yilmaz, 2013).

% Ham Yağ Miktarı = Balon jojenin ağırlık değişimi (g) / Örnek ağırlığı (g) x 100

3.2.5.4. Kül analizi

Kül tayini için; analiz öncesinde yakma için kullanılan porselen krozeler 550°C'de 1 saat süre bekletilmiş ve desikatörde soğutulmuş ve 0,1 mg hassasiyetli terazide daraları alınmıştır. Darası alınan krozelere 0.5 gram örnek konulmuştur. Hazırlanan krozeler kül fırınına (Elektro. mag M 1811) yerleştirilerek 550°C'de sigara külü rengine dönüşüncüye kadar yaklaşık 4-5 saat tutulmuştur. Yakma işlemi sonrasında krozeler kül fırınından alınarak soğutulmuş ve desikatöre yerleştirilmiş ve daha sonra hassas terazide tartımları yapılmış ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplamaları yapılmıştır (AOAC, 2000).

% Ham Kül İçeriği = Porselen krozenin ağırlık değişimi (g) / Örnek ağırlığı (g) x 100

3.2.6. Balıklardan kan örneklerinin alınması ve analizleri

Her deneme periyodunda her tanktan alınan 3 adet balık, kan analizleri için kullanılmıştır. Balıklar, doğal bir ürün olan ve yaygın olarak kullanılan karanfil yağı ile bayılmıştır. Kana mukoza karışmaması için alkolle anüs yüzgecinin hemen arka kısmı iyice temizlendikten sonra en kısa süre içerisinde, 5 ml'lik plastik enjektörle kaudal venadan girilerek balığa zarar vermeden, kan alınmıştır (Val ve ark, 1998) Alınan kan örnekleri K₃EDTA ve jelli serum tüplerine konularak hematolojik, immunolojik ve biyokimyasal analizleri yapılmıştır.

3.2.7. Hematolojik analizler

3.2.7.1.Eritrosit sayımı

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

3.2.7.2. Hematokrit seviyesinin tespit edilmesi

Enjektöre alınan kan örnekleri kısa sürede % hematokrit okunması için mikrohematokrit kapiller (75 mm x 4,1 mm superior, Germany) tüplerine konularak, 10500 g devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Sonrasında skala kullanılarak % hematokrit değeri ölçülmüştür (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.2.7.3.Hemoglobin miktarının tayini

Hemoglobin miktarının tayini için cyanomethemoglobin metodundan yararlanılmıştır. 20 µl kan örneği 4 ml Drapkin solüsyonu içerisine konulup 10 dakikalık inkübe edildikten sonra 540 nm'de spektrofotometre kullanılarak absorbansı ölçülerek

bulunan değer test kitindeki cetvelde yerine konmuş ve hemogloblin değeri bulunmuştur ve sonuçlar g/dl olarak değerlendirilmiştir (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.2.7.4. Eritrosit indeksleri

3.2.7.4.1. Ortalama eritrosit hacmi (MCV)

Ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı Kan Hücre Sayısı

$$\text{MCV (fl)} = \text{Hct} \times 10 / \text{RBC} (10^6 \mu\text{L}^{-1})$$

3.2.7.4.2. Eritrosit başına düşen ortalama hemogloblin (MCH)

Eritrosit başına düşen ortalama hemogloblin aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Hb: Hemogloblin

$$\text{MCH (pg)} = [\text{Hb (g dL}^{-1}) \times 10] / \text{RBC (} 10^6 / \text{mm}^{-1})$$

3.2.7.4.3. Eritrosit başına düşen ortalama hemogloblin konsantrasyonu (MCHC)

Eritrosit başına düşen ortalama hemogloblin konsantrasyonu aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis ve ark., 2006).

$$\text{MCHC (g-1)} = [\text{Hb (g dL}^{-1}) \times 10] / \text{Hct}$$

3.2.8. İmmunolojik analizler

3.2.8.1. Lizozim aktivitesi

Plazma lizozimi, turbidimetrik testi ile analiz edilmiştir. 100 µl serum örneği üzerine aynı oranda PBS ilave edilip ve *Micrococcus lysodeikticus* eklenmiş 0,5. ve 4,5 dakikalarda 530 nm' de spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Analiz sonuçları U/ml olarak hesaplanmıştır (Ellis, 1990).

3.2.8.2. Myeloperoksidaz aktivitesi

Myeloperoksidaz aktivitesi analizi için 10 µl serum örneği 90 µl HBSS solüsyonu ile seyreltilmiştir. Bu karışıma 3.3',5.5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride (TMB, Sigma-Aldrich, Munich, Germany) ve hidrojen peroksit (H₂O₂, Sigma-Aldrich) içeren solüsyon ilave edilerek reaksiyon 2 dakika sonra 35 µl sülfirik asitle durdurulup 450 nm'de spektrofotometrede okumalar yapılmıştır (Qudame MJ.,1997;Kumari J.,2006; Yılmaz, 2013).

3.2.9. Biyokimyasal analizler

Biyokimyasal analizler için alınan kan 4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilip (Bricknell ve ark., 1999) kan serumu ayrıldıktan sonra analizleri kit (Bioanalitik) kullanılarak kimya analizöründe yapılmıştır. Denemede glikoz (GLİ), albumin (ALB), globulin (GLO), toplam protein (TPROT), trigliserit (TRİ) ve kolesterol (KOL) biyokimyasal parametreleri belirlenmiştir.

3.2.10. Karaciğer, et ve pilorik kesede mineral analizleri

Denemede metal analizi için balık doku ve organları (karaciğer, et ve pilorik kese) 2 gün boyunca 100 °C'de etüvde kurutulmaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda balıkların kuru ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine 5 ml nitrik asit ilave edilerek 2 saat boyunca 70 °C'de hot-plate üzerinde çeker ocak altında yakma yapılmıştır. Örneklerin tamamı homojen olarak yakıldıktan ve soğutulduktan sonra saf su ile 25 ml'ye tamamlanmıştır (Logan., 2010). Okumalar, AA6300 (Shimadzu) cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.2.11. İstatistik analizler

Bu çalışmada deneme gruplarından elde edilen büyüme, yemden yararlanma ve kan parametre verileri arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi amacıyla Varyans analizleri, Duncan çoklu karşılaştırma testleri veya Student t testi ile gruplar arası farklar SPSS 17 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır (Logan, 2010).

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

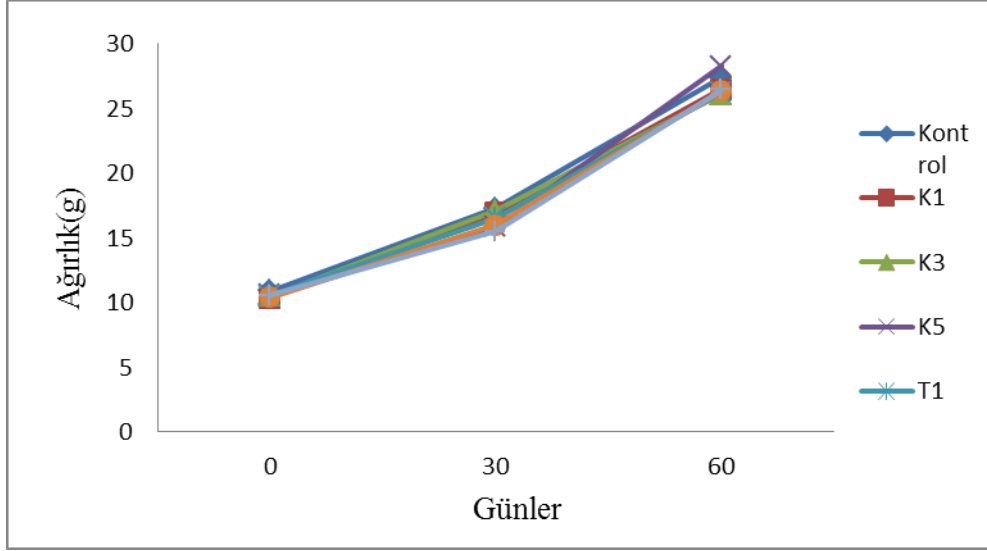
4.1. Büyüme Performansı, Yem Tüketim Sonuçları

Deneme sonunda balıkların ortalama başlangıç ağırlıkları (OBA) , ortalama son ağırlıkları (OSA), ağırlık artışları (AA), yem tüketimi (YT), yem dönüşüm oranı (YDO), spesifik büyüme oranı (SBO) ve ölüm oranı sonuçları çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.1. Denemede elde edilen büyüme performansı ve yem tüketim sonuçları

	KN	K1	K3	K5	T1	T3	T5
OBA(g)	11.32±0.27 ^a	11.07±0.54 ^a	10.67±0.16 ^a	10.75±0.29 ^a	11.26±0.18 ^a	10.38±0.30 ^a	11.87±0.34 ^a
OSA(g)	27.40±0.57 ^{ab}	26.49±0.21 ^{ab}	26.71±0.67 ^{ab}	28.27±0.35 ^a	26.24±0.32 ^b	26.32±0.63 ^b	26.82±0.89 ^{ab}
CAA(g)	16.09±0.78 ^{ab}	15.41±0.64 ^{ab}	16.04±0.63 ^{ab}	17.52±0.49 ^a	14.99±0.23 ^b	15.94±0.79 ^{ab}	14.95±1.19 ^b
YDO(%)	0.97±0.05 ^b	1.01±0.13 ^b	1.06±0.05 ^b	0.95±0.05 ^b	1.02±0.08 ^b	1.02±0.10 ^b	1.37±0.11 ^a
SBO(%)	1.47±0.07 ^{ab}	1.45±0.09 ^{ab}	1.53±0.04 ^{ab}	1.61±0.05 ^a	1.41±0.02 ^{ab}	1.55±0.07 ^{ab}	1.36±0.10 ^b
Ölüm Oranı (%)	10	10.83	10.83	10	10.83	12.5	15

n= 6 ortalama±s. hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). K: Karvakrol, T: Timol



Şekil 4.1. Deneme süresince gruptaki balıkların ortalama ağırlıkları

Deneme sonunda T5 grubunun YDO miktarının diğer gruptan yüksektir ve istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). En iyi SBO değeri K5 grubunda hesaplanmış ve T5 grubundan istatistiksel olarak farklı ($p < 0.05$), diğer gruplarla benzer bulunmuştur. Alabalık yavrularının ($8.4 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$) yemine 0.1, 0.2, 0.3 g/kg oranlarında karvakrol + timol karışımı ekleyen Ahmadifar ve ark. (2011), YDO oranının düştüğü ve SBO oranının yükseldiğini bildirmektedirler. Bir başka çalışmada (Giannenas ve ark., 2012) daha büyük alabalıkların ($113.0 \pm 10.4 \text{ g}$) yemine 12 g/kg karvakrol ve 6 g/kg timol ilave edilmesi ile YDO değerinin olumlu etkilendiği ve azaldığı gözlenmiştir. Yayın balığı yemine 0.05 g/100 g timol eklendiğinde YDO miktarında değişme gözlenmezken, 0.05 g/100 g karvakrol eklendiğinde YDO miktarı azalmış, 0.0485 karvakrol + 0.0015 timol karışımı eklendiğinde ise YDO oranında değişim görülmediği tespit edilmiştir (Zheng ve ark., 2009). Yayın balığında elde edilen sonuçlara benzer şekilde, bu çalışmada alabalık yavrularında farklı oranlarda karvakrol eklenmesi büyüme ve yem değerlendirme oranı üzerine kontrol grubuna önemli bir değişiklik yapmazken, yüksek oranda timol eklenmesi büyüme ve yem değerlendirmeyi olumsuz etkilemiştir. Gökkuşluğu alabalığında timol ve karvakrol gibi yem katkılarının düşük oranda yeme eklendiğinde büyüme performansında olumlu etki yarattığı bildirilmiştir (Giannenas ve ark., 2012).

Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar alınmasında denemede kullanılan balık türü ve büyüklüğü, deneme süresi, balıkların beslenme özellikleri (etçil ve otçul) ve esansiyel yağların yemdeki oranlarının farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Çizelge 4.2. Tıbbi bitkilerin balıkların büyüme performansı üzerine etkileri

Kullanılan Katkı	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı (g)	Etki	Kaynak
Maça (<i>Lepidium meyenii</i>)	5, 10, 15 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.096	YDO(↓), SBO(↑)	Lee ve ark.,2004
Sarımsak	0.05, 0.1, 0.5, 1 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	14	YDO(↓), SBO(↑)	Nya ve Austin, 2009a
	Timol (0.05g/100g)			Timol	
<i>Origanum heracleoticum L.</i> (Karvakrol ve Timol)	Karvakrol (0.05g/100g) Karışım (0.0485g/100g Karvakrol+0.0015 g/100g Timol)	<i>Ictalurus punctatus</i>	50	YDO (↔) Karvakrol YDO(↓) Karışım YDO (↔)	Zheng ve ark., 2009
Sarımsak	10,20,30 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	20.88	YDO(↓), SBO(↑)	Farahi ve ark., 2010
Karvakrol + Timol	0.1, 0.2, 0.3 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	8.4g	YDO(↓), SBO(↑)	Ahmadifar ve ark., 2011
Defne yaprağı	3, 5, 7 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	140.93	YDO(↓), SBO(↑)	Çağıltay ve ark.,2011
Ekinezya	0.25, 0.5, 1, 2 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	8	YDO(↓), SBO(↑)	Oskoi ve ark.,2011

Çizelge 4.2' nin devamı. Tıbbi bitkilerin balıkların büyüme performansı üzerine etkileri

Kullanılan Katkı	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı (g)	Etki	Kaynak
Su teresi	0.1, 1 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96	YDO (↔), SBO (↔)	Asadi ve ark., 2012
Oğul otu ve defne yaprağı	Oğul otu (2 g /100g) Defne yaprağı (1 g/100 g)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	20.87	(Oğul otu), YDO (↑), SBO(↓) (Defne yaprağı) YDO (↓)SBO (↑)	Farahi ve ark., 2012
Karvakrol, Timol	Karvakrol (12 g/kg) Timol (6 g/kg)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	113.0	YDO (↓)	Giannenas ve ark., 2012
Sarımsak, Zencefil, Kekik, Ekinezya	Sarımsak+Zencefil (2 g/100 g) Kekik + Ekinezya (1 g/100 g)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	91.90	YDO(↓), SBO(↑)	Gabor ve ark.,2012
Tetra (<i>Cotinus coggygria</i>) ve Defne (<i>Laurus nobilis</i>)	%1 ve %1.5 tetra ve %1 ve %1.5 defne	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	66.13	YDO (↔), SBO (↔)	Bilen ve ark.,2011
Timol ve karvakrol	1,3,5 g/kg karvakrol 1, 3 g/kg timol 5 g/kg timol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10.79	YDO(↔),SBO(↔) YDO(↔),SBO(↔) SBO(↓),YDO(↑)	Bu çalışmada

YDO: Yem Dönüşüm Oranı, SBO: Spesifik Büyüme Oranı, Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

4.2. Balık etinin besin kompozisyon sonuçları

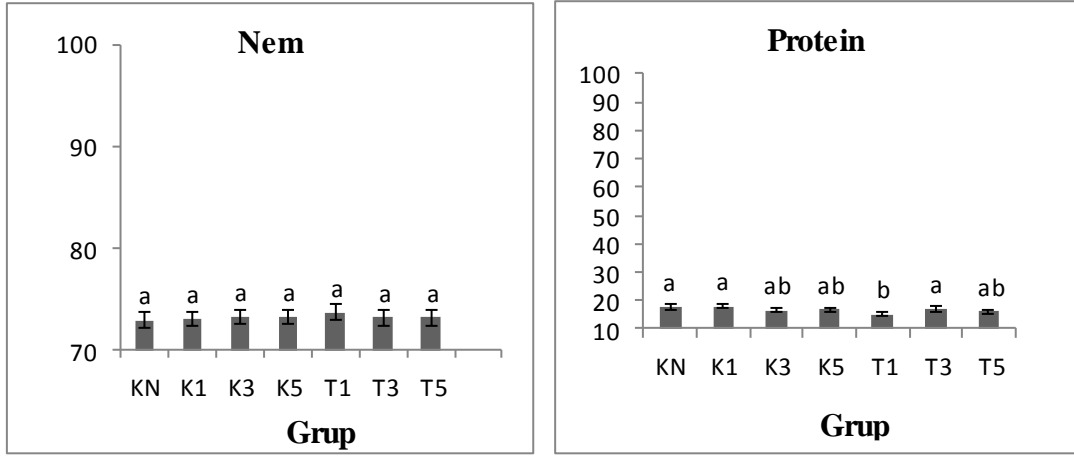
Deneme sonunda timol (T1,T3,T5) ve karvakrol (K1,K3,K5) içeren yemlerle beslenen gruptaki balıkların etinde yapılan kimyasal besin kompozisyonu bulguları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Deneme sonunda balık eti kompozisyonu bulguları

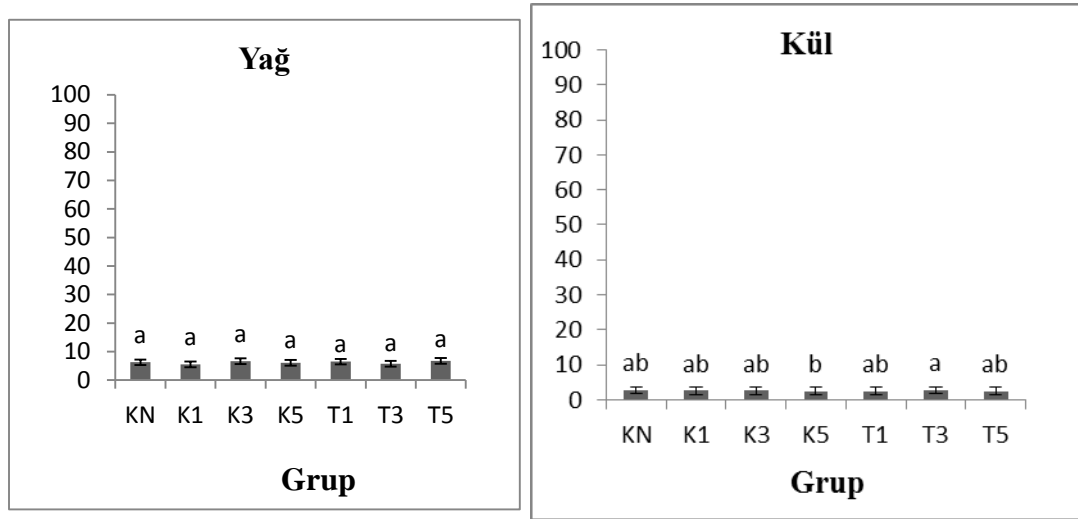
	Nem(%)	Protein(%)	Yağ(%)	Kül(%)
KN	72.94±1.30 ^a	17.81±0.58 ^a	6.28±0.80 ^a	2.72±0.10 ^{ab}
T1	73.70±0.60 ^a	15.19±0.45 ^b	6.48±0.57 ^a	2.55±0.03 ^{ab}
T3	73.16±0.74 ^a	17.56±0.67 ^a	5.77±0.15 ^a	2.80±0.15 ^a
T5	73.19±0.16 ^a	16.08±0.63 ^{ab}	6.71±0.22 ^a	2.55±0.04 ^{ab}
K1	73.10±0.03 ^a	18.02±0.47 ^a	5.56±0.29 ^a	2.58±0.08 ^{ab}
K3	73.22±0.41 ^a	16.51±0.58 ^{ab}	6.66±0.61 ^a	2.60±0.02 ^{ab}
K5	73.22±0.15 ^a	16.78±0.62 ^{ab}	6.07±0.18 ^a	2.51±0.04 ^b

n= 6 Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). T: Timol, K: Karvakrol.

Yukarıdaki çizelgede (Çizelge 4.3) ve Şekil 4.2’de görülebileceği gibi, gruplar arasında balık etinde nem ve yağ oranlarında istatistiksel fark görülmemiştir (p>0,05). Ancak, balık etinde protein ve kül oranları incelendiğinde istatistiki olarak farklılıklar görülmüş, en yüksek protein oranı K1 grubunda (%18,02), en düşük T1 grubunda (%15,19) ve kül miktarı da en yüksek T3 grubunda (%2,80) ve en düşük K5 grubunda (%2,51) bulunmuştur (p<0,05).



Şekil 4.2. Deneme sonunda gruplardaki balıkların balık eti nem, protein dağılımı



Şekil 4.3. Deneme sonunda gruplardaki balıkların balık eti yağ, kül dağılımı

Balıklarda yapılan çalışmalarda yeme eklenen bitkisel kaynağın türüne ve balık türüne bağlı olarak balık etibesin değerlerinde farklı sonuçlar alındığı görülmektedir (Çizelge 4.4). Zheng ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada, yayın balıklarına karvakrol veya timolü tek başına verdiklerinde protein, yağ, kül ve nem miktarı etkilenmezken, birlikte verildiğinde protein miktarını arttırdığını, yağı değiştirmediği ve nemi azalttığını belirtmişlerdir. Ahmadifar ve ark. (2011), alabalıklara karvakrol ve timol karışımı verdiklerinde protein, yağ ve külde artış tespit etmişlerdir. Lee ve ark., (2004), yaptıkları çalışmada alabalıklara maça bitkisinden verdiklerinde nem ve kül miktarının kontrol grubuna göre azaldığını, protein ve yağ miktarının değişmediğini tespit etmişlerdir. Defne yaprağı tek başına alabalıklara verildiğinde protein, kül, nem sabit kalırken, yağ miktarında

artış görülmüştür, defne yaprağı oğul otu ile beraber verildiğinde ise protein, yağ, nem ve kül miktarı sabit bulunmuştur (Çağiltay ve ark., 2011; Fahari ve ark., 2011). Yapılan bu çalışmalar doğrultusunda yeme eklenen bitkisel katkıların çeşitli balık türlerinin balık eti besin kompozisyonlarında farklı etkiler gösterebileceği, yeme eklenen katkı türü aynı olsa bile farklı balıklarda benzer etkiyi göstermeyebileceği söylenebilir.

Çizelge 4.4. Tıbbi bitkilerin balıkların besin kompozisyonu üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynak
Maca (<i>Lepidium meyenii</i>)	5,10,15 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	(0.096 ± 0,002 g)	Nem(↓), kül(↓), protein(↔),yağ(↔)	Lee ve ark., 2004
<i>Origanum heracleoticum L.</i> (karvakrol ve timol)	Timol (0.05g/100g) Karvakrol (0.05g/100g) Karışım (0.0485g/100g Karvakrol+0.0015 g/100g Timol)	<i>Ictalurus punctatus</i>	50 g	Timol ve Karvakrol Protein(↔), yağ(↔), kül(↔), nem(↔), Karışım Protein(↑), nem (↓), yağ (↔)	Zheng ve ark., 2009
Karvakrol + Timol	0.1,0.2, 0.3 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	8.4g±0,1 g	Protein(↑), yağ(↑), kül (↑) (whole body)	Ahmadifar ve ark., 2011
Defne yaprağı	3, 5, 7 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	140.93±12.17	Protein(↔), kül(↔), nem(↔), yağ (↑)	Çağiltay ve ark.,2011
Oğul otu ve defne yaprağı	Oğul otu (2 g /100g) Defne yaprağı (1 g/100 g)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	20.87±0,25 g	Protein(↔), yağ(↔), nem (↔), kül(↔)	Fahari ve ark., 2011
Karvakrol Timol	1,3,5 g/kg karvakrol 1, g/kg timo 3, 5 g/kg timol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10.79	Protein(↓), yağ(↔), nem (↔), kül(↔) Protein(↓), yağ(↔), nem (↔), kül(↔) Protein(↑), yağ(↔), nem (↔), kül(↔)	Bu çalışmada

4.3. Biyometrik Ölçümler

Çizelge 4.5. Farklı oranlarda timol ve karvakrol ile beslenen alabalıkların 60. gün iç organ indeksleri

	VSİ	HSİ	DSİ	MFİ
KN	14.31±0.91 ^a	1.32±0.12 ^a	0.14±0.03 ^a	2.74±0.27 ^{ab}
T1	15.57±0.92 ^a	1.33±0.13 ^a	0.13±0.01 ^a	3.02±0.40 ^{ab}
T3	16.32±0.73 ^a	1.48±0.05 ^a	0.09±0.03 ^a	3.67±0.66 ^{ab}
T5	14.50±0.98 ^a	1.08±0.08 ^a	0.16±0.02 ^a	3.88±0.76 ^{ab}
K1	15.22±0.79 ^a	1.27±0.25 ^a	0.16±0.03 ^a	2.41±0.14 ^b
K3	13.93±1.28 ^a	1.26±0.04 ^a	0.10±0.02 ^a	2.39±0.22 ^b
K5	15.87±1.47 ^a	1.26±0.17 ^a	0.13±0.03 ^a	4.07±0.44 ^a

VSİ: Visserosomatik İndeks, HSİ: Hepatosomatik İndeks, DSİ: Dalak Somatik İndeks, MFİ: Mezenterik İndeks, T: Timol, K: Karvakrol.

n= 9 Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05)

4.3.1. İç organ yağ indeksi (Mezenterik indeks) bulguları

Deneme sonunda K5 grubunun iç organ yağ indeksinde önemli bir artış görülmüş, K1 ve K3 gruplarına göre istatistiki olarak önemli (p<0.05), kontrol grubuna göre de artış görülmekle birlikte istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada (Lee ve ark., 2003) tavuklarda kekik ekstraktının ve karvakrolün abdominal yağ miktarını önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir. Tucker (2002) bitki ekstratlarının sindirim sistemindeki antimikrobiyal ve flora düzenleyici etkilerinin yanı sıra sarı bağışıklık sistemini güçlendirici ve hastalıklara karşı direnci artırıcı etkilerinin de bulunduğunu; özellikle entansif koşullarda yüksek stres altında yetiştirilen hayvanlarda bu olumlu etkilerin daha belirgin biçimde ortaya çıktığını belirtmiştir. Bunun yanı sıra bazı bitki ekstratlarının hepatik fonksiyonlarının da bulunduğunu, özellikle yağ içeriği yüksek yemlerle beslenmeden dolayı abdominal yağlanma ve karaciğer yağlanması sorunu olan hayvanlarda yeme bitki ekstratlarının ilavesi ile bu olumsuzlukların azaltılabildiği bildirilmiştir. Sıcak stresinin hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerinin giderilmesi ile karkas kompozisyonunun iyileştirilmesi bitki ekstratlarının hayvan beslemedeki diğer olumlu etkileridir. Denli ve

ark. (2004) Japon bildirincinleri ile yürüttükleri denemede temel yeme antibiyotik (flavomycin) ve iki adet eterik yağ (kekik yağı, karabaş otu yağı) ilave ederek yaptıkları çalışmada katkılı yem verilen her 3 gruptaki piliçlerin abdominal yağı ağırlığı (g) ve ağırlık oranı (%) kontrol grubundakilere kıyasla önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Benzer bir çalışmada yine tavuklarda kekik ekstraktının abdominal yağ miktarını önemli oranda düşürdüğünü tespit edilmiştir (Kassie, 2009). Yine tavuklarda yapılan başka bir çalışmada kekik ekstraktının abdominal yağ miktarını düşürdüğü bildirilmiştir (Abdulkarimi ve ark., 2011). Mostafazadeh ve ark., (2012) tavuklarda Satureja sahandica Bornm (kekik türü) ekstraktının abdominal yağ miktarını önemli oranda düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Yağlı yemlerle beslenen balıkların organ yağlanmasının azaltılmasında karvakrol ve timolün belirli dozda kullanabileceğini söyleyebiliriz. Doz arttıkça yağlanmanın arttığı görülmektedir. Bu çalışmalardan farklı olarak Erener ve ark., (2005) karvakrolün abdominal yağ miktarını arttırdığını bildirmişlerdir. Ocak ve ark., (2008) kekik yapraklarının abdominal yağ miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

4.3.2. Dalak somatik indeksi (Spleen-somatik indeks) bulguları

Denemenin 60. gününde alınan sonuçlardan DSİ miktarında diğer gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan fark olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Bitkisel katkılar deniz levreklerinde dalak somatik indeksini önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0.05$) (Yılmaz ve ark., 2013). Pourmahmoud ve ark., (2013) yaptıkları çalışmada tavukların yemlerine % 0.2, % 0.4 ve % 0.6 oranlarında kekik ekstratı verip büyüme performanslarını, iç organ ağırlıklarını ve serum lipoproteinlerini incelemişlerdir, dalak ağırlığı % 0.4 oranında kekik ekstratı verdikleri grupta kontrol grubundan yüksek çıkmış fakat istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Farklı bir çalışmada tavşanlara 56 gün boyunca ayçiçek yağı, rezene ve kekik ekstratı katkılı yem verilmiş, kekik ve ayçiçek yağı verilen grubun dalak ağırlığı rezene ve ayçiçek yağı verilen gruba göre yüksek olup gruplar arasında da istatistiksel açıdan fark gözlenmiştir ($p<0.05$) (Omer ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda balıklarda dalak ağırlığındaki artış ve hastalıklara olan direnç arasında pozitif yönlü bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Hadidi ve ark., 2008; Wiens ve Vallejo, 2010).

4.3.3. Viserosomatik indeks (VSİ) ve hepatosomatik indeks (HSİ) bulguları

Deneme sonunda HSİ ve VSİ miktarlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Benzer bir çalışmada alabalıklara maça ekstratı verilmiş ve HSİ miktarında deneme grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan önemli fark görülmemiştir (Lee ve ark., 2004). Yayın balıklarında yapılan çalışmada

(*Origanumheracleoticum* L.) kekik türü, VSİ ve HSI miktarını azaltarak olumlu etki yaparken, karvakrol HSI miktarını arttırırken, VSİ miktarını azaltmış, timol HSI ve VSİ miktarlarını azaltmıştır, karvakrol ile timol karışımının HSI miktarlarını arttırdığı ve VSİ miktarını azalttığı bilinmektedir (Zheng ve ark., 2009). Farklı bir çalışmada African catfishlere yavşan ve papatya 1 ay boyunca % 1-3-5 oranlarında verildiğinde % 3 oranında yavşan verilen grupta HSI oranında artış görülmüştür (Abdelhadi ve ark., 2010). Ji ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada 24 ± 0.2 g ağırlığındaki kırmızı çipuraları (*Pagrus major*) Çin bitki ekstratları ile 12 hafta boyunca beslediklerinde HSI ve VSI miktarlarında istatistiksel açıdan bir fark bulamamışlardır ($p>0.05$).

Çizelge 4.6. Tıbbi bitkilerin balıkların biyometrik ölçümleri üzerine etkisi

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	VSİ	HSİ	Kaynak
Maça (<i>Lepidium meyenii</i>)	5, 10, 15 g/100 g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.096±0.002 g		(↔)	Lee ve ark.,2004
Origanum heracleoticum L. (karvakrol ve timol)	OS 0.05g/100g Timol 0.05g/100g Karvakrol 0.05g/100g Karışım 0.0485g/100 g	<i>Ictalurus punctatus</i>	50 g	Kekik (↓)	Kekik (↓), Karvakrol (↑)	Zheng ve ark., 2009
Yavşan ve Papatya	% 1-3-5 g/kg	African catfish	22 g		Yavşan (↑), Papatya (↔)	Abdelhadi ve ark., 2010
Karvakrol Timol	1,3,5 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10.79	(↔)	(↔)	Bu çalışmada

HSİ: Hepatosomatik indeks VSİ: Visserosomatik indeks Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

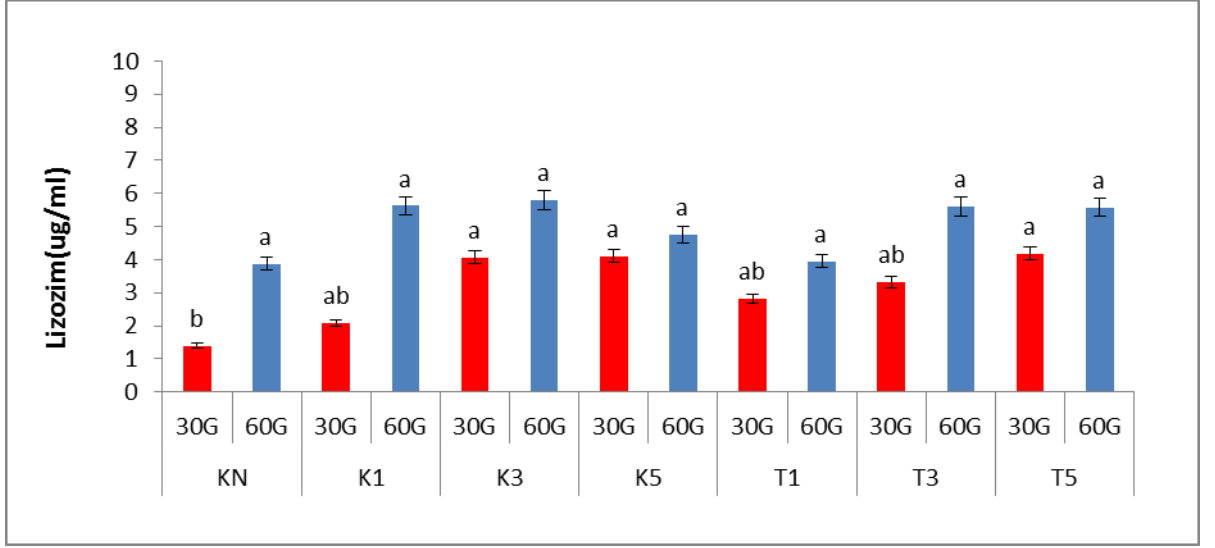
4.4. İmmunolojik Bulgular

Lizozim, bakteriyel hücre duvarlarının peptidoglikan katmanlarının bileşenleri olan N-asetil glukosamin ve N-asetilmuramik asiti hidroliz eden bir enzimdir bundan dolayı bakteriyolize neden olur ve bakterilerin büyümesini engeller. Lizozimin, aynı zamanda bir opsonin olarak hareket ederek komplement sistemini ve fagositleri aktifleştirdiği bilinmektedir (Magnadottir 2006; Saurabh ve Sahoo 2008). Bu şekilde bazı gram negatif ve gram pozitif bakterilerin lizisine sebep olur (Magnadóttir., 2006). Denemede gruplara göre lizozim aktivitesi (LA) ve myeloperoksidaz değerleri çizelge 4.7 ve şekil 4.4' de verilmektedir.

Çizelge 4.7. Deneme süresince lizozim aktivitesi (LA) ve myeloperoksidaz bulgularındaki değişimler

	Lizozim	Myeloperoksidaz
KN30	1.40±0.15 ^b	48.83±4.17 ^c
T130	2.81±0.46 ^{ab}	79.12±16.04 ^{bc}
T330	3.33±0.64 ^{ab}	50.70±9.10 ^c
T530	4.19±1.36 ^a	113.60±19.20 ^{ab}
K130	2.08±0.35 ^{ab}	120.65±3.06 ^a
K330	4.07±0.66 ^a	99.00±12.00 ^{ab}
K530	4.11±0.63 ^a	47.92±6.26 ^c
KN60	3.87±0.26 ^a	59.96±5.83 ^c
T160	3.95±0.75 ^a	75.62±4.42 ^{ab}
T360	5.60±1.23 ^a	70.64±9.32 ^{cb}
T560	5.58±1.04 ^a	80.95±6.90 ^{ab}
K160	5.63±0.91 ^a	67.59±4.52 ^{cb}
K360	5.81±0.54 ^a	65.69±5.07 ^{cb}
K560	4.75±0.26 ^a	92.75±6.13 ^a

n= 9 Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). T: Timol, K: Karvakrol

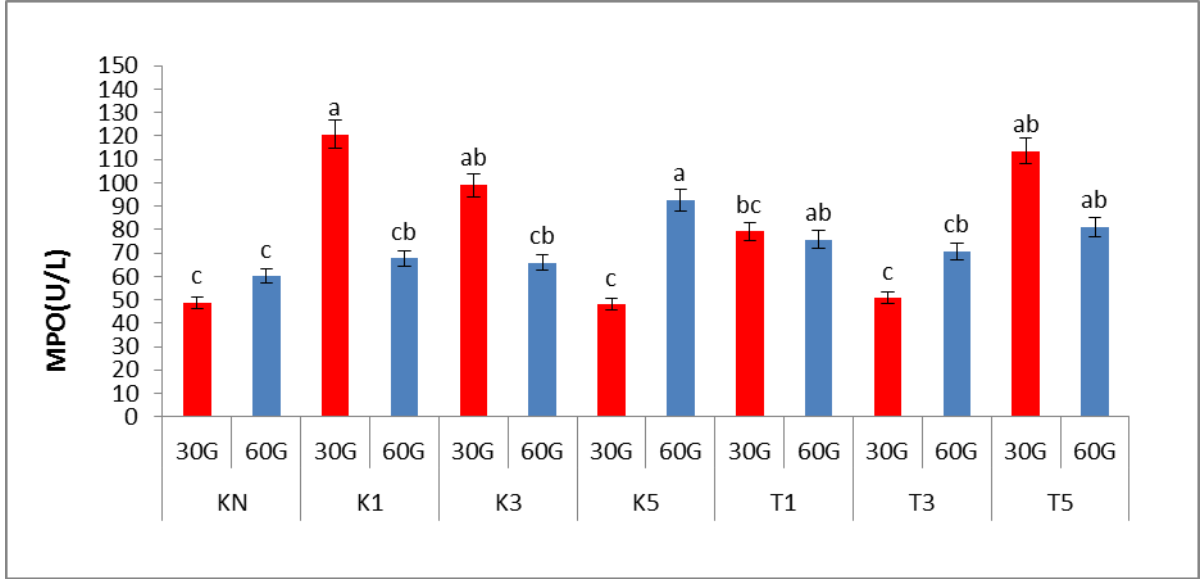


Şekil 4.4. Denemede lizozim aktivitesi bulgularındaki değişimler

LA miktarı 30. günde tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiş ve istatistiksel olarak fark saptanmıştır ($p < 0.05$), 60. günde ise tüm gruplarda kontrol grubuna göre artmıştır fakat istatistik olarak bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Yapılan bir çalışmada kekik ekstraktının (*Origanum heracleoticum*) yayın balıklarında lizozim aktivitesini arttırdığı fakat timol ve karvakrol ekstraktları ile timol + karvakrol ekstraktlarının karışımlarının lizozim aktivitesinde değişime neden olmadığı ve bakteriyel dirençte artış görülmediği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2009). Farklı bir çalışmada sarımsak alabalıklarda deneme sonunda lizozim aktivitesini kontrole göre arttırmıştır (Nya ve Austin 2009a). Defne yaprağı ile yapılan çalışmada lizozim aktivitesinde değişim gözlenmediği fakat fagositik aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Bilen ve Bulut 2010). Lizozim aktivitesindeki bu farklılığın nedeni balık türleri arasındaki bağışıklık sistemi savunma mekanizmasından ve bitki katkılarının çeşitliliğinden kaynaklanabilir (Mohammed ve ark., 2014). Nil tilapyaları ile yapılan çalışmada balıklara 7 gün boyunca çin bitkileri (geven ve japon hanımeli) verildiğinde lizozimde artış bildirilmiştir (Ardó ve ark., 2008). Benzer olarak hibrit tilapyalarda (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) ve rohuda sarımsağın lizozim aktivitesini arttırdığı bulunmuştur (Ndong ve Fall., 2007; Sahu ve ark., 2007b). Diğer bir çalışmada immunostimulant olarak kullanılan TCM içeren yemle beslenen Jian carpllarında lizozim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Yin ve ark. (2006) % 0.1-0.5 oranlarında geven bitkisi içeren yemle beslenen Nile tilapyalarda lizozim aktivitesinin arttığı belirtilmiştir. Sazan balığında farklı bitkiler kullanılarak yapılan çalışmalara bakıldığında *A.radix* ve *Ganoderma lucium* bitkilerinin lizozim aktivitesi arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca tilapyalarda yapılan çalışmada balıklar

Eclipta alba içeren yemle beslendiğinde lizozim aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. (Christyapita ve ark., 2007). Daha uzun süreli kullanımlarda lizozim aktivitesinin daha da artabileceği ve bağışıklık parametrelerinde belirgin bir iyileşme gözleneceği beklenebilir. Çizelgede bir çok çalışmada farklı türler lizozim aktivitesini arttırmıştır.



Şekil 4.5. Deneme süresince miyeloperoksidaz aktivitesi bulgularındaki değişimler

MPO aktivitesi 30. günde K5 grubu dışındaki tüm gruplarda artış göstermiştir ve istatistiksel açıdan fark bulunmuştur, 60. günde de kontrol grubuna göre diğer gruplarda artış göstermiştir ve aynı şekilde istatistiksel açıdan fark saptanmıştır ($p < 0.05$).

Nötrofiller sitoplazmik granüllerinde miyeloperoksidaz içerirler (Afonso ve ark., 1997; Rodriguez ve ark., 2003). Canlılarda güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen miyeloperoksidaz enzimidir (Dalmo ve ark., 1997). Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine yol açar. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit α 1 antiproteinazı inaktivite ederek sağlıklı dokuyu zarara uğratmaktadır (Johnston, 1978). Tilapyalarda yapılan bir çalışmada balıklara yem ile beraber Eclipta alba ekstratı verilmiş ve miyeloperoksidaz miktarında artış olduğu bildirilmiştir (Christyapita ve ark., 2007). Farklı tıbbi bitkilerin balıkların lizozom ve myeloperoksidaz aktiviteleri üzerine etkilerini çizelge de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Tıbbi bitkilerin balıkların lizozom ve miyeloperoksidaz aktiviteleri üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynakça
<i>Origanum heracleoticum L.</i>	OS 0,05g/100g	<i>Ictalurus punctatus</i>	50 g	LA (↑)	Zheng ve ark., 2009
Defne	% 0.5 ve % 1	<i>O. mykiss</i>	89.25±0.12 g	LA (↔)	Bilen ve Bulut 2010
Bakla, Isırgan otu, Mango	% 1	<i>O. mykiss</i>	15	LA (↑)	Awad ve Austin 2010
<i>Tinospora cordifolia</i>	6, 60, 600 mg kg ⁻¹ BW	<i>O.mossambicus</i>	25±5 g	LA (↑), MPO (↑)	Alexander ve ark., 2010
Sarımsak	0.5 ve 1 ml/100g	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	14 g	LA (↑)	Nya ve Austin 2011
Çay	% 0.002, %0.01, %0.05	<i>O. mykiss</i>	35 ± 3 g	LA (↑), MPO (↑)	Sheikhzadeh ve ark., 2011
	1,3,5 g/kg Karvakrol			LA (↔)	
	1,3,5 g/kg Timol			LA (↑)	
	1,3 g/kg Karvakrol			MPO (↑)	
Karvakrol Timol	5 g/kg Karvakrol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10,79	MPO (↔)	Bu çalışmada
	1,5 g/kg Timol			MPO (↑)	
	3g/kg Timol			MPO (↔)	

LA: Lizozim aktivitesi MPO: Miyeloperoksidaz aktivitesi Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

4.5. Biyokimya Bulguları

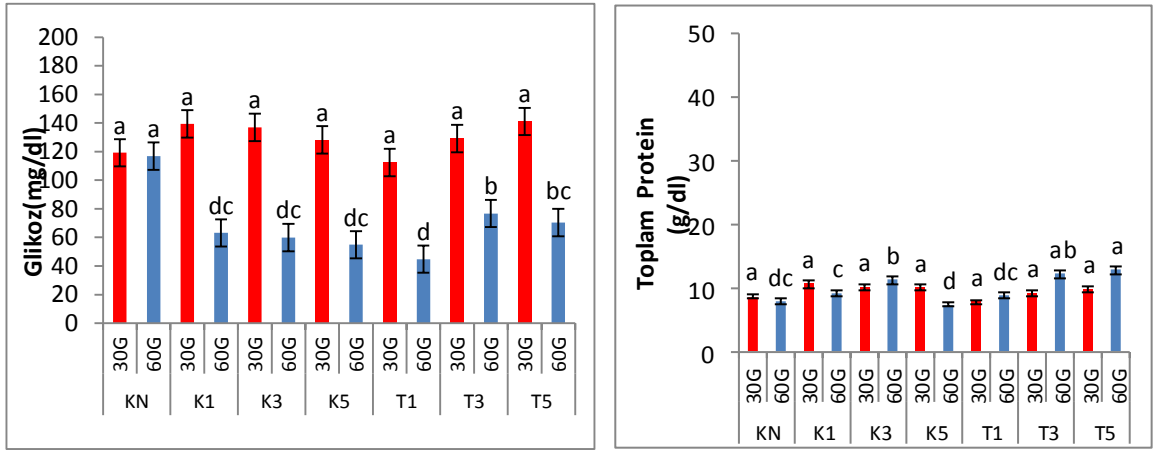
Denemede balıklarda serum glikoz (GLİ), toplam protein (TPROT), albumin (ALB), globulin (GLO), kolestrol (KOL) ve trigliserid (TRİ) değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.9 ve Şekil 4.5’de görülmektedir.

Çizelge 4.9. Deneme gruplarında glikoz, toplam protein, albümin ve globülin bulgularındaki değişimler

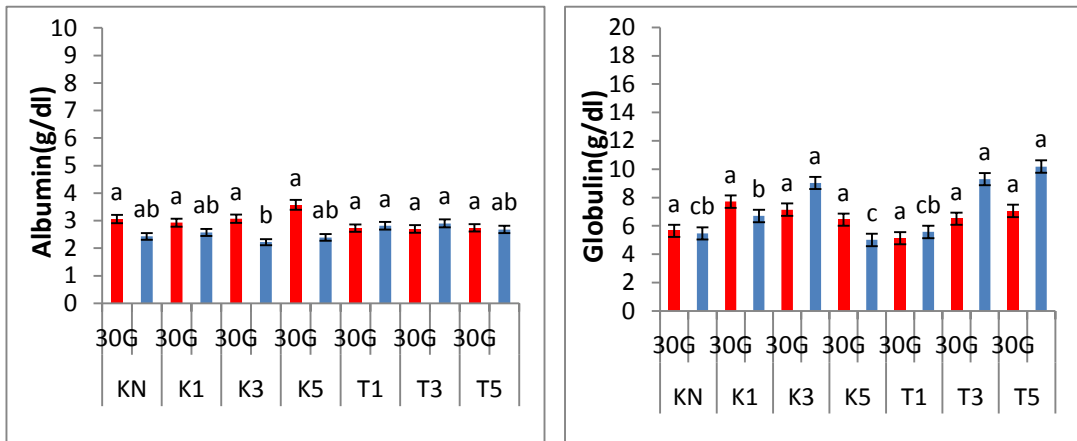
	Glikoz (mg/dl)	Toplam Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	Globulin (g/dl)
K030	119.26±5.28 ^a	8.72±0.87 ^a	3.06±0.31 ^a	5.65±0.91 ^a
T130	112.38±8.59 ^a	7.86±0.85 ^a	2.73±0.24 ^a	5.13±1.05 ^a
T330	129.14±5.87 ^a	9.20±1.31 ^a	2.70±0.29 ^a	6.50±1.22 ^a
T530	119.56±7.17 ^a	9.79±0.72 ^a	2.74±0.25 ^a	7.05±0.77 ^a
K130	141.12±8.67 ^a	10.63±1.07 ^a	2.93±0.29 ^a	7.71±1.01 ^a
K330	139.42±17.52 ^a	10.21±0.39 ^a	3.07±0.34 ^a	7.14±0.38 ^a
K530	136.93±11.06 ^a	10.02±0.87 ^a	3.58±0.54 ^a	6.44±0.87 ^a
K060	116.83±6.63 ^a	7.89±0.34 ^{dc}	2.43±0.06 ^{ab}	5.47±0.36 ^{cb}
T160	44.77±3.05 ^d	8.39±0.29 ^{dc}	2.82±0.26 ^a	5.57±0.55 ^{cb}
T360	76.68±8.31 ^b	12.21±0.65 ^{ab}	2.90±0.24 ^a	9.30±0.58 ^a
T560	70.39±5.79 ^{bc}	12.86±0.23 ^a	2.68±0.17 ^{ab}	10.18±0.36 ^a
K160	63.18±4.16 ^{dc}	9.27±0.52 ^c	2.57±0.11 ^{ab}	6.70±0.47 ^b
K360	59.90±5.28 ^{dc}	11.25±0.61 ^b	2.22±0.04 ^b	9.03±0.59 ^a
K560	54.88±8.63 ^{dc}	7.40±0.53 ^d	2.39±0.16 ^{ab}	5.01±0.56 ^c

n= 9 Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05) T: Timol, K: Karvakrol.

30. günde glikoz miktarı kontrol grubuna göre T1 grubu hariç diğer gruplarda artış göstermiştir, fakat istatistiksel fark yoktur ($p>0.05$). 60. günde glikoz miktarı kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda azalma göstermiştir ve istatistiksel açıdan önemli bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). 30. günde toplam protein miktarı T1 grubu dışındaki diğer gruplarda artış göstermekle beraber istatistiksel açıdan fark yoktur ($p>0.05$). 60. günde toplam protein miktarı K5 dışındaki tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir ve istatistiksel açıdan fark görülmektedir ($p<0.05$). Albumin miktarı 30. günde deneme önemli bir farklılık göstermemiştir ($p>0.05$), 60. günde albümin miktarı K3 ve K5 grubu dışındaki diğer gruplarda kontrol grubuna göre artmıştır ve istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$). Globulin miktarında 30.günde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmezken ($p>0.05$), 60.günde globulin miktarı kontrol grubuna göre K5 grubu hariç diğer gruplarda artış göstermiştir ve istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$).



Şekil 4.6. Denemede gruplara göre serum glikoz ve protein bulguları



Şekil 4.7. Denemede gruplara göre albümin ve globulin bulguları

Kan glikoz konsantrasyonu kortizol ve adrenalin seviyelerini arttırmak yerine spesifik olmayan stresin bir göstergesi olarak kullanılır. Hastalık ve stres durumunda glikoz seviyesi artar (Citarasu ve ark., 2006). Artan glikoz miktarı çoğu zaman balıklarda büyümenin yavaşlamasına neden olmaktadır (Wilson., 1997). Mohammed ve Abasali (2010) tarafından yapılan çalışmada sazanların yemlerine katılan bitki ekstratları konsantrasyonları arttıkça glikoz seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Bu azalma serum insülin seviyesindeki artış ile ilişkilendirilebilir (Eskander ve Won, 1995). Ayrıca Ji ve ark (2007a) tarafından yapılan çalışmada bitki karışımları ile beslenen juvenil Japon flounderların kan glikozu ve plazmadaki GOT seviyesinde azalma gözlenmiştir. Bu azalma karaciğerin sağlıklı işlevine ve glikojen sentezinin aktivasyonuna dayandırabilir. Serum / plazma proteinleri albümin, globulinler ve spesifik olmayan bağışıklık sisteminin çeşitli hümmoral elemanlarını içerir örneğin; transferrin, presipitinleri, aglutininler, antimikrobiyal peptitler, komplement faktörleri, lizozim ve antiproteazlar (Ellis 1999; Magnadottir 2006). Albümin bir plazma taşıyıcı olarak hareket eder ve vücut sıvılarının uygun dağılımı için gerekli osmotik basıncı korur (Nya ve Austin 2009a). Gama globülini bir serum globülinidir ve immünoglobulinlerin kaynağıdır bu nedenle kandaki seviyesi antikor konsantrasyonu ve balığın bağışıklık durumunu yansıtır (Goda., 2008). Bazı globülinler karaciğer tarafından üretilirken bazılarını bağışıklık sistemi kendi yapar (Sandnes ve ark, 1988). Globulin α_1 , α_2 , β ve γ globülinlerinden oluşur. Globulin kandaki hemen hemen tüm immünolojik aktif proteinlerin kaynağı olarak kabul edilir (Jha ve ark., 2007). Gökkuşığı alabalığı yemlerine % 0,1 ve % 1 zencefil, ökse otu ve ısırgan eklendiğinde toplam protein miktarının arttığı bildirilmiştir (Dügenci ve ark., 2003). Yapılan farklı bir çalışmada yine gökkuşığı alabalığı yemlerine % 0,1 ve % 0,5 oranında ısırgan ekstratı eklendiğinde toplam protein seviyesinin arttığı görülmüştür (Awad ve Austin 2010). Yapılan çalışmalarda spesifik olmayan bağışıklığa bağlı olarak balık serumunda toplam proteinin arttığı sonucuna ulaşılabilir (Mohammad ve ark., 2014). Toplam protein miktarındaki artış balıkların olası stres koşullarına daha dayanıklı olmalarını sağlar (Yılmaz., 2013).

Genellikle, plazmadaki toplam protein, albumin, globülin miktarlarının artışı balıklarda bağışıklığın iyileştiğini göstermektedir (Wiegertjes ve ark., 1996). Gökkuşığı alabalığında yapılan benzer bir çalışmada su teresi yeme katıldığında albüminde artış gözlenmezken, globülin ve toplam protein seviyesinin arttığı gözleniyor. Albumin kanda bu gibi bitki ektratlarının bazı bileşenlerinin taşınmasında önemli rol oynuyor. Deneme balıklarının plazmasında albümin seviyesindeki küçük bir artış su teresi ekstratının kanda taşınmasına yardımcı olabilir (Asadi ve ark., 2012). Kan serumundaki kolestrol miktarının

farklılığı bitki sterollerinin (astigmasterol, kampesterol ve fenolik bileşikler gibi) varlığından kaynaklanmaktadır. Farklı tıbbi bitkilerle yapılan çalışmalardaki serum glikoz (GLİ), toplam protein (TP), albumin (ALB) ve globulin (GLO) değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.10 'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynakça
<i>Myristica</i> <i>Fragans</i> (Hindistan cevizi)	% 0.01, % 0.02, %0.04, %0.08	<i>E. tauvina</i>	30.0±0.5	Albumin (↔), globulin (↔)	Sivaram ve ark., (2004)
Zerdeçal	%0.01, %0.05, %0.1, %0.5	<i>L. rohita</i>	10±2	Globulin (↑), albumin (↑),	Sahu ve ark., (2008)
Sarımsak	% 0.05, % 0.1, % 0.5, % 1	<i>Oncorhynchus</i> <i>mykiss</i>	14	Globulin (↑), toplam protein (↑), albumin (↔)	Nya ve Austin 2009a
<i>Cynodon</i> <i>Dactylon</i>	%1	<i>O. mossambicus</i>	7.46 ±0.11	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz(↓), kolestrol(↓), trigliserid(↓)	Immanuel ve ark., (2009)

Çizelge 4.10'un devamı. Tıbbi bitkilerin balıkların serum glikoz, proteinler ve yağ üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynakça
<i>Ocimum basilicum, Cinnamomum zeylanicum, Juglans regia ve Mentha piperita</i>	%0.025, %0.05, %0.075, %0.1, 0.125%	<i>C. carpio</i>		Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz (↓)	Abasali ve Mohamad (2010)
<i>Eriobotrya Japonica</i> (Malta eriği)	%0.1, %1, %2	<i>E. bruneus</i>	25.4±1.2	Toplam protein(↑), albumin(↑), globulin(↑), glikoz (↓)	Kim ve ark., (2011)
<i>Cynodon Dactylon</i>	% 0.05, %0.5, %5	<i>C. catla</i>	88.05±4.75	Globulin(↑), toplam protein(↑), glikoz(↑), kolesterol(↑),	Kaleeswaran ve ark., (2010, 2011a,b)
<i>Alnus firma</i>	% 0.01, % 0.1, % 1	<i>P. olivaceus</i>	22.3±1.3	Globulin(↑), toplam protein(↑), kolesterol (↑)	Harikrishnan ve ark., (2011b)

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

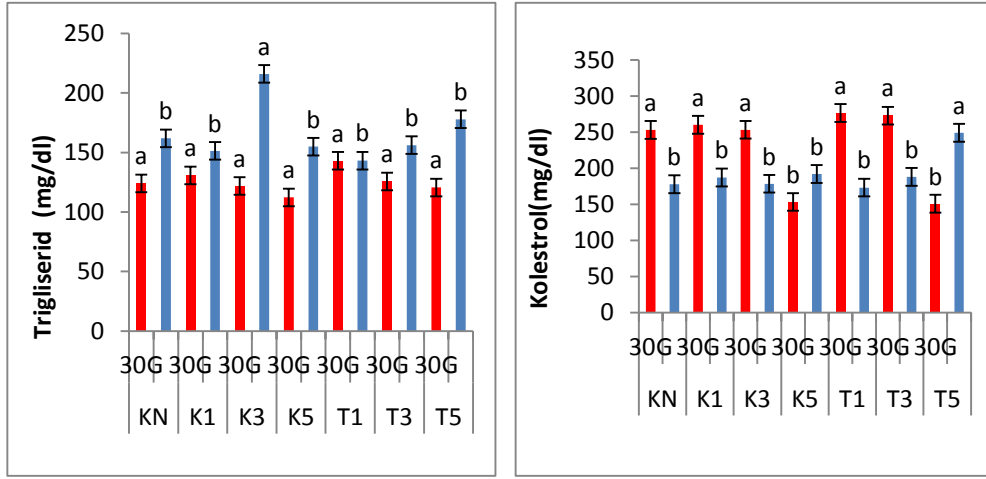
4.6. Yağ Bulguları

Denemede trigliserid (TRİ) ve kolesterol (KOL) bulgularındaki meydana gelen değişimler Çizelge 4.11 ve Şekil 4.6'da görülmektedir.

30.günde trigliserid miktarı kontrol grubuna göre doz arttıkça azalmıştır fakat istatistik olarak bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). 60.günde trigliserid miktarı T1 grubunda en düşük, K3 grubunda en yüksek bulunmuştur ve istatistik olarak fark vardır ($p<0.05$). 30.günde kolesterol miktarı kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda diğer gruplarda doz arttıkça azalmıştır ve istatistik olarak fark vardır ($p<0.05$). 60. Günde kolesterol miktarı en yüksek T5 grubundadır ve istatistik olarak fark vardır ($p<0.05$)

Çizelge 4.11 Denemede kanda yağ bulgularındaki değişimler

	Trigliserid (mg/dl)	Kolestrol (mg/dl)
K030	124.11±12.64 ^a	253.07±12.31 ^a
T130	143.00±14.66 ^a	276.53±11.29 ^a
T330	125.62±10.80 ^a	272.93±20.35 ^a
T530	120.57±10.15 ^a	151.07±11.03 ^b
K130	130.85±12.29 ^a	260.33±10.21 ^a
K330	121.81±13.40 ^a	253.33±11.02 ^a
K530	112.32±17.01 ^a	153.53±15.76 ^b
K060	161.91±12.76 ^b	178.08±12.16 ^b
T160	143.19±8.36 ^b	173.28±15.26 ^b
T360	156.12±4.19 ^b	188.10±5.13 ^b
T560	177.87±11.31 ^b	249.12±11.39 ^a
K160	151.28±12.21 ^b	187.20±8.84 ^b
K360	215.96±17.76 ^a	178.56±9.23 ^b
K560	154.89±8.35 ^b	192.24±10.23 ^b



Şekil 4.8. Deneme süresince yağlarının dağılımları

Lee ve ark., (2004) pirinç esaslı temel yeme iki farklı esansiyel yağı bileşeni (timol ve sinnamaldehit) ve ticari esansiyel yağ karışımının dişi etlik piliçlerin 0-33 günler arasındaki besi performansı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Besi performansı özelliklerinin hiç birisi muamelelerden etkilenmemiştir ($P>0.05$). Karaciğer ve pankreas ağırlığı ve ağırlığı oranı (%), jejunum ve ileum viskozitesi ile plazma trigliserid, fosfolipid ve toplam HDL kolesterol oranı da muamelelerden etkilenmezken ($P>0.05$), sinnamaldehit plazma toplam kolesterol oranını artırıcı etkide bulunmuştur. Yine Lee ve ark., (2004) karboksimetil selüloz (CMC) içeren (%1) mısır-soya esaslı etlik civciv yemine karvakrol, sinnamaldehit ile bu iki komponentin karışımını ilave ederek dişi etlik civcivlerin 0-21 günler arasındaki performansı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Karvakrol + sinnamaldehit karışımı civcivlerin yem tüketimini azaltarak canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma değeri üzerinde olumsuz etkide bulunmuştur. Karvakrol ve sinnamaldehit tek başlarına kullanıldığında da ise CMC'nin performans üzerindeki depresif etkisini telafi edememiştir. İnce bağırsak ağırlığı ve uzunluğu, karaciğer ağırlığı ile plazma toplam kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid ve fosfolipid düzeyleri ise muamelelerden önemli düzeyde etkilenmemiştir. Benzer bir çalışmada yine Lee ve ark., (2004) mısır-soya esaslı ve %1 düzeyinde CMC içeren temel yeme timol ve sinnamaldahit gibi iki temel esansiyel yağ bileşeni ile bir ticari esansiyel yağ karışımı ilave ederek dişi etlik piliçlerin 21. ve 40. günlerdeki besi performansı özelliklerini incelemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Gerek 21. gün ve 40. günde belirlenen besi performansı özelliklerinden hiç birisi üzerine muamelelerin etkisi önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde karaciğer ve pankreas ağırlığı, bağırsak viskozitesi, ham protein ve nişasta sindirilebilirliği, fekal ham yağ sindirilebilirliği ile plazma total kolesterol, HDL kolesterol,

fosfolipid ve trigliserid düzeyleri üzerine yeme eterik yağların katılmasının önemli düzeyde etkisi gerçekleşmemiştir ($P>0.05$). Timol ve karvakrolün tavuklarda serum kolesterol konsantrasyonunu düşürdüğü bildirilmiştir (Case ve ark., 1995). Timol ve karvakrolün, kolesterolü düşürücü etkisi, kolesterol sentez enzimi 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co enzim A (HMGCoA)'nın inhibe edilmesine bağlanmaktadır (Elson, 1995).

Broyler rasyonlarına bitki ekstratı tek başına ve humat ile ilave edildiğinde kolestrol ve trigliserid değeri değişmezken, toplam protein değerlerinde azalma görülmüştür bu sonuçların aksine yapılan başka bir çalışmada civciv rasyonlarına çeşitli biyolojik yem katkı maddelerinin ilavesinin kolestrol düzeyini azalttığı belirtilmiştir. Bu durumun nedeninin kullanılan katkı maddesinin rasyona katılma miktarının farklılığından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (Köksal ve Küçükersan, 2012 ; El Hüseiny ve ark., 2008).

4.7. Hematolojik Bulgular

Kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemoglobin konsantrasyonu (Hb), hematokrit (Ht), eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) balıklarda eritrosit durumunu ve oksijen taşıma kapasitesini belirler (Houston 1997). Dokular tarafından alınan oksijenin taşınması eritrositlerin fonksiyonunu sağlayan hemoglobine bağlıdır. Bu parametreler balığın sağlık durumunda anormal bir değişiklik olduğunda bizi bilgilendirebilir, örnek olarak immunostimulantların kullanım süresini verebiliriz (Goda 2008). Lökosit (Lct) ve beyaz kan hücresi miktarı (WBC) kandaki lökosit yüzdelerinin göstergeleridir. Lökositlerin toplam sayısında görülen artışın kimyasallara ve enfeksiyöz ajanlara karşı koruyucu bir tepkinin aktivasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Harikrishnan ve ark., 2010). Değişik bitkisel ve hayvansal yağların rasyonlarda kullanımı diyet gruplarına göre gökkuşağı alabalıklarının kan hematokrit seviyesini önemli miktarda değiştirmektedir (Greene ve Selivonchick, 1990).

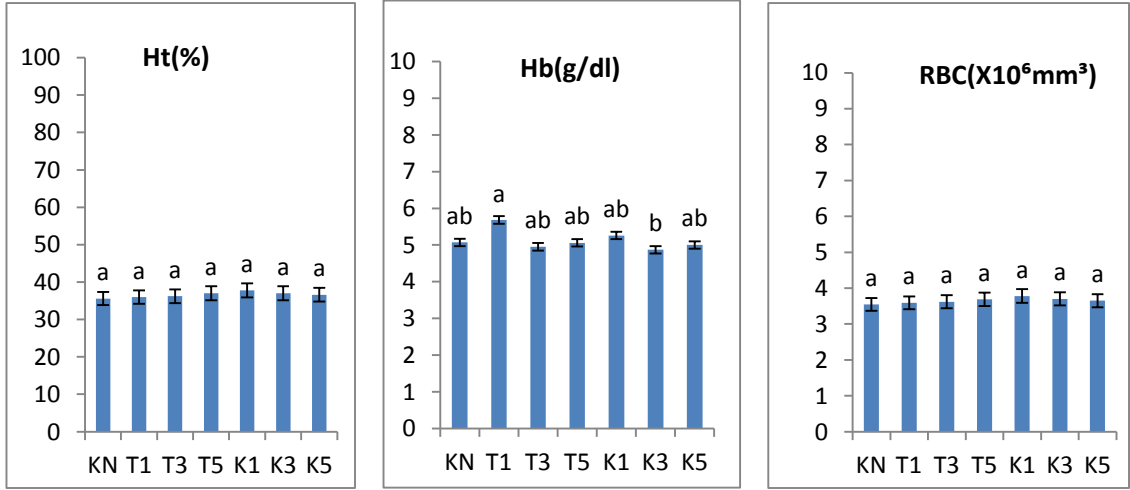
Denemede gruptaki hematolojik bulgular; hemoglobin (Hb), hematokrit (Ht), Kırmızı kan hücre sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunda (MCHC) görülen değişimler çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Deneme boyunca hematolojik bulgulardaki değişimler

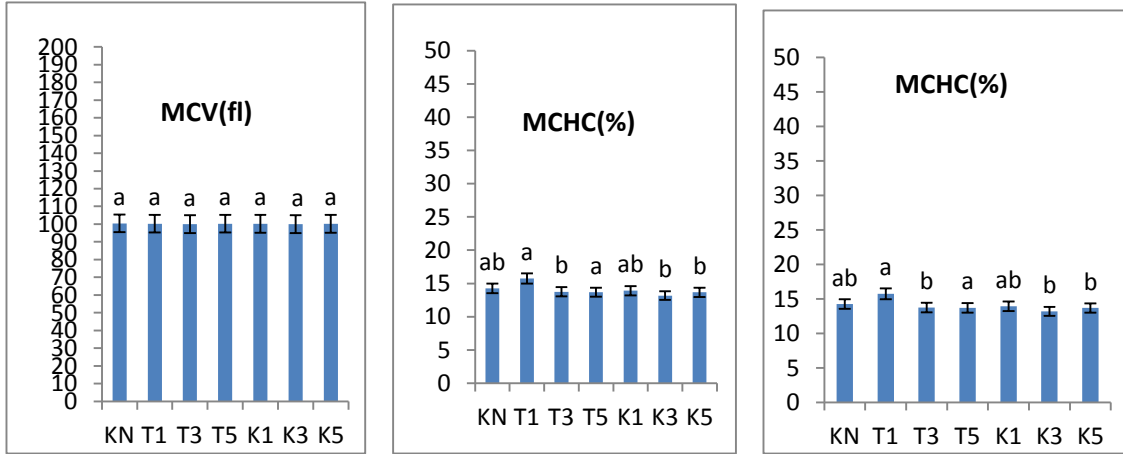
	Hb (g/dl)	Ht (%)	RBC (x10 ⁶ mm ³)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
KN	5.07±0.15 ^{ab}	35.60±0.42 ^a	3.55±0.06 ^a	100.42±0.43 ^a	14.31±0.50 ^{ab}	14.25±0.48 ^{ab}
T1	5.68±0.75 ^a	36.00±0.78 ^a	3.59±0.10 ^a	100.23±0.42 ^a	15.77±0.62 ^a	15.75±0.65 ^a
T3	4.95±1.17 ^{ab}	36.20±0.70 ^a	3.62±0.09 ^a	100±0.43 ^a	13.75±0.65 ^b	13.75±0.65 ^b
T5	5.06±0.19 ^{ab}	37.00±1.03 ^a	3.69±0.12 ^a	100.26±0.26 ^a	13.73±0.43 ^b	13.69±0.40 ^b
K1	5.26±0.18 ^{ab}	37.80±0.30 ^a	3.78±0.06 ^a	100.14±0.56 ^a	13.93±0.44 ^b	13.92±0.45 ^{ab}
K3	4.87±0.16 ^b	37.00±0.58 ^a	3.70±0.07 ^a	100.03±0.49 ^a	13.19±0.49 ^b	13.18±0.46 ^b
K5	5.00±0.37 ^{ab}	36.60±0.67 ^a	3.65±0.09 ^a	100.21±1.00 ^a	13.66±0.96 ^b	13.67±1.02 ^b

n= 9 Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05) hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), Kırmızı kan hücre sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunda (MCHC) T: Timol, K: Karvakrol.

Deneme sonunda Hb miktarı en yüksek T1, en düşük K3 gruplarında tespit edilmiştir ve istatistiksel açıdan fark vardır (p<0.05). Gruplarda Ht, RBC, MCV miktarlarında bir değişim görülmemiştir (p>0.05). MCH ve MCHC miktarları en yüksek T1 grubunda tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan timolün düşük dozunun kan değerlerini önemli ölçüde etkilediği söylenebilir. Hematolojik parametrelerin dağılımları Şekil 4.9 ve 4.10'da görülmektedir.



Şekil 4.9. Deneme sonunda grupların hematokrit, hemoglobin, kırmızı kan hücre parametrelerinin dağılımları



Şekil 4.10. Deneme sonunda grupların, eritrosit hacmi, ortalama eritrosit hemoglobini, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu parametrelerinin dağılımları

Yaptığımız çalışmaya benzer bir çalışmada gökkuşacağı alabalıklarının diyetlerine karvakrol ve timol katıldığında gökkuşacağı alabalıkları sarımsak içeren diyet ile beslendiklerinde eritrositlerin hemoglobin içeriği ve olgunlaşmaları gelişmiştir, toplam lökosit sayısı ve lenfositlerde artış gözlenmiştir ve balıkların sağlık durumu ve bağışıklık sistemleri olumlu yönde etkilenmiştir (Nya ve Austin 2009a, 2011). Başka bir çalışmada *L. perennis*, *M. indica* veya *Urtica dioica* gökkuşacağı alabalık diyetlerine katıldığında RBC ve Ht miktarları artmıştır yine zencefil alabalık diyetlerine katıldığında RBC, Ht, WBC, lenfosit, monosit ve nötrofil miktarlarında artış gözlenmiştir, farklı bir çalışmada da *Nigella sativa* alabalık diyetlerine katıldığında Lct ve Ht miktarında artış gözlenmiştir (Awad ve Austin, 2010; Nya ve Austin 2009b; Dorucu ve ark., 2009). Yapılan bir

çalışmada tavşanlara Afrika bitki özü verilerek hematolojik değişikliklerine bakıldığında hematokrit (Ht), eritrosit, lökosit, trombosit, lenfosit değerlerinde artış gözlenirken, hemoglobin (Hb) ve nötrofil düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir (Okochi ve ark., 2003). Mersin balıkları ile yapılan bir çalışmada diyetlerine ısırgan otu katıldığında RBC, Ht, WBC, Hb, MCH değerlerinde artış gözlenmiştir MCV ve MCH değerleri değişmemiştir, nötrofil ve eozinofil değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmezken kontrol grubuna göre artmış, lenfosit değerleride kontrol grubuna göre azalmış olarak tespit edilmiştir (Mohammed ve ark., 2014). WBC durumunun izlenmesi balığın genel bağışıklık sistemi durumunu yansıtabilir. İmmunostimulant olarak kullanılan bitkilerle yapılan birçok araştırma toplam WBC' nin arttığı yönündedir (Lim ve ark., 2000; Jian ve Wu., 2003; Jian ve Wu., 2004; Rao ve ark., 2006; Sahu ve ark., 2007a; Sahu ve ark., 2007b; Harikrishnan ve ark., 2010; Ardó ve ark., 2008; Nya ve Austin., 2009a; Nya ve Austin., 2009b; Abdel-Tawwab ve ark., 2010). Çeşitli Tıbbi bitkilerin balıkların hematolojileri üzerine etkileri çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynak
Sarımsak	% 1, %2, %3, % 4	<i>O. niloticus</i>	7±1	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↔), MHC (↔), MCHC (↔)	Shalaby ve ark., 2006
Artemisia capillaries	%0.5	<i>P. major</i>	24.0±0.2	Hct (↔), Hb (↑),	Ji ve ark., 2007c
Sarımsak	%0.1, % 0.5, %1	<i>L. rohita</i>	10± 2	RBC (↑), Hb (↑),	Sahu ve ark., 2007a
<i>Cnidium Officinale</i>	% 0.5	<i>P. major</i>	24.0± 0.2	Hct (↔), Hb (↑), HDL-CHO (↑)	Ji ve ark., 2007c
<i>Crataegi fructus</i>	% 0.5	<i>P. major</i>	24.0± 0.2	Hct (↔), Hb (↔), HDL-CHO (↔)	Ji ve ark., 2007d
<i>Curcuma longa</i>	%0.01, % 0.05, % 0.1, % 0.5	<i>L. rohita</i>	10±2	RBC (↑), Hb (↔)	Sahu ve ark., 2008
Ginseng	% 0.005, % 0.01, % 0.015, % 0.02, % 0,025	<i>O. niloticus</i>	24.4± 0.2	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑), MCV (↓), MCH (↓), MCHC (↔),	Goda (2008)
<i>Garcinia kola</i>	%0.025, % 0.05 % 0.1, % 0.2	<i>C. gariepinus</i>	245.20–255.00	RBC (↔), Hb (↔)	Dada ve Ikuero., 2009
<i>Artemisia cina</i>	% 1, % 3, % 5	<i>C. gariepinus</i>	22	Hct (↑), Hb (↑),	Abdelhadi ve ark., 2010
<i>Euphorbia Hirta</i>	%0.5, %1, %2, %2.5, %5	<i>C. carpio</i>	45.9 ± 1.5	RBC (↑), Hb (↑)	Pratheepa ve Sukumaran 2011
<i>Kalopanax Pictus</i>	%0.1, % 1, %2	<i>E. bruneus</i>	26.1±1,4	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑)	Harikrishnan ve ark., 2011a
<i>Andrographis paniculata</i>	% 0.05, % 0.1, % 0.2, % 0.3	<i>O. mossambicus</i>	20–40	RBC (↑), Hb (↑), MCV (↓), MHC (↓), MCHC (↔),	Prasad ve Mukthiraj 2011

Çizelge 4.13'ün devamı. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkileri

Kullanılan Bitki	Kullanım Miktarı	Balık Türü	Balık Ağırlığı	Etki	Kaynak
<i>Kalopanax Pictus</i>	%0,1, % 1, %2	<i>E. bruneus</i>	26.1±1.4	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑)	Harikrishnan ve ark., 2011a
<i>Alnus firma</i>	% 0.01, % 0.1, % 1	<i>P. olivaceus</i>	22.3 ± 1.3	RBC (↑), Hct (↑), Hb (↑)	Harikrishnan ve ark.,2011b
Su teresi	%0.1-1/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>		RBC(↔), Hct(↔), MCV(↔), MCH (↔). Hb ve MCHC miktarları %1 lik grupta kontrol grubuna göre artmıştır.	Asadi ve ark., 2012
Zencefil	% 1	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	46±1 g	RBC(↑), Hct(↑), Hb(↑), MCHC(↑), MCV(↓), MCH(↓)	Haghighi ve Rohani,2013
Isırgan otu	%3,%6,%12	<i>Beluga juvenile</i>	204.52±2.51 g	RBC(↑), Hct(↑), Hb(↑), MCHC(↑), MCV(↔), MCH(↔)	Binali ve ark., 2014.
Timol-karvakrol	0.1-0.2-0.3 g/kg	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	8.4 ± 0.1 g	Hct(↔), Hb(↔), RBC(↔), MCH(↔), MCHC(↔)	Ahmadifar ve ark., 2011
<i>Epilobium hirsutum</i>	%0.5, %1, %3	<i>C. carpio</i>	20±2	RBC (↔), Hct (↔), Hb (↔)	Pakravan ve ark., 2011
Karvakrol Timol	1 g/kg Timol	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10.79 g	RBC(↔), Hct(↔), Hb(↑), MCHC(↑), MCV(↔), MCH(↑),	Bu çalışmada
	3 g/kg Timol			RBC(↔), Hct(↔), Hb(↔), MCHC(↓), MCV(↔), MCH(↓),	
	5 g/kg Timol			RBC(↔), Hct(↔), Hb(↔), MCHC(↑), MCV(↔), MCH(↓),	
	1 g/kg Karvakrol			RBC(↔), Hct(↔), Hb(↔), MCHC(↔), MCV(↔), MCH(↓),	
	3 g/kg Karvakrol			RBC(↔), Hct(↔), Hb(↓), MCHC(↓), MCV(↔), MCH(↓),	
	5 g/kg Karvakrol			RBC(↔), Hct(↔), Hb(↔), MCHC(↓), MCV(↔), MCH(↓),	

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı kan hücre sayısı, Hb: Hemoglobin, MCV: Ortalama Eritrosit Hacmi, MCH: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin, MCHC: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu. Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında tespit edilen değerlerde : ↓ Önemli azalış ↑ Önemli artış ↔ Önemli Değişim yok

4.8. İz Element Bulguları

Balık etinde yapılan iz elementleri analiz sonuçları Çizelge 4.14'de verilmiştir. 30. günde K1 ile beslenen grupta Cu seviyesi kontrol grubuna göre artış gösterirken, 60. günde gruplarda kasta Cu düzeyinde önemli değişim gözlenmemiştir. 30. günde Mn seviyesinde K1 ile beslenen gruplarda diğer gruplara göre artış gözlenirken, 60. günde Mn seviyesi kontrol grubuna göre diğer gruplarda azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$). 30. günde Zn seviyesi K1 ve K5 gruplarında en düşük gözlenirken, 60. günde Zn seviyesi K1 grubunda en yüksek gözlenmiştir ($p < 0.05$). Literatürde balıklarda ki bakır düzeyleri kuzeydoğu Atlantik denizinde 0.11–0.97 $\mu\text{g/g}$ (Celik ve Oehlenschlager, 2004), 0.065–4.36 $\mu\text{g/g}$ (Yilmaz ve ark., 2007), 0.04–5.43 $\mu\text{g/g}$ İskenderun körfezi (Turkmen ve ark., 2005). Balıklar için izin verilen maksimum bakır düzeyi Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olarak 20 mg / kg dır. FAO / WHO vücut ağırlığına göre ağır metal alımı için sınır değeri belirledi. Literatürde balıklardaki çinko düzeyleri 0.60–11.6 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık İskenderun Körfezi (Turkmen ve ark., 2005), 9.50 - 22.9 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık Orta Karadeniz Türkiye (Tuzen, 2003), 47.2–73.4 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık Dhanmondi Gölü Bangladeş (Begum ve ark., 2005), 2.1– 8.7 $\mu\text{g/g}$ Kuzey Atlantik denizi (Celik ve Oehlenschlager, 2004). Balıklar için izin verilen maksimum çinko seviyesi Türk Gıda Kodeksi'ne göre 50 mg/kg dır (Anonymous, 2002). Literatürde balıklardaki mangan düzeyleri 1.56–3.76 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık Orta karadeniz (Tuzen, 2003), 0.05–4.64 kuru ağırlık İskenderun körfezi (Turkmen ve ark., 2005), 8.8–23.5 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık Dhanmondi Gölü (Begum ve ark., 2005). Türk standartlarında balık numunelerindeki maksimum magnezyum düzeyleri hakkında bilgi yoktur (Anonymous, 2002).

Çizelge 4.14. 30. gün ve 60. gün karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların kas dokularında biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
	KN	1.87±0.12 ^b	7.44±0.95 ^b	51.53±2.42 ^a
30. GÜN	K1	4.29±0.63 ^a	17.79±2.08 ^a	16.84±1.89 ^b
	K3	1.54±0.19 ^b	4.60±0.94 ^b	53.78±10.99 ^a
	K5	1.84±0.19 ^b	5.93±0.93 ^b	21.67±2.82 ^b
	KN	1.95±0.74 ^a	0.83±0.04 ^a	13.23±0.96 ^b
60.GÜN	K1	0.86±0.10 ^a	0.58±0.09 ^b	35.39±7.16 ^a
	K3	0.76±0.03 ^a	0.46±0.04 ^b	9.73±0.70 ^c
	K5	0.89±0.04 ^a	0.52±0.04 ^b	9.84±0.34 ^c

n= 18, ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05).Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, K1: Karvakrol 1 g/kg, K3: Karvakrol 3g/kg, K5: Karvakrol 5 g/kg

Çizelge 4.15. 30. ve 60. günde karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların karaciğer dokularında biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
30. GÜN	KN	18.44±253 ^d	3.44±0.32 ^b	53.24±1.73 ^c
	K1	107.76±2.90 ^a	17.94±1.86 ^a	135.18±1.89 ^a
	K3	41.88±2.33 ^c	5.79±0.67 ^b	85.70±9.55 ^b
	K5	76.75±3.10 ^b	5.34±0.60 ^b	67.14±1.59 ^{bc}
60. GÜN	KN	50.68±9.09 ^a	4.53±0.44 ^a	47.98±2.23 ^b
	K1	19.91±3.05 ^b	3.60±0.73 ^a	143.02±10.53 ^a
	K3	33.59±5.58 ^{ab}	4.86±0.34 ^a	65.82±9.96 ^b
	K5	54.28±5.28 ^a	4.04±0.52 ^a	42.09±0.57 ^b

n= 18 ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, K1: Karvakrol 1 g/kg, K3: Karvakrol 3g/kg, K5: Karvakrol 5 g/kg

30. günde en yüksek Cu düzeyi K1 grubunda gözlenmiştir, 60.günde ise K1 grubundaki balıkların Cu düzeyi kontrol grubuna göre düşük olarak bulunmuştur (p<0.05). 30. günde en yüksek Mn seviyesi K1 grubunda gözlenirken, 60. günde K1, K3 ve K5 grubundaki balıkların Mn düzeylerinde önemli bir değişim görülmemiştir. 30. günde balıklarda ki Zn düzeyleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir. 60. günde K1 grubundaki balıkların Zn düzeyi en yüksek seviyede bulunmuştur (p<0.05).

Çizelge 4.16. 30. ve 60. günde karvakrol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların plorik kesede biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
	KN	1.87±0.12 ^a	7.44±0.95 ^a	51.54±0.96 ^a
30. GÜN	T1	1.98±0.81 ^a	3.89±0.76 ^b	59.49±7.84 ^a
	T3	3.89±0.51 ^a	0.86±0.16 ^c	38.03±2.29 ^a
	T5	0.82±0.08 ^a	3.39±0.10 ^b	39.74±5.05 ^a
	KN	1.95±0.74 ^a	0.83±0.04 ^a	13.23±0.96 ^a
60. GÜN	T1	0.62±0.02 ^a	0.37±0.18 ^a	14.62±2.14 ^a
	T3	0.77±0.13 ^a	0.43±0.04 ^a	12,93±2.98 ^a
	T5	0.82±0.08 ^a	0.45±0.07 ^a	12.86±0.18 ^a

n= 18 ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, T1: Timol 1 g/kg, T3: Timol 3g/kg, T5: Timol 5 g/kg

30. ve 60. günde Cu miktarında değişim olmamıştır (p>0.05). 30. günde Mn seviyesi diğer gruplarda kontrol grubuna göre azalmıştır (p<0.05). 60. günde Mn miktarında değişim olmamıştır. 30. ve 60. günde Zn seviyesinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Çizelge 4.17. 30. ve 60. günde timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların kas dokularında biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
	KN	1.87±0.12 ^a	7.44±0.95 ^a	51.54±0.96 ^a
30. GÜN	T1	1.98±0.81 ^a	3.89±0.76 ^b	59.49±7.84 ^a
	T3	3.89±0,51 ^a	0.86±0,16 ^c	38.03±2.29 ^a
	T5	0.82±0,08 ^a	3.39±0,10 ^b	39.74±5.05 ^a
	KN	1.95±0.74 ^a	0.83±0.04 ^a	13.23±0.96 ^a
60. GÜN	T1	0.62±0.02 ^a	0.37±0.18 ^a	14.62±2.14 ^a
	T3	0.77±0.13 ^a	0.43±0.04 ^a	12.93±2.98 ^a
	T5	0.82±0.08 ^a	0.45±0.07 ^a	12.86±0.18 ^a

n= 18 ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, T1: Timol 1 g/kg, T3: Timol 3g/kg, T5: Timol 5 g/kg

30. ve 60. günde Cu miktarında değişim olmamıştır (p>0.05). 30. günde Mn seviyesi diğer gruplarda kontrol grubuna göre azalmıştır (p<0.05). 60. günde Mn miktarında değişim olmamıştır. 30. ve 60. günde Zn seviyesinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Çizelge 4.18. 30 ve 60 günde timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların karaciğer dokularında biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
30.GÜN	KN	18.44±2.53 ^b	3.44±0.32 ^b	53.24±1.73 ^c
	T1	28.30±7.74 ^b	5.90±1.73 ^{ab}	88.33±9.64 ^b
	T3	50.60±1.75 ^a	7.59±0.40 ^a	79.87±6.53 ^{bc}
	T5	25.39±7.01 ^b	7.76±0.51 ^a	161.30±8.42 ^a
60.GÜN	KN	50.68±9.09 ^{ab}	4.53±0.44 ^a	47.98±2.23 ^b
	T1	50.38±13.19 ^{ab}	1.73±0.31 ^a	103.32±4.83 ^a
	T3	22.76±2.31 ^b	2.71±0.16 ^a	64.75±10.79 ^b
	T5	62.94±3.63 ^a	4.01±1.17 ^a	46.54±2.18 ^b

n= 18 ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, T1: Timol 1 g/kg, T3: Timol 3g/kg, T5: Timol 5 g/kg

30. günde T3 grubunda Cu düzeyi en yüksek gözlenirken, 60. günde T3 grubunun Cu düzeyinde kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir. 30. günde Mn düzeyinde kontrol grubuna göre artış gözlenirken (p<0.05), 60. günde Mn düzeyinde gruplar arasında değişim gözlenmemiştir (p>0.05). Zn düzeyi ise 30. günde T5 grubunda, 60 günde T3 grubunda en yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.19. 60 gün boyunca timol ile beslenen ve kontrol grubunda yer alan balıkların plorik kese dokularında biriken iz element konsantrasyonları

Periyot		Cu	Mn	Zn
30.GÜN	KN	34.06±2.60 ^a	4.01±0.85 ^b	168.75±13.00 ^a
	T1	47.98±4.76 ^a	7.62±0.85 ^a	138.43±12.79 ^a
	T3	72.92±7.72 ^a	2.82±0.35 ^b	85.17±5.37 ^b
	T5	62.70±15.61 ^a	4.42±0.55 ^b	93.98±1.17 ^b
60.GÜN	KN	8.57±1.31 ^a	4.99±0.60 ^a	158.94±18.75 ^b
	T1	4.81±1.00 ^a	1.74±0.21 ^b	110.07±14.96 ^{ab}
	T3	5.31±0.66 ^a	2.27±0.33 ^b	127.59±5.62 ^{ab}
	T5	6.03±0.47 ^a	2.46±0.19 ^b	70.03±7.92 ^a

n= 18 ortalama±s.hata. Aynı sütunda farklı üstel harfler içeren gruplar arasında istatistiksel açıdan fark vardır (P<0.05). Cu: Bakır, Mn: Mangan, Zn: Çinko, KN: Kontrol, T1: Timol 1 g/kg, T3: Timol 3g/kg, T5: Timol 5 g/kg

30. ve 60. günde grupların pilorik keselerindeki Cu düzeyi önemli oranda değişim gözlenmemiştir (p>0.05). 30. günde Mn seviyesi en yüksek T1 grubunda gözlenirken, 60. günde Mn seviyesinde T1, T3 ve T5 gruplarında kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir (p<0.05). 30. günde plorik kesedeki Zn miktarı T3 ve T5 gruplarında kontrol grubuna göre azalma göstermiştir, 60. günde ise T5 grubunda pilorik kesede Zn düzeyi artış göstermiştir (p<0.05).

Her birinden %2 oranında (Oğul otu, adaçayı, sarı kantaron, yakı otu ve mineral) içeren bitkisel karışım tavuk yemlerine katılarak tavuklara 43 gün boyunca verilerek tavuk etlerinin farklı dokularında (karaciğer, bacak ve göğüs etinde) Zn, Cu ve Fe birikimlerine bakılmıştır. Fe, karaciğerde, Zn, tavukların bacak ve göğüs etlerinde baskın metallardır. Adaçayı ile zenginleştirilmiş diyet ile beslenen tavuklarda metal birikimi oranının yüksek olduğu görülmüştür (Stef ve Gergen, 2012). Farklı bir çalışmada Chlorella (tek hücreli bir su yosunu) ,inülin (früktoz oligomeri), sodyum alginat katkılarını diyetlere ekleyerek 11 gün sonunda domuzların bağışıklıkları üzerine etkisini ve karaciğerde ve dalakta bazı mikrobelerin biyoyararlanımlarını (Zn, Mn, Cu ve Fe) incelemiştir. Karaciğerde Cu ve Fe birikimi inülin içeren grupta en yüksektir, esansiyel yağ karışımı içeren grupta da kontrol grubuna göre artış olurken, Zn ve Mg nın önemli bir etkisi görülmemektedir, dalakta karaciğere göre iz elementi birikimi düşüktür (Taranu ve ark., 2012). Chlorella vulgaris ile beslenen hamile farelerde serum demir konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir (Janczyk, 2005). Bununla birlikte, balıklarda mineral kullanımı ve emilimi üzerinde bitki ekstratların etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Gabor ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada % 2 sarımsak + % 1 zencefil ve % 1 kekik + % 0.5 Ekinezya karışımları ile 13 hafta boyunca sazanları besleyerek deneme sonunda ette Selenyum birikimine bakmışlardır.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu doktora tezinde yeme kekik yağı ekstratları olan karvakrol veya timol farklı oranlarda ilave edilerek yavru alabalıklarda büyüme performansı, yem kullanımı, biyometrik ölçümler, immünolojik parametreler ve kan parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Timol ve karvakrol ekstratları ülkemizde yetişen kekik türlerinden elde edilerek balık yemlerinde kullanımı araştırılabilir.

- Çalışmada, yeme timol veya karvakrolün eklenmesi kontrol grubuna göre yemden yararlanma ve büyüme oranlarını doz arttıkça karvakrol gruplarında olumlu etkilerken, timol gruplarında olumsuz etkilemiştir.
- Balık etinde nem ve yağ oranında önemli bir değişikliğe yol açmazken, timolün düşük dozunda (T1) etteki protein oranı düşerken, karvakrolün düşük dozunda (K1) yükselmiş ve diğer gruplarda benzer bulunmuştur.
- Biyometrik ölçümlerden VSİ, HSI ve DSI değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir fark görülmezken, MFI değeri K5 grubunda K1 ve K3 gruplarına göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur.
- Lizozim ve miyeloperoksidaz değerleri balıklarda örnekleme yapılan 30. günde kontrol grubuna göre timol ve karvakrol eklenen yemlerle beslenen gruplarda önemli oranda artmıştır. Deneme sonunda yapılan kan analizlerinde istatistiki olarak önemli çıkmamakla beraber kontrol grubuna göre lizozim ve miyeloperoksidaz K5 ve T1 grupları hariç diğer deneme gruplarında daha yüksek olduğu görülmüştür.
- İmmunolojik bulgular, düşük dozda bile karvakrol ve timolün balıklarda ilk 30 gün içerisinde bağışıklık arttırdığını göstermektedir.
- Denemede balıkların kan biyokimyası incelendiğinde ilk 30 günde glikoz, toplam protein, albümin ve globülin değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Deneme sonunda yapılan analizlerde ise, timol ve karvakrol gruplarında genel olarak glikozun daha düşük olduğu görülmüştür. Bu da, özellikle timol ve karvakrol eklenen yemle beslenen gruplarda stresin daha az olduğunu göstermektedir. Kandaki globulin ve toplam protein miktarı timol ve

karvakrol gruplarında doz arttıkça artış eğilimi gösterirken, karvakrolün yüksek dozunda (K5) düşüş veya kontrol grubu ile benzerlik görülmüştür.

- 30. Günde yapılan trigliserid ve kollersterol testlerinde trigliserid değerleri tüm gruplarda benzer bulunurken, 60. günde K3 grubunda diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Kollersterol değerlerinde, 30 günde karvakrol ve timolün en yüksek dozu ile beslenen (K5ve T5) gruplarda düşüş gözlenirken 60. günde (deneme sonunda) T5 grubu hariç diğer tüm gruplarda benzer bulunmuştur.
- Deneme sonunda hematolojik bulgular incelendiğinde, tüm gruplarda hematokrit, kırmızı kan hücre sayısı ve ortalama eritrosit hacminde benzerlik görülmüş ve yeme eklenen timol ile karvakrolün bu değerler üzerine önemli bir etki yapmadığı anlaşılmaktadır.
- Hemoglobın ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın konsantrasyonunda K3 grubunda T1 grubundan düşük, diğerlerinde benzer olduğu görülmüştür.

Balıkların kas dokularında yapılan iz element analizlerinde, 30. günde K1 grubunda bakır düzeyi diğer gruplardan yüksek çıkmakla birlikte 60. günde kontrol hariç tüm gruplarda önemli oranda düşüş görülmüştür. Mangın ve çinko değerlerinde tüm gruplarda 60. günde genel olarak bir azalma gözlenmiştir.

5.2. Öneriler

- Çalışmada elde edilen sonuçlara göre: Balıklarda bağışıklık parametrelerinin iyileştirilmesi için karvakrol veya timol eklenmiş yemlerle balıkların 30 gün veya kısa süreli beslenmesi,
- Yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında daha iyi bir etki alabilmek için timol veya karvakrolün ayrı ayrı değil, ikisinin karışım şeklinde yeme eklenmesi veya karışım oranlarının araştırılması,
- İleride yapılacak çalışmalarda, timol ve karvakrolün balık kasında özellikle iz element değerlerini düşürmesinin araştırılması,
- Farklı ağırlıklarda alabalıklarda timol ve karvakrolün etkisinin araştırılması,
- Diğer balık türlerinde bağışıklık ve büyüme ve yemden yararlanma gibi parametrelere etkisini araştırılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- A.O.A.C., 2000. *Officinal Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist. EUA.
- Abasali H., Mohamad S., 2010. Immune Response of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fed with Herbal Immunostimulants Diets. *Agricultural Journal* 5, 163–172.
- Abdelhadi Y.M., Saleh O.A., Sakr S.F., 2010. Study on the Effect of Wormseed Plants *Artemisia Cina L.* and Chamomile *Matricaria Chamomilla L.* on Growth Parameters and Immune Response of African Catfish. *Clarias Gariepinus*. *Journal of Fisheries International* 5, 1–7.
- Abdel-Tawwab M., Ahmad M.H., Seden M.E.A., Sakr S.F.M., 2010. Use of Green Tea, *Camellia Sinensis L.*, in Practical Diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus*, Against *Aeromonas Hydrophila* Infection. *J World Aquaculture Soc*, 41:203e13.
- Abutbul S., Golan-Goldhirsh A., Barazani O., Zilberg D., 2004. Use of *Rosmarinus Officinalis* as a Treatment Against *Streptococcus Iniae* in *Tilapia Oreochromis* sp. *Aquaculture* 1 238(1-4): 97-105.
- Aengwanich W., Tanomtong A., 2004. Hematological and Serum Biochemical Values of White Ibis (*Threskiornis melanocephalus*), *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(6): 823-828.
- Agricultural Research Service (ARS), 2002 Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. <http://www.ars-grin.gov/duke/> Assessed at June.
- Ahmadifar E., Falahatkar B., Akrami R., 2011. Effects of Dietary Thymol-Carvacrol on Growth Performance, Hematological Parameters and Tissue Composition of Juvenile Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Appl. Ichthyol.* 27, 1057–1060.10.1111/j.1439-0426.2011.01763.x.
- Ainsworth A.J., 1992. Fish Granulocytes: Morphology, Distribution and Function. *Annual Review of Fish Diseases*, 2: 123-148.
- Akiyama D.M., 1988. Soybean Meal Utilization in Fish Feeds. Korean Feed Association Conference. Seoul, Korea.

- Akyurt I., Erdogan O., 1994. Farklı Orijinli Lipidlerin Gökkuşuğu Alabalığı Fingerlingleri (*Oncorhynchus mykiss*) Rasyonunda Kullanılabilme Olanakları Üzerine Bir Araştırma. *J. Of Veterinary and Animal Sciences*. 18: 73-77. TUBITAK, Ankara, Turkey.
- Alcicek A., Bozkurt M., Cabuk M., 2003. The Effect of An Essential Oil Combination Derived from Selected Herbs Growing Wild in Turkey on Broiler Performance. *South African Journal of Animal Science* 33, 89–94.
- Alderman D.J., Hastings T.S., 2003. Antibiotic Use in Aquaculture: Development of Antibiotic Resistance-Potential for Consumer Health Risks. *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 33, No. 2, pp. 139–155.
- Aldrin J.F, Messenger J.L., Laurencin F.B., 1982. La Biochimie Clinique Aquaculture. Interet et perspective. CNEOX Actes Colloq., 14, 291-326.
- Alexander C.P., Kirubakaran C.J.W., Michael R.D., 2010. Water Soluble Fraction of *Tinospora Cordifolia* Leaves Enhanced the Non-specific Immune Mechanisms and Disease Resistance in *Oreochromis Mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology* 29, 765–772.
- Almeida-Val V.M.F., Val A.L., Duncan W.P., Souza F.C.A., Paula-Silva M.N., Land S., 1992. Scaling Effects on Hypoxia Tolerance in the Amazon Fish *Astronotus Ocellatus* (Perciformes: Cichlidae): Contribution of Tissue Enzyme Levels. *Comp. Biochem. Physiol.* 125B, 219-226.
- Alsop D.H., Wood C. M., 1999. *Can J. Fish Aquat. Sci.* 56, 2112.
- Alvarez-Pellitero P., 2008. Fish Immunity and Parasite Infections: from Innate Immunity to Immunoprophylactic Prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 126, pp. 171–198.
- Amiconi G., Bertollini A., Bellelli A., Coletta M., Condo S.G., Brunori M., 1985. Evidence for Two Oxygen-Linked Binding Sites for Polyanions in Dromedary Hemoglobin. *Eur J Biochem*, 150: 387-393.
- Anderson D.P., 1992. Immunostimulants, Adjuvants and Vaccine Carriers in Fish: Application to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 2, 281–307.

- Anderson D.P., Zeeman M.G., 1995. Immunotoxicology in Fish. In: G.M. Rand (Ed.) *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, pp. 371-404. Taylor and Francis, Washington.
- Anonymous, 1998. Feed Additives: The Added Value to Feed. NEFATO Vereniging Van Nederlandse Fabrikanten Van Voedertoevoegingen. Aalsmeer.
- Anonymous, 2002. Regulation of Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs. *Official Gazette*, October 16, Iss: 24908.
- Aoki T., Takano T., Santos M.D., Kondo H., 2008. Molecular Innate Immunity in Teleost Fish: Review and Future Perspectives. In: *Fisheries for Global Welfare and Environmental, Memorial book of the 5th World Fisheries Congress*, K. Tsukamoto, T. Kawamura, T. Takeuchi, T.D. Beard, Jr. & M.J. Kaiser (Eds.), 263-276, ISBN 978-4- 88704-144-8, Terrapub, Setagaya-ku, Japan.
- Ardó L., Yin G., Xu P., Váradi L., Szigeti G., Jeney Z., 2008. Chinese Herbs (*Astragalus Membranaceus* and *Lonicera japonica*) and Boron Enhance the Nonspecific Immune Response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Resistance Against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275:26e33.
- Arikan H., İpagut-Keskin N.A., Çevik E., Erişmiş U.C., 2010. A Study on the Blood Cells of the Fire-Bellied Toad, *Bombina bombina* L. (Anura: Bombinatoridae). *Anim. Biol.*, 60, 61-68.
- Arnone A., 1972. X-ray Diffraction Study of Binding of 2,3-Diphosphoglycerate to Human Deoxyhaemoglobin. *Nature*, 237: 146-149.
- Arthur P.G., Kent J.C., Potter J.M., Hartmann P.E., 1991. Lactose in Blood in Nonpregnant, Pregnant, and Lactating Women. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 13(3):254–259.
- Asadi M.S., Mirvaghefi A.R., Nematollahi M.A., Banaee M., Ahmadi K., 2012. Effects of Watercress (*Nasturtium nasturtium*) Extract on Selected Immunological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Journal* 2: 32- 39.
- Ashraf W., 2005. Accumulation of Heavy Metals in Kidney and Heart Tissues of Epinephelus Microdon fish from the Arabian Gulf. *Environmental Monitoring And Assessment*, 101, 311–316.

- Athanasiadou S., Kyriazakis I., 2004. Plant Secondary Metabolites: Antiparasitic Effects and Their Role in Ruminant Production Systems. *Proceedings of the Nutrition Society* 63, 631–639.
- Athanassopoulou F., Kotou E. Watsos E., Giagnisi M., 2000. Study of the Bacteriostatic ability of an *Angelica sp.* Derived Compound Used for the Enrichment of Live Feed of Marine Fish. *Journal of the Hellenic Veterinary Association* 51: 293-296.
- Austin B., Brunt J.W., 2009. The use of Probiotics in Aquaculture, Chapter 7. In: *Aquaculture Microbiology and Biotechnology: Volume 1*, D. Montet & R.C. Ray (Eds), 185-207, Science Publishers, ISBN 978-1-57808-574-3, Enfield, New Hampshire, USA.
- Awad E., Austin B., 2010. Use of Lupin, *Lupinus Perennis*, Mango, *Mangifera Indica*, and Stinging Nettle, *Urtica Dioica*, as Feed Additives to Prevent *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 33, 413–420.
- Babior B.M., 2000. *Phagocytes and oxidative stress*. *Am J Med*, 109(1): p. 33-44.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological Effects of Essential oils--a review. In: *Food and Chemical Toxicology. International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. 46 (2), pp. 446-75.
- Balcázar J.L., de Blas I., Ruiz-Zazuela I., Cunningham D., Vandrell D., Muzquiz J.L., 2006. The Role of Probiotics in Aquaculture. *Veterinary Microbiology* 114, 173–186.
- Bampidis V., Christodoulou V., Florou-Paneri P., Christaki E., 2006. Effect of Dried Oregano Leaves Versus Neomycin in Treating Newborn Calves with Colibacillosis. In: *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*. 53 (3), pp. 154-6.
- Baratta M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Biondi D.M., Ruberto G. 1998. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essentials Oils. *The J. Essent. Oil Res.*, **10**: 618-627.
- Bartoli P., Gibson D.I. 2007. The status of *Lecithochirium Grandiporum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Hemiuridae), a Rarely Reported and Poorly Known Species from the

- Mediterranean Moray eel *Muraena helena* L. in the Western Mediterranean. *Syst. Parasit.*, 68, 183-194.
- Begum A., Amin M.N., Kaneco S., Ohta K., 2005. Selected Elemental Composition of the Muscle Tissue of Three Species of Fish, *Tilapia nilotica*, *Cirrhina mrigala* and *Clarius batrachus*, from Fresh Water Dhanmondi Lake in Bangladesh. *Food Chemistry*, 93, 439–443.
- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A., Beauchemin K.A. 2008. A Review of Plant-Derived Essential Oils in Ruminant Nutrition and Production“. In: *Animal Feed Science and Technology*. 145 (1-4), pp. 209-228.
- Berenbrink M., 2006. Evolution of Vertebrate Haemoglobins: Histidine Side Chains, Specific Buffer Value and Bohr Effect. *Respir Physiol Neurobiol* 154: 165-184.
- Bever K., Chenoweth M., Dunn A., 1977. Glucose Turnover in the Kelp Bass (*Paralabrax* sp.) in Vivo Studies With [6-H,6-¹⁴C] Glucose. *Am J Physiol* 232:R66-R72.
- Bilen S., Bilen A.M., 2012. Tetra (*Cotinus coggygia*) ve Defne (*Laurus nobilis*) Bitkilerinin Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Büyüme ve Teşvik Edici Etkileri. *Alinteri* 22(B): 26-33.
- Bilen S., Bulut M., 2010. Effects of Laurel (*Laurus nobilis*) on the Non-Specific Immune Responses of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)", *Journal of Animal Veterinary Advances*, Vol 9 (8), pp., 1275-1279.
- Bilen S., Bulut M., Bilen A.M., 2011. Immunostimulant Effects of *Cotinus Coggyria* on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology* 30, 451–455.
- Blaxhall P.C., Daisley K.W., 1973. Routine Haematological Methods for Used with Fish Blood. *J.Fish Bio.*, 5: 771 – 781.
- Blazer V.S., Wolke R.E., 1984. The Effects of A-Tocopherol on the Immune Response and Non-specific Resistance Factors of Rainbow Trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Aquaculture* 37, 1–9.
- Bonilla-Rodriguez G.O., Poy C.D., 2004. The Combined Effect of Phosphate Binding to Two Sites and Protons Can Lock the Major Hemoglobin from *Brycon cephalus*

- (matrinxã) in a T-state. *The Molecular Basis of Environmental Adaptation: Symposium Proceedings*. August 1-5, Manaus. *American Fisheries Society*; p 83-96.
- Boshra H., Li J., Sunyer J.O., 2006. Recent Advances on the Complement System of Teleost Fish. *Fish Shellfish Immunol*, 20: 239-262.
- Botsoglou N., Florou-Paneri P., Christaki E., Fletouris D., Spais A.B., 2002. Effect of Dietary Oregano Essential Oil on Performance of Chickens and on Iron-Induced Lipid Oxidation of Breast, Thigh and Abdominal Fat Tissues. *British Poultry Science* 43, 223–230.
- Bounocore F., Scapigliati G., 2009. Immune Defence Mechanism in The Sea Bass *Dicentrarchus labrax* L., Chapter 6, In: *Fish Defenses, Volume 1: Immunology*.
- Bricknell I., Dalmo R.A., 2005. The Use of Immunostimulants in Fish Larval Aquaculture. *Fish Shellfish Immunol*. 19, 457–472.
- Bricknell IR., Bowden TJ., Bruno DW., MacLachlan P., Johnstone R., Ellis AE.,1999. Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L). to Infection with Typical and Atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 175, 1–13.
- Brittain T., 2005. Root Effect Hemoglobins. *J Inorg Biochem* 99: 120- 129.
- Burda S., Oleszek W., 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 2774-2779.
- Burt S., 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods--A Review. In: *International journal of Food Microbiology*. 94 (3), pp. 223-53.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A., Kamel C., 2006. Plant Extracts Affect In Vitro Rumen Microbial Fermentation.“. In: *Journal of Dairy Science*. 89 (2), pp. 761-71.
- Cabezas L.R., 2006. Functional Genomics in Fish: Towards Understanding Stress and Immune Responses at a Molecular Level. *PhD Thesis*, 1-223, Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation.“. In: *Journal of Dairy Science*. 90 (6), pp. 2580-95.

- Calsamiglia S., Castill L., Busquet M., 2006. *Alternatives to Antimicrobial Growth Promoters in Cattle. In: Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy, J. Wiseman (eds), Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 129–167.
- Campbell T., Ellis W. 2007. *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*. 3rd ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA.
- Cardozo P., Kamel C., Greathead H.M.R., Jintasataporn O., 2008. Encapsulated Plant Extracts as Dietary Enhancers of Growth, Feeding Efficiency and Immunity in White Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) Under Normal and Stress Conditions. Aqua 2008. X Congresso Ecuatoriano de Acuicultura & Aquaexpo. October 6–9. Guayaquil. Ecuador. Abstract.
- Case G.L., He L., Mo H., Elson C.E., 1995. Induction of Geranyl Pyrophosphate Pyrophosphatase Activity by Cholesterol-Suppressive Isoprenoids. *Lipids* 30: 357-359.
- Celik U., Oehlenschlager J., 2004. Determination of Zinc and Copper in Fish Samples Collected from Northeast Atlantic By DPSAV. *Food Chemistry*, 87, 343–347.
- Cepreganova B., Wilson J.B., Webber B.B., Kjovkareska B., Efremov G.D., Huisman T.H., 1992. Heterogeneity of The Hemoglobin of The Ohrid trout (*Salmo L. typicus*). *Biochem Genet*, 30: 385-399.
- Chakraborty S.B., Hancz C., 2011. Application of Phytochemicals As Immunostimulant, Antipathogenic and Antistress Agents in Finfish Culture. *Reviews in Aquaculture* 3, 103–119.
- Channonachookhin C., Seiaki T., Tonaka M., 1991. Comparative Study of The Lymphoid Organs in Three Species of Marine Fish. *Aquaculture*, 99: 143-155.
- Cho C.Y., Cowey C.B., 1991. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. R.P. Wilson (Ed.), *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*, CRC Press, 131-143.
- Cho C.Y., Slinger S.J., Bayley H.S., 1982. Bioenergetics of Salmonid Fishes: Energy Intake, Expenditure and Productivity. *J. Biochem. Physiol.* 73 B: 25-41.
- Choudhury R.P, Reddy A.V.R., Garg A.N., 2007. Availability of Essential Elements in Nutrient Supplements Used as Antidiabetic Herbal Formulations. *Biol Trace Elem Res* 120:148–162.

- Christaki E., Florou-Paneri P., Giannenas I., Papazahariadou M., Bostoglou N., Spais A.B., 2004. Effect of A Mixture of Herbal Extracts on Broiler Chickens Infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research* 53, 137–144.
- Christyapita 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 and Shellfish Immunology* 23, 840–852.
- Clauss T.M., Dove A.D.M., Arnold J.E., 2008. Hematologic Disorders of Fish, Veterinary clinics of North America. *Ex. Anim. Pract.*, 11, 445-462.
- Collins S.A., Desai A.R., Mansfield G.S., Hill J.E., Van Kessel A.G., Drew D.M., 2012. The Effect of Increasing Inclusion Rates of Soybean, Pea and Canola Meals and Their Protein Concentrates on The Growth of Rainbow Trout: Concepts in Diet Formulation and Experimental Design for Ingredient Evaluation. *Aquaculture*, 344–349: 90–99.
- Cornish I., Moon T.W., 1985. Glucose and Lactate Kinetics in American eel *Anguillarrostrata*. *Am. J. Physiol.* 249, R67-R72.
- Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., Plamas, F. 1999. In Vitro Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian Thymus Essential Oils. In *Letters in Applied Microbiology*. vol. 29, 1999, p. 130–135.
- Craig W.J., 1999. Health-Promoting Properties of Common Herbs. *American Journal of Clinical Nutrition* 70 (suppl): 491S-499S.
- Cross D., McDevitt R.M., Hillman K., Acamovic T., 2007. The Effect of Herbs and Their Associated Essential Oils on Performance, Dietary Digestibility and Gut Microflora in Chickens from 7 to 28 Days of Age. In: *British poultry science*. 48 (4), pp. 496-506.
- Çağiltay F., 2011. *İçsu Balıkları Yetiştiriciliği*, Nobel Yayınevi, Ankara.
- Çağiltay F., Diler İ., Varlık C., 2011. The Effects Of Bay Leaf On Rainbow Trouts Growth, Aromatic and Meat Composition, *Journal Of Animal And Veterinary Advances Java*, vol.10, pp.1914-1915.

- Dada A.A., Ikuerowo M., 2009. Effects of Ethanolic Extracts of Garcinia Kola Seeds on Growth and Haematology of Catfish (*Clarias gariepinus*) Broodstock. *African Journal of Agricultural Research* 4, 344–37.
- Daferera D.J., Ziagos B.N., Polissiou M.G., 2003. The Effectiveness of Plant Essential Oils on The Growth of *Botrytis Cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* spp. *Michiganensis*. *J. Crop. Protect.* 22, 39–44.
- Dafré A.L., Reischl E., 1997. Asymmetric Hemoglobins Their Thiol Content and Blood Glutathione of The Scalloped Hammerhead Shark, *Sphyrna lewini*. *Comp Biochem Physiol B* 116: 323-331.
- Davidson W.S., Bartlett S.E., Biri T.P., Birt V.L., Green J.M. 1988. Identification and Purification of Serum Albumin from Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Oomp. Biochem.*
- Davis A.K., Milanovich J.R., DeVore J.L., Maerz J.C., 2009. An Investigation of Factors Influencing Erythrocyte Morphology of Red-Backed Salamanders *Anim. Biol.*59, 201-220.
- Davis J.F., Hayasaka S.S., 1984. The Enhancement of Resistance of the American Eel, *Anguilla rostrata* Le Sueur, to a Pathogenic Bacterium *Aeromonas hydrophila*, by an Extract of The Tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *J. Fish Dis.* 7, 311–316.
- de Oliveira C., Taboga S.R., Smarra A.L., Bonilla-Rodriguez G.O., 2001. Microscopical Aspects of Accessory Air Breathing Through Modified Stomach in The Srmoured Catfish *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes, Loricariidae). *Cytobios*, 105: 153-162.
- Denli M., Okan F., Uluocak A.N., 2004. Effect of Dietary Supplementation of Herb Essential Oils on the Growth Performance, Carcass and Intestinal Characteristics of Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Afr. J. Anim. Sci.* 34(3):174-179.
- Didry N., Dubreuil L., Pinkas M., 1994. Activity of Thymol, Carvacrol, Cinnamaldehyde and Eugenol on Oral Bacteria. *Pharm. Acta Helv.* 69:25–28.
- Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *J. Appl. Microbiol.* 88:308–316.
- Dove A.D.M., Arnold, J., Clauss T.M., 2010. Blood Cells and Serum Chemistry in The World's Largest Fish: The Whale Shark Rhincodon Typus. *Aquat. Biol.*, 9, 177-183.

- Duke J.A., 1986. *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, Florida.
- Düğenci S.K., Arda N., Candan A., 2003. Some Medicinal Plants as Immunostimulant for Fish. *Journal of Ethnopharmacology* 88, 99–106.
- Edwards P.A., Ericsson J., 1998. Signalling Molecules Derived from Cholesterol Biosynthetic Pathway: Mechanisms of Action and Possible Roles in Human Disease. *Curr opion lipid*.433-40.
- Eisler R., 1980. In “Zinc in the Environment” (J. O. Nriagu, ed.), Vol. 2, pp. 259–351. John Wiley & Sons, New York.
- El-Hüseiny O, Abdallah A., Abdel-Latif K.O., 2008. The Influence of Biological Feed Additives on Broiler Performance. *Int J Poult Sci*, 7 (9): 862- 871.
- Ellis A.E., 1990. Lysozyme assays, ed: Stolen JS., Fletcher TC., Anderson DP., Roberson BS., van Muiswinkel WB., NJ: SOS Publications.Pp: 101-103.
- Ellis A.E., 2001. Innate Host Defense Mechanisms of Fish Against Viruses and Bacteria. *Developmental and Comparative Immunology*. Vol. 25, pp. 827-839.
- Elson C.E., 1995. Suppression of Mevalonate Pathway Activites by Dietary Isoprenoids: Protective Roles in Cancer and Cardiovascular Disease. *J. Nutr.* 125: 1666-1672.
- Erener G., Ocak N., Ak B.F., Altop A., 2005. Nane (mentol) veya Kekik (karvakrol) Esans Yağı İlave Edilen Karmalar ile Yemlenen Etlik Piliçlerin Performansları. III. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 7–10 Eylül 2005, s. 58–62 Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Adana.
- Espenes A., Press C., Danneving B.H., Landsverk T., 1995. Immune-Complex Trapping in The Splenic Ellipsoids of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cell and Tissue Research*, Vol. 282, pp. 41-48.
- Evelyn T.P.T., 2002. Finfish Immunology and Its Use in Preventing Infectious Diseases in Cultured Finfish. In Lavilla-Pitogo, C.R. and Cruz-Lacierda, E.R. (eds.). *Diseases in Asian Aquaculture IV*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila. p. 303-324.
- Fago A., Forest E., Weber R., 2002. Hemoglobin and Subunit Multiplicity in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Hemoglobin System. *Fish Physiol Biochem*, 24: 335-342.

- Fago A., Hundahl C., Malte H., Weber R.E., 2004. Functional Properties of Neuroglobin and Cytochrome b5. Insights into The Ancestral Physiological Roles of Globins. *IUBMB Life*, 56: 689-696.
- Fänge R., 1992. Fish Blood Cells. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, editors. Fish Physiology, Vol 12B:1-54. SanDiego, CA: Academic Press Inc.
- FAO/WHO/OIE, 2006. Expert Consultation on Antimicrobial Use in Aquaculture and Antimicrobial Resistance. Republic of South Korea, Seoul.
- Farahi A., Kasiri M., Sudagar M., Iraei M.S., Shahkolaei M.D., 2010. Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Growth Factors, Some Hematological Parameters and Body Compositions in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *AAFL BIOFLUX Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 3 (4), 317–323.
- Farahi A., Kasiri M., Sudagar M., Iraei M.S., Zorriehzahra S.M.J., 2012. Effect of Dietary Supplementation of *Melissa Officinalis* and *Aloe vera* on Hematological Traits, Lipid Oxidation of Carcass and Performance in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1: 1-5.
- Fearon D.T., Locksley R.M., 1996. The Instructive Role of Innate Immunity in The Acquired Immune Response. *Science*, Vol. 272, pp. 50-53.
- Fellows F.C.I., Hird F.J.R., 1981. Fatty Acid Binding Proteins in The Serum of Various Animals. *Comp. Biochem. Physiol. B*. 68B: 83–87.
- Fellows F.C.I., Hird J.R., McLean R.M., Walker T.I., 1980. A Survey of The Non-Esterified Fatty Acids and Binding Proteins in The Plasmas of Selected Animals. *Comp. Biochem. Physiol. B*. 67B: 593–597.
- Filho D.W., Elbe G.J., Cancer G., Caprario F.X., Dafne A.L. 1992. Comparative Hematology in Marine Fish. *Comp. Biochem. Phys. A*, 102, 311-321.
- Fletcher G.L., 1975. The Effects of Capture 'Stress' and Storage of Whole Blood on The Red Blood Cells, Plasma Proteins, Glucose, and Electrolytes of Winter Flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) *Can. J. Zool.* 53: 197-206.
- Fletcher T.C., White, A., 1973. Antibody Production in Plaice (*Pleuronectes plotessa*) After Oral and Parenteral Immunization with *Vibrio anguillarum* Antigens. *Aquaculture*, 1: 417-428.

- Folch J., Lees M., Sloane S.G.H., 1957. A simple Method for The Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. *The Journal of biological chemistry*. 226, 497-509.
- Francis G., Makkar H.P.S., Becker K., 2005. Quillaja Saponins — A Natural Growth Promoter in Fish Science and Technology 121, 147–157. *Animal Feed*.
- Fraser G.R., Chaves A.V., Wang Y., McAllister T.A., Beauchemin K.A., Benchaar C., 2007. Assessment of The Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems.“. In: *Journal of dairy science*. 90 (5), pp. 2315-28.
- Frey B.J., Weber R.E., Van Aardt W.J., Fago A., 1998. The Haemoglobinsystem of The Mudfish, *Labeo capensis*: Adaptations to Temperature and Hypoxia. *Comp Biochem Physiol* , 120: 735-742.
- Gabbianelli R., Zolese G., Bertoli E., Falcioni G., 2004. Correlation Between Functional and Structural Changes of Reduced and Oxidized Trout Hemoglobins I and IV at Different pHs. A Circular Dichroism Study. *Eur J Biochem*, 271: 1971-1979.
- Gabor E., Şara A., Benţea M., Creţa C., Baciú A., 2012. The Effect of Phytoadditive Combination and Growth Performances and Meat Quality in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Science and Biotechnologies*, 45 (2): 43-47.
- Galeotti M., 1998. Some Aspects of The Application of Immunostimulants and A Critical Review of Methods for Their Evaluation. *Journal of Applied Ichthyology* 14, 189–199.
- Galeotti M., Volpatti D., Bulfon C., 2013. Current Research on The Use of Plant-Derived Products in Farmed Fish. *Aquaculture research*.1-39.
- Galindo-Villegas J., Hosokawa H., 2004. Immunostimulants: Towards Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. In: *Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, L. E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie, M. G. Nieto López, D. Villarreal, U. Scholz & M. Gonzalez (Eds.), 279-319, 16-19 Noviembre 2004, Hermosillo, Sonara, México.
- Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Krogdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E., 2007. Expanding The Utilization of

- Sustainable Plant Products in Aquafeeds: A Review. *Aquaculture Research* 38, 551–579.
- Gatlin D.M., Phillips H.F., Torrains E.L., 1989. Effects of Various Levels of Dietary Copper and Zinc on Channel Catfish. *Aquaculture*, 76:127-134.
- Gatlin D.M., Wilson R.P. 1984a. Zinc Supplementation of Practical Channel Catfish Diets. *Aquaculture* 41, 31-36.
- Gatlin D.M., Wilson R.P., 1983, Dietary Zinc Requirement of Fingerling Channel Catfish. *J. Nutr.*, 113:630-5.
- Gatlin D.M., Wilson R.P., 1984b. Studies on The Manganese Requirement of Fingerling Channel Catfish. *Aquaculture* 41, 85–92.
- Gatlin D.M., Wilson R.P., 1986. Characterization of Iron Deficiency and The Dietary Iron Requirement of Fingerling Channel Catfish. *Aquaculture* 52, 191–198.
- Gatlin III, D.M., Bai, S.C., Erickson, M.C., 1992. Effects of Dietary Vitamin E and Synthetic Antioxidants on Composition and Storage Quality of Channel Catfish, *Ictalurus Punctatus*. *Aquaculture* 106, 323–332.
- Giannenas I., Florou-Paneri P., Botsoglou N., Christaki E., Spais A.B., 2005. Effect of Supplementing Feed With Oregano and/or A-Tocopheryl Acetate on Growth of Broiler Chickens and Oxidative Stability of Meat. *Journal of Animal And Feed Sciences* 14, 521–535.
- Giannenas I., Triantafillou E., Stavrakakis S., Margaroni M., Mavridis S., Steiner T., Karagouni 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: 26–32.
- Giardina B., Mosca D., De Rosa M.C., 2004. The Bohr Effect of Haemoglobin in Vertebrates: An Example of Molecular Adaptation to Different Physiological Requirements. *Acta Physiol Scand* ,182: 229-244.
- Gill C., 1999. Herbs and Plant Extracts as Growth Enhancers. *Feed International*, 20-22 pp.

- Glomski C.A., Tamburlin J., Chainani M., 1992. The Phylogenetic Odyssey of The Erythrocyte. III. Fish, The Lower Vertebrate Experience. *Histol Histopathol*, 7: 501-528.
- Goda A.M.A.S., 2008. Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization, and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus* (L.) Fingerlings. *Journal Of The World Aquaculture Society* 39, 205–214.
- Goddard S., 1996. Feed Management in Intensive Aquaculture, Chapman & Hall, New York, 194 pp.
- Gomez-Carneiro, R., Felzenszwalb L., Paumgarten F.J. 1998. Mutagenicity Testing (+)-Camphor, 1,8 Cineole, Citral, Citronellol, (-) - Menthal and Terpeneol With The Salmonella Microsome Assay. *J. Mutat. Res.* 416, 129–136.
- Gowenlock A.H., 1988. *Varley's Practical Clinical Biochemistry*. Sixth Edition. London; Heineman Medical Books, 407-20, 499-504, 528, 744-6.
- Griessler K., Encarnação P., 2009. Fumonisin—Mycotoxins of Increasing Importance in Fish! *Aquacult Asia Magazine* XIV 2:24–26.
- Grinde B., 1989. Lysozyme from Rainbow Trout as An Antibacterial Agent Against Fish Pathogens. *J. Fish Dis.*12: 95-104.
- Grinde B., Jolles J., Jolles P., 1988. Purification and Characterization of Two Lysozymes from Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Euro. J. Biochem.* 173: 269-273.
- Guenther E., 1949. The Essential Oils. Vol. 2. Van Nostrand, New York.
- Gutierrez J., Fernandez J., Planas J., 1988. Seasonal Variations of Insulin and Some Metabolites in Dogfish Plasma, *Scvl Iorhinus Canicula*, L. *General and Comparative Endocrinology* 70: 1 -S.
- Haghighi M., Rohani S.M., 2013. The Effects of Powdered Ginger (*Zingiber Officinale*) on The Haematological and Immunological Parameters of Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss*. *Journal of Medicinal Plant and Herbal Therapy Research* Vol. 1(1), Pp. 8-12.

- Haider G., 1970. Hämatologische Beobachtungen An Regenbogenforellen (*Salmo Gairdneri Rich.*) I. Alters-Und Jahreszeitlich Bedingte Schwankungen Des Hämoglobingehaltes. *Zool Anzeiger* 185: 36-46.
- Hardy R.W., Shearer K.D., 1985. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **42**, 181.
- Hardy R.W., Sullivan C.V., Koziol A.M. 1987. *Fish Physiol. Biochem.* **3**, 133.
- Harikrishnan R., Balasundaram C., Heo M.S., 2010. Herbal Supplementation Diets on Hematology and Innate Immunity in Gold Fish Against *Aeromonas Hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol*, 28:354e61.
- Harikrishnan R., Kim J.S., Kim M.C., Balasundaram C., Heo M.S., 2011a. Kalopanax Pictus as Feed Additive Controls Bacterial and Parasitic Infections in Kelp Grouper, *Epinephelus Bruneus*. *Fish and Shellfish Immunology* 31, 801–807.
- Harikrishnan R., Kim M.C., Kim J.S., Kim D.H., Hong S.H., Heo M.S., 2011b. Alnus Firma Supplementation Diet on Haematology and Innate Immune Response in Olive Flounder Against *Tenacibaculum Maritimum*. *Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy* 55, 649–655.
- Harvey R.A., 2013. *İmmunoloji*, Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, 376.
- Hasan M.R., 2001. Nutrition and Feeding for Sustainable Aquaculture Development in The Third Millennium. In: R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. Mcgladdery And J.R. Arthur (Eds). *Aquaculture in The Third Millennium. Technical Proceedings of The Conference on Aquaculture in The Third Millennium*, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000. NACA, Bangkok And FAO, Rome: 193-219.
- Hergenç G., 2012. *Kan Yağları ve Kolestrol Ateroskleroz ve Risk Faktörleri*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 344.
- Hickey C.R., 1976. Fish Haematology, Its Uses and Significance. *N.Y. Fish Game J.*, 23, 170-175.
- Hilton J.W., Atkinson J.L., 1982. Response of Rainbow Trout *Salmo Gairdneri* To increased Levels of Available Carbohydrate in Practical Trout Diets. *British J. Nutr.*, 47: 597-607.
- Hoffmann K., 2009. Stimulating Immunity in Fish and Crustaceans: Some Light But More Shadows. *Aqua Culture Asia Pacific Magazine*, Vol. 5, No. 5, Pp. 22-25.

- Hogstrand C., Wood C.M., 1996. The Physiology of Zinc in Teleost Fish. In: SEB Seminar Series - Aquatic Toxicology (Eds. E.W. Taylor And M. Murphy), Vol. 57, Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- Hølvold L.B., 2007. Immunostimulants Connecting Innate and Adaptive Immunity in Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). *Master in Biology-Field of Study Marine Biotechnology*, 1- 69, Department of Marine Biotechnology, Norwegian College of Fishery Science, University of Tromsø, Tromsø, Norway.
- Horsberg T.E., 2003. Aquatic Animal Medicine. *Journal Of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 26, No. 1-2, Pp. 39-42.
- Horton G.M.J., Fennell M.J., Prasad B.M., 1991. Effect of Dietary Garlic (*Allium Sativum*) on Performance, Carcass Composition and Blood Chemistry Changes in Broiler Chickens. *Can. J. Anim. Sci.*, **71**: 939-942.
- Hrubec T.C., Smith S.A., 2000. Hematology of Fish. in: B.F. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.) *Schlam's Veterinary Hematology*, Pp. 1120-1125. Lippincott Williams And Wilkins. Int.
- Hunn J.B., Greer I.E., 1990. Colorimetric and Refractometer Estimates of Total Plasma Protein In Striped Bass, *Marone Saxatilis* (Walbaum). *J. Fish Biol.* 36, 617–618.
- Immanuel G, Vincy Bai V.C, Palavesam A., Peter Marian M., 2004. Effect of Butanolic Extracts from Terrestrial Herbs and Seaweeds on The Survival, Growth and Pathogen (*Vibrio Parahaemolyticus*) Load on Shrimp *Penaeus Indicus* Juveniles. *Aquaculture* 236:53–65. Doi:10.1016/J.Aquaculture.2003.11.033.
- Immanuel G., Uma R.P., Iyapparaj P., Citarasu T., Punitha P.S.M., Michael B.M., Palavesam A., 2009. Dietary Medicinal Plant Extracts Improve Growth, Immune Activity and Survival of Tilapia *Oreochromis Mossambicus*. *Journal of Fish Biology* 74, 1462–1475.
- Isman M.B., 2000. Plant Essential Oils for Pest and Disease Management. *J. Crop Protect.* 19, 603–608.
- Ispir U., Gokhan B., Ozcan M., Dorucu M., Saglam N., 2009. Immune Response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) to Selected Antigens of *Yersinia Ruckeri*. *Acta Vet. Brno.* 78, 145–150.

- Jalali M. A., Ahmadifar E., Sudagar M., Azari Takami G., 2009. Growth Performance, Body Composition, Survival and Haematological Change in Great Sturgeon (*Huso Huso* Linnaeus, 1758) Juveniles Fed Diets Supplemented with Different Levels of Ergosan. *Aquac. Res.* 40, 804–809.
- Jamroz D., Kamel C., 2002. Plant Extracts Enhance Broiler Performance. *Journal of Animal Science* 80 (Suppl. 1), 41.
- Jamroz D., Orda J., Kamel C., Williczkiewicz A., Wertelecki T., Skorupin'Ska J., 2003. The Influence of Phytogenic Extract on Performance, Nutrients Digestibility, Carcass Characteristic and Gut Microbial Status in Broiler Chickens. *J. Anim. Feed Sci.*, 12(3): 583-596.
- Jang I., Ko Y.H., Kang Y.S., Lee C.Y., 2007. Effect of A Commercial Essential Oil on Growth Performance, Digestive Enzyme Activity and Intestinal Microflora Population In Broiler Chickens“. In: *Animal Feed Science And Technology*. 134 (3-4), Pp. 304-315.
- Jansson E., 2002. Bacterial Kidney Disease in Salmonid Fish: Development of Methods to Assess Immune Functions in Salmonid Fish During Infection By *Renibacterium Salmoninarum*. *Phd Thesis*, 1-52, Department of Pathology and Department of Fish, National Veterinary Institute, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Jayaraju N., Reddy B.C.S.R., Reddy K.R., 2008. The Response of Benthic Foraminifera to Various Pollution Sources: A Study From Nellore Coast, East Coast of India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 142 (1-3): 319-323.
- Jeney G., Yin G., Ardo L., Jeney Z., 2009. The Use of Immunostimulating Herbs in Fish. An Overview of Research. *Fish Physiology and Biochemistry* 35, 669–676.
- Jeng S.S., Sun L.T., 1981. Effects of Dietary Zinc Levels on Zinc Concentrations in Tissues of Common Carp. *J. Nutr.*, 111:134-40.
- Jensen F.B., 2004. Red Blood Cell Ph, The Bohr Effect, and Other Oxygenation- Linked Phenomena in Blood O₂ and CO₂ Transport. *Acta Physiol Scand*, 182: 215-227.
- Jha A.K., Pal A.K., Sahu N.P., Kumar S., Mukherjee S.C., 2007. Haematoimmunological Responses to Dietary Yest RNA, W-3 Fatty Acid And β -Carotene in *Catla Catla* Juveniles. *Fish Shellfish Immunol.* 23, 917-927.

- Ji S.C., Jeong G.-S., Im G.S., Lee S.W., Yoo J.H., Takii K., 2007a. Dietary Medicinal Herbs Improve Growth Performance, Fatty Acid Utilization, and Stress Recovery of Japanese Flounder. *Fisheries Science* 73, 70–76.
- Ji S.C., Jeong G.S., Im G.S., Lee S.W., Yoo J.H., Takii K., 2007b. Dietary Medicinal Herbs Improve Growth Performance, Fatty Acid Utilization, and Stress Recovery of Japanese Flounder. *Fish Sci* 73:70–76.
- Ji S.C., Takaoka O., Jeong G.S., Lee S.W., Ishimaru K., Seoka M., Takii K., 2007c. Dietary Medicinal Herbs Improve Growth and Some Non-Specific Immunity of Red Sea Bream *Pagrus Major*. *Fish Sci* 73:63–69.
- Ji S.C., Takaoka O., Jeong G.S., Lee S.W., Ishimaru K., Seoka M., Takii K., 2007d. Dietary Medicinal Herbs Improve Growth and Some Non-Specific Immunity of Red Sea Bream *Pagrus Major*. *Fish Sci* 73:63–69.
- Jian J., Wu Z., 2004. Influence of Traditional Chinese Medicine on Non-Specific Immunity of Jian Carp (*Cyprinus Carpio* Var. Jian). *Fish Shellfish Immunol*, 16:185e91.
- 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, 1–9.
- Jimeno C.D., 2008. A Transcriptomic Approach Toward Understanding PAMP-Driven Macrophage Activation and Dietary Immunostimulant in Fish. *Phd Thesis*, 1-222, Departament De Biologia Cellular, Fisiologia Immunologia, Facultat De Ciències, Universitat Autònoma De Barcelona, Barcelona, Spain.
- Jolles P., 1969. A Chapter in Molecular Biology. *Angew. Chem.* 8, 227 – 294.
- Joosten P.H.M., Kruijer W.J., Rombout J.H.W.M., 1996. Anal Immunisation of Carp and Rainbow Trout with Different Fractions of A *Vibrio Anguillarum* Bacterin. *Fish And Shellfish Immunology*, Vol. 6, Pp. 541-551.
- Joshi B.D., Chaturvedi L.D., Dabral R., 1980. Some Haematological Values of *Clarias* *Batrachus*, Following Its Sudden Transfer to Varying Temperature. *Indian J. Exp. Biol.*, 18, 76-77.

- Junqueira L.C.V., Carneiro J., 1991. *Biologia Celular E Molecular*. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan.
- Juven B.J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H., 1994. Factors That Interact with The Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. *J. Appl. Bacteriol.* 76:626–631.
- Kajita Y., Sakai M., Atsuta S., Kobayashi M., 1992. Immunopotential Activity of Freund's Complete Adjuvant in Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58, 433–437.
- Kakuta I., Nakai T., 1992. Blood Changes in Japanese *Anguilla*, *Anguilla Japonica*, Experimentally infected With Typical or Atypical *Aeromonas Salmonicida*. *Comp. Biochem. Phys. A*, 103, 151-155.
- Kaleeswaran B., Ilavenil S., Ravikumar S., 2010. Changes in Biochemical, Histological and Specific Immune Parameters in Catla Catla (Ham.) by Cynodon Dactylon (L.). *Journal of King Saud University- Science*, Doi: 10.1016/J.Jksus.2010.10.001.
- Kaleeswaran B., Ilavenil S., Ravikumar S., 2011a. Dietary Supplementation with Cynodon Dactylon (L.) Enhances Innate Immunity and Disease Resistance of Indian Major Carp, Catla Catla (Ham.). *Fish And Shellfish Immunology* 31, 953–962.
- Kaleeswaran B., Ilavenil S., Ravikumar S., 2011b. Growth Response, Feed Conversion Ratio and Antiprotease Activity of Cynodon Dactylon (L.) Mixed Diet in Catla Catla (Ham.). *Journal Of Animal And Veterinary Advances* 10, 511–517.
- Kaler S.G., 1998. Diagnosis and Therapy of Menkes Syndrome, A Genetic Form of Copper Deficiency. *Am J Clin Nutr* 67: 1029S–1034S.
- Kamunde C., Grosell M., Higgs D., Wood C.M., 2002. Aktif Büyüyen Bakır Metabolizmasında Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*): Diyeti ve Su Bazlı Bakır Alımı Arasındaki Etkileşimler *J. Uzm. Biol.* 205 , 279-290.
- Kapoor B.G., Khanna B., 2004. *Ichthyology Handbook*, P. 964. Narosa Publishing House New Delhi & Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Karataş M., 2010. *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri*, Nobel Yayıncılık, 512.
- Kargin F., 1998. Metal Concentrations in Tissues of The Freshwater Fish *Capoeta Barroisi* from The Seyhan River (Turkey). *Bull Environ Contam Toxicol* 60(5):822–828.

- Keen C.L., Lonerdal B., Hurley L.S. 1984. In "Biochemistry of The Essential Ultratrace Elements" (E. Frieden, Ed.), Plenum, New York. 89.
- Ketola H.G., 1979. Influence of Dietary Zinc on Cataracts in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *J. Nutr.* 105, 965.
- Kim J., Marshall M.R., Wei C.I., 1995. Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components Against Five Foodborne Pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 2839 – 2845.
- Kim J.S., Harikrishnan R., Kim M.C., Jang I.S., Kim D.H., Hong S.H., Balasundaram C., Heo M.S., 2011. Enhancement of Eriobotrya Japonica Extracts on Nonspecific Immune Response and Disease Resistance in Kelp Grouper Epinephelus Bruneus Against Vibrio Carchariae. *Fish and Shellfish Immunology* 31, 1193–1200.
- King P.D., Aldridge M.B., Kennedy-Stoskopf S., Stott J.L., 2001. Immunology, Chaptern 12, In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine, 2nd Edition*, L.A. Dierauf & F.M.D. Gulland (Eds.), 237-252, CRC Press LLC, ISBN 0-8493-0839-9, Boca Raton, Florida, USA.
- Kirubakaran C.J.W., 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, 1630–1639.
- Kitao T., Yoshida Y., 1986. Effect of An Im-Munopotentiator on *Aeromonas Salmonicida* Infection and in Rainbow Trout (*Salmo Gaird-Neri*), *Veterinary Immunology And Immuno-Pathology*, 12: 287-296.
- Klesius P.H., Shoemaker C.A., Evans J.J., Lim C., 2001. Vaccines: Prevention of Diseases in Aquatic Animals, Chapter 17, In: *Nutrition And Fish Health*, L. Chhorn & C.D. Webster (Eds.), 317-335, The Haworth Press, Inc., ISBN 1-56022-887-3 , Binghamton, New York, USA.
- Knowles J.R., Roller S., Murray D.B., Naidu A.S., 2005. Antimicrobial Action of Carvacrol at Different Stages of Dual Mspecies Biofilm Development by *Staphylococcus Aureus* and salmonella Enterica Seroval Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 797–803.

- Knox D., Cowey C.B., Adron J.W., 1982. Effects of Dietary Copper and Copper:Zinc Ratio on Rainbow Trout *Salmo Gairdneri*. *Aquaculture*, 27: 11 L-L 19.
- Knox D., Cowey C.B., Adron J.W., 1984. *Aquaculture* 40, 199.
- Kodama H., Hirota Y., Mukamoto N., Baba T., Azuma I., 1993. Activation of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Phagocytes by Muramyl Dipeptide, *Developmental And Comparative Immunology*, 17: 129-140.
- Kokkini S., Karousou R., Hanlidou E., Lanaras T., 2004. Essential Oil Composition of Greek (*Origanum Vulgare* Ssp. *Hirtum*) and Turkish (*O-Onites*) *Oregano*: A Tool For Their Distinction. *J. Essent. Oil. Res.* 16, 334–338.
- Kommerer S.K., Mateo R.D., Neher F.J., Kim S.W., 2006. Phytochemicals and Organic Acids as Potential Alternatives to The Use of Antibiotics in Nursery Pig Diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 19, 1784–1789.
- Korc M., 1983. Manganese Action on Pancreatic Protein Synthesis in Normal and Diabetic Rats. *Am J Physiol* 245:628–634.
- Köksal B.H., Küçükersan M.K., 2012. Broyler Rasyonlarına Humat ile Bitki Ekstraktı Karışımı İlavesinin Büyüme Performansı, Bazı Bağışıklık ve Serum Biyokimya Değerlerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*,18 (1): 103-108.
- Krause E.L., Ternes W., 1999. Bioavailability of The Antioxidative Thyme Compounds Thymol and P-Cymene-2,3-Diol in Eggs. *European Food Research and Technology* 209: 140-144.
- Lagler K.F, Bardach J.E., Miller R.R., 1962. *Ichthyology*. John Wiley & Sons. Pp. 545.
- Lall S.P., 1989. In “*Fish Nutrition*,” 2nd Ed. (J. E. Halver, Ed.), Academic Press, San Diego. 219 P.
- Lall S.P., Hines J.A., 1987. Iron and Copper Requirement of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Grown in Sea Water. *International Symposium on Feeding and Nutrition of Fish*,Bergen, Norway. August, 23–27.
- Lall S.P., Paterson W.D., Hines J.A., Adams N.J., 1985. Control of Bacterial Kidney Disease in Atlantic Salmon, *Salmo Salar* L., By Dietary Modification. *Journal Of Fish Diseases*. 8:113-124.

- Landini G.F., Schwantes A.R., Schwantes M.L., 2002. *Astyanax Scabripinnis* (Pisces: Characidae) Hemoglobins: Structure and Function. *Braz J Biol* , 62: 595-599.
- Langhout P., 2000. New Additives for Broiler Chickens. *World Poultry* 16 (No 3): 22-27.
- Lanno R.P., Slinger S.J., Hilton J.W., 1985. Effect of Ascorbic Acid on Dietary Copper Toxicity in Rainbow Trout *Sulmo Gairdneri* Richardson. *Aquaculture*, 49: 269-287.
- Lawrence B.M., Reynolds R. J., 1984. *Progress in Essential Oils*. Perfumer and Flavorist 9: 23-31.
- Lee K.J, Dabrowsi K., Rinchar J., Gomez C., Guz L., Vilchez C., 2004. Supplementation of Maca (*Lepidium Meyenii*) Tubermeal in Diets Improves Growth Rate and Survival of Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum) Alevins and Juveniles. *Aquac Res.* 35:215-223.
- Lee K.W., Everts H., Beyen A.C., 2003. Dietary Carvacrol Lowers Body Gain But Improves Feed Conversion In Female Broiler Chickens. *J Appl Poult Res*, 12:394e9.
- Li P., Gatlin III., Delbert M., 2004. Dietary Brewer's Yeast and The Prebiotic Grobiotick AE Influence Growth Performance, Immune Responses and Resistance of Hybrid Striped Bass (*Morone Chrysops_M. Saxatilis*) to *Streptococcus Iniae* Infection. *Aquaculture* 231, 445–456.
- Lie O., Evensen P.I., Sorensen A., Froysadal E., 1989. Study on Lysozyme Activity In Some Fish Species. *Dis. Aquat. Org.* 6: 1-5.
- Lieschke G.J., Trede N.S., 2009. *Fish Immunology*. *Currentbiology*19, R678-R682.
- Lim C., Klesius P.H., Li M.H., Robinson E.H., 2000. Interaction Between Dietary Levels of Iron and Vitamin C On Growth, Hematology, Immune Response and Resistance of Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*) to *Edwardsiella Ictaluri* Challenge. *Aquaculture*, 185:313e27.
- Logan M., 2010. *Biostatistical Design and Analysis Using R: A Practical Guide*, Ed: Logan M., Wiley-Blackwell, London.
- Lorentzen M., Maage A., Julshamn K., 1998. Supplemented Copper to Afish Meal Based Diet Fed to Atlantic Salmon Parr Affects Liver Copper and Selenium Concentrations. *Aquac. Nutr.* 4, 67–72.

- Lutsenko S., Leshane E.S., Shinde U., 2007. Biochemical Basis of Regulation of Human Copper-Transporting Atpases. *Arch. Biochem. Biophys.* 463, 134–148.
- Lutsenko S., Petris M.J., 2002. Function and Regulation of The Mammalian Copper-Transporting Atpases: Insights from Biochemical and Cell Biological Approaches. *J. Membr. Biol.* 191, 1–12.
- Maage A., Lyggreen B., El-Mowafi A.F.A., 2000. *Fish Sci.* 66, 1.
- Mackenzie D.I., Bailey L.L., Nichols J.D., 2004. Investigating Species Co-Occurrence Patterns When Species Are Detected Imperfectly. *J. Anim. Ecol.*, 73, 546–555.
- Maenner, K., Vahjen W., Simon O., 2011. Studies on The Effects of Essential-Oil-Based Feed Additives on Performance, Ileal Nutrient Digestibility, and Selected Bacterial Groups in The Gastrointestinal Tract of Piglets. “*In: Journal Of Animal Science.* 89 (7), Pp. 2106-12.
- Magnadóttir B., 2006. *Innate Immunity of Fish* (Overview). *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 20, Pp. 137-151.
- Magnadóttir B., 2010. *Immunological Control of Fish Diseases.* *Marine Biotechnology*, Vol. 12, Pp. 361-379.
- Magnadóttir B., Lange S., Gudmundsdóttir S., Bogwald J., Dalmo R.A., 2005. Ontogeny of Humoral Immune Parameters in Fish. *Fish and Shellfish Immunology* 19, 429–439.
- Mahmoud B.S.M., Yamazaki K., Miyashita K., Il-Shik S., Dong-Suk C., Suzuki T., 2004. Bacterial Microflora of Carp (*Cyprinus Carpio*) and Its Shelf-Life Extension by Essential Oil Compounds. *Food Microbiology*, 21(6), 657–666.
- Manning M.J., 1994. Fishes. In: *Immunology: A Comparative Approach*, R.J. Turner (Ed.), 69- 100, John Wiley & Sons Ltd., ISBN 0471944009, Chichester, UK.
- Manou I., Bouillard L., Devleeschauwer M.J., Barel A.O., 1998. Evaluation of the Preservation Properties of Thymus Vulgaris Essential Oil in Applied Formulations Under A Challenge Test. *J. Appl. Microb.* 84, 368–376.
- Mao F.X., Piao X.S., Lai C.H., Li D.F., Xing J.J., Shi B.L., 2005. Effects of B-Glucan Obtained from the Chinese Herb *Astragalus Membranaceus* and Lipopolysaccharide

- Challenge on Performance, Immunological, Adrenal, And Somatotropic Responses Of Weanling Pigs. *Journal Of Animal Science* 83, 2775–2782.
- Marcon J.L., Filho S.W., 1999. Antioxidant Processes of The Wild Tambaqui, *Colossoma Macropomum* (Osteichthyes, Serrasalminidae) from Amazon. *Comp Biochem Physiol C*, 123: 257-263.
- Maruyama K., Yasumasu S., Naruse K., Mitani H., Shima A., Iuchi I., 2004. Genomic Organization and Developmental Expression of Globin Genes in The Teleost *Oryzias Latipes*. *Gene*, 335: 89-100.
- Mazeaud M.M., Mazeaud F., 1981. *Adrenergic Responses to Stress in Fish*. In A.D. Pickering (Ed) *Stress in Fish*, 47-48. Academic Press; London, England.
- Mcclain W.R., Gatlin. D.M., 1988. Dietary Zinc Requirement of *Oreochromis Aureus* and Effects of Dietary Calcium and Phytate on Zinc Bioavailability. *J. World Aquacult. Soc.* 19: 103-108.
- Mcdonald D.G., Milligan C.L., 1992. Chemical Properties of The Blood. In *Fish Physiology*, Vol. XIIB (Ed. W. S. Hoar And D. J. Randall), Pp. 55–133. New York: Academic Press.
- Mcintosh F.M., Williams P., Losa R., Wallace R.J., Beaver D.A., Newbold C.J., 2003. Effects of Essential Oils on Ruminant Microorganisms and Their Protein Metabolism. In: *Society*. 69 (8), Pp. 5011-5014.
- Mckee J. E., Wolf H.W., 1963. “*Water Quality Criteria*,” Resources Agency of California State Water Quality Control Board, Publication 3-A, Second Edition.
- Mclaren B.A., Keller E., O'Donnell D. J., Eivhejem C. A., 1947. *The Nutrition of Rainbow Trout*. I. Studies of Vitamin Requirements. *Arch. Biochem. Biophys.* 15:169.
- Medzhitov R., 2007. Recognition of Microorganisms and Activation of The Immune Response. *Nature*, Vol. 449, Pp. 819-826.
- Medzhitov R., Janeway C.A. 2002. Decoding The Patterns of Self and Nonself by The Innate Immune System. *Science*, Vol. 296, Pp. 298-300.
- Mejlholm O., Dalgaard P., 2002. Antimicrobial Effect of Essential Oils on The Seafood Spoilage Micro-Organism *Photobacterium Phosphoreum* in Liquid Media and Sh Products. In: *Letters In Applied Microbiology*. Pp. 27-31.

- Mendelsohn B.A., Yin C., Johnson S.L., Wilm T.P., Solnica-Krezel L., Gitlin J.D., 2006. Atp7a Determines A Hierarchy of Copper Metabolism Essential for Notochord Development. *Cell Metab.* 4:155–62.
- Mertz W., 1986. “*Trace Elements in Human Nutrition*,” 5th Ed. Academic Press, Orlando.
- Meseguer J., López-Ruiz A., García-Ayala A., 1995. Reticulo-Endothelial Stroma of The Head-Kidney From The Seawater Teleost Gilthead Seabream (*Sparus Aurata* L): An Ultrastructural and Cytochemical Study. *Anatomical Record*, Vol., 241, Pp: 303-309.
- Miller D. W., Vetter, R. J., Atchison, G. J. 1980. *Health Phys.* 38(2), 221.
- Miller W.R., Hendricks A.C., Cairns J.J., 1983. Normal Ranges for Diagnostically Important Hematological and Blood Chemistry Characteristics of Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Can. J. Fish. Aq. Sci.* 40: 420-425.
- Moerland T.S., 1995. Temperature: Enzyme and Organelle. In: *Biochemical & Molecular Biology of Fishes*, Hochachka, P.W. Mommsen, T.P. (Eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 5: 57-73.
- Mommsen T.P., 1998. *Growth and Metabolism*. In: Evans, D.H. (Ed), *The Physiology of Fishes*. Crc Press, Boca Raton, 65-97 P.
- Moon T.W., 1988. Adaptation, Constraint, and The Function of The Gluconeogenic Pathway. *Can. J. Zool.* 66, 1059-1068.
- Moon T.W., Foster, G.D., Plisetskaya, E.M. 1989. Changes in Peptide Hormone and Liver Enzymes in The Rainbow Trout Deprived of Food For 6 Weeks. *Can. J. Zool.* 67: 2189–2193.
- Muhl A., Liebert F., 2007. Growth and Parameters of Microflora in Intestinal and Faecal Samples of Piglets Due to Application of A Phytogenic Feed Additive. In: *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 91 (9-10), Pp. 411-8.
- Murray C.K., Fletcher T.C., 1976. The Immunohistochemical Localization of Lysozyme in Place (*Pleuranectes Platessa*) Tissue *J.Fish Biol.*9.329-334.
- Nauseef W.M., Malech H.L., 1986. *Analysis of The Peptide Subunits of Human Neutrophil Myeloperoxidase*. *Blood.* 67(5): P. 1504-7.
- Nayak S.K., 2010. Probiotics and Immunity: A Fish Perspective. *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 29, Pp. 2-14.

- Nayak S.K., Swain P., Nanda P.K., Dash S., Shukla S., Meher P.K., Maiti N.K., 2008. Effect of Endotoxin on The Immunity of In-Dian Major Carp, *Labeo Rohita*, *Fish And Shellfish Immunology*, **24**: 394-399.
- Nelson J.S., 2006. *Fishes of The World, 4th Edition*, John Wiley & Sons Inc. Publication ISBN 0-471-25031-7, New York, USA.
- Ni Y., Huang C., Kokot S., 2007. Simultaneous Determination of Iron and Aluminium by Differential Kinetic Spectrophotometric Method and Chemometrics. *Analyticachimica Acta*, 259(2), 209–218.
- Nikolsky C.V. 1963. *The Ecology of Fishes*. Academic Press, London, 352 Pp.
- Nilsson G.E., 2001. Surviving Anoxia with The Brain Turned on. *News Physiol Sci*, 16: 217-221.
- Nya E.J., Austin B., 2009a. Use of Garlic, *Allium Sativum*, to Control *Aeromonas Hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.* 32,963–970.
- Nya E.J., Austin B., 2009b. 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, 971–977.
- Nya E.J., Austin B., 2011. Development of Immunity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas Hydrophila* after The Dietary Application of Garlic. *Fish and Shellfish Immunology* 30, 845–850.
- O'Dell B.L., 1984. In "Present Knowledge of Nutrition, Nutrition Reviews," Nutrition Foundation, Washington, DC. 506 P.
- Ocak N., Erener F., Burak A.K., Sungu M., Altop A., Ozmen A., 2008. Performance of Broilers Fed Diets Supplemented with Dry Peppermint (*Mentha Piperita* L.) or Thyme (*Thymus Vulgaris* L.) Leaves as Growth Promoter Source. *Czech. J. Anim. Sci.*, 53(4): 169-175.
- Ogino C., Yang G.Y., 1980. Requirements of Carp and Rainbow Trout for Dietary Manganese and Copper. *Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.*, 46:455–458.

- Okochi V.I., Okpuzor J., Okubena M.O., Awoyeni A.K., 2003. The Influence of African Herbal Formula on The Hematological Parameters of Trypanosome Infected Rats. *Afr. J. Biotechnol.* 2: 312-316.
- Okumuş İ., 2000. Coastal Aquaculture: Sustainable Development, Resource Use and Integrated Environmental Management, *Turkish Journal of Marine Sciences*, 6: 151-174.
- Oskooi S.B., Kohyani A.T., Parseh A., 2011. Effects of Dietary Administration of Echinacea Purpurea on Growth Indices and Biochemical and Hematological Indices in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Fingerlings. *Fish Physiol Biochem* (Epub Ahead Of Print).
- Overland M., Sørensen M., Storebakken T., Penn M., Krogdahl A., Skrede A., 2009. Pea Protein Concentrate Substituting Fishmeal or Soybean Meal in Diets for Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Effect on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Carcass Composition, Gut Health, and Physical Feed Quality. *Aquaculture* 288: 305–311.
- Oyen L.P.A., Dung N. X., 1999. Essential-Oil Plants. Oyen, L. P. A. Ve N. X. Dung (Eds). Backhuys Publishers, Leiden.
- Oymak S.A., Karadede H., Dogan N., 2009. Heavy Metal in Tissues of for Grypus From Ataturk Dam Lake, Euphrates River-Turkey. *Biologia* 64(1):151–155.
- Pakravan S., Hajimoradloo A., Ghorbani R. 2011. Effect of Dietary Willow Herb, *Epilobium Hirsutum* Extract on Growth Performance, Body Composition, Haematological Parameters and *Aeromonas Hydrophila* Challenge On Common Carp, *Cyprinus Carpio*. *Aquac Res*, 43: 861-869. Doi: 10.1111/J.1365-2109.2011.02901.X.
- Peeter E., Driessen B., Geers R., 2006. Influence of Supplemental Magnesium, Tryptophan, Vitamin C, Vitamin E, and Herbs on Stress Responses and Pork Quality. *Journal Of Animal Science* 84, 1827–1838.
- Peres P., De Azevedo Junior W.F., Bonilla-Rodriguez G.O., 2004. Allosteric Water and Phosphate Effects in *Hoplosternum Littorale* Hemoglobins. *Eur J Biochem*, 271: 4270-4274.
- Pérez J., Rylander K., Nirchio M., 1995. The Evolution of Multiple Haemoglobins In Fishes. *Rev Fish Biol Fish*, 5: 304-319.

- Perutz M.F., 1978. Hemoglobin Structure and Respiratory Transport. *Sci Am*, 239: 92-125.
- Perutz M.F., 1984. Species Adaptation in A Protein Molecule. *Adv Protein Chem* 36: 213-244.
- Pillay T.V.R., 1990. *Aquaculture: Principles and Practices*. Fishing News Book. Blackwell
- Plumb J.A., Hanson L.A., 2011. *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes, 3rd Edition*, Wiley-Blackwell: John Wiley & Sons Inc. Publication, ISBN 978-0-8138-1693-7, Iowa, USA.
- Poppe T.T., Haastein T., Froeslie A., Koppang N., Norheim G., 1986. *Dis. Aquat. Org.* 1, 155.
- Pourmahmoud M., Aghazadeh A.M., Sis N.M., 2013. The Effect of Thyme Extract on Growth Performance, Digestive Organ Weights And Serum Lipoproteins of Broilers Fed Wheat-Based Diets. *Italian Journal of Animal Science* 3, 337-341.
- Prasad G., Mukthiraj S., 2011. Effect of Methanolic Extract of *Andrographis Paniculata* (Nees) On Growth and Haematology of *Oreochromis Mossambicus* (Peters). *World Journal of Fish And Marine Science* 3, 473-479.
- Pratheepa V., Ramesh S., Sukumaran N., 2010. Immunomodulatory Effect of Aegle Marmelos Leaf Extract on Freshwater Fish *Cyprinus Carpio* Infected by Bacterial Pathogen *Aeromonas Hydrophila*. *Pharmaceutical Biology* 48, 1224-1239.
- Pratheepa V., Sukumaran N., 2011. Specific and Nonspecific Immunostimulation Study of *Euphorbia Hirta* on *Pseudomonas Fluorescens*-Infected *Cyprinus Carpio*. *Pharmaceutical Biology* 49, 484-491.
- Press C.Mcl., Evensen Ø., 1999. The Morphology of The Immune System in Teleost Fishes. *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 9, Pp. 309-318.
- Pyrgotou N., Giatrakou V., Ntzimani A., Savvaidis I.N. 2010. Quality Assessment of Salted, Modified Atmosphere Packaged Rainbow Trout Under Treatment with Oregano Essential Oil. *J.Food Sci.* 75, 406-411.10.1111/J.1750-3841.2010.01724.X.
- Raa J., 1996. The Use of Immunomodulatory Substances in Fish and Shellfish Farming. *Reviews in Fisheries Science* 4, 229-288.
- Randrianarivelo R., Danthu P., Benoit C., Ruez P., Raherimandimby M., Sarter S., 2010. Novel Alternative to Antibiotics in Shrimp Hatchery: Effects of The Essential Oil of

- Cinnamosma Fragrans on Survival and Bacterial Concentration of Penaeus Monodon Larvae. *Journal of Applied Microbiology* 109, 642–650.
- Rao Y.V., Das B.K., Jyotirmayee P., Chakrabarti R., 2006. Effect of *Achyranthes Aspera* on The Immunity and Survival of Labeo Rohita Infected with Aeromonas Hydrophila. *Fish Shellfish Immunol*, 20:263e73.
- Rattanachaikunsopon P., Phumkhachorn P., 2010. Assessment of Synergistic Efficacy of Carvacrol and Cymene Against Edwardsiella Tarda In Vitro And In Tilapia (Oreochromis Niloticus). *Afr. J. Microbiol. Res.* 4, 420–425.
- Rawling M., Merrifield D., Davies S., 2009. Preliminary Assessment of Dietary Supplementation of Sangrovit® On Red Tilapia (Oreochromis Niloticus) Growth Performance and Health. *Aquaculture* 294, 118–122.
- Richardson N. L., Higgs D.A., Beames R.M., McBride J. R.1985. *J. Nutr.* 115, 553.
- Riggs A., 1976. Factors in The Evolution of Hemoglobin Function. *Fed Proc* 35, 2115-2118.
- Riggs A., 1979. Studies of The Hemoglobins of Amazonian Fishes: An Overview. *Comp Biochem Physiol A*, 62: 257-271.
- Rodriguez V.M., Jimenez-Capdeville M.E., Giordano M., 2003. The Effects Of Arsenic Exposure On The Nervous System. *Toxicology Letters* 145(1), 1-18.
- Rodriguez-Tovar L.E., Speare D.J., Markham R.J., 2011. Fish Microsporidia: Immune Response, Immunomodulation and Vaccination. *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 30, Pp. 999-1009.
- Rojas A., 2007. Potential Essential Oil Applications Within The Salmon Industry in Chile. *International Aqua Feed*. September-October. Pp.32-6.
- Sahu S., Das B.K., Mishra B.K., Pradhan J., Samal S.K., Sarangi N., 2008. Effect of Dietary Curcuma Longa on Enzymatic and Immunological Profiles of Rohu, Labeo Rohita (Ham.), Infected with Aeromonas Hydrophila. *Aquaculture Research* 39, 1720–1730.
- Sahu S., Das B.K., Mishra B.K., Pradhan J., Sarangi N., 2007a. Effect Of Allium Sativum On The Immunity and Survival Of Labeo Rohita Infected With Aeromonas Hydrophila. *Journal Of Applied Ichthyology* 23, 80–86.

- Sahu S., Das B.K., Pradhan J., Mohapatra B.C., Mishra B.K., Sarangi N., 2007b. Effect Of Mangifera Indica Kernel As A Feed Additive on Immunity and Resistance to Aeromonas Hydrophila in Labeo Rohita Fingerlings. *Fish Shellfish Immunol.* 23:109e18.
- Sakai M., 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulant. *Aquaculture* 172, 63–92.
- Sakai M., Kajita Y., Kobayashi M., Kawauchi, H., 1996. Increase in Haemolytic Activity Of Serum from Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss* Injected with Exogenous Growth Hormone. *Fish Shellfish Immunol.* 6, 615–617.
- Sakai M., Kamiya H., Ishii S., Atsuta S., Kobayashi M., 1992. The Immunostimulating Effects of Chitin in Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. _Eds., Diseases In Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, Pp. 413–417.
- Sakai M., Kobayashi M., Yoshida T., 1995a. Activation of Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*, Phagocytic Cells by Administration of Bovine Lactoferrin. *Comp. Biochem. Physiol.* 110B, 755–759.
- Sakai M., Konishi M., Atsuta S., Kobayashi M., 1991. The Chemiluminescent Response of Leukocytes from The Anterior Kidney of Rainbow Trout *Oncorhynchus Mykiss* Vaccinated with *Vibrio Anguillarum*, *Streptococcus Sp.* or *Renibacterium Salmoninarum*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(2), 237–241.
- Sakai, M., Atsuta, S., Kobayashi, M., 1995b. Efficacies of Combined Vaccine for *Vibrio Anguillarum* and *Streptococcus Sp.* *Fisheries Sci.* 61, 359–360.
- Salton M.R.J., 1957. The Properties of Lysozyme and Its Action on Microorganisms. *Bact. Rev.* 21- 82-99.
- Sandnes K., Lie Q., Waagbq R., 1988. Normal Ranges of Some Blood Chemistry Parameters in Adult Farmed Atlantic Salmon, *Salmo Salar*. *J. Fish Biol.* 32, 129-136.
- Sarker K.P., Fournier J., Boucher E., Proulx E., De La Noüe J., Vandenberg G.W., 2011. Effects of Low Phosphorus Ingredient Combinations on Weight Gain, Apparent Digestibility Coefficients, Non-Fecal Phosphorus Excretion, Phosphorus Retention And Loading of Large Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Animal, 168 Feed Science and Technology*: 241– 249.

- Sarter S., Randrianarivelo R., Ruez P., Raherimandimby M., Danthu P. 2011. Antimicrobial Effects of Essential Oils of *Cinnamosma Fragrans* on The Bacterial Communities of The Water Rearing of *Penaeus Monodon* Larvae. *Vector Borne And Zoonotic Diseases*, 11(4), 433–437.
- Sasal P., Morand S., Guegan J.F. 1997. Determinants of Parasite Species Richness in Mediterranean Marine Fishes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 149, 61-71.
- Satoh S., Takeuchi T., Watanabe T., 1987. Availability to Rainbow Trout of Zinc in White Fish Meal and of Various Zinc Compounds. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53: 825.
- Satoh S., Yamamoto H., Takeuchi H., Watanabe T., 1983a. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 49, 425.
- Satoh S., Yamamoto H., Takeuchi H., Watanabe T., 1983b. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 49, 431.
- Saunders D.C., 1966. Differential Blood Cell Counts of 121 Species of Marine Fishes of Puerto Rico. *Trans Amer Microsc Soc.* 85 (3):427-449.
- Saunders D.C., 1968. Differential Blood Cell Counts of 50 Species of Fishes From The Red Sea. *Copeia*. 3:491-498.
- Schroeder F, Gallegos A.M., Atshaves B.P., Storey S.M., Mcintosh A.L., Petrescu A.D., Huang H., Starodub O., Chao H., Yang H., Frolov A., Kier A.B., 2001. Recent Advances in Membrane Microdomains: Rafts, Caveolae, and Intracellular Cholesterol Trafficking. *Exp. Biol. Med.* 226:873–90.
- Secombes C.J., 1990. Isolation of Salmonid Macrophages and Analysis of Their Killing Activity. in Ty. in: Stolen J.S, Fletcher T.C. Anderson D.P., Robertson B.S., Van Muis~Vinkel W.B. (Eds). *Techniques in Fish Immunology*. Logy, Vol 1. SOS Publications. Fair Heaven, P 137-152.
- Secombes C.J., 1994. Enhancement of Fish Phagocyte Activity. *Fish and Shellfish Immunology*, 4: 421-436.
- Secombes C.J., Fletcher T.C., 1992. The Role of Phagocytes in The Protective Mechanisms of Fish. *Annual Review of Fish Disease*, 2: 53-71.
- Secombes C.J., Hardie L.J., Daniels G., 1996. Cytokines in Fish: An Update. *Fish And Shellfish Immunology*, Vol. 6, Pp. 291-304.

- Shalaby A.M., Khattab Y.A., Abdel Rahman A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium Sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters And Survival of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 12, 172–201.
- Shapiro S., Meier A., Guggenheim B., 1994. The Antimicrobial Activity of Essential Oils and Essential Oil Components Toward Oral Bacteria. *J. Oral. Microbiol. Immunol.* 9, 202–208.
- Shears M.A., Fletcher G.L., 1983. Regulation of Zn²⁺ Uptake From The Gastrointestinal Tract of A Marine Teleost, The Winter flounder (*Pseudopleuronectes Americanus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40 (Suppl. 2): 197–205.
- Sheikhzadeh N., Nofouzi K., Delazar A., Oushani A.K. 2011. Immunomodulatory Effects of Decaffeinated Green Tea (*Camellia Sinensis*) on The Immune System of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 31, 1268–1269.
- Shoemaker C.A., Klesius H.P., Lim C., 2001. Immunity and Disease Resistance in Fish, Chapter 7, In: *Nutrition and Fish Health*, L. Chhorn & C.D. Webster (Eds.), 149-162, The Haworth Press, Inc., ISBN 1-56022-887-3 , Binghamton, New York, USA.
- Shoji Y., Nakashims H., 2004. Nutraceuticals and Delivery Systems. *J. Drug. Target.* 12, 385–391.
- Simonović P., 2001. Ribe Srbije. NNK International, Zavod Za Zaštitu Prirode Srbije, Biološki Fakultet.
- Sivaram V., Babu M.M., Immanuel G., Murugadass S., Citarasu T., Marian M.P., 2004. Growth and Immune Response of Juvenile Greasy Groupers (*Epinephelus Tauvina*) Fed With Herbal Antibacterial Active Principle Supplemented Diets Against *Vibrio Harveyi* Infections. *Aquaculture* 237, 9–20.
- Siwicki A.K., Studnicka M., Ryka B., 1985. Phagocytic Ability of Neutrophils in Carp (*Cyprinus Carpio*). *Bamidgeh*, 37: 123-128.
- Smith R.R., 1989. Nutritional Energetics. *Fish Nutrition*. Second Edition. Edited By John E. Halver, Academic Press, London.
- Solomon E.I., Lowery M.D., Lacroix L.B., Root D.E., 1993. Electronic Absorption Spectroscopy of Copper Proteins, *Methods Enzymol.* 226, 1-33.

- Spry D.J., Hodson P.V., Wood C.M., 1988. Relative Contributions of Dietary and Waterborne Zinc in The Rainbow Trout, *Salmo Gairdneri*. *Can J Fish Aquat Sci* 45:32–41.
- Srivastava A.K., Agrawal S.J. 1983. Changes Induced by Mn in Fish Testes. *Experientia*. 39: 1309-1311. Output Generated From Compact Cambridge: ASFA.
- Stacey N.E., Sorensen P.W., 1995. Function and Evolution of Fish Hormonal Pheromones. In: *Biochemical & Molecular Biology of Fishes*, Vol. 1 (Ed. By P.W. Hochachka & T.P. Mommsen), Pp: 109-137. Elsevier, Amsterdam, The Netherland.
- Stark H., Schuster S., 2012. Comparison of Various Approaches To Calculating The Optimal Hematocrit in Vertebrates. *J. Appl. Physiol.*, In Press, DOI 10.1152/Japphysiol.00369.2012.
- Suarez R.K., Mommsen T.P., 1987. Gluconeogenesis in Teleost fishes. *Can. J. Zool.* 65, 1869–1882.
- Subasinghe R., 2009. Disease Control in Aquaculture and The Responsible Use of Veterinary Drugs and Vaccines: The Issues; Prospects and Challenges. In: *Options Méditerranéennes, Series A, No. 86: The Use Of Veterinary Drugs And Vaccines In Mediterranean Aquaculture*, C. Rodgers & B. Basurco (Eds.), 5-11, CIHEAM/FAO, ISBN 2-85352-422-1, Zaragoza, Spain.
- Sveinbjornsson B., Olsen R., Paulsen S., 1996. Immuno cytochemical Localization of Lysozyme in Intestinal Eosinophilic Granule Cells (Egcs) of Atlantic Salmon, *Salmo Salar* L. *Journal of Fish Disease* 19, 349–355.
- Syed M.A., Coombs T.L., 1982. Copper Metabolism in The Plaice *Pleuronectes Platessa* (L.), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 63, 281-286.
- Szentmihalyi K., Then M., 2007. Examination of Microelements in Medicinal Plants of The Carpathian Basin. *Acta Alimentaria*, 36, 231–236.
- Takeda H., Shima Y., 1977. Toxicity and Availability of Lead And Zinc To fi Shes . *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* , 27,103 – 9.
- Takeuchi T., Watanabe T., Ogino C., Saito M., Nishimura K., Nose T. 1981. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47, 645.

- Tatner M.F., Findlay C., 1991. Lymphocyte Migration and Localization Patterns in Rainbow Trout, *Onchorhynchus Mykiss*, Studies Using The Tracer Sample Method. *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 1, Pp. 107-117.
- Tavares-Dias M., 2006. Cytochemical Method for Staining fish Basophils. *J. Fish Biol.*, 69, 312-317.
- Tewary A., Patra B.C., 2008. Use of Vitamin C As An İmmunostimulant. Effect on Growth, Nutritional Quality, and İmmune Response of Labeo Rohita (Ham.). *Fish Physiology and Biochemistry*, V.34, P.251-259.
- Thakare M., 2004. Pharmacological Screening of Some Medicinal Plants as Antimicrobial and Feed Additives. MS Thesis. Department Animal and Poultry Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA.
- Tikeogly N., 2000. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitabı, 2, Adana, Turkey.
- Timur G., Timur M., 2003. Balık Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayın No:5. 538 S. ISBN: 975-404699-5.
- Tocidowski M.E, Lewbart G.A., Stoskopf M.K., 1997. Hematologic Study of Red Pacu (*Colossoma Brachypomum*). *Vet Clin Pathol*, 26: 119-125.
- Torstensen B.E., Espe M., Sanden M., Stubhaug I., Waagbø R., Hemre G.-I., Fontanillas R., Nordgarden U., Hevrøy E.M., Olsvik P., Berntssen M.H.G., 2008. Novel Production Of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Protein Based on Combined Replacement of Fishmeal and Fish Oil With Plant Meal and Vegetable Oil Blends. *Aquaculture*, 285: 193–200.
- Tort L., Balasch J.C., Mackenzi S., 2003. Fish İmmune System. A Crossroads Between İnnate and Adaptive Responses. *İmmunología*, Vol. 22, No. 3, Pp. 277-286.
- Tsuneshige A., Park S., Yonetani T., 2002. Heterotropic Effectors Control The Hemoglobin Function by İnteracting With İts T and R States - A New View On The Principle of Allostery. *Biophys Chem*, 98: 49-63.
- TUİK, 2012. *Fishery Statistics 2011*, Turkish Statistical Institute (TUİK), Ankara, 57 Pp.

- Turkmen A., Turkmen M., Tepe Y., Akyurt I., 2005. Heavy Metals in Three Commercially Valuable Fish Species From Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. *Food Chemistry*, 91, 167–172.
- Tuzen M., 2003. Determination of Heavy Metals in Fish Samples of The Middle Black Sea (Turkey) by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Food Chemistry*, 80, 119–123.
- Tuzen M., Soylak M., 2007. Determination of Trace Metals in Canned Fish Marketed in Turkey. *Food Chemistry*, 101 (4), 1378–1382.
- Ultee A., Slump R.A., Smid E.J., 2000. Antimicrobial Activity of Carvacrol Toward *Bacillus Cereus* on Rice. *J. Food Protect.* 63, 620– 624.
- Ultee A., Smid E J., 2001. Influence of Carvacrol On Growth and Toxin Production by *Bacillus Cereus*. *Int. J. Food. Microbiol.* 64, 373–378.
- Umminger B.L., 1977. Relation of Whole Blood Sugar Concentrations in Vertebrates to Standard Metabolic Rate. *Camp. B&Hem. Physiol. A* 56, 457-460.
- Val A.L., 1996. Surviving Low Oxygen Levels: Lessons From Fishes of The Amazon. In: Val AL, Almeida-Val VMF, Randall DJ (Editors), *Physiology And Biochemistry of The Fishes of The Amazon*. Manaus: INPA, P 59-73.
- Val A.L., Affonso A.G., Almeida Val V.M.F., 1992. Adaptive Features of Amazon Fishes: Blood Characteristics of Curimata (*Prochilodus Of Nigricans, Osteichthyes*). *Physiol. Zool.* 65(4), 832-843.
- Val A.L., Almeida-Val V.M.F., 2000. *Fishes of The Amazon and The Environment*. Manaus: Springer.
- Val A.L., Almeida-Val V.M.F., Affonso E.G., 1990. Adaptative Features of Amazon Fishes: Hemoglobins, Hematology, Intraerythrocytic Phosphates and Whole Blood Bohr Effect of *Pterygoplichthys Multiradiatus*. *Comp Biochem Physiol B*, 97: 435-440.
- Val A.L., De Menezes G.C., Wood C.M., 1998. Red Blood Cell Adrenergic Responses In Amazonian Teleost. *J. Fish Biol.*, 52, 83-93.
- Vallejo A.N., Ellis A.E., 1989. Ultrastructural Study of The Response of Eosinophil Granule Cells to *Aeromonas Salonicida* Extracellular Products and Histamine

- Liberators in Rainbow Trout. *Salmo Gairdneri* Richardson. *Dev Comp. Immunol.* 13: 133-148.
- Van Ginneken V.J.T., Maes G.E., 2005. The European Eel (*Anguilla Anguilla*, Linnaeus), Its Lifecycle, Evolution and Reproduction, A Literature Review. *Rev. Fish. Biol. Fisheries*, 15, 367-398. DOI 10.1007/S11160-006-0005-8.
- Vieira S.L., Freitas M., Coneglian J.L.B., Klein A.F., Silva P.X., Figueiro O., 2008. Live Performance of Broilers Fed Diets Supplemented with The Plant Extract Sangrovit® or A Blend of Organic and Inorganic Acids. *Journal of Animal Science* 85, 588–589.
- Watanabe T., Takeuchi T., Saito M., Nishimura K., 1984. Effect of Low Protein-High Calorie or Essential Fatty Acid Deficiency Diet on Reproduction of Rainbow Trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50 (7), 1207-1215.
- Weber R.E., 1996. Hemoglobin Adaptations in Amazonian and Temperate Fish With Special Reference to Hypoxia, Allosteric Effectors and Functional Heterogeneity. In: Val AL, Almeida-Val VMF, Randall DJ (Editors), *Physiology And Biochemistry of The Fishes of The Amazon*. Manaus: INPA, P 75-90.
- Weber R.E., Voelter W., 2004. Novel Factors That Regulate Oxygen Binding in Vertebrate Hemoglobins. *Micron*, 35: 45-46.
- Wekell J.C., Shearer K.D., Gauglitz E.J., 1986. Zinc Supplementation of Trout Diets: Tissue Indicators of Body Zinc Status. *Prog. Fish Cult.* 48, 205–212.
- Westendarp H., 2005. Essential Oils for The Nutrition of Poultry, Swine and Ruminants, *Dtsch. Tierarzfl. Wochenschr* 112, 375–380.
- White A., Fletcher T.C., 1985. Seasonal Changes in Serum Glucose And Condition of The Plaice, *Pleuronectes Platessa* L. *J. Fish Biol.*, 26, 755-764.
- Whyte S.K., 2007. The Innate Immune Response of Finfish: A Review of Current Knowledge. *Fish And Shellfish Immunology*, Vol. 23, No. 6, Pp. 1127-1151.
- Wiegertjes G.F., Stet R.J.M., Parmentier H.K., Van Muiswinkel W.B., 1996. Immunogenetics of Disease Resistance In Fish; A Comparable Approach. *Dev Comp Immunol*, 20:365e81.
- Williams P., Losa R., 2001. The Use of Essential Oils and Their Compounds in Poultry Nutrition. *World Poultry* 17 (No 4): 14-15.

- Williams P., Losa R., 2002. Blending Essential Oils for Poultry. *Feed Mix* 10 (No 3): 8-9.
- Wilson M., Bengten E., Miller N.W., Clem L.W., Du Pasquer L., Warr G.W., 1997. A Novel Chimeric Ig Heavy Chain From A Teleost Fish Shares Similarities To Igd. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The USA* 94, April 1997 *Immunology*, Vol. 94, Pp. 4593- 4597.
- Windisch W., Schedle K.,Plitzner C., Kroismayr A., 2008. Use of Phytogetic Products as Feed Additives for Swine and Poultry.“. In: *Journal of Animal Science*. 86 (14 Suppl), Pp. E140-8.
- Yamamoto H., Satoh S., Takeuchi T., Watanabe T. 1983. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 49, 287.
- Yang W.Z., Benchaar C., Ametaj B.N., Chaves A.V., He M.L., Mcallister T.A., 2007. Effects of Garlic and Juniper Berry Essential Oils on Ruminant Fermentation and on The Site And Extent of Digestion in Lactating Cows.“. In: *Journal Of Dairy Science*. 90 (12), Pp. 5671-81.
- Yano T., 1992. Assays Of Haemolytic Complement Activity. In: *Techniques in fish Immunology*. J. S. Stolen, T. C. Fletcher, D. P. Anderson, S. L. Kaattari and A. F. Rowley (Eds). SOS Publications, Fair Haven, USA, Pp. 131–139.
- Yeh R.Y., Shiu Y.L., Shei S.C., Cheng S.C., Huang S.Y., Lin J.C., Liu C.H., 2009. Evaluation Of The Antibacterial Activity of Leaf and Twig Extracts of Stout Camphor Tree, *Cinnamomum Kanehirae*, and The Effects on Immunity and Disease Resistance of White Shrimp, *Litopenaeus Vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.* 27, 26–32.
- Yildirim Y., Gonulalan Z., Narin I., Soylak M., 2009. Evaluation of Trace Heavy Metal Levels of Some fish Species Sold at Retail in Kayseri, Turkey. *Environ Monitor Assess* 149:223–228.
- Yilmaz F., Ozdemir N., Demirak A., Tuna A.L., 2007. Heavy Metal Levels in Two Fish Species *Leuciscus Cephalus* and *Lepomis Gibbosus*. *Food Chemistry*, 100, 830–835.
- Yilmaz S., 2013. Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Levrek Balığı (*Dicentrarchus Labrax*) nın Büyüme Performansı, Yem Kullanımı ve Kan Parametrelerinin Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.

- Yokoyama T., Chong K.T., Miyazaki G., Morimoto H., Shih D.T., Unzai S., 2004. Novel Mechanisms of Ph Sensitivity In Tuna Hemoglobin: A Structural Explanation of The Root Effect. *J Biol Chem*, 279: 28632-28640.
- Youdim K.A., Deans S.G., 1999. Dietary Supplementation Od Thyme (Thymus Vulgaris L.) Essential Oil During The Lifetime of The Rat: Its Effects on The Antioxidant Status in Liver, Kidney and Heart Tissues. *Mechanisms of Ageing and Development*. 109(3): 163–75.
- Youdim K.A., Deans S.G., 2000. Effect of Thyme Oil and Thyme Dietary Supplementation on The Antioxidant Status and Fatty Acid Composition of The Ageing Rat Brain. *Br. J. Nutri.* 83(1): 87–93.
- Yousif A.N., Albright L.J., Evelyn T.P.T., 1991. Occurrence of Lysozyme in Eggs of Coho
- Yu S.G., Abuirmeileh N.M., Qureshi A.A., Elson C.E., 1994. Dietary -Ionone Suppresses Hepatic 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 1493-1496.
- Yuan S.L., Piao X.S., Li D.F., Kim S.W., Lee H.S., Guo P.F., 2006. Effects of Dietary Astragalus Polysaccharide on Growth Performance and Immune Function in Weaned Pigs. *Animal Science* 82, 501–507.
- Zammit V.A., Newsholme E.A., 1979. Activities of Enzymes of Fat and Ketone-Body Metabolism and Epects of Starvation on Blood Concentrations Glucose and Fat Fuels in Teleost and Elasmobranch fish. *Biochemistry Journal* 184, 313–322.
- Zapata A., Diez B., Cejalvo T., Gutierrez De Frias C., Cortes A., 2006. Ontogeny of The Immune System of Fish. *Fish And Shellfish Immunology*, Vol. 20, Pp. 126-136.
- Zapata A.G. Chibá A., Varas A., 1996. Cells and Tissue of The Immune System of Fish. In: *The Fish Immune System: Organism, Pathogen, and Environment*, G. Iwama & T. Nakanishi (Eds.), 1-62, Academic Press, ISBN 0-12-350439-2, San Diego, California, USA.
- Zheng Z.L., Tan J.Y.W., Liu H.Y., Zhou X.H., Xiang X., Wang K.Y. 2009. Evaluation of Oregano Essential Oil (*Origanum Heracleoticum* L.) on Growth, Antioxidant Effect and Resistance Against *Aeromonas Hydrophila* in Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*); *Aquaculture* 292: 214–218.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ebru YILMAZ

Doğum Yeri : Iğdır

Doğum Tarihi : 22.11.1983

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği

Yüksek Lisans Öğrenimi : Muğla Üniversitesi Çevre Mühendisliği Çevre Bilimleri Anabilim dalı

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar - SCI - Diğer

- 1- **Yılmaz E.**, Koç C., “A study on seasonal changes of phosphorus fractions in marine sediments of the Akyaka Beach in Gökova Bay, Turkey”. Clean Technologies and Environmental Policy, ISSN 1618-954X, Volume 14, Issue 2 (April), 299-307, (2012) (SCI).
- 2- **Yılmaz E.**, Koç C., “A research on water quality of lake Bafa in Turkey”. Environmental Engineering and Management Journal, ISSN 1582–9596 (accepted, and press stage in 2012) (SCI)
- 3- **Yılmaz E.**, Koç C., “Physically and Chemically Evaluation for the water quality criterias in a farm on Akçay.” Journal of Water Resource and Protection, ISSN 1945-3108, Volume 6, Number 2 (February), 63-67, (2014).
- 4- Koç C., **Yılmaz E.**, A study on the causes of sediment accumulation in the drainage systems. Journal of Water Resource and Protection, Volume 6, Number 4 (March),2014.
- 5- **Yılmaz, E.**, Yılmaz, S., Ergün, S., Kaya, H., Kızılkaya B., and Soytaş. N., 2014. A preliminary study of the effect of phytoadditive carvacrol on the trace elements (Cu, Mn and Zn) content in fish tissues. J. BioSci. Biotech. 3(1). 43-47.

- 6- **Yılmaz E.**, Koç C., 2012. “Bodrum Yarımadasında İçme ve Kullanma Suları Üzerine Bir Çalışma” Research Journal of Biological Sciences (BİBAD), 5 (2): 021-023.

b) Bildiriler - Uluslararası -Ulusal

- 1- Yavuz E., **Yılmaz E.**, Gökçe C., Demirak A., 2007 “ Balık Çiftliklerindeki Sedimentlerde Fosfor Fraksiyonlarının Araştırılması. XIV Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, Shf 240. 4-7 Eylül Muğla.
- 2- Tilkan E., Birol N., Yavuz E., **Yılmaz E.** ve Demirak A. 2007.“ 2,4 Dikloro Fenolün Midyedeki Birikiminin Araştırılması”. XIV Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Kongre Bildiri Özetleri Kitabı, Shf 250. 4-7 Eylül, Muğla.
- 3- Koç C., Koçak M., **Yılmaz E.**, 2011. “Büyük Menderes ve Batı Akdeniz Havzalarında İnşa Edilen Hidroelektrik Santrallerin Sorunları ve Çözüm Yolları Üzerine Bir Çalışma”. V. Ulusal Su Mühendisliği Sempozyumu, Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, Araştırmacı Su Mühendisleri Derneği, 12–16 Eylül, İstanbul, Cilt II, 697-707.
- 4- **Yılmaz E.**, Koç C., 2012” Aydın ili Bozdoğan ilçesinde yer alan karada kurulu farklı kapasitedeki alabalık işletmelerinin giriş ve çıkış sularının değerlendirilmesi üzerine bir çalışma”2. Ulusal Sulama ve Tarımsal Yapılar Sempozyumu, 24–27 Mayıs, İzmir, Bildiri Özetleri Kitabı 130. (Poster)
- 5- **Yılmaz, E.**, Yılmaz, S., Ergün, S., Kaya, H., 2013. Bitki Esans Yağlarının Balıklarda İz Element Biyoakümüülasyonu Üzerine Etkisi. 3. ULUSAL ALABALIK SEMPOZYUMU, 24–26 MAYIS 2013, Kastamonu (Bildiri)

c) Katıldığı Projeler

- 1- 2013/ 102 Alabalık Yeminde Bitki Ekstralarının Kullanımının Büyüme Yemden Yararlanma ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkisi. Çomu, Bilimsel Araştırma Projeleri (Bap).

İŞ DENEYİMİ

2010-2012 Çobanlar Alabalık Tesisi (Fethiye)

2012- 2014 Adnan Menderes Üniversitesi Bozdoğan Meslek Yüksek Okulu

2014- Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü

İLETİŞİM

E-posta Adresi : doktor_ebru@hotmail.com