

**T.C.  
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Onchorhynchus mykiss*)  
*Lactococcus garvieae* ENFEKSİYONUNA KARŞI SAKAL LİKENİ  
(*Usnea barbata*) SULU METANOLİK ÖZÜTÜNÜN  
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İN VİVO BELİRLENMESİ**

**Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTİYAH**

**Danışman  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi**

**Doç. Dr. Soner BİLEN  
Yrd. Doç. Dr. Ekrem MUTLU  
Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**KASTAMONU – 2016**

## TEZ ONAYI

**Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTİYAH** tarafından hazırlanan "**Gökkuşağı Alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) *Lactococcus garvieae* Enfeksiyonuna Karşı Sakal Likeni (*Usnea barbata*) Sulu Metanolik Özütünün Antimikrobiyal Etkilerinin İn Vivo Belirlenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Soner BİLEN  
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Ekrem MUTLU  
Kastamonu Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

10/07/2017

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ

## TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTİYAH



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Onchorhynchus mykiss*) *Lactococcus garvieae* ENFEKSİYONUNA KARŞI SAKAL LİKENİ (*Usnea barbata*) SULU METANOLİK ÖZÜTÜNÜN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İN VİVO BELİRLENMESİ

Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTİYAH  
Kastamonu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Soner BİLEN

Bu çalışmada, gökkuşağı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*), *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı, sakal likeni (*Usnea barbata*) sulu methanolik özütünün tedavi edici etkileri tespit edilmiştir. 4 farklı özüt konsantrasyonu (0 mg/100 µl, 4 mg/100 µl, 8 mg/100 µl, 12 mg/100 µl) ve sonuçları karşılaştırabilmek için iki farklı antibiyotik, florfenikol ve eritromisin, *L. garvieae*'nin intramasküler inokülasyonu sonrasında günde iki kere tüm gruplardaki balıkların her birine oral yolla, besleme enjektörü kullanılarak verilmiştir. Çalışma 10 gün boyunca sürmüştür ve 0, 3, 7 ve 10. günlerde immünolojik yanıtlar belirlenmiştir. Çalışmada, süperoksit radikal salınımı 12 mg sakal likeni, florfenikol ve eritromisin gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmıştır ( $P<0,05$ ). Lizozim aktivitesi genel olarak tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiş ( $P<0,05$ ) yada farklılık tespit edilememiştir ( $P>0,05$ ). Myeloperoksidaz aktivitesi antibiyotik gruplarında genel olarak artış göstermiştir. Genel olarak myeloperoksidaz aktivitesi tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Deneme gruplarındaki bazı hematolojik parametreler artış göstermiş olsa da bu artış istatistiki açıdan farklılık oluşturmamıştır. Çalışmanın 7. gününde kan parametreleri 4 mg sakal likeni grubunda artmıştır. Yaşam oranı kontrol grubunda %46,15 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve 12 mg sakal likeni grubu arasında kayda değer bir farklılık olmamıştır ( $P>0,05$ ). Diğer tüm deneme gruplarının yaşama oranları kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiştir. En yüksek yaşama oranı Florfenikol grubunda (% 82,69) tespit edilmiştir. 4 mg sakal likeni, 8 mg sakal likeni ve eritromisin gruplarının yaşama oranı sırasıyla % 73,08, % 65,38 ve % 80,77 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, sakal likeni sulu methanolik özütü 4 mg/17,41g canlı ağırlık/gün dozunda alabalıklarda *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı etkili bir terapötiktir.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşağı alabalığı, bağışıklık yanıt, sakal likeni, yaşama oranı, *Lactococcus garvieae*, *Usnea barbata*

**2016, 53 sayfa**  
**Bilim Kodu: 1205**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### INVESTIGATION OF *IN VIVO* ANTIMICROBIAL EFFECTS OF BEARD LICHEN AQUEOUS METHANOLIC EXTRACT IN RAINBOW TROUT (*Onchorhynchus mykiss*) AGAINST *Lactococcus* *garviae* INFECTION

Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTIIYAH  
Kastamonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Soner BİLEN

**Abstract:** In this study, therapeutical effects of aqueous methanolic extracts of beard lichen (*Usnea barbat*) against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) were investigated. 4 different concentration of extract (0 mg/100 µl (Control), 4 mg/100 µl, 8 mg/100 µl, 12 mg/100 µl) and also to compare results two different type of antibiotic such as florfenicol and eritromycine were given orally using feeding needle to the each individual in all experimental group twice in a day after intramuscular inoculation of *L. garvieae*. The study was maintained during 10 days and every 0, 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> day of the study immune responses were determined. In the study, superoxide radical realizing was increased in 12 mg beard lichen, florfenicol and eritromycine compared to control (P<0.05). Lysozyme activity was generally decreased (P<0.05) or not differences observed in all experimental group compared to control (P>0.05). Myeloperoxidase was significantly increased in all antibiotic groups. Florfenicol group at the 7<sup>th</sup> day of the sampling time (P<0.05). Myeloperoxidase was increased in almost all experimental groups compared to control. Some hematological parameters in experimental groups were increased. However this increase was not significant. However, 7<sup>th</sup> day of the study almost all blood parameters were significantly increased in 4 mg beard lichen group. Survival rate of the groups was found in control group as 46.15 %. There were no significant differences between control and 12 mg beard lichen groups (P>0.05). All the other groups' survival rate was significantly increased compared to control. The highest survival rate was found in florfenicol group (82.69 %). 4 mg beard lichen group, 8 mg beard lichen group and eritromycine group survival rate was investigated as 73.08 %, 65.38% and 80.77% respectively. According to our results, beard lichen methanolic extract is an effective therapeutic against *L. garvieae* infection in rainbow trout at the dose of 4 mg/32,34g body weight/day.

**Key Words:** Rainbow trout, immune response, beard lichen, survival rate, *Lactococcus garvieae*, *Usnea barbata*

2016, 53 pages

Science Code: 1205

## TEŐEKKÖR

Tez alıŐması boyunca yardımlarını esirgemeyen danıŐmanım Doç. Dr. Soner BİLEN'e, laboratuvar çalıŐmalarındaki yardımlardan dolayı Husam Taher ELBESHTİ'ye ve bu sÖrete manevi desteğini hiç eksik etmeyen sevgili aileme teŐekkÖrÖ borç bilirim.

Abdulwahid Mohammed Almahdi SIRTİYAH  
Kastamonu, Temmuz, 2017



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ .....	x
GRAFİKLER DİZİNİ .....	xi
TABLolar DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Sakal Likeni ( <i>Usnea barbata</i> ) .....	7
1.2. <i>Lactococcus garvieae</i> .....	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	9
3. YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Balık Materyali .....	14
3.1.2. Uygulama Yeri.....	14
3.1.3. Sakal Likeni Bitkisi ( <i>Usnea barbata</i> ) ve Hazırlanışı .....	15
3.1.4. <i>Lactococcus garvieae</i> .....	16
3.2. Yöntem .....	17
3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması.....	17
3.2.2. Hastalık Amilinin LD <sub>50</sub> Oranların Belirlenmesi.....	17
3.2.3. Deneyin Kurgulanması .....	18
3.2.4. İmmunolojik Analizler.....	20
3.2.4.1. <i>NBT Yöntemi</i> .....	20
3.2.4.2. <i>Lizozim Aktivitesi</i> .....	21
3.2.4.3. <i>Myeloperoksidaz Aktivitesi</i> .....	21
3.2.5. Hematolojik Analizler .....	21
3.2.5.1. <i>Eritrosit Sayımı</i> .....	21
3.2.5.2. <i>Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi</i> .....	21
3.2.5.3. <i>Hemoglobin Miktarının Tayini</i> .....	22

3.2.5.4. Eritrosit İndeksleri .....	22
3.2.5.4.1. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) .....	22
3.2.5.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH) .....	22
3.2.5.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyon (MCHC) .....	22
3.2.6. İstatistiksel Analizler .....	23
4. BULGULAR .....	24
4.1. Bağışıklık Yanıtta Meydan Gelen Değişimler .....	24
4.1.1. NBT Yöntemi .....	24
4.1.2. Lizozim Aktivitesi .....	30
4.1.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi .....	35
4.2. Hematolojik Değişimler .....	40
4.3. Yaşama Oranları .....	42
5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	45
KAYNAKLAR .....	47
ÖZGEÇMİŞ .....	53



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

APİ 20E	<i>A. hydrophila</i> test kiti
ATCC	American Type Culture Collection
C	Santigrat
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
Dk	Dakika
FAO	Food and Agriculture Organization
HBBS	Hank's Balanced Salt Solution
g	Gram
Gr-	Gram Negatif
IU	International Unit
kg	Kilogram
K3EDTA	Antikoagulant
l	Litre
LD <sub>50</sub>	Lethal Doz %50
LSD	Asgari Önemli Farklılık
m	metre
MCH	Ortalama Hemoglobin Parçacığı
MCHC	Ortalama Hemoglobin Parçacığı Yüzdesi
MCV	Ortalama Parçacık Hacmi
mg	Miligram
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MPO	Myeloperoksidaz
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
nm	Nanometre
PBS	Fosfat Buffered Saline
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
TSB	Triptik Soy Brotham
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
µl	Mikrolitre
°	Derece
%	Yüzde

## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Fotoğraf 1.1. Sakal likeni ( <i>Usnea barbata</i> ). .....	7
Fotoğraf 3.1. Deneme kullanılan akvaryum sistemleri. ....	14
Fotoğraf 3.2. Toz haline getirilmiş sakla yosunu ( <i>Usnea barbata</i> ). ....	15
Fotoğraf 3.3. Çalışmada kullanılan sakal yosunu ( <i>Usnea barbata</i> ) sulu metanolik özütünün filtre edildikten sonra vakum evaporatörde çıkarılma işlemi. ....	17
Fotoğraf 3.4. PBS içerisinde uygun dozda hazırlanmış kullanılmaya hazır sakal yosunu. ....	17
Fotoğraf 3.5. Denemede kullanılan balıkların çalışmanın ilk gününde <i>L.</i> <i>garvieae</i> enfeksiyonu ile intramasküler olarak enfekte edilmesi.. ....	19
Fotoğraf 3.6. Sakal yosunu özütü içeren hammaddenin balıklara oral yolla verilmesi.....	19
Fotoğraf 3.7. Denemede kullanılan balıklarından immünolojik analizlerde kullanılmak üzere kan örneklerinin alınması. ....	20

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Grafik 4.1. Kontrol grubunun günlere göre NBT aktiviteleri. ....	26
Grafik 4.2. 4 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri. ....	26
Grafik 4.3. 8 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri. ....	27
Grafik 4.4. 12 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri. ....	27
Grafik 4.5. Florfenikol grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.....	28
Grafik 4.6. Eritromisin grubunun günlere göre NBT aktiviteleri. ....	28
Grafik 4.7. Kontrol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi ....	32
Grafik 4.8. 4 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	32
Grafik 4.9. 8 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	33
Grafik 4.10. 12 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	33
Grafik 4.11. Florfenikol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	34
Grafik 4.12. Eritromisin grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	34
Grafik 4.13. Kontrol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	37
Grafik 4.14. 4 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	37
Grafik 4.15. 8 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	38
Grafik 4.16. 12 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	38
Grafik 4.17. Florfenikol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	39
Grafik 4.18. Eritromisin grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	39
Grafik 4.19. Grupların yaşama oranları (1: Kontrol; 2: 4 mg sakal likeni; 3: 8 mg sakal likeni; 4: 12 mg sakal likeni; 5: Florfenikol; 6: Eritromisin) .....	43
Grafik 4.20. Grupların günlere göre yaşama yüzdeleri.....	44

## TABLULAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 1.1. 2015 yılı dünya çapında avcılık ve kültür yolu ile üretilen su ürünleri miktarları (milyon ton)(FAO 2017).....	2
Tablo 1.2. . Türkiye toplam akvakültür üretimi ve bunun yıllara göre dağılımı (TUİK 2016)(ton).....	3
Tablo 1.3. Kültür yolu ile elede ilen su ürünleri üretiminin yıllara göre tür bazında üretim miktarları (TUİK 2016) (ton).....	4
Tablo 4.1. Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile <i>Lactococcus garvieae</i> enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşacağı alabalıklarında NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler (540 nm)..	24
Tablo 4.2. Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile <i>Lactococcus garvieae</i> enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşacağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml)	30
Tablo 4.3. Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile <i>Lactococcus garvieae</i> enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşacağı alabalıklarında MPO aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/l).....	36
Tablo 4.5. Çalışmanın 0.günü elde edilen hematolojik veriler. ....	40
Tablo 4.6. Çalışmanın 3.günü elde edilen hematolojik veriler. ....	41
Tablo 4.7. Çalışmanın 7.günü elde edilen hematolojik veriler. ....	42
Tablo 4.8. Çalışmanın 10.günü elde edilen hematolojik veriler. ....	42

## 1. GİRİŞ

Artan dünya nüfusuna paralel olarak insanların gıda tüketimi artmakta ve buna paralel olarak da su ürünleri tüketimi de artmaktadır. Bu bağlamda insanların 2030 yılı itibari ile yıllık su ürünleri tüketimlerinin 40 kg'a kadar çıkacağı tahmin edilmektedir (FAO, 2017). Artan ihtiyaçların karşılanmasının gerekliliği ve bundan farklı olarak doğal kaynakların gün geçtikçe azalması bu ters ilişkide en büyük sorunu oluşturmaktadır. Hayvansal protein üretimden elde edilecek miktarların karasal hayvanların yem tüketimi ve et değerlendirme oranları dikkate alındığında insanları alternatif kaynaklara yöneltmektedir. Günümüzde tüketilecek olan hayvansal protein ihtiyacın karasal hayvanlardan değil su ürünlerinden elde edilmesi en güncel ve önemli konuların başında gelmektedir. Öyleki, insanların tükettiği hayvansal protein kaynaklarının 2050'li yıllarda yaklaşık % 57'sinin su ürünlerinden elde dilediği öngörülmektedir (FAO, 2017). Ayrıca karasal hayvan üretiminde artan maliyetler sürdürülebilir hayvansal protein ihtiyacının geleceğini sorgulamaktadır.

FAO (2017) verilerine göre su ürünleri üretimi gün geçtikçe artmaya devam etmektedir. Buna paralel olarak su ürünleri tüketimi 2014 yılında 20 kg' kadar ulaşmış ve tahmin edilen 2050'li yıllara ait tüketim istatistiklerini desteklenmiştir. Temel olarak Tablo 1.1'de yer alan 2015 yılına ait yakalana ve üretilen su ürünlerinin toplam miktarları incelendiğinde dünya çapında avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri istihsalinin 92,6 milyon ton olduğu gözlenmektedir. Bununla birlikte yetiştiricilik yolu ile elde edilen su ürünleri üretimi bundan farklı olarak 76,59 milyon ton olarak tespit edilmiştir. Yıllık veriler değerlendirildiğinde avcılık yolu ile elde edilen üretimin yıllık olarak genel bağlamda sabit olduğu fakat kültür yolu ile elde edilen su ürünleri üretiminin ise her geçen yıl daha da arttığı gözlenmektedir.

Tüm bu üretim verileri gelecek yıllarda su ürünleri üretiminin sadece hayvansal değil aynı zamanda bitkisel protein kaynakları açısından da insan ihtiyaçlarının karşılanmasında en önemli adresin olacağını göstermektedir.

Tablo 1.1. 2015 yılı dünya çapında avcılık ve kültür yolu ile üretilen su ürünleri miktarları (milyon ton)(FAO 2017).

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<b>BALIKÇILIK</b>							
İçsu	10,5	11,3	11,1	11,6	11,7	11,3	11,5
Deniz	79,7	77,9	82,6	79,7	81	79,8	81,2
<b>TOPLAM</b>	<b>90,2</b>	<b>89,2</b>	<b>93,7</b>	<b>91,3</b>	<b>92,7</b>	<b>91,1</b>	<b>92,6</b>
<b>AKVAKÜLTÜR</b>							
İçsu	34,3	36,3	38,6	42	44,8	47,1	48,75
Deniz	21,4	22,1	23,2	24,4	25,5	26,7	27,84
<b>TOPLAM</b>	<b>55,7</b>	<b>58,4</b>	<b>61,8</b>	<b>66,4</b>	<b>70,3</b>	<b>73,8</b>	<b>76,59</b>
<b>TÜKETİM</b>							
İnsan Tüketimi	123,8	128,1	130,8	136,9	141,5	146,3	
Yiyecek olmayan Kullanımlar	22	20	24,7	20,9	21,4	20,9	
Popülasyon	6,8	6,9	7	7,1	7,2	7,3	
Kişi Başı Balık Tüketimi	18,2	18,6	18,7	19,3	19,7	20,0	

Türkiye, dünya gelişimine paralel olarak bir gelişim göstermiştir ve üretim olarak yıllık ulaşılan değer 672241 ton olarak 2015 yılı için belirlenmiştir (TUİK 2016). Bu üretim miktarları ele alındığında üretimin yaklaşık olarak 431907 tonunun avcılık yolu ile istihsal edildiği belirlenmektedir. Kültür yolu ile elde edilen ürünler toplamı ise 240334 ton olarak tespit edilmiştir. Dünyadaki artan su ürünleri üretimi istatistiklerine kültür yolu ile elde edilen su ürünleri üretimi artışına paralel olarak Türkiye’de de kültür yolu ile elde edilen su ürünleri üretiminde bir artış söz konusudur. Su ürünleri üretiminin yıllara göre detaylı dağılımı Tablo 1.2’de verilmiştir.

Tablo 1.3’te Türkiye’de yıllara göre kültür yolu ile elde edilen su ürünleri üretimini verilmiştir. Türkiye’de temel olarak üç ana balık türünün kültürü yapılmaktadır. BU türlerden en ö sırayı gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) almaktadır. Bunu sırasıyla üretim miktarlarına göre levrek (*Dicentrachus labrax*) ve çipura (*Saparus aurata*) takip etmektedir. Veriler değerlendirildiğinde 2009 yılı haricinde su ürünleri üretiminin yıllara göre arttığı gözlenmektedir. Bu artış dünya ile paralel olmakla birlikte artışa neden etmenler çok farklı alanlarda değerlendirilebilir.

Tablo 1.2. *Türkiye toplam akvakültür üretimi ve bunun yıllara göre dağılımı (TUIK 2016)(ton).*

Yıllar	Üretim	İhracat	İthalat	Tüketim		Kullanılmayan	Kişi Başı Tüketim
				İç Tüketim	B.un/yağ		
2000	582376	14533	44230	538764	71000	2309	8
2001	594977	18978	12971	517832	62755	8383	7,5
2002	627847	26860	22532	466289	156000	1230	6,7
2003	587715	29937	45606	470131	120000	13253	6,7
2004	644492	32804	57694	555859	105000	8523	7,8
2005	544773	37655	47676	520985	30000	3809	7,2
2006	661991	41973	53563	597738	60000	15843	8,1
2007	772323	47214	58022	604695	170000	8436	8,6
2008	646310	54526	63222	555275	95742	3989	7,8
2009	622962	54354	72686	545368	90211	5715	7,6
2010	653080	55109	80726	505059	168073	5565	6,9
2011	703545	66738	65698	468040	228709	5756	6,3
2012	644852	74007	67384	532347	94201	9682	7,1
2013	607515	101063	67530	479708	87896	6378	6,3
2014	537345	115682	77545	420361	73667	5180	5,5
2015	672241	121761	110761	485811	176138	6070	6,2

Son yıllarda gelişen teknoloji su ürünleri üretiminin de gelişmesine katkılar sağlamıştır. İnsan gücü kullanımının en alt seviyelere inmesi, ürünlerin makine gücü ve yeni teknolojiler kullanılarak üretilir hale gelmesi ile fiyatların da aşağılara düşmesi, su ürünlerini tüketilebilir hale getirmektedir. Yeni teknoloji kullanımı birim alanda maksimum verim elde edilmesini beraberinde getirmektedir (Bilen, Bilen ve Önal 2015). Bununla birlikte ileri teknoloji kullanımı, balıkların daha hızlı büyütülebilmeleri için kapalı devre sistemlerin kullanılması ve stres koşulların değişmesi kaçınılmaz olmuştur. Bu durum balıkların sağlıkları üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiği gibi son yıllarda etik değerlendirilmelerin de yapılmasına neden olmaktadır. Su Ürünleri üretiminde teknoloji gelişimine paralel olarak balıkların üretim şartlarını iyileştirilmesi ve özellikle strese bağlı oluşan bağışıklık sorunları ile birlikte meydana gelebilecek hastalıklar ve bunlara bağlı kayıpların değerlendirilmesi son derece önem arz etmektedir.

Tablo 1.3. *Kültür yolu ile elede ilen su ürünleri üretiminin yıllara göre tür bazında üretim miktarları (TUIK 2016) (ton).*

Yıllar	Alabalık			Çipura	Levrek
	İçsu	Deniz	Toplam		
2000	42572	1961	44533	15460	17877
2001	36827	1240	38067	12939	15546
2002	33707	846	34553	11681	14339
2003	39674	1194	40868	16735	20982
2004	43432	1650	45082	20435	26297
2005	48033	1249	49282	27634	37290
2006	56026	1633	57659	28463	38408
2007	58433	2740	61173	33500	41900
2008	65928	2721	68649	31670	49270
2009	75657	5229	80886	28362	46554
2010	78165	7079	85244	28157	50796
2011	100239	7697	107936	32187	47013
2012	11335	3234	14569	30743	65512
2013	122873	5186	128059	35701	67913
2014	107983	5610	113593	41873	74653
2015	101166	6872	108038	51844	75164

Günümüzde, balık üretiminde hastalıklardan kaynaklanan kayıplar ekonomik olarak önemli yer tutmaktadır. Üretim değerleri ele alındığında hastalıklardan kaynaklanan kayıpların başında balık kayıplarına ek olarak artan insan gücü uygulamaları göze çarpmaktadır. Temel olarak su ürünleri üretiminde de en temel hastalık tedavi yöntemi üretilecek olan türün hastalıklara yakalanmasını engellemektir. Özellikle enfeksiyöz hastalıkların oluşmaması en önemli temel konuyu oluşturmaktadır. Bulaşıcı enfeksiyöz hastalıkların bir üretim sisteminde ortaya çıkması sonrası diğer havuz ve gruplara bulaşma riskinin olması ve bu hadislerin sıklıkla yaşanması önemli bir sorundur.

Hastalıkların önlenmesinde temel olarak en başı çeken uygulama aşılama işlemleridir. Günümüzde çeşitli hastalıklara karşı bir çok aşı uygulaması geliştirilmiştir ve bu uygulamaların ilki olarak *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonuna karşı oluşturulan inaktif aşıdır (Duff, 1942). Duff (1942), yapmış olduğu çalışmada aşılamanın farklı natikörler üretimini gerçekleştirmesi ile de sistemin



çalıştığı gözlemiştir. Bu yöntemin geliştirilmesinde sonra dünya genelinde 1970'li yıllara kadar aşı uygulamalarında bir hareketliliğin gözlenmediği ortaya çıkmaktadır (Plant ve LaPatra, 2011). Amerika'da ilk lisanslı balık aşısı *Yersinia ruckeri* tarafında oluşturulan enterik kızıl ağız hastalığına karşı alınmıştır ve buna bağlı olarak takip eden yıllarda vibriosis hastalığına neden olan *Vibrio anguillarum/ordali* patojenlerinden kaynaklanan enfeksiyonlara karşı da aşılar üretilmiştir. Tüm bu bakteriyolojik hastalıklara karşı koruma için aşı geliştirilmiş olmakla birlikte viral enfeksiyonlardan kaynaklı hastalıkların tedavisinde ilgili yöntemler yetersiz kalmıştır. Bu durum DNA aşılarının üretilmesine yol açmıştır (Plant ve LaPatra, 2011). İlk olarak plasmid DNA aşısı enfeksiyöz pankreatik nekrozis hastalığına (IHNA) karşı oluşturulmuş (Anderson, Mourich, Fahrenkrug, LaPatra, Shepherd vd., 1996; Corbeil, Kurath, LaPatra, 2000) ve sonrasında viral hemorajik septisemi (Lorenzen, Lorenzen, Einer-Jensen, Heppell, Wu, vd., 1998) enfeksiyonlarına karşı yeni DNA aşısı oluşturulmuştur.

Bugüne kadar birçok aşı türü ticari olarak piyasaya sunulmuş ve tedariki son derece kolaydır. Aşı uygulamalarında temel sorun kullanılan veya kullanılacak olan aşımı sadece ilgili patojene karşı etken olmasıdır. Buna ek olarak koruma süresinin sınırlı olması diğer bir sorunu teşkil etmektedir. Ayrıca aşı uygulamalarının ciddi bir ekiple yapılması fazladan maliyet ve zaman sorunlarını ortaya çıkarmaktadır. Son yıllarda Türkiye'de aşı uygulamaları tamamen bir sektör haline almış ve uzmanlaşmış ekipler dahilinde uygulamalar çiftlik çalışanlarından harici olarak hizmet alımı şeklinde gerçekleşmektedir.

Hasatlardan kaynaklanan kayıpların önlenmesinde koruyucu önlem olarak ele alınabilecek diğer bir uygulama yöntemi bağışıklık uyarıcıların kullanılmasıdır. Bağışıklık uyarıcılar yem katkısı olarak balık sağlığının güçlenmesinde kullanılan ve genel olarak doğal bağışıklık üzerinde etkili olan bununla birlikte spesifik olmayan bağışıklık üzerinde de etkili ürünlerdir. Bu ürünler temel olarak bağışıklık sisteminde lökositleri uyatarak sistem içerisinde süperoksit ve nitrit oksit türlerinin salınmasını sağlayarak sistemi harekete geçiren ürünlerdir. Bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan ürünleri bir çok çeşidi mevcuttur (Vallejos-Vidal, Reyes-López, Teles, MacKenzie, 2016). Bunlar içerisinde çeşitli kimyasallar (Baba, Watase ve Yoshinaga, 1993),

bakteriyal ürünler (Solem, Jørgensen ve Robertsen, 1995), algler ve türevleri (Heidarieh, Soltani, Tamimi, Toluei, 2011) ve tıp alanında kullanılan ve tedavi edici özelliği olan tıbbi bitkiler (Altunoğlu, Bilen, Ulu ve Biswas, 2017; Bilen, Ünal ve Güvensoy 2016a; Bilen, Altunoğlu, Ulu ve Biswas, 2016b; Bilen, Yılmaz, Bilen ve Biswas, 2014; Bilen, Bulut ve Bilen, 2011;) sayılabilir.

Türkiye’de üretim çiftliklerinde genel olarak yapılan uygulama, koruma yada tedavi maksatlı, antibiyotik kullanımı olarak göze çarpmaktadır. Bu alternatif en güçlü yönü oluşturmaktadır. Tüm çiftlikler balık üretiminde aşı uygulama yöntemlerine gitseler de spesifik aşuların koruma sağlamadığı durumlarda doğal olarak hastalanan balıkların tedavisinde antibiyotik uygulamaları kullanılmaktadır. Bu durumda antibiyotiklerin yan etkileri büyük sorun teşkil etmektedir. Özellikle bakterilerde meydana gelen antibiyotik direnç (Kim, Lee, Oh, 2017) ve çevreye yapılan olumsuz etkiler bunun başında gelmektedir. Ayrıca Avrupa Birliği tarafından bağışıklık uyarıcı yada koruyucu olarak antibiyotiklerin yeme katılması tamamen yasaklanmıştır. Antibiyotikleri 400-550 gün/ C° gibi bir sürede, uygulandıktan sonra vücuttan atılmaları satış ve pazarlama açısından da ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Çevresel etkiler, ekonomik kayıplar, insan sağlığı açısından oluşabilecek olumsuz uygulamalar tümünden antibiyotik kullanımı açısından oluşan sorunlar olarak değerlendirilmektedir.

Yukarıda belirtildiği üzere tüm bu sorunların değerlendirilmesinde ve çözüm önerilerinin oluşturulmasında yeni fikirlerin ortaya konması kaçınılmazdır. Balıkların bağışıklık güçlendiriciler ile uygulamalara tabi tutulması yada aşı yöntemleri ile hastalıkların önlenmesi gibi uygulamalara rağmen balıkların hastalanmaları halinde ve durumunda antibiyotik kullanımına alternatif yöntem olarak tıbbi bitkilerin ki in vitro olarak anti-mikrobiyal etki gösteren bir çok bitki vardır, taranıp tespit edilip uygulamaya alınması ve bağışıklık uyarıcı olarak kullanılmalarına ek olarak tedavi edici olarak kullanılmaları son derece elverişli bir yol olarak ortaya çıkmaktadır.

Bu bağlamda bu tez çalışmasında özellikle Gr+ balık bakteriyolojik patojenlerine karşı etki olabilen sakal likeni (*Usnea barbata*) bitkisini *Lactococcus garviae* enfeksiyonuna karşı olan etkilerinin incelenmesi ele alınmış ve potansiyel tedavi

edici özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışmada sakal likeninin sulu metanolik özütü çıkarılmış ve deneysel olarak *Lactococcus garviae* enfeksiyonuna karşı etkinliği in vivo olarak tespit edilmiştir.

### 1.1. Sakal Likeni (*Usnea barbata*)

Sakal likeni (*Usnea barbata*), Parmeliaceae familyası üyesi olup uzun, grimsi-yeşil renkli ve dallı iplikler halindedir. Türkiye'nin hemen her yerinde özellikle Karadeniz bölgesi ormanlarında bilhassa kayın, köknar ve meşe palamudu türlerinin dalları üzerinde geniş yayılım alanı gösterir. Likenler genel olarak çok eskiden beri tıbbi amaçlarla kullanılmıştır (Shibata, Ukita, Tamura, Miura, 1948).



Fotoğraf 1.1. Sakal likeni (*Usnea barbata*)

Tıbbi olarak kullanılan *Usnea* türleri Avrupa, Çin, Japonya ve Endonezya gibi ülkelerde geniş kullanım alanı bulmuştur. Fikokimysal bileşenleri çok geniş bir metabolit içeriği sunmakla birlikte temel olarak likenlerde usnik asit etken madde olarak izole edilmekte ve bildirilmektedir (Kotan, Alpsyoy, Anar, Aslan, Agar, 2011). Ayrıca, polisakkaritler, yağ asitleri, fenolik asitler, flavonoidler, terpenler, steroller, benzofuranlar açısından zengin bir içeriğe sahiptir. *Usnea* türleri sahip oldukları bu içeriklerle anti-kanser, anti-proloferatif, anti-oksidan, anti-viral, anti-inflamasyon, anti-ülser, hepatoprotektif ve anti-genotoksik özellikler göstermektedir (Paliya, Bajpai, Jadaun, Kumar, Kumar, vd., 2016).

## 1.2. *Lactococcus garvieae*

*Lactococcus garvieae* GR+, kok zoonotik bir patojendir. Bugüne kadar bir çok balık ve hatta inşalardan izole edilmiştir (Eldar, 1996; James, Hardman, Patterson, 2000). Tam kontrollü su ürünleri üretiminin gelişmesine paralel olarak streptococcal enfeksiyonlar ki bunlardan en önemlilerinden biri olan *L. garvieae*, Japonya, İtalya, İsrail, ve Avrupa'da bir çok ülkede önemli kayıplara neden olmuştur (Chen, Lin, Liaw, Wang, 2001).

Türkiye'de ilk olarak 2002 yılında ortaya çıkan hastalık (Diler, Altun, Adiloglu, Kubilay, Isıklı, 2002) günümüzde bir çok çiftlik üreticisi için özellikle gökkuşuğu alabalığı yetiştiricileri açısından barajlarda veya denizde üretim yapan çiftliklerde su sıcaklığının yükseldiği yaz aylarının başından itibaren büyük bir problem olarak ortaya çıkmaktadır. Hastalığın korunma yolları içerisinde aşı uygulamaları gelmektedir. Bununla birlikte aşı faaliyetlerinden dolayı uygulamanın yapılmadığı durumlarda hastalığın oluşması halinde genel olarak antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır. En çok kullanılan antibiyotik türü eritromisindir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Şimdiye dek tıbbi bitkiler üzerinde bir çok çalışma yapılmış, bununla birlikte bu çalışmalar anti-mikrobiyal aktivitelerin deneysel ortamlarda ortaya konulması yada bu bitkilerin balıklar üzerinde immunostimulant etkilerinin belirlenmesi üzerine olmuştur. Benzer nitelikte kayıtlara geçen sadece bir çalışma mevcuttur. Bu bağlamda bu bölümde tıbbi bitkilerin tedavi edici etkilerinden ziyade bağışıklık uyarıcı etkileri üzerine çalışmalar değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda nötrofil adezyonu ve hematokrit seviyelerinde artışlar gözlenmiştir. Lenfosit sayıları 1 ve 2 aylık deneme gruplarında artış göstermiştir. Tüm dene gruplarının büyüme performansı olum etkilenmiştir.

Bilen ve Bulut (2010), yaptıkları çalışmada defne yaprağı tozu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar % 0,5 ve % 1 oranında defne içeren yemlerle 21 gün boyunca beslenmişler ve 21 gün sonunda balıklar normal diyetlerle beslenmeye devam edilmiş ve toplam 63 gün süren çalışmada besleme sonrasında da meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışma sonunda hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları üzerinde bir değişiklik tespit edilememiştir. Benzer olarak fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam kan protein değerleri açısından da herhangi bir değişikliğin söz konusu olmadığı belirlenmiştir.

Mohamad ve Abasali (2010), sazan balıklarını (*Cyprinus carpio*) *Inula helenium*, *Tussilago farfara*, *Brassica nigra*, *Echinacea purpurea* ve *Chelidonium majus* bitkilerinin % 70'lik etanol çözeltisi içerisinde elde ettikleri özütleri eşit miktarlarda karıştırmışlar ve temel yem içerisine 100, 250, 500, 750 ve 1000 mg/kg olacak şekilde ilave etmişlerdir. Sazan balıkları bu yemlerle 60 gün boyunca beslenmişler ve her 20, 40 ve 60.günlerde balıklardan örnekler alınarak bağışıklık yanıtları tespit edilmiştir. Solunum patlaması, serum bakterisidal aktivite, lizozim, serum protein, albümin, globülin ve lökosit sayıları tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. *A. hydrophila* ile kontrol testine tabi tutulan balıklarda yaşam oranı doz artışı ile birlikte artış göstermiştir.

Awad ve Austin (2010), çalışmalarında gökkuşığı alabalıklarını % 1 acıbakla (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera indica*) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) içeren yemlerle 14 gün boyunca beslemişlerdir. Çalışma sonunda balıklar *A. hydrophila* ile kontrol testlerine tabi tutulmuşlardır. Çalışma sonuçlarına göre serum bakterisidal aktivite, solunum patlaması, ve lizozim aktiviteleri artış göstermiştir. Acıbakla ve mango kullanımı alyuvar ve akyuvar sayılarının artmasına neden olmuştur. Isırgan otu kullanılan grupta ise hematokrit ve hemoglobin seviyeleri artmıştır. Kontrol testlerinde tüm deneme gruplarına yaşama oranlarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir.

Bilen vd. (2011), yaptıkları çalışmada gökkuşığı alabalıklarını % 0,5 ve % 1 oranında tetra (*Cotinus coggyria*) içeren yemlerle 3 hafta boyunca beslemişlerdir. Bu 3 hafta sonunda balıklardan kan örnekleri alarak hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları incelenmiş, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyeleri kontrol etmişlerdir. Sonrasında, balıkları temel bir besin ile beslemeye devam etmişler ve 6 ve 9. Haftalarda yine kan örnekleri alarak değişimleri takip etmişlerdir. Çalışma sonunda ilgili bağışıklık yanıtının tüm parametrelerinde kontrol grubuna göre bir artış tespit etmişlerdir. Büyüme performansı üzerinde tetra bitkisinin bir etkisi tespit edilememişken bundan farklı olarak bağışıklık yanıtı açısından en uygun oranın % 1 içeren tetra olduğu tespit edilmiştir.

Kim, Harikrishnan, Kim, Jang, Kim, vd. (2011), çalışmalarında % 0,1, % 1 ve % 2 oranında *Eriobotrya japonica* özütleri, ile 4 hafta boyunca besledikleri *Epinephelus bruneus* balıklarının bağışıklık yanıtını ve *Vibrio carchariae* enfeksiyonuna karşı etkinliğini incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre serum total protein, albumin ve globülin seviyeleri 2. haftada artış gösterirken 1 ve 4. haftalarda değişiklik göstermemiştir. Superoksit anion üretimi, lenfokin üretimi ve fagozitoziste herhangi bir değişim gözlenmemiştir. % 1 ve 2 oranında özüt içeren yemlerle beslenen gruplarda *Vibrio carchariae* enfeksiyonuna karşı yaşam oranlarında artış gözlemlenmiştir.

Nya ve Austin (2011), çalışmalarında sarımsağın gökkuşağı alabalıklarının bağımsızlık yanıtları üzerine etkilerinin tespit etmişlerdir. Ayrıca uygulama yapılan balıklar *A. hydrophyla* ile enfekte edilerek kontrol testlerine tabi tutulmuşlardır. Bu bağlamda balıklar, 0,5 ve 1gr /kg sarımsak tozu içeren yemlerle 14 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonundan bağımsızlık parametrelerinde genel bir artıştan söz edilirken benzer şekilde *A. hydrophyla* ile enfekte edilen balıklarda sarımsak ile beslenen grupların yaşama oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Awad, Awad, Austin ve Lyndon (2013), çalışmalarında Quercetin isimli bitki özütü ve çörek otu özütü ile gökkuşağı alabalıklarını beslenmişler ve bağımsızlık yanıtlarında meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Quercetin balık yemlerine % 0,1, % 0,5 ve % 1 oranında, çörek otu yağı ise % 1, % 2 ve % 3 oranında katılmıştır. Çalışma sonunda yüksek doz ile beslenen her iki deneme grubunda da lizozim, toplam protein, antiproteaz ve bakterisidal aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir. Ig seviyelerinde kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Yalnızca % 1 Quercetin içeren gruplarda bir azalma söz konusu olmuştur.

Sheikhzadeh, Pashaki, Nofouzi, Heidarieh, ve Tayefi-Nasrabadi (2012), çalışmalarında gökkuşağı alabalıklarını Ergosan ticari ürünü ile (*Laminaria digitata* ve *Ascophyllum nodosum*'dan elde edilen özüt), 50 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda bağımsızlık parametrelerinde meydana gelen değişimler Lizozim, proteaz, alkalın fosfataz ve esteraz enzimleri kontrol edilerek belirlenmiştir. Çalışma sonuçları balıkların vücut yüzeylerinden elde edilen mukusun *Yersinia ruckeri*'ye karşı yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, tüm deneme gruplarında ilgili bağımsızlık yanıtların arttığını tespit etmişlerdir.

Sheikhzadeh, Nofouzi, Delazar, ve Oushani (2011), gökkuşağı alabalıkları üzerinde kafeinsiz yeşil çayın (*Camellia sinensis*) etkilerini incelemişlerdir. Bu bağlamda yeşil çay balıkların yemlerine 20, 100 ve 500 mg/kg oranında katılmış ve balıklar bu yemlerle 30 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda peroksidaz aktivitelerinin uygulama yapılan tüm gruplarda azalma gösterdiği tespit edilirken 100 mg/kg yeşil çay içeren gruplara beslenen balıkların lizozim aktiviteleri kayda değer

artış göstermiştir. 20m/kg kafeinsiz yeşil çay içeren yemlerle beslenen balıkların *Yersinia ruckeri*'ye karşı serum bakterisidal aktiviteleri artış göstermiştir.

Haghighi ve Rohani (2013), yapmış oldukları çalışmada gökkuşuğu alabalıklarında zencefilin (*Zingiber officinale*) toz olarak yemlere katılması halinde bağışıklık yanıt üzerinde meydana getireceği değişimleri incelemişlerdir. Bu bağlamda balıklar 12 hafta boyunca % 1 zencefil içeren yemlerle beslenmişlerdir. Çalışma sonunda süperoksit radikal salınımlarında bir artış söz konusu olmuştur. Benzer şekilde akyuvar sayısında artış gözlenirken, lizozim aktivitesi, hematokrit seviyeleri ve kırmızı kan hücreleri sayısı da artmıştır. Çalışma sonuçlarına göre zencefilin iyi bir bağışıklık uyarıcı olduğu kanaatine varmışlardır.

Bilen vd. (2016a), yapmış oldukları çalışmada gökkuşuğu alabalıklarını ısırgan otu ve istiridye mantarı sulu metanolik özütlerini % 0,1 ve % 0,5 oranında içeren yemlerle 1 ay boyunca beslemişlerdir. Çalışma sonunda balıklardan kan örnekleri alarak NBT aktivitesi, fagositik aktivite ve lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimleri kontrol etmişler ve ayrıca balıkları *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı kontrol testine tabi tutmuşlardır. Çalışma sonunda NBT ve fagozitik aktivite tüm gruplarda artış göstermiştir. Lizozim aktivitesi en yüksek değerine % 0,5 ısırgan otu ile beslenen gruplarda ulaşmıştır. Kontrol testleri sonuçlarına göre % 0,5 ve % 1 ısırgan ilave edilen yemlerle beslenen balıkların yaşama oranları kontrol grubuna göre artış gösterirken istiridye mantarı ile beslenen gruplarda bir değişiklik gözlenmemiştir.

Bilen vd. (2016b), yaptıkları çalışmada, alabalıkları 30 gün boyunca günde iki kere % 0,5 ve % 1 oranında kapari (*Capparis spinosa*) içeren yemlerle doyana kadar beslemişlerdir. Çalışma sonunda balıklar *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı kontrol testlerine tabi tutulmuştur. Grupların, süperoksit radikal salınımları ve fagozitik aktiviteleri uygulama grubunda da kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri de benzer şekilde kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Balıklar *A. hydrophila* ile enfekte edildiklerinde % 0,5 kapari içeren grupta yaşama oranı daha yüksek olarak tespit edilmiştir.



Elbeshti (2016), yapmış olduğu çalışmada, gökkuşuğı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*), *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı, tetra (*Cotinus coggygia*) sulu methanolik özütünün tedavi edici etkileri tespit etmiştir. Çalışmada balıklar *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edildikten sonra tetra bitkisinin üç farklı dozu ( 4 mg/100 µl, 8 mg/100 µl, 12 mg/100 µl) ve iki farklı antibiyotiğin kontrol olarak yaşama oranları belirlemişlerdir. 10 gün süren çalışma sonunda NBT aktiviteleri 12 mg Tetra grubunu ve Florfenikol grubu hariç tüm gruplarda azalma göstermiştir. Lizozim aktivitesi genel olarak tüm gruplarda kontrol grubuna göre azalmış, myeloperoksidaz aktivitesi Florfenikol grubununun 7. gün örneklemeğinde en yüksek değere ulaşmıştır. Genel olarak myeloperoksidaz aktivitesi tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Kontrol grubunda yaşama oranı %53,33 olarak tespit edilirken kontrol grubu ve 4 mg Tetra grubu arasında bir farklılık olmamıştır. Diğer tüm deneme gruplarının yaşama oranları kontrol grubuna göre yüksek tespit edilirken en yüksek yaşama oranı % 80 ile Florfenikol grubunda tespit edilmiştir. 12 mg Tetra, Doksisisiklin ve 8 mg Tetra gruplarının yaşama oranı sırasıyla % 74,44, % 70 ve % 70 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, tetra sulu methanolik özütü 24 mg/32,34g canlı ağırlık/gün dozunda alabalıklarda *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı etkili bir terapötiktir olduğunu bildirmişlerdir.

Altunoğlu vd. (2017) yapmış oldukları çalışmada gökkuşuğı alabalıklarının çörek otu sulu methanolik özütü ile 30 gün boyunca beslemişler ve çalışma sonunda balıkları *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı kontrol testlerine tabi tutmuşlardır. Ayrıca balıkların sitokin yanıtlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu bağlamda spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerinde özellikle solunum aktivitesinde bir artış gözlenirken diğer gruplar bu artış olmak birlikte yüksek tespit edilmemiştir. Sitokin yanıtlarda genel olarak bir artış gözlenirken kontrol testlerine göre gruplar arasında bir farklılık gözlemlenmemişleridir.

### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Balık Materyali

Çalışmada balık materyali olarak  $17,41 \pm 0,3$  g ortalama ağırlığa sahip gökkuşığı alabalıkları (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Gökkuşığı alabalıkları Kastamonu Üniversitesi İçsu ve Deniz Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

##### 3.1.2. Uygulama Yeri

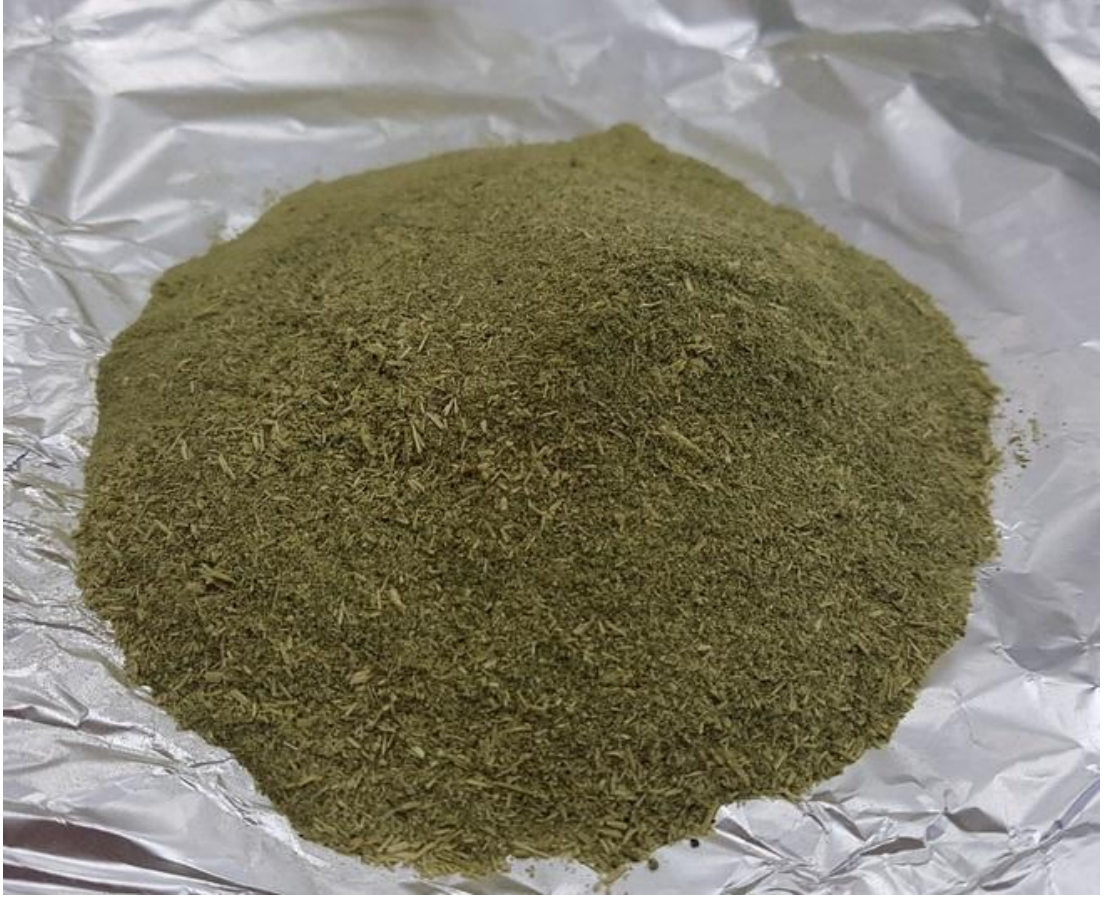
Çalışma, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne ait Balık Hastalıkları Araştırma Ünitesi'nde sürdürülmüştür. Çalışmada her biri 90 L olan birbirinden bağımsız akvaryumlar kullanılmıştır. Akvaryumların suyu günlük olarak % 20 oranına değiştirilmiş ve düzenli olarak filtreleme uygulanmıştır.



Fotoğraf 3.1. Deneme kullanılan akvaryum sistemleri.

### 3.1.3. Sakal Likeni Bitkisi (*Usnea barbata*) ve Hazırlanışı

Çalışmada, *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı etkilerini belirlemek üzere sakal likeni (*Usnea barbata*) bitkisi kullanılmıştır. Sakal likeni, yaz döneminde Kastamonu kırsalındaki ormanlık araziden toplanmış ve gölgede kurutulmuştur. Tamamen kuruyan bitkiler Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yüksek hızlı bitki değirmeninde öğütülmüş ve toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitkinin sulu metanolik özütü daha önceden belirtildiği üzere Bilen vd. (2016a)'ya göre çıkarılmıştır.



Fotoğraf 3.2. Toz haline getirilmiş sakla yosunu (*Usnea barbata*)

### 3.1.4. *Lactococcus garvieae*

*Lactococcus garvieae*, gram pozitif bir bakteri olup tüm dünyada yayılım gösteren zoonoz bir hastalıktır. Bu çalışmada *Lactococcus garvieae* ATCC 43921 suşu kullanılmıştır. Bu maksatla *Lactococcus garvieae* saf suşları TSA'ya ekilmiş, oluşan suşlar API 20 Strep ve API 50 CH ticari kitleri kullanılarak tekrar tür teşhisine tabi tutulmuştur. Daha sonra bu suşlar TSB içerisine inoküle edilmiş ve 37 C°'de 24 saat inkübe edildikten sonra hasat edilmiştir.

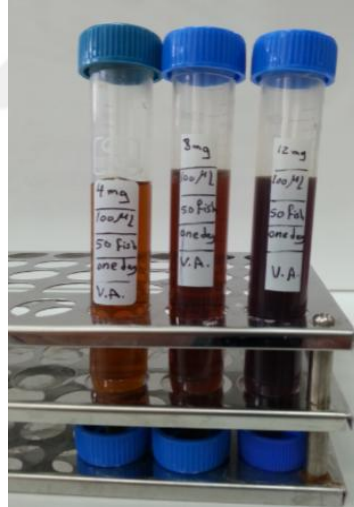
## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması

Bu çalışmada kullanılan sakal yosunu (*Usnea barbata*), Kastamonu İli içerisinde yer alan ormanlık araziden temin edilmiştir. Toplanan bitkiler gölgede kuru bir ortamda normal şartlar altında kurutulmuştur. Kuruyan bitkiler yüksek devirli değirmen öğütücüde toz haline gelinceye kadar çekilmiştir. Daha sonra bu tozların sulu metanolik özütleri çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016b). Kısaca, % 40'lık metanol hazırlanmış ve örnekten 100 g bitki tozu alınarak amber 1 L'lik şişe içerisinde karıştırılmış ve 3 gün boyunca ters yüz edilerek karıştırılmıştır. Örnek karanlık bir ortamda saklanmıştır. 3 gün sonunda bu örnekler Whatman filtre kâğıdından (47 mm) geçirilerek iri partiküller ayrılmıştır. Son sıvı kısım vakum evaporatöre transfer edilmiş ve burada tüm sıvı kısım giderilinceye kadar buharlaştırma yapılmıştır. Buharlaştırılan ürün tamamen şişe içerisinde kuruduktan sonra özüt miktarını net olarak belirlemek için 50 g saf su 50 C°'de ısıtılmış, evaporatör balonu içindeki özüte eklenmiş ve çıkan örnek tartılarak toplam özüt miktarı belirlenmiştir. Daha sonra bu özütler kullanılacak doza göre PBS içerisinde hazırlanmış ve çalışmada kullanılincaya kadar -20 C°'de saklanmış, çalışma müddetince de belirlenen dozlara göre +4 C°'de tutulmuştur.



Fotoğraf 3.3. Çalışmada kullanılan sakal yosunu (*Usnea barbata*) sulu methanolik özütünün filtre edildikten sonra vakum evaporatörde çıkarılma işlemi.



Fotoğraf 3.4. PBS içerisinde uygun dozda hazırlanmış kullanılmaya hazır sakal yosunu.

### 3.2.2. Hastalık Amilinin LD<sub>50</sub> Oranların Belirlenmesi

Hastalık etmeni olarak kullanılan *Lactococcus garviae* (ATCC 43921) patojeninin alabalıklardaki %50'lik öldürücü dozunun belirlenmesi için bir set balık grubu oluşturulmuş ve her balık grubu  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  ve  $1 \times 10^9$  hücre içeren bakteri

ile intramasküler olarak enfekte edilmiş ve 10 gün boyunca yaşama oranları kaydedilmiştir. Sonuç olarak LD<sub>50</sub> dozu olarak 1X10<sup>8</sup> belirlenmiştir.

### 3.2.3. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar ilk olarak Kastamonu Üniversitesi İçsu ve Deniz Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nden temin edildikten sonra Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Hastalık Laboratuvarı'na getirilmiş ve iki hafta boyunca adaptasyon sağlanması için standart alabalık yemi ile beslenmişlerdir. Adaptasyon sürecinden sonra balıklar deneme akvaryumlarına 36 adet gelecek şekilde stoklanmıştır. Akvaryumlar düzenli olarak havalandırılmaya tabi tutulmuş, su kalite kriterleri gözlenmiş ve her gün akvaryumların suyu % 30 oranında bekletilmiş akvaryumlarla aynı sıcaklıktaki su ile değiştirilmiştir.

Balıklarda *Lactococcus garviae* (ATCC 43921) enfeksiyonuna karşı sakal yosunu bitkisinin sulu metanolik özütünün tedavi edici etkilerinin belirlenmesi için balıklar LD<sub>50</sub> dozu belirlenen patojen amil ile denemenin 0. gününde intramasküler olarak enfekte edilmişlerdir (Fotoğraf 3.5.). Aynı gün, 100 µl PBS içerisinde 0 mg (kontrol), 4 mg, 8 mg ve 12 mg sakal yosunu sulu metanolik özütü içeren hammadde ile besleme şırıngası kullanılarak sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa balıklara oral yolla verilmiştir. Kontrol grubuna ek olarak ilgili bakterinin sağaltımında kullanılan florfikol ve eritromisin grupları da oluşturulmuş ve bu gruplar benzer dozlarla günde iki defa olmak üzere balıklara oral yolla verilmiştir (Fotoğraf 3.6.). Çalışma 10 gün boyunca sürdürülmüştür. Çalışmanın 0, 3, 7 ve 10. günlerinde balıklardan kan ve doku örnekleri alınarak immünolojik analizler yapılmıştır. Analizlerde kullanılan balıklar yaşama oranı belirlemede kullanılmamıştır.

Bu çalışma Kastamonu Üniversitesi Hayvan deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 03.04.2017 tarihli ve 92495045-050-E.12086 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.





Fotoğraf 3.5. Denemede kullanılan balıkların çalışmanın ilk gününde *L. garvieae* enfeksiyonu ile intramasküler olarak enfekte edilmesi.



Fotoğraf 3.6. Sakal yosunu özütü içeren hammaddenin balıklara oral yolla verilmesi.

### 3.2.4. İmmunolojik Analizler

Çalışmada humoral bağışıklık yanıtlarında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi için balıkların kaudal venasından kan alınarak bu kanlar K3EDTA içeren kan tüplerine alınmıştır. Bu örneklerden süperoksit radikal salınımları doğrudan kandan, lizozim ve myeloperoksidaz testleri ise serum kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalar, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.



Fotoğraf 3.7. Denemede kullanılan balıklarından immünolojik analizlerde kullanılmak üzere kan örneklerinin alınması.

#### 3.2.4.1. NBT Yöntemi

Süperoksit radikal salınımları NBT yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Siwicki ve Anderson, 1993). Kısaca, balıklardan alınan kan örneklerinden 0,1 ml örnek % 0,2 NBT içeren 0,1 ml solüsyon ile karıştırılmıştır ve karışım 25 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Karışım içerisinde 50 µl süspansiyon alınmış ve bunun üzerine 1,0 ml N,N-dimethyl formamid eklenmiş ve karışım 4000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra bu karışım ayrı bir tüp içerisine alınmış ve 540 nm optik densitede N,N-dimethyl formamid kör örneğine karşı okunmuştur. Sonuçlar 4 ile çarpılarak tespit edilmiştir.



#### **3.2.4.2. Lizozim Aktivitesi**

Lizozim aktivitesi Siwicki, Anderson ve Rumsey (1994)'e göre turbidimetrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, serumdan 100 µl örnek alınmış, bunun üzerine 200 µl *Mycrococcus lysodeikteus* (0,2 mg/ml) eklenmiş ve 520 nm dalga boyunda 0 ve 4. dakikalarda Microplate Reader kullanılarak okunmuştur. Sonuçlar lizozim U/ml olarak verilmiştir.

#### **3.2.4.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi**

Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin belirlenmesinde, 30 µL serum örneği ile 370 µl Ca<sup>2+</sup> veya Mg<sup>2+</sup> içermeyen HBSS karıştırılmıştır. Bu karışımın üzerine 100 µl 0,1 mg/ml 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin dihidroklorid ve % 0,006 hidrojen peroksit eklenmiştir. Reaksiyon absorbans farkı ölçülmüş ve reaksiyon hızı IU olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, 0,5 ml reaksiyon karışımının her bir (ΔA 450/dakika/mL) dakikadaki indirgenmesine göre verilmiştir (Quade ve Roth 1997).

#### **3.2.5. Hematolojik Analizler**

##### **3.2.5.1. Eritrosit Sayımı**

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

##### **3.2.5.2. Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi**

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

### **3.2.5.3. Hemoglobin Miktarının Tayini**

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

### **3.2.5.4. Eritrosit indeksleri**

#### **3.2.5.4.1 Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)**

Ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis, Bain ve Bates, 2006).

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı Kan Hücre Sayısı

$$MCV (fl) = Hct \times 10 / RBC(10^6 \mu L^{-1}) \quad (3.1)$$

#### **3.2.5.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH)**

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

Hb: Hemoglobin

$$MCH (pg) = [Hb (g dL^{-1}) \times 10] / RBC(10^6 / mm^{-1}) \quad (3.2)$$

#### **3.2.5.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)**

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

$$MCHC (g^{-1}) = [Hb (g dL^{-1}) \times 10] / Hct \quad (3.3)$$

### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen tüm veriler SPSS 22 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arası farkları belirlemek ilk önce tek yönlü ANOVA testi uygulanmış ve varyans analizleri sonuçlarına göre gruplar arasında farklılık olup olmadığı tespit edebilmek için % 95 güven aralığında Fisher LSD analizi uygulanmıştır.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Başıklık Yanıtta Meydan Gelen Değişimler

#### 4.1.1. NBT Yöntemi

Bu çalışmada, 10 gün boyunca yapılan sakala likeni uygulamasının tedavi edici özelliklerinin belirlenmesinde başıklık yanıt ile olan ilişkisini ortaya kayabilmek için süperoksit radikal salınımlarının belirlendiği NBT yöntemi kullanılmıştır. Bu bağlamda elde edilen sonuçlar Tablo 4.1’de verilmiştir. ele edeline bu sonuçlara göre 0. gün NBT aktiviteleri kontrol, 4 mg, 8 mg ve eritromisin gruplarında farklılık göstermezken ( $P<0,05$ ), bunlardan farklı olarak 12 mg ve florfenikol gruplarında kayda değer oranda bir artış gözlenmiştir. En yüksek NBT değeri florfenikol grubunda tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Elbeshti (2016), tetranın (*Cotinus coggygia*) çalışmamızdan farklı olarak 0. Gün değerlerinde son derece yüksek tespit etmiştir. Bu değerle tüm gruplarda yüksek doksisisiklin antibiyotiği uyguladığı grubta tespit edilmiştir. Değerler çalışmamızdan farklı olmakla birlikte benzer şekilde antibiyotik uygulanan gruplarda artan bir NBT aktivitesinden söz etmek mümkündür.

Tablo 4.1. *Deneme süresince, sakal likeni sulu methanolik özütü ile Lactococcus garvieae enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşağı alabalıklarında NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler (540 nm).*

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	0,24±0,11 <sup>a</sup>	0,23±0,09 <sup>a</sup>	0,20±0,06 <sup>a</sup>	0,28±0,15 <sup>a</sup>
<b>4 mg Sakal Likeni</b>	0,35±0,1 <sup>a</sup>	0,31±0,06 <sup>b</sup>	0,19±0,07 <sup>a</sup>	0,19±0,11 <sup>a</sup>
<b>8 mg Sakal Likeni</b>	0,42±0,07 <sup>a</sup>	0,25±0,08 <sup>a</sup>	0,16±0,04 <sup>a</sup>	0,25±0,13 <sup>a</sup>
<b>12 mg Sakal Likeni</b>	0,44±0,11 <sup>b</sup>	0,17±0,05 <sup>a</sup>	0,23±0,08 <sup>a</sup>	0,16±0,04 <sup>a</sup>
<b>Florfenikol</b>	0,64±0,19 <sup>c</sup>	0,37±0,15 <sup>c</sup>	0,04±0,02 <sup>b</sup>	0,22±0,06 <sup>a</sup>
<b>Eritromisin</b>	0,73±0,33 <sup>a</sup>	0,05±0,02 <sup>d</sup>	0,13±0,05 <sup>c</sup>	0,27±0,16 <sup>a</sup>

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder ( $n= 3$ ).

3. gün sonuçları değerlendirildiğinde, 4 mg, florfenikol ve eritromisin grupları hariç diğer tüm grupların NBT aktiviteleri benzer olarak tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ). Bundan

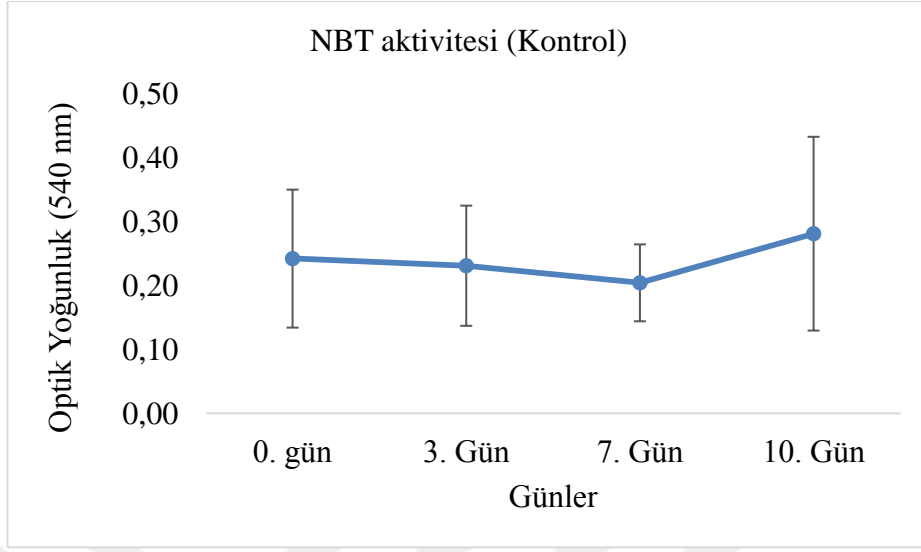
farklı olarak florfenikol grubu NBT aktivitesi  $0,37\pm 0,15$  ile en yüksek değere ulaşmıştır. Eritromisin grubunda ise  $0,05\pm 0,02$  ile en düşük değer tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Elbeshti (2016), yapmış olduğu çalışmada tetra uygulanan gruplardan sadece 12 mg grubunda kayda değer bir artıştan söz ederken bu çalışmada 4 mg sakal likeni uygulanan gruplarda artış gözlenmiştir.

Çalışmanın 7. gününde sakal likenini grupları ile kontrol grubu NBT aktivitesi benzerlik gösterirken ( $P>0,05$ ), florfenikol ve eritromisin grupları bunlardan farklı olarak kayda değer oranda azalma göstermiştir. Elbeshti (2016), 7. Gün NBT aktivitelerinde benzer olarak tüm gruplarda fark tespit edememişken sadece doksisisiklin grubunda bir azalma gözlemlemiştir. Çalışmanın 10. gününde ise NBT aktivitesi tüm gruplarda benzerlik göstermiştir ( $P>0,05$ ). Çalışmamızdan farklı olarak Elbeshti (2016), 12 mg tetra ve antibiyotik uygulanan gruplarda bir azalma tespit etmişlerdir.

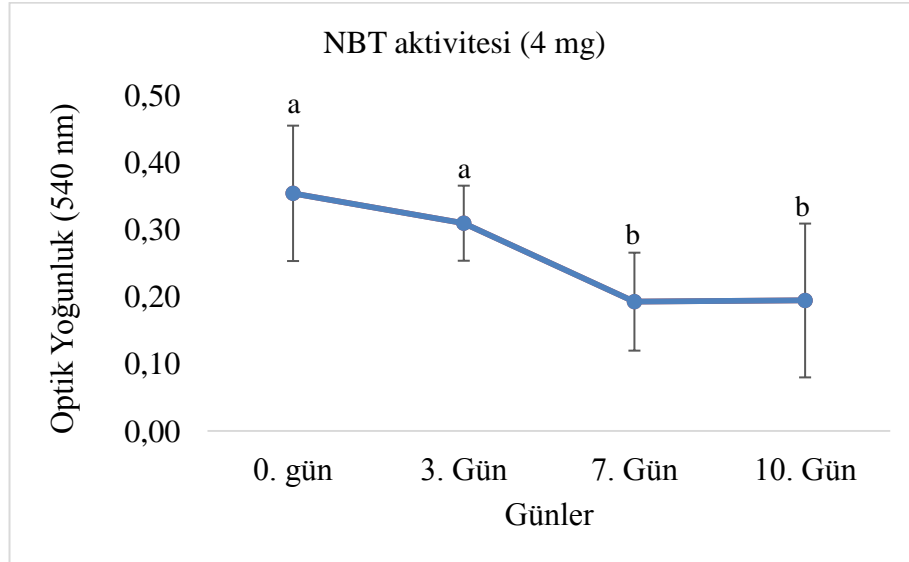
Çalışma sonunda elde edilen NBT aktivitesi sonuçları gruplar kendi içlerinde günler bağlı değişimleri incelendiğinde elde edilen sonuçlar Grafik 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5. ve 4.6.'da ifade edilmiştir. Bu sonuçlara göre kontrol grubunun NBT aktiviteleri incelendiğinde tüm çalışma örnekleme günlerinde bir farklılık oluşmadığı ve kontrol grubunda bir değişimin olmadığı bahsetmek mümkündür.

4 mg sakal likeni içeren özüt ile tedavi edilen grubun NBT aktiviteleri değerlendirildiğinde 0 ve 3. gün süperoksit radikal salınımlarında bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte 7 ve 10. gün NBT aktiviteleri bunlardan farklı olarak kayda değer oranda azalma göstermiştir.

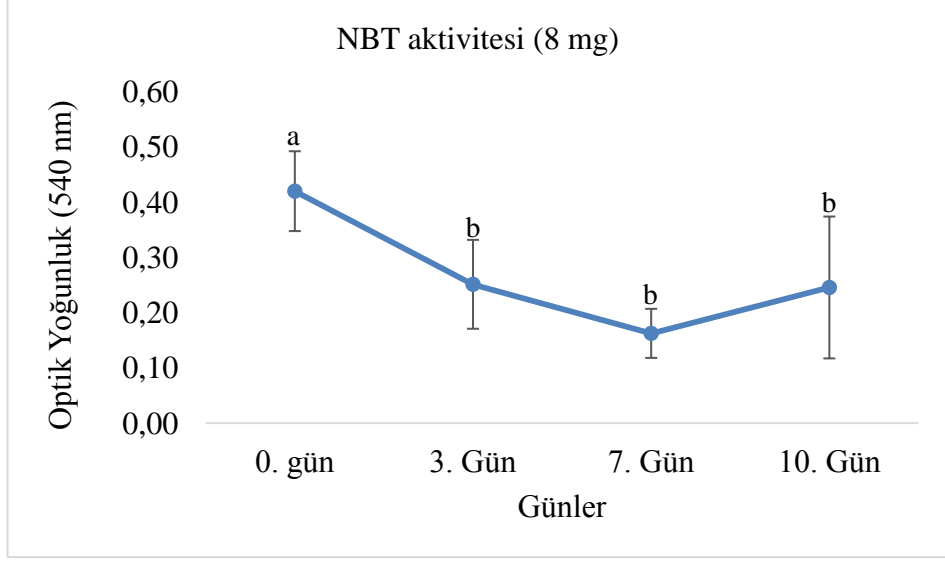
8 mg sakal likeni ile tedavi edilen grupta ise çalışmanın ilk günü yüksek olan NBT aktivitesi diğer günlerde kayda değer oranda azalma göstermiştir. Bu bağlamda genel olarak NBT aktivitesin düzenli bir azalma gösterdiğinden bahsetmek mümkündür. Çalışma sonuçları Elbeshti (2016) çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında tüm deneme gruplarında NBT aktivitesinde çalışmamıza benzer olarak bir azalmadan bahsedilmesiyle örtüşmektedir. Bu sonuçların sakal likeninin doğrudan bakteri ile mücadele ettiği hususunda fikir oluşturmaktadır.



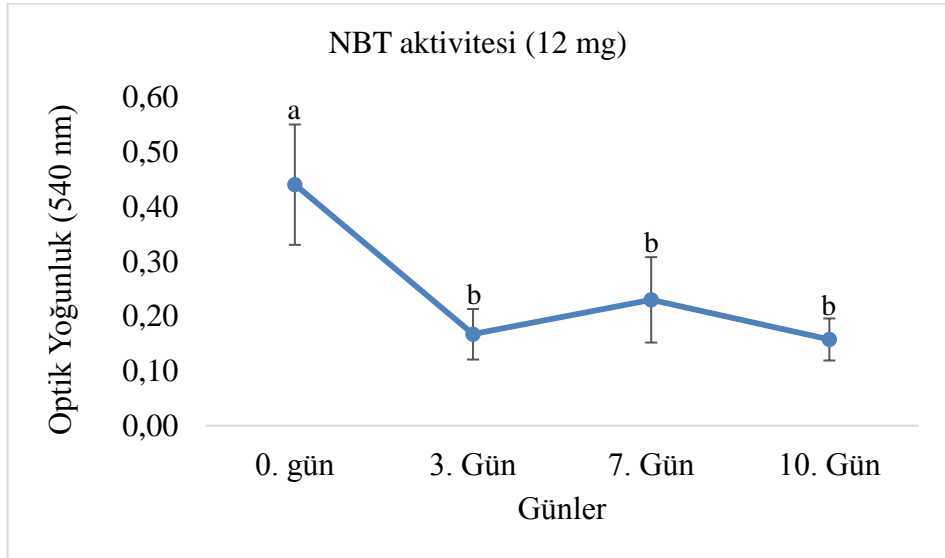
Grafik. 4.1. Kontrol grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



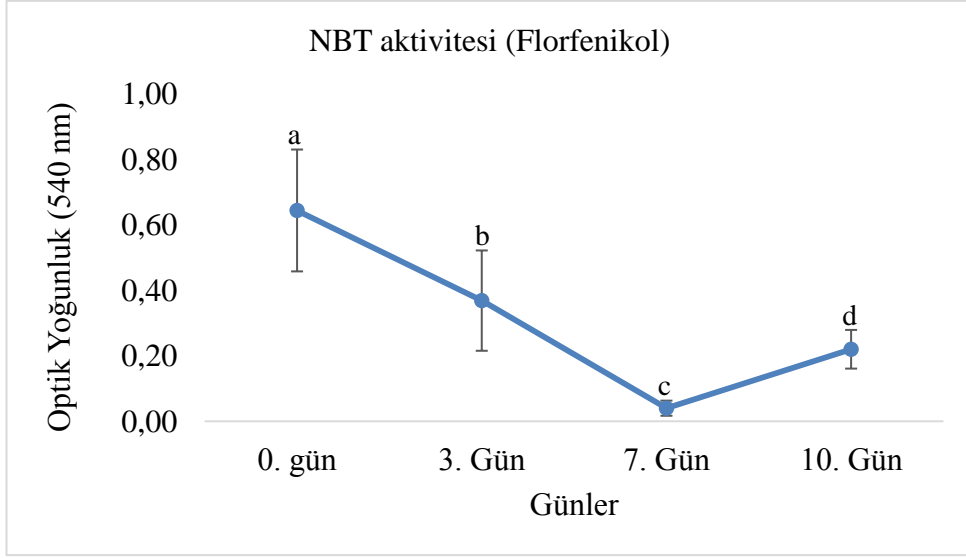
Grafik. 4.2. 4 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



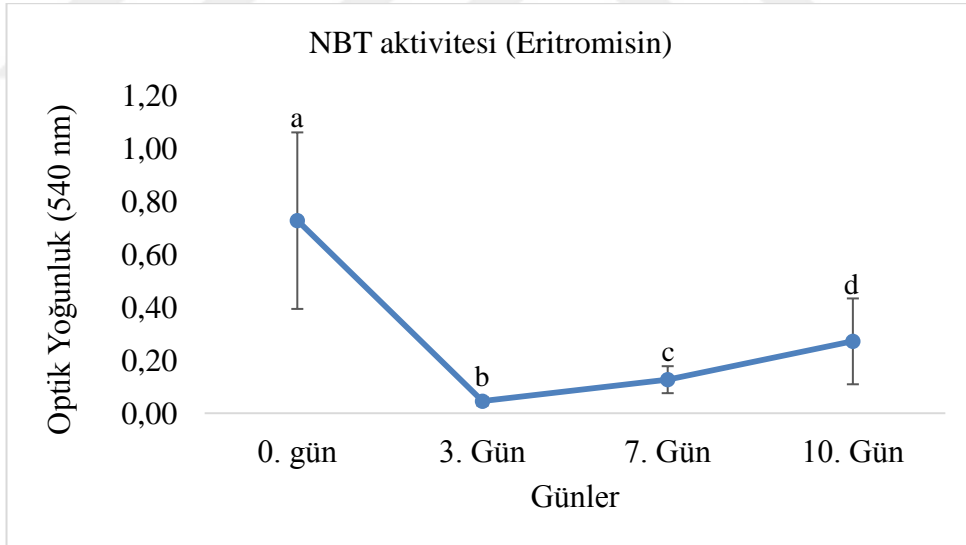
Grafik. 4.3. 8 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



Grafik. 4.4. 12 mg sakal likeni grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



Grafik. 4.5. Florfenikol grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



Grafik. 4.6. Eritromisin grubunun günlere göre NBT aktiviteleri.



Nya ve Austin (2009a), zencefil kullandıkları çalışmalarında genel olarak çalışmamızdan farklı olarak NBT aktivitelerinde bir artış tespit etmişlerdir. Tetra tozu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında yine çalışmamızdan farklı olarak süperoksit radikal salınımlarında artış söz konusudur (Bilen vd., 2011). Süperoksit radikal salınımlarındaki artış tıbbi bitki olarak kullanılan sarımsak tozu ile yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir (Nya ve Austin 2009b; Bilen vd. 2013). Genel olarak bakıldığında tıbbi bitkilerin balıkların bağışıklık sistemi parametrelerinde olan NBT aktivitesi arttırdığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte bu çalışmada NBT aktivitelerinde genel olarak bir azalma söz konusudur yada bu durum değişmeden sabitlik göstermiştir. Çalışmamıza benzer olarak Elbeshti (2016), NBT aktivitelerinde günlere bağlı bir azalma gözlemlerken gruplar arasında da nispi bir artıştan yada değişmeyen NBT aktivitesinde söz etmektedirler. Yine çalışmamıza benzer olarak Bilen ve Bulut (2010), yapmış oldukları çalışmada defne yaprağı tozu ile beslenen alabalıkların NBT aktivitelerinde bir değişim gözlemlenmemişlerdir.

zencefil ile 14 gün besledikleri balıkların süperoksit radikal salınımlarında kayda değer artışlar tespit etmiştir. Bilen vd. (2011) yaptıkları çalışmada alabalıkları tetra tozu içeren yemlerle beslediklerinde süperoksit radikal salınımlarında artış tespit etmişler ve bu artış temel diyetle dönüldükten sonrada etkinliğini devam ettirmiştir. Nya ve Austin (2009b), sarımsak ile besledikleri balıkların süperoksit radikal salınımlarında artış tespit etmişleridir. Yine benzer olarak, Bilen vd. (2016a), kayın mantarı ve ısırgan otu sulu metanolik özütlerinin alabalıklar üzerinde, Bilen vd. (2016b), yapmış oldukları çalışmada ise kapaenin alabalıkların süperoksit radikal salınımlarını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde genel olarak çalışma ilerledikçe NBT aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar *L. garvieae* ile enfekte edilen balıkların ilk iki örnekleme dönemi hariç azaldığını göstermesi, tıbbi bitkilerin genel olarak NBT aktivitesini arttırdığının bilinmesine ek olarak bu çalışma sonuçlarında azalmaların gözlenmesi, kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotiklerden eritromisin ve florfenikol gruplarında azalmasının da ortaya koyduğu üzere sakal yosunu uygulamalarının doğrudan bağışıklık yanıt üzerinde etkilerinin olup olmadığı konusunda net bilgi sunmamakta ve uygulamanın hastalık

oluşumu ile başlaması ve özütün daha ziyade hastalık yapıcı amile karşı bakterilerin elemine edilmesinde etkin olduğu sonucu çıkarılabilir.

#### 4.1.2. Lizozim Aktivitesi

Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşacağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşacağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	0,10±0,07 <sup>a</sup>	0,11±0,05 <sup>a</sup>	0,44±0,18 <sup>a</sup>	0,35±0,07 <sup>a</sup>
<b>4 mg Sakal Likeni</b>	0,16±0,09 <sup>b</sup>	0,80±0,41 <sup>b</sup>	0,39±0,18 <sup>a</sup>	0,25±0,10 <sup>b</sup>
<b>8 mg Sakal Likeni</b>	0,24±0,34 <sup>c</sup>	0,12±0,07 <sup>a</sup>	0,09±0,05 <sup>b</sup>	0,23±0,08 <sup>b</sup>
<b>12 mg Sakal Likeni</b>	0,18±0,26 <sup>b</sup>	0,19±0,67 <sup>a</sup>	0,50±0,2 <sup>a</sup>	0,05±0,02 <sup>c</sup>
<b>Florfenikol</b>	0,20±0,09 <sup>b</sup>	0,13±0,11 <sup>a</sup>	0,25±0,11 <sup>c</sup>	0,18±0,06 <sup>d</sup>
<b>Eritromisin</b>	0,19±0,28 <sup>b</sup>	0,12±0,08 <sup>a</sup>	0,38±0,17 <sup>c</sup>	0,38±0,12 <sup>a</sup>

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Çalışmanın 0. günü lizozim aktivite sonuçlarına göre 8 mg grubunun lizozim aktivitesi tüm gruplardan farklı olarak yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). En düşük lizozim aktivitesi kontrol grubunda (0,10±0,07) tespit edilmiş olmasına rağmen diğer gruplarla arasında bir farklılık tespit edilememiştir. Elbeshti (2016), çalışmamıza benzer şekilde tüm gruplarında lizozim aktivitesinde benzerlik tespit ederken 8 mg tetra uyguladıkları dozda lizozim aktivitesinde artış gözlemlemiştir.

3. gün değerlerine göre, 4 mg sakal likeni grubunda lizozim aktivitesi (0,80±0,41) en yüksek değerine ulaşmıştır. Bu değer Elbeshti (2016)'nin çalışma sonuçlarından da bir hayli yüksektir. Diğer tüm grupların lizozim aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında bir farklılık oluşturmamıştır (P>0,05).

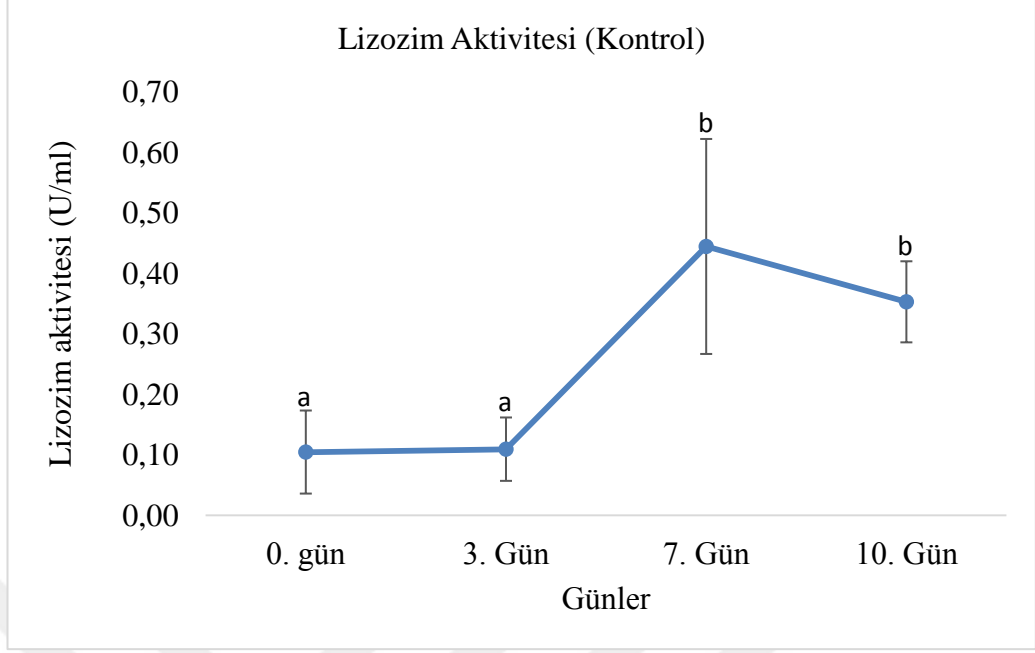
Çalışmanın 7. gün sonuçları değerlendirildiğinde kontrol, 4 mg, ve 12 mg grubu lizozim aktiviteleri arasında kayda değer bir farklılık oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). Bununla birlikte 8 mg grubunda ( $0,09\pm0,05$ ) en düşük değere ulaşmıştır ( $P<0,05$ ). florfenikol ve eritromisin antibiyotik grupları lizozim aktivitesi kontrol, 4 mg, ve 12 mg lizozim aktivitelerinde düşük, 4 mg grubundan ise kayda değer oranda yüksek olarak tespit edilmiştir.

10. gün sonuçlarına göre kontrol grubu ile kıyaslandığında eritromisin grubu lizozim aktivitesi benzerlik göstermiştir. En düşük lizozim aktivitesi 12 mg grubunda tespit edilmiştir. Florfenikol grubununun lizozim aktivitesi bundan farklı artmış bununla birlikte kontrol grubun akıyasla düşük olmuştur ( $P<0,05$ ). 4 mg ve 8mg grupları ise diğer gruplardan kayda değer orada yüksek tespit edilirken kontrol grubuna kıyasla düşük olarak belirlenmiştir.

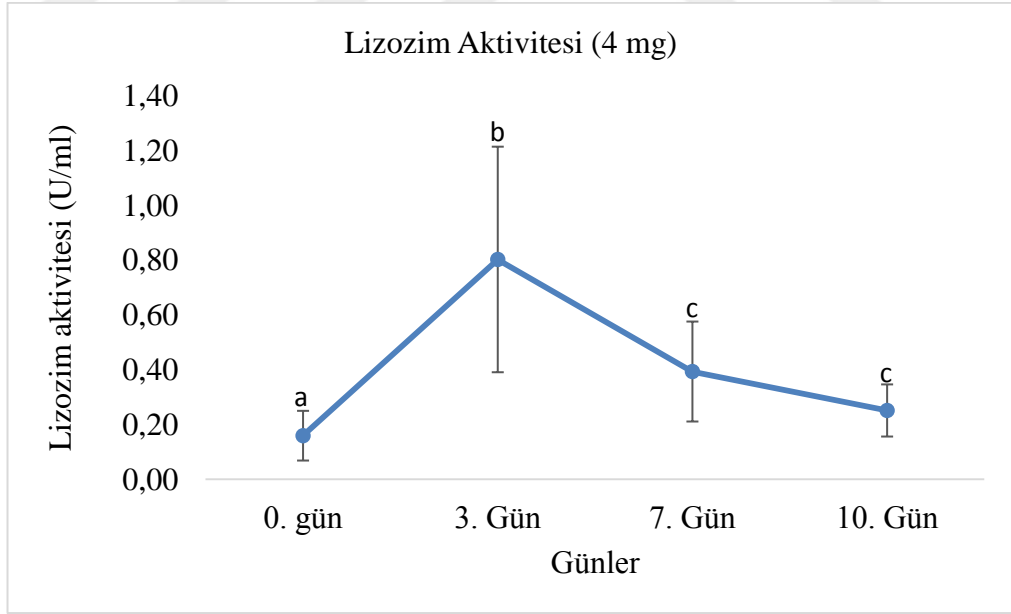
Elbeshti (2016), neredeyse 7. ve 10. günlerde çalışmamıza benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Çalışma sonunda elde edilen lizozim aktivitesi sonuçları grupların kendi içlerinde günlere bağlı değişimleri incelendiğinde elde edilen sonuçlar Grafik 4.7., 4.8., 4.9., 4.10., 4.11 ve 4.12.'de ifade edilmiştir. Bu sonuçlara göre kontrol grubunun NBT aktiviteleri incelendiğinde tüm çalışma örnekleme günlerinde bir farklılık oluşmadığı ve kontrol grubunda bir değişimin olmadığı bahsetmek mümkündür.

Bu sonuçlara göre kontrol grubu lizozim aktivitesi 0 ve 3. Günlerde benzerlik gösterirken 7 ve 10. Günlerde bunlardan farklı olarak artış göstermiştir. Bu bağlamda artan bir lizozim aktivitesinde söz etmek mümkündür. Hiçbir uyarıcı kullanılmayan bu gruptaki artan lizozim aktivitesi balığın kendi bağışıklık yanıt ile ilgili olabilir. Elbeshti (2016), çalışmamıza benzer olarak 3 ve 7. günlerde lizozim aktivitesinde bir artış gözlemlemiştir. Çalışmada elde edilen bu sonuçlarla birlikte lizozim aktivitesinde hastalık epizootiyolojisi ve klinik bulgularına uygun bir şekilde artışın oluşması u durumun balığın kendi bağışıklık sistemi ile ilgili olabileceği kanıtını güçlendirmektedir.



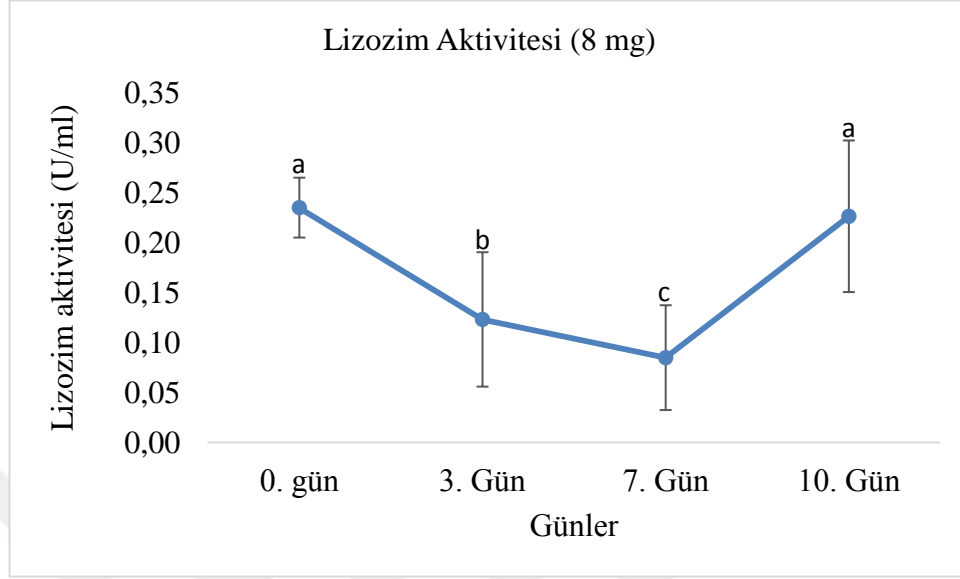
Grafik. 4.7. Kontrol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.



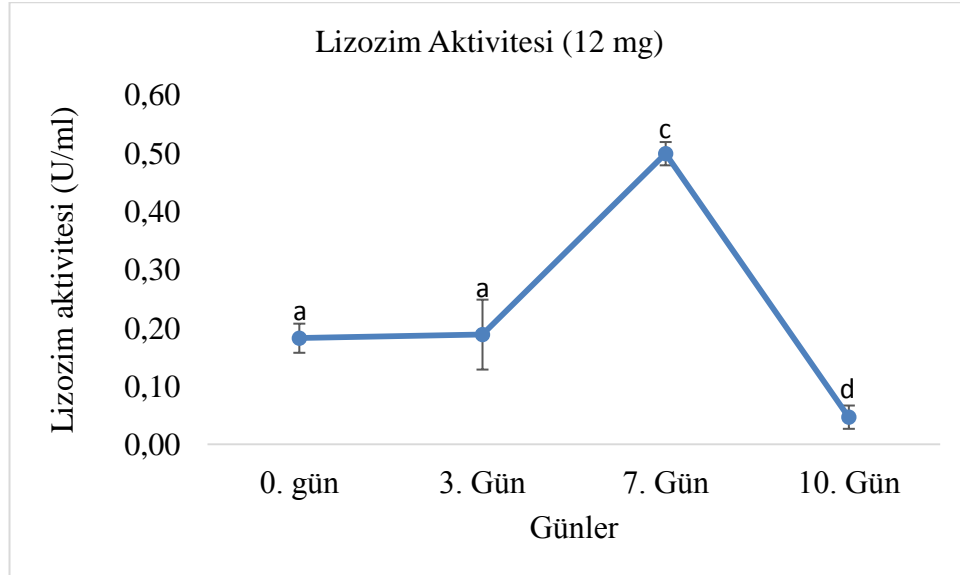
Grafik. 4.8. 4 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

4 mg Tetra grubunun günlere bağlı lizozim aktivitesi kontrol edildiğinde üçüncü gün verilerinde itibaren lizozim aktivitesinde kayada diğer bir artış söz konusudur. Bu

artış çalışmanın 7 ve 10. günlerinde azalmış olmakla birlikte kontrol grubuna kıyasla kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir.



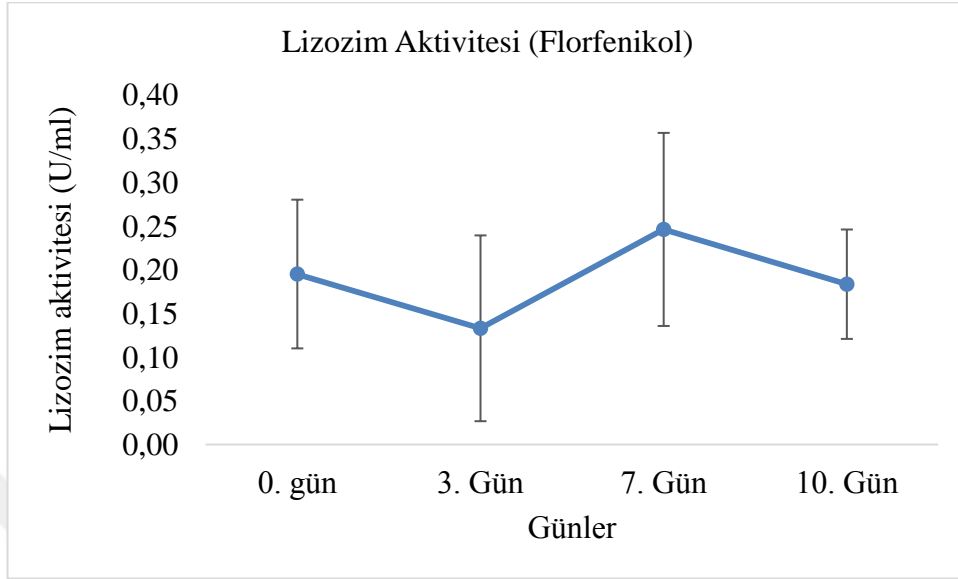
Grafik. 4.9. 8 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.



Grafik. 4.10. 12 mg sakal likeni grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

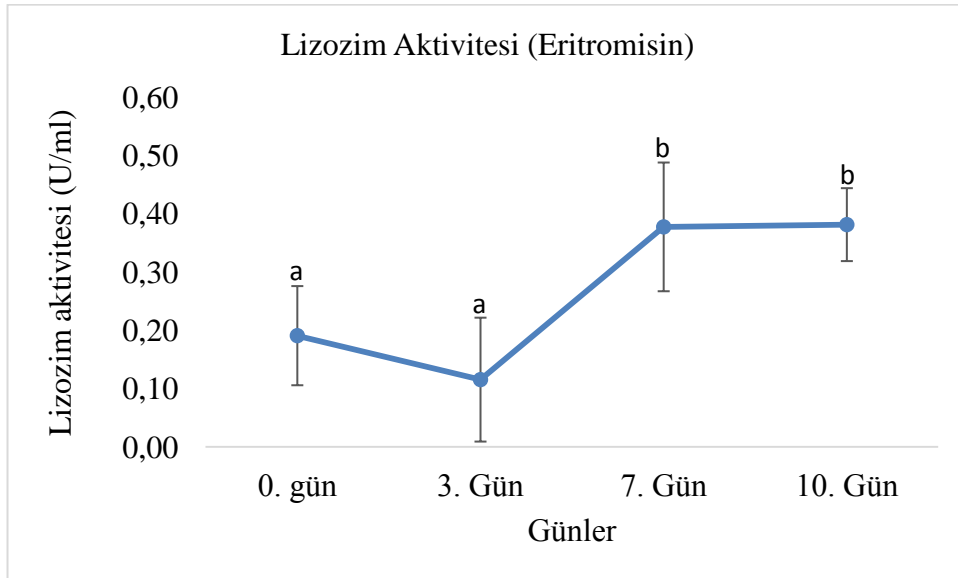
Grafik 4.10.'da görüldüğü üzere, 12 mg sakal yosunu grubunda 0 ve 3. günler lizozim aktivitesi benzerlik gösterirken 7. gün lizozimin kayda değer oranda arttığı

tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). 10. gün ise tüm örnekleme günlerine göre düşük olmuştur ( $P<0,05$ ).



Grafik. 4.11. Florfenikol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

Grafik 4. 11 'de florfenilok grubunun lizozim aktiviteleri verilmiştir. Bu bağlamda günlere bağlı bir değişim olmadığı gözlenmektedir.



Grafik. 4.12. Eritromisin grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

Eritromisin grubu lizozim aktiviteleri incelendiğinde kontrol grubuna benzerlik göstermektedir. 0 ve 3. günlerde benzerlik gösteren lizozim aktiviteleri, 7 ve 10. günlerde artış göstermiştir ( $P<0,05$ ).

Genel olarak sonuçlara bakıldığında, lizozim aktivitesinin günlere göre değişkenliği gruplar arasında genel olarak bir azalmanın olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızdan farklı olarak defne ile bezlenen gökkuşuğu alabalıklarında lizozim aktivitelerinde bir değişiklik gözlenmemiştir (Bilen ve Musa 2010). Elbeshti (2016), tetra ile *A. hydrophila* enfeksiyonunu tedavi etmeye çalıştıkları çalışmasında lizozim aktivitelerinde genel olarak bazı zaman ve gruplar hariç düşüş eğilimi gözlemlemiştir. Bilindiği üzere lizozim balıklarda ilk defans hattını oluşturan mukoza içerisinde yer alan ve aynı zamanda savunma hattının ilk bariyerinde yer alan ve bakteri duvarlarının lizozil edilmesinden sorumlu bir enzimdir (Magnadottir 2006). Baba, Uluköy ve Öntaş (2015), *Lentinula edodes* özütü ile besledikleri gökkuşuğu alabalıklarında lizozim aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Nya ve Austin (2009), zencefil ile besledikleri gökkuşuğu alabalıklarında benzer şekilde lizozim aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. Awad vd. (2013), çörek otu ve ısırgan otu özütlerinde elde edilen Quercetin etken maddesi ile besledikleri gökkuşuğu alabalıklarında benzer şekilde lizozim aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda lupin, mango ve ısırgan otunun da gökkuşuğu alabalıklarının bağışıklık yanıtlarından lizozim aktivitesi artırdığı bilinmektedir (Awad ve Austin 2010).

#### **4.1.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi**

Çalışma sonunda Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşuğu alabalıklarında MPO aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.3.'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre 0. gün incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla tüm sakal likeni gruplarında bir benzerlik söz konusudur ( $P>0,05$ ). Bundan farklı olarak antibiyotik grupları kontrol grubuna kıyasla artış göstermiş, bununla birlikte gruplar arasında bir farklılık tespit edilememiştir. 3. gün verileri incelendiğinde 4 mg grubunda çok önemli bir artış gözlenmektedir. Benzer bir artış 12 mg uygulanan grupta da gözlenmiştir. 8mg grubu hariç tüm deneme gruplarının MPO aktiviteleri kontrol

grubuna kıyasla artış göstermiştir. 8 mg ve kontrol grubu arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 4.3. *Deneme süresince, sakal likeni sulu metanolik özütü ile Lactococcus garvieae enfeksiyonuna karşı muamele edilen gökkuşağı alabalıklarında MPO aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/l).*

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	20,23±8,54 <sup>a</sup>	30,83±18,34 <sup>a</sup>	40,77±17,79 <sup>a</sup>	19,88±9 <sup>a</sup>
<b>4 mg Sakal Likeni</b>	22,77±10,31 <sup>a</sup>	332,20±112,85 <sup>b</sup>	31,65±11,71 <sup>a</sup>	126,98±35,09 <sup>b</sup>
<b>8 mg Sakal Likeni</b>	28,05±14,4 <sup>a</sup>	21,76±12,38 <sup>a</sup>	73,88±17,38 <sup>a</sup>	76,03±35,63 <sup>c</sup>
<b>12 mg Sakal Likeni</b>	23,18±4,70 <sup>a</sup>	257,54±66,53 <sup>b</sup>	166,77±38,52 <sup>b</sup>	30,42±12,54 <sup>a</sup>
<b>Florfenikol</b>	41,83±13,32 <sup>b</sup>	59,26±20,88 <sup>c</sup>	185,36±66,75 <sup>b</sup>	36,49±7,04 <sup>a</sup>
<b>Eritromisin</b>	34,22±11,61 <sup>b</sup>	59,83±22,55 <sup>c</sup>	242,53±93,52 <sup>c</sup>	103,31±35,85 <sup>b</sup>

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

7. gün verilere göre kontrol, 4m gve 8 mg grupları arasında önemli bir farklılık gözlenmezken bunda farklı olarak 12 mg, florfenikol ve eritromisin gruplarında kayda değer bir artış olmuştur. En yüksek MPO seviyesi eritromisin uygulanan grupta gözlenmiştir (P<0,05).

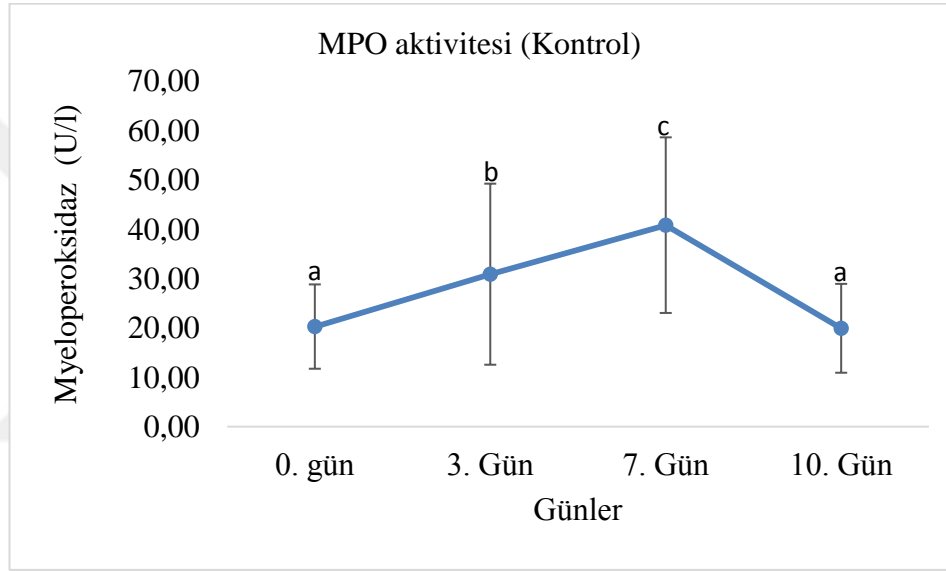
10 gün verileri değerlendirildiğinde kontrol grubu, 12 mg ve florfenikol grupları arasında bir farklılık tespit edilememişken (P>0,05), diğer grupların MPO aktiviteleri kayda değer oranda artış göstermiştir.

Myeloperoksidaz, balık bağışıklık sisteminde patojenlerin öldürülmesinde önemli rol alan ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikallerini üreterek bu katkıyı sağlayan önemli bir enzimdir (Johnston, 1978). Çörek otu ve ısırgan otu özütlerinde elde edilen ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında MPO aktivitelerinde çalışmamıza benzer olarak artış gözlenmiştir (Awad vd., 2013). Tetra metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda da çalışmamıza benzer olarak MPO aktivitelerinde bir artıştan söz etmek mümkündür (Bilen vd. 2013). Benzer sonuçlar ısırgan otu ve istiridye mantarı ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında (Bilen vd., 2016a), kapari sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda (Bilen vd., 2016b) gözlemlenmiştir. MPO aktivitesinin tıbbi bitki uygulamalarına maruz kalmış bir çok balıkta arttığı bildirilmiştir (Harikrishnan,

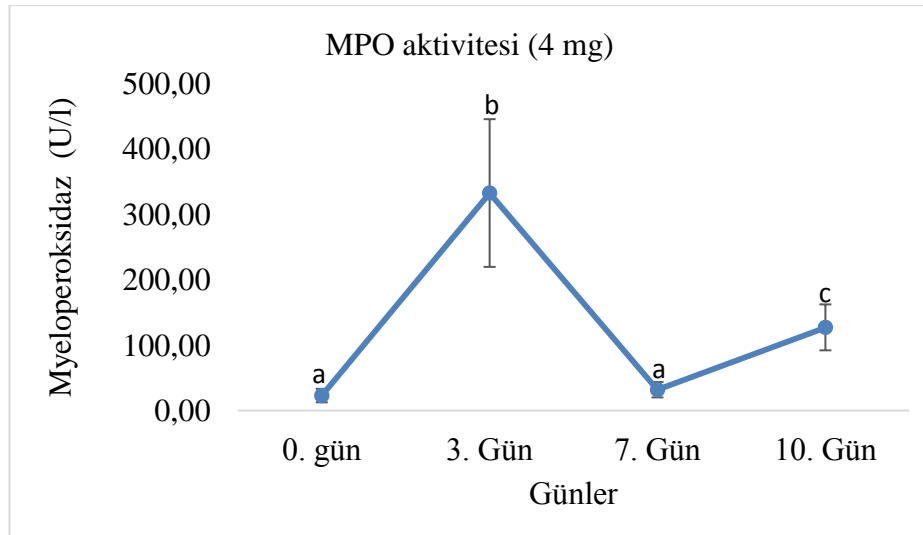


Balasundaramb ve Heo, 2012; Kumar, Raman, Pandey, Mohanty, Kumar ve Kumar, 2013; Wu, Gong, Fang, Liang, Chen, ve He, 2013).

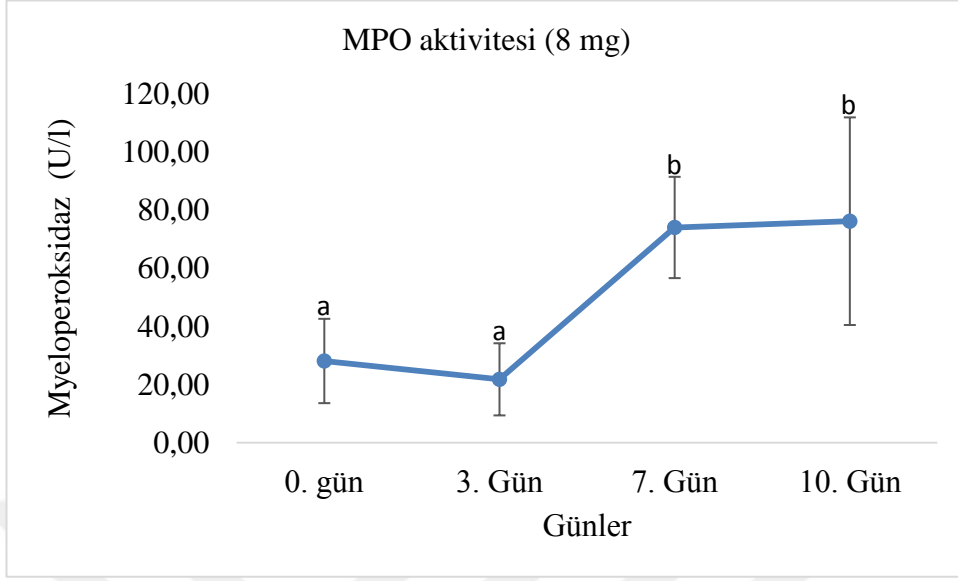
Çalışma sonunda grupların kendi içlerinde günlere bağlı olarak MPO aktivitelerinde meydana gelen değişimler Grafik 4.13,14,15,16 ve Grafik 4.17’de gösterildiği gibidir. Kontrol grubunun verileri günlere göre değerlendirildiğinde 3 ve 7. günlerde elde edilen MPO aktiviteleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir. 10. Gün ise 0. Üne benzer şekilde bir değişikli gözlenmemiştir. 4 mg grubunda ise MPO aktivitesi inişli çıkışlı bir grafik oluştururken 3. ve 10. Günlerde bir artış söz konusudur.



Grafik. 4.13. Kontrol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

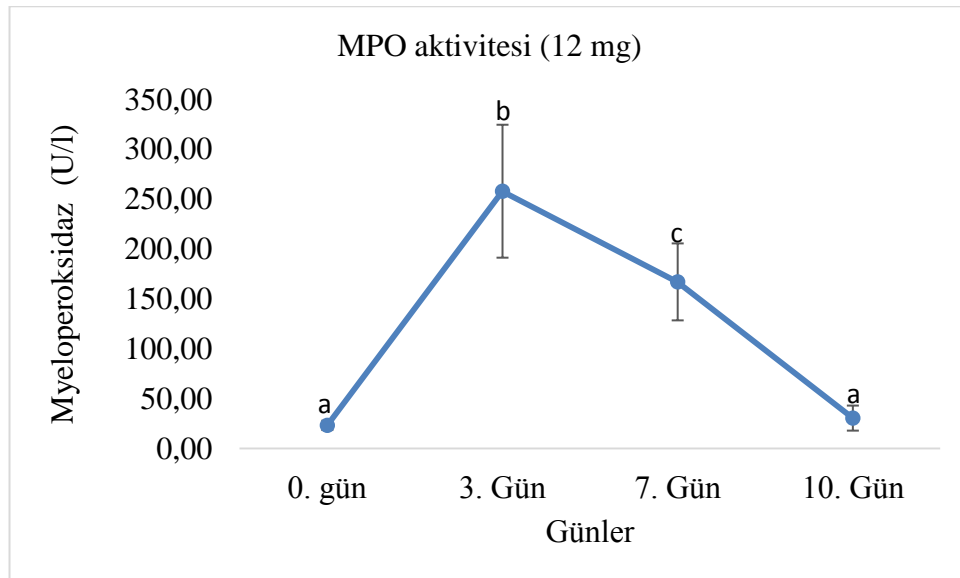


Grafik. 4.14. 4 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.



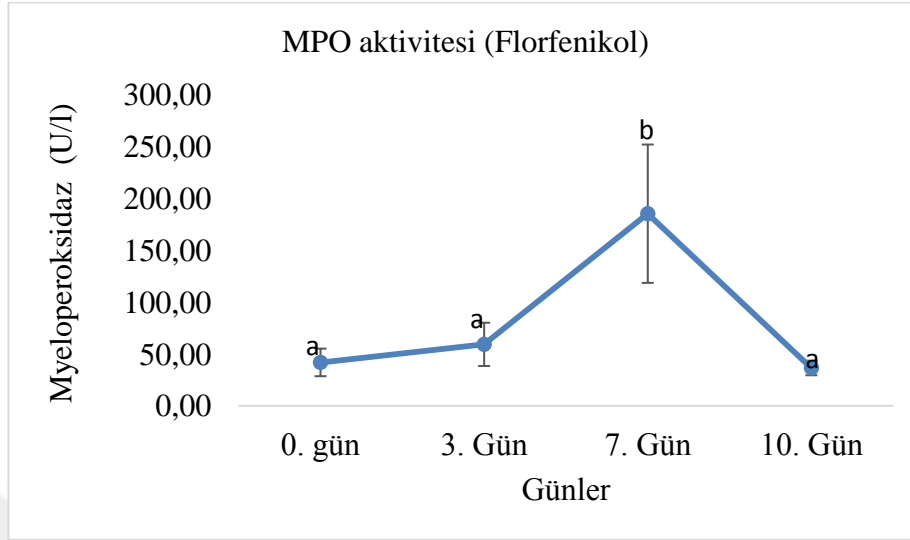
Grafik. 4.15. 8 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

8 mg sakal yosunu uygulanan grupların myeloperoksidaz aktiviteleri, 0 ve 3. günlerde benzerlik gösterirken 7 ve 10. günlerde bunlardan farklı olarak artmıştır.



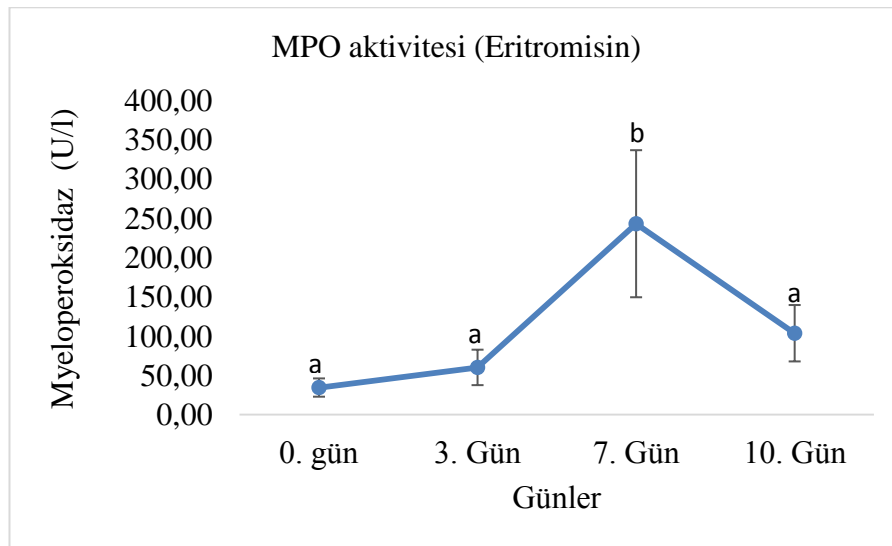
Grafik. 4.16. 12 mg sakal likeni grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

12 mg Tetra grubunda 0. güne kıyasla 3 ve 7. günlerde myeloperoksidaz aktivitesinde kayda değer bir artış vardır.



Grafik. 4.17. Florfenikol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

Florfenikol grubun günlere bağlı myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde sadece 7. günde kayda değer bir artış gözlenmiştir. Benzer sonuçlar



Grafik. 4.18. Eritromisin grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

## 4.2. Hematolojik Değişimler

Çalışma sonunda günlere göre elde edilen kan parametrelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.4-5-6-7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Çalışmanın 0.günü elde edilen hematolojik veriler

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	0,88±0,14	7,18±1,26	21,55±3,75	243,95±7,16	131,30±91,15	33,32±1,98
4mg	0,86±0,09	6,55±0,65	20,68±1,33	243,81±25,65	77,70±13,30	31,67±2,09
8mg	0,93±0,13	6,43±1,01	21,43±3,10	231,85±9,76	70,40±10,42	30,14±3,21
12mg	1,01±0,24	7,63±0,88	23,48±4,83	233,89±9,11	77,90±11,17	33,21±3,65
Florfenikol	1,03±0,35	8,30±2,51	23,80±7,17	233,78±10,61	81,35±7,50	34,79±2,26
Eritromisin	0,88±0,13	7,70±0,37	21,15±2,89	240,61±4,97	89,20±10,16	36,91±3,73*

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Çalışmanın 3. gün verilerine göre sadece MCHC 4 mg grubunda bir artış göstermiştir (P<0,05).

Tablo 4.5. Çalışmanın 3.günü elde edilen hematolojik veriler

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,51±0,07	11,23±1,13	35,88±1,80	237,81±10,85	70,88±4,89	31,41±3,73
4mg	0,67±0,66	5,20±4,84	14,45±14,00	187,86±51,38	75,08±6,06	102,44±114*
8mg	1,33±0,18	9,35±1,16	29,85±3,78	225,83±11,46	70,90±5,89	31,58±3,59
12mg	1,15±0,50	9,20±4,09	26,58±11,89	227,45±12,12	78,25±9,19	34,32±2,55
Florfenikol	1,88±0,83	11,53±4,84	38,75±16,82	205,47±12,57	64,10±12,52	31,05±5,09
Eritromisin	1,87±0,49	13,10±3,01	39,48±10,95	210±4,37	70,43±2,23	33,58±1,44

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Çalışmanın 7. gününde elde edilen verilere göre RBC seviyeleri 4 mg grubunda kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Benzer sonuçlar diğer tüm kan parametreleri için tespit edilmiştir.

Çalışma verilerine göre kan parametreleri genel olarak değişkenlik göstermemiştir. Genel olarak göze çarpan 7. gün elde edilen verilerdir. Bu verilere göre elde edilen sonuçlar Haghighi ve Rohani (2013)'un elde ettiği sonuçlara oranla düşüktür. Bu çalışmada farklı olarak zencefil uygulanan gökkuşuğu alabalıklarının hematokrit ve RBC seviyelerinde artış gözlenmiştir (Haghighi ve Rohani 2013). Bilen vd. (2013), tetra sulu methanolik özütü ile besledikleri *Cyprinus carpio*'ların RBC seviyelerinde çalışmamızdan farklı olarak artış kaydetmişlerdir. Genel olarak hastalıkların başlangıç safhalarında balıklar hematolojik olarak incelendiğinde değerlerde kısmi de olsa artış gözlenmektedir. Bu çalışmada ise bu sadece 7. Günde net bir şekilde gözlenmektedir. Tıbbi bitkilerin uygulandığı ve uygulama sonrasında yapılan kan analiz sonuçlarına göre artışlar bir çok çalışmada gözlenmiştir (Bilen, Yılmaz, Bilen ve Biswas, 2014; Bohlouli, Ghaedi, Heydari, Rahmani, Sadeghi, 2015; Adel, Pourgholam, Zorriehzahra, Ghiasi, 2016).

Tablo 4.6. Çalışmanın 3.günü elde edilen hematolojik veriler

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,51±0,07	11,23±1,13	35,88±1,80	237,81±10,85	70,88±4,89	31,41±3,73
4mg	0,67±0,66	5,20±4,84	14,45±14,00	187,86±51,38	75,08±6,06	102,44±114*
8mg	1,33±0,18	9,35±1,16	29,85±3,78	225,83±11,46	70,90±5,89	31,58±3,59
12mg	1,15±0,50	9,20±4,09	26,58±11,89	227,45±12,12	78,25±9,19	34,32±2,55
Florfenikol	1,88±0,83	11,53±4,84	38,75±16,82	205,47±12,57	64,10±12,52	31,05±5,09
Eritromisin	1,87±0,49	13,10±3,01	39,48±10,95	210±4,37	70,43±2,23	33,58±1,44

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Tablo 4.7. Çalışmanın 7.günü elde edilen hematolojik veriler

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	0,96±0,19 <sup>a</sup>	8,65±1,93 <sup>a</sup>	25,98±2,66 <sup>a</sup>	281,03±68,81 <sup>a</sup>	90,53±12,46 <sup>a</sup>	33,43±6,88 <sup>a</sup>
4mg	1,76±0,18 <sup>b</sup>	15,60±1,79 <sup>b</sup>	43,98±3,33 <sup>b</sup>	250,50±16,51 <sup>a</sup>	88,53±6,49 <sup>a</sup>	35,39±2,03 <sup>a</sup>
8mg	0,68±0,04 <sup>c</sup>	5,65±0,60 <sup>c</sup>	16,68±0,95 <sup>c</sup>	246,24±7,97 <sup>a</sup>	83,20±5,55 <sup>a</sup>	33,79±1,92 <sup>a</sup>
12mg	0,81±0,03 <sup>a</sup>	7,15±0,61 <sup>a</sup>	19,33±1,02 <sup>c</sup>	239,34±8,23 <sup>a</sup>	85,08±6,99 <sup>a</sup>	37,04±2,98 <sup>a</sup>
Florfenikol	0,65±0,26 <sup>c</sup>	6,13±1,88 <sup>c</sup>	25,33±1,08 <sup>a</sup>	471,04±204,36 <sup>b</sup>	99,00±12,35 <sup>a</sup>	24,22±7,52 <sup>b</sup>
Eritromisin	0,77±0,11 <sup>a</sup>	5,80±0,62 <sup>c</sup>	17,95±2,32 <sup>c</sup>	232,68±7,96 <sup>a</sup>	75,48±5,59 <sup>b</sup>	32,43±1,50 <sup>a</sup>

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Tablo 4.8. Çalışmanın 10.günü elde edilen hematolojik veriler

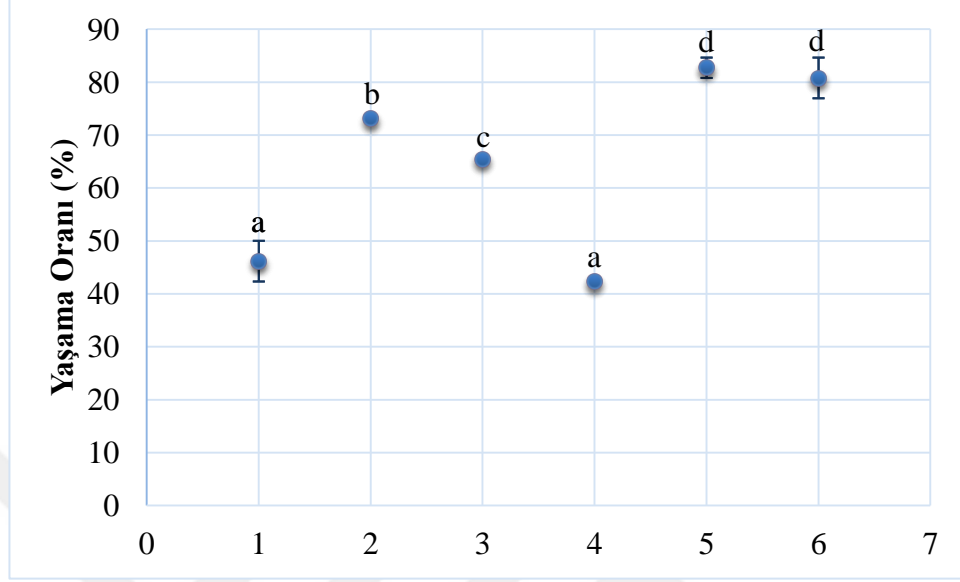
	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,26±0,54	8,85±3,98	29,65±12,32	237,52±4,19 <sup>a</sup>	70,23±2,73 <sup>a</sup>	29,61±1,59 <sup>a</sup>
4mg	1,09±0,56	9,03±4,58	26,33±11,77	250,09±30,76 <sup>b</sup>	83,18±5,73 <sup>b</sup>	33,53±2,72 <sup>b</sup>
8mg	1,12±0,40	7,60±3,06	24,80±10,51	216,94±17,24 <sup>c</sup>	66,63±3,13 <sup>a</sup>	30,96±2,87 <sup>a</sup>
12mg	1,07±0,57	7,68±3,33	24,68±12,36	234,68±6,87 <sup>a</sup>	74,93±6,50 <sup>a</sup>	31,90±1,89 <sup>a</sup>
Florfenikol	0,92±0,50	6,68±3,43	21,58±11,85	236,95±9,39 <sup>a</sup>	74,65±5,60 <sup>a</sup>	31,49±1,59 <sup>a</sup>
Eritromisin	0,58±0,26	4,65±2,01	14,73±6,49	253,23±27,18 <sup>b</sup>	80,48±5,69 <sup>b</sup>	32,12±1,56 <sup>a</sup>

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

### 4.3. Yaşama Oranları

Çalışma sonunda elde edilen yaşama oranları Grafik 4.19.'da ifade edilmiştir. Sonuçlardan da görüleceği üzere en düşük yaşama oranı kontrol ve 12 mg sakal yosunu ve kontrol grubunda gözlenmiştir. Diğer sakal yosunu grupları incelendiğinde en yüksek yaşama oranının sırasıyla 4 mg ve 8 mg grupları için yaşama oranları 73,07 ve 65,38 olarak tespit edilmiştir.

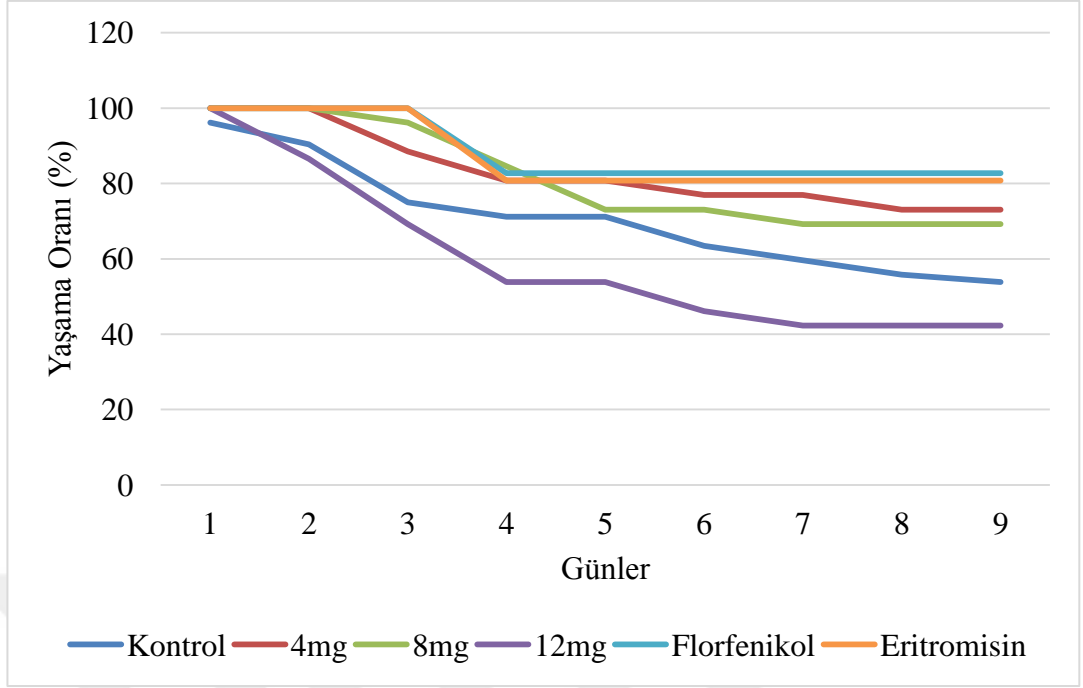
En yüksek yaşama oranları ise florfenikol ve eritromisin gruplarında elde edilmiştir. Bu grupların arasında bir farklılık oluşmamıştır.



Grafik 4.19. Grupların yaşama oranları (1: Kontrol; 2: 4 mg sakal likeni; 3: 8 mg sakal likeni; 4: 12 mg sakal likeni; 5: Florfenikol; 6: Eritromisin)

Çalışmada elde edilen sonuçlar özellikle *L. garvieae* patojenine karşı sakal yosunu sulu metanolik özütünün 4 ve 8 mg dozlarında kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Bu alanda ilk olarak yapılan çalışma tetranın gökkuşağı alabalıklarında *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı olan etkilerinin araştırıldığı çalışmadır (Elbeshti 2016). Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre bu çalışma ile kıyaslandığında sakal yosununun da benzer şekilde tedavi edici bir bitki olarak kullanılabileceğinden bahsetmek mümkündür. Aradaki önemli fark sakal likeninde doz artışının hayatta kalma oranına olumsuz etki ettiğidir. Nya ve Austin (2009a) gökkuşağı alabalıkları üzerinde zencefilin etkisini *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı test ettiklerinde benzer olarak yaşama oranlarında bir artış gözlemlemişlerdir. Benzer sonuçlar sarımsak için de geçerlidir (Nya ve Austin, 2009b).

Tüm bu çalışma sonuçları, tıbbi bitkilerin balıkların bağışıklık yanıtlarını arttırarak *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruma sağladığını göstermiştir. Bununla birlikte tetra



Grafik 4.20. Grupların günlere göre yaşama yüzdeleri



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, doğal yollarla temin edilen, Türkiye’de bol olarak bulunan sakal likeni (*Usnea barbata*) bitkisinin *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı tedavi edici özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada ormanlık alanlardan toplanan sakal likeni bitkileri gölgede normal şartlarda kurutulmuş, sulu metanolik özütü çıkarılmış ve bu özütler kontrollü olarak *Lactococcus garvieae* enfeksiyonu ile hastalandırılan alabalıklara günlük iki doz olmak üzere ve her doz içerisinde gruplara göre sırasıyla 4 mg/100 µl/17,41g, 8 mg/100 µl/17,41g, 12 mg/100 µl/17,41g sakal likeni sulu metanolik özütü ile besleme şırıngaları kullanılarak tüm gruplardaki balıklara tek tek oral yolla uygulanmıştır. Kontrol grubu balıklarına ise sadece 100 µl PBS ve yine sonuçları karşılaştırabilmek için *Lactococcus garvieae* sağaltımında kullanılan eritromisin ve florfenikol uygulamaları yapılmıştır. Çalışmadaki ana temel, sakal yosunu bitkisinin *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı hâlihazırda kullanılan antibiyotiklerin yerine tedavi edici olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesidir.

Çalışma sonuçlarına göre en iyi sağaltım ticari bir antibiyotik olan ve bu hastalığı sağaltımında en etkili şekilde kullanılan florfenikol ve eritromisin gruplarında gözlenmiştir. Bununla birlikte 4 mg sakal yosunu uygulanan grupların yaşama oranı % 73,07 olarak tespit edilmiştir. Sırasıyla 8m g ve 12 mg grupları için yaşama oranları 65,38 ve 42,31 olarak tespit edilmiştir. Yaşama oranları değerlendirildiğinde sakal likeni uygulamasında doza bağlı bir hayatta kalma oranı olduğu gözlenmiştir.

Antibiyotikler su ürünleri üretiminde oldukça yüksek oranda kullanılmakta ve bu artış gün geçtikçe yükselmektedir. Antibiyotik kullanımının en az seviyelere indirilmesi son derece önem ar etmekte ve bu önem her geçen gün artmaktadır. Antibiyotik kullanımından kaynaklanan başlıca sorunların başında, balıklardaki kalıntı problemleri, çevresel etki, antibiyotik dirençli bakterilerin gelişmesi dibi unsurla sayılabilir. Bu tür sorunların üstesinde gelebilmek ve antibiyotik kullanımını en aza indirmek çeşitli yollarla mümkündür. Özellikle balıkların profilaktik uygulamalara tabi tutulması bunun en basit yoludur. Profilaktik uygulamalarda, balıkları sağlıklı tutmak için aşı uygulamaları, kimyasal yaklaşımlar, immunostimulant uygulamaları en yaygın

olanlardır. İmmunostimulant uygulamalarında son yıllarda tıbbi bitkilere karşı artan bir ilgi vardır ve birçok çalışmada başarı ile kullanılmışlardır.



## KAYNAKLAR

- Adel, M., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., & Ghiasi, M. (2016). Hemato–Immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 55, 267-273.
- Aksoy, H., Sen, A., Sancar, M., Sekerler, T., Akakin, D., Bitis, L., Izzettin, F.V. (2016). Ethanol extract of *Cotinus coggygia* leaves accelerates wound healing process in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 1-5.
- Altwegg, M., Martinetti, L.G., Lüthy-Hottenstein J., Rohrbach, M. (1991). Aeromonas-associated gastroenteritis after consumption of contaminated shrimp. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 10, 44–45.
- Aly, S. M., Mohamed, M. F. (2010). *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), 31-39.
- Anderson, E.D. Mourich, D.V., Fahrenkrug, S.C., LaPatra, S., Shepherd, J., Leong, J.A.C. (1996). Genetic immunization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against infectious hematopoietic necrosis virüs. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 5, 114-122.
- Angka, S.L., Lam, T.J., Sin, Y.M. (1995). Some virulence characteristics of *Aeromonas hydrophila* in walking catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture*, 130, 103–112.
- 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(5), 413-420.
- Awad, E., Austin, D., Lyndon, A. R. (2013). Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, 388, 193-197.
- Baba, T., Watase, Y., Yoshinaga, Y. (1993). Activation of mononuclear phagocyte function by levamisole immersion in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 301–307.
- Baba, E., Uluköy, G., Öntaş, C. (2015). Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout,

*Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 448, 476-482.

- Bilen, S., Bilen, A.M., Önal, U. (2015). The effects of oxygen supplementation on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in different stocking densities. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(3), 538-545.
- Bilen, S., Altunoğlu, Ç.Y., Ulu, F., Biswas, G. (2016b). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 57, 206-212. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.08.040
- Bilen, S., Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Veterinary and Animal Advances*, 9(8), 1275-1279. DOI: 10.3923/javaa.2010.1275.1279
- Bilen, S., Bulut M., Bilen, M.A. (2011). Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 30(2), 451-455. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.12.013
- Bilen S., Yılmaz, S., Bilen, M.A., Biswas, G. (2014). Effects of dietary incorporation of tetra (*Cotinus coggyria*) extract on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in koi Carp (*Cyprinus carpio*). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 66, 1-6.
- Bilen, S., Ünal, S., Güvensoy, H. (2016a). Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 454, 90-94.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973). Routine Hematological Methods for use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781.
- Bohlouli, S., Ghaedi, G., Heydari, M., Rahmani, A., & Sadeghi, E. (2016). Effects of dietary Persian oak (*Quercus brantii* var. *persica*) fruit extract on survival, growth performance, haematological and immunological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings. *Aquaculture Nutrition*. 22(4), 745-751.
- Chen, S. C., Lin, Y. D., Liaw, L. L., Wang, P. C. (2001). *Lactococcus garvieae* infection in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Diseases of Aquatic Organisms*, 45(1), 45-52.
- Demirci, B., Demirci, F., Başer, K. H. C. (2003). Composition of the essential oil of *Cotinus coggyria* Scop. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 43-44. DOI: 10.1002/ffj.1149

- Diler, O., Altun, S., Adiloglu, A. K., Kubilay, A., & Istkl, B. (2002). First occurrence of streptococcosis affecting farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 22(1), 21-26.
- Dulger, B., Hacıoglu, N., Bilen, S. (2009). Antimicrobial activity of *Cotinus coggyria* from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 4139-4140.
- Duff, D.C.B. (1942). The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. *Journal of Immunology*, 44, 87-94
- Elbeshti, H.T. (2016). Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı *Cotinus coggyria* bitki özütünün in vivo tedavi edici etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Eldar, A., Horovitz, A., Bercovier, H. (1997). Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 56(1), 175-183.
- Eldar, A.C., Ghittino, C., Asanta, L., Bvozzetz, E., Gorla, M. (1996). *Enterococcus seriolicida* is a junior synonym of *Lactococcus garvieae*, a causative agent of septicemia and meningoencephalitis in fish. *Current Microbiology*, 32, 85– 88.
- FAO, (2016). The state of World fisheries and aquaculture. Roma. ISBN 978-92-5-109185-2
- Haghighi, M., Rohani, M. S. (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*, 8-12.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S. (2012). Inonotus obliquus containing diet enhances the innate immune mechanism and disease resistance in olive flounder *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32, 1148–1154.
- Heidarieh, M., Soltani, M., Tamimi, A., Toluei, M. (2011). Comparative effect of raw fiber (Vitacel) and alginic acid (Ergosan) on growth performance, immunocompetent cell population and plasma lysozyme content of giant sturgeon (*Huso huso*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 445-450.
- James, P.R., Hardman, S.M., Patterson, D.L. (2000). Osteomyelitis and possible endocarditis secondary to *Lactococcus garvieae*: a first case report. *Postgrad Medicine Journal*, 76, 301– 303.

- Janda, J.M., Abbott, S.L. (1998). Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding Panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clinical Infectious Diseases*, 27, 332–344.
- Jeney, G., Anderson, D.P. (1993). Enhanced immune response and protection in rainbow trout to *Aeromonas salmonicida* bacterin following prior immersion in immunostimulants. *Fish & Shellfish Immunology*, 3, 51–58.
- Johnston, R.B. (1978). Oxygen metabolism and the microbicidal activity of macrophages. *Federation Proceedings*, 37, 2759–2764.
- 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 non-specific immune response and disease resistance in kelp grouper *Epinephelus bruneus* against *Vibrio carchariae*. *Fish ve Shellfish Immunology*, 31(6), 1193-1200.
- Kim, H.Y., Lee, I., Oh, J. (2017). Human and veterinary pharmaceuticals in the marine environment including fish farms in Korea. *Science of The Total Environment*, 579(1), 940–949.
- Ko, W.C., Lee, H.C., Chuang, Y.C., Liu, C.C., Wu, J.J. (2000). Clinical features and therapeutic implications of 104 episodes of monomicrobial *Aeromonas* bacteraemia. *Journal of Infection*, 40, 267–273.
- Kotan, E., Alpsoy, L., Anar, M., Aslan, A., Agar, G. (2011). Protective role of methanol extract of *Cetraria islandica* (L.) against oxidative stress and genotoxic effects of AFB1 in human lymphocytes in vitro. *Toxicology and Industrial Health*, 27(7), 599-605.
- Kumar, S., Raman, R.P., Pandey, P.K., Mohanty, S., Kumar, A., Kumar, K. (2013). Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 564–573.
- Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates, I. (2006). *Dacie and Lewis Practical Haematology*, ed: Lewis SM., Bain BJ., Bates I., Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia.
- Lorenzen, N., Lorenzen, E., Einer-Jensen, K., Heppell, J., Wu, T., Davis, H. (1998). Protective immunity to VHS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) following DNA vaccination. *Fish & Shellfish Immunology*, 8(4), 261-270.
- Lorenzen, N., Lorenzen, E., Einer-Jensen, K., Heppell, J., Wu, T., Davis, H. (1998). Protective immunity to VHS in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*,

- Walbaum) following DNA vaccination. *Fish and Shellfish Immunology*, 8, 261-270.
- Magnadottir, B. (2006). Innate immunity of fish. *Fish & Shellfish Immunology*. 20, 137–151.
- Mine, Y., Yokota, Y., Wakai, Y., Fukuda, S., Nishida, M., Goto, S., Kuwahara, S. (1983). Immunoactive peptides, FK-156 and FK-565: 1. Enhancement of host resistance to microbial infection in mice. *The Journal of Antibiotics*, 36, 1045–1050.
- Mohamad, S., Abasali, H. (2010). Effect of plant extracts supplemented diets on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp *Cyprinus carpio*. *Research Journal of Animal Sciences*, 4(1), 26-34.
- 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 & Shellfish Immunology*, 30(3), 845-850.
- Nya, E. J., Austin, B. (2009a). Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11), 971-977.
- Nya, E. J., Austin, B. (2009b). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11), 963-970.
- Paliya, B. S., Bajpai, R., Jadaun, V., Kumar, J., Kumar, S., Upreti, D. K., Singh, B. N. (2016). The genus *Usnea*: a potent phytomedicine with multifarious ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *RSC Advances*, 6(26), 21672-21696.
- Plant, K.P., LaPatra, S.E. (2011). Advances in fish vaccine delivery. *Developmental and Comparative Immunology*, 35(12), 1256-1262.
- Quade, M.J., Roth, J.A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 19;58(3-4), 239-48.
- Siwicki A. K., Anderson, D.P. (1993). Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Pages 1–24 in A. K. Siwicki, and D. P. Anderson, editors. *The Nordic Symposium on Fish Immunology*, Lysekil, Sweden.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41,125-139.

- 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 & Shellfish Immunology*, 31(6), 1268-1269.
- Sheikhzadeh, N., Pashaki, A. K., Nofouzi, K., Heidarieh, M., Tayefi-Nasrabadi, H. (2012). Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 32(3), 407-410.
- Shibata, S., Ukita, T., Tamura, T., Miura, Y.(1948). Relation between chemical constitutions and antibacterial effects of usnic acid and derivatives, *Japanese Medicine Journal*, 1, 152–155.
- Solem, S.T., Jørgensen, J.B., Robertsen, B. (1995). Stimulation of respiratory burst and phagocytic activity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages by lipopolysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology*, 5, 475–491.
- TUIK. (2016). Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Ankara.
- Vallejos-Vidal, E., Reyes-López, F., Teles, M., MacKenzie, S. (2016). The response of fish to immunostimulant diets. *Fish and Shellfish Immunology*, 56, 34-69.
- Wu, Y., Gong, O., Fang, H., Liang, W., Chen, M., He, R. (2013). Effect of *Sophora flavescens* on non-specific immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 220–227.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Abdulwahid Mohammed Almahti Sirtiyah  
Doğum Yeri ve Yılı : Libya  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce, Türkçe  
E-posta : sertia33@gmail.com



### Eğitim Durumu

Lise : Agilat Lisesi  
Lisans : Zawia Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi

### Mesleki Deneyim

İş Yeri : Şahsi Veteriner Kliniği