

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

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Onchorhynchus mykiss*)  
*Aeromonas hydrophila* ENFEKSİYONUNA KARŞI *Cotinus  
coggyria* BİTKİ ÖZÜTÜNÜN *IN VIVO* TEDAVİ EDİCİ  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Housam Taher ELBESHTİ**

**Danışman  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi**

**Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN  
Yrd. Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ  
Doç. Dr. Derya GÜROY**

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

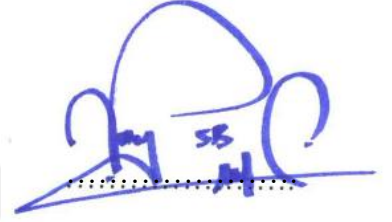
**KASTAMONU – 2016**

## TEZ ONAYI

**Housam Taher Elbeshti** tarafından hazırlanan "**Gökkuşığı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı *Cotinus coggygria* bitki özütünün *in vivo* tedavi edici etkilerinin belirlenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği / oy çokluğu** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN  
Kastamonu Üniversitesi



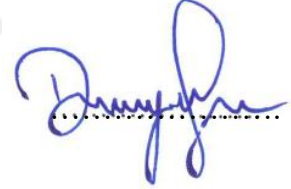
Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Derya GÜROY  
Yalova Üniversitesi



30/12/2016

Enstitü Müdür V.

Prof. Dr. Temel SARIYILDIZ



## 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.

Housam Taher ELBESHTİ



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Onchorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* ENFEKSİYONUNA KARŞI *Cotinus coggygria* BİTKİ ÖZÜTÜNÜN *IN VIVO* TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Housam Taher ELBESHTİ  
Kastamonu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN

Bu çalışmada, gökkuşığı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*), *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı, tetra (*Cotinus coggygria*) sulu metanolik özütünün tedavi edici etkileri tespit edilmiştir. Dört farklı özüt konsantrasyonu (0 mg/100 µl (Kontrol), 4 mg/100 µl, 8 mg/100 µl, 12 mg/100 µl) ve sonuçları karşılaştırabilmek için iki farklı antibiyotik, florfenikol ve doksisisiklin, *A. hydrophila*'nın intramasküler inokülasyonu sonrasında günde iki kere tüm gruplardaki balıkların her birine oral yolla, besleme enjektörü kullanılarak verilmiştir. Çalışma 10 gün boyunca sürdürülmüştür. Çalışma süresince her 0, 3, 7 ve 10. günlerde, balıkların kaudal venasında kan örnekleri alınmış ve bu örnekler K3EDTA içeren tüplere alınarak balıkların humaral bağışıklık yanıtlarında ve hematolojik verilerinde meydana gelen değişimler kontrol edilmiştir. Çalışmada, süperoksit radikal salınımları 12 mg Tetra grubunu ve Florfenikol grubu hariç tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir ( $P<0,05$ ). Lizozim aktivitesi genel olarak tüm gruplarda kontrol grubuna göre azalma göstermiş ( $P<0,05$ ) yada farklılık tespit edilememiştir ( $P>0,05$ ). Myeloperoksidaz aktivitesi Florfenikol grubunun 7. gün örneklemeğinde en yüksek değere ulaşmıştır. 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. Yaşam oranı kontrol grubunda %53,33 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve 4 mg Tetra 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 (% 80) 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 metanolik özütü 24 mg/32,34g canlı ağırlık/gün dozunda alabalıklarda *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı etkili bir terapötiktir.

**Anahtar Kelimeler:** Gökkuşığı alabalığı, bağışıklık yanıtı, Tetra, yaşama oranı, *A. hydrophila*, *Cotinus coggygria*

2016, 44 sayfa

Bilim Kodu: 1205

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### INVESTIGATION OF *IN VIVO* THERAPEUTICAL EFFECTS OF *Cotinus coggygia* PLANT EXTRACT AGAINST *Aeromonas* *hydrophila* IN RAINBOW TROUT (*Onchorhynchus mykiss*)

Housam Taher ELBESHTI  
Kastamonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Aquaculture

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Soner BİLEN

**Abstract:** In this study, therapeutical effects of aqueous methanolic extracts of tetra (*Cotinus coggygia*) against *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) were investigated. Four 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 doxycycline were given orally using feeding needle to the each individual in all experimental group twice in a day after intramuscular inoculation of *A. hydrophila*. The study was pursued during 10 days. Every 0, 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> day of the study, blood was collected from caudal vein of the fish and added to K3EDTA contained blood tubes, and changes in humoral immune responses and hematology of the fish were determined. In the study, superoxide radical realizing was decreased generally in all experimental group except 12 mg Tetra and Florfenicol 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 showed the highest value in Florfenicol group at the 7<sup>th</sup> day of the sampling time (P<0.05). Generally myeloperoxidase was showed an increase in almost all experimental groups. Some hematological parameters in experimental groups were increased. However this increase was not significant. Survival rate of the groups was found in control group as %53.33. There were no significant differences between control and 4 mg Tetra group (P>0.05). All the other groups' survival rate was significantly increased compared to control. The highest survival rate was found in Florfenicol group (80 %). 12 mg Tetra group, Doxycycline and 8 mg Tetra group survival rate was investigated as 74.44 %, 70% and 70 % respectively. According to our results, tetra methanolic extract is an effective therapeutic against *A. hydrophila* infection in rainbow trout at the dose of 24 mg/32,34g body weight/day.

**Key Words:** Rainbow trout, immune response, smoke tree, survival rate, *A. hydrophila*, *Cotinus coggygia*

2016, 44 pages

Science Code: 1205

## TEŐEKKÖR

Tez alıőması boyunca yardımlarını esirgemeyen danıőmanım Yrd. Do. Dr. Soner BİLEN'e ve bu sűrete manevi desteęini hi eksik etmeyen sevgili aileme teőekkűrű bor bilirim.

Housam Taher ELBISHTI  
Kastamonu, Aralık, 2016



## 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. Tetra ( <i>Cotinus coggyria</i> ) .....	5
1.2. <i>A. hydrophila</i> .....	6
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	7
3. YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Balık Materyali .....	11
3.1.2. Deneme Yeri.....	11
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Tıbbi Bitki ( <i>Cotinus coggyria</i> ).....	12
3.1.4. <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	12
3.2. Yöntem .....	13
3.2.1. Bitki Özütlelerinin Çıkarılması .....	13
3.2.2. Hastalık Amilinin LD <sub>50</sub> Oranların Belirlenmesi.....	14
3.2.3. Deneyin Kurgulanması .....	14
3.2.4. İmmunolojik Analizler.....	16
3.2.4.1. Süperoksit Radikal Sahnımları .....	17
3.2.4.2. Lizozim Aktivitesi .....	17
3.2.4.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi.....	18
3.2.5. Hematolojik Analizler .....	18
3.2.5.1. Eritrosit Sayımı .....	18
3.2.5.2. Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi .....	18
3.2.5.3. Hemoglobin Miktarının Tayini.....	18

3.2.5.4. Eritrosit İndeksleri .....	19
3.2.5.4.1. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) .....	19
3.2.5.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH) .....	19
3.2.5.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyon (MCHC) .....	19
3.2.6. İstatistiksel Analizler .....	19
4. BULGULAR .....	20
4.1. Bağışıklık Yanıtta Meydan Gelen Değişimler .....	20
4.1.1. Süperoksit Radikal Salınımı .....	20
4.1.2. Lizozim Aktivitesi .....	25
4.1.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi .....	29
4.2. Hetamolojik Değişimler .....	34
4.3. Yaşama Oranları .....	36
5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	38
KAYNAKLAR .....	40
ÖZGEÇMİŞ .....	44



## 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 3.1. Deneme kullanılan akvaryum sistemi ve balıklar. ....	11
Fotoğraf 3.2. Çalışmada kullanılan tetra bitkisi ( <i>Cotinus coggygia</i> ) tozu.....	12
Fotoğraf 3.3. Çalışmada kullanılan tetra bitkisi ( <i>Cotinus coggygia</i> ) sulu methanolik özütünün filtre edildikten sonra vakum evaporatörde çıkarılma işlemi. ....	13
Fotoğraf 3.4. PBS içersinde uygun dozda hazırlanmış kullanıma hazır tetra bitkisi ( <i>Cotinus coggygia</i> ) sulu methanolik özütleri.....	14
Fotoğraf 3.5. Denemede kullanılan balıkların <i>A. hydrophila</i> enfeksiyonu ile intramasküler olarak enfekte edilmesi .....	15
Fotoğraf 3.6. Tetra özütü içeren hammaddelerin balıklara oral yolla verilmesi.	16
Fotoğraf 3.7. Denemede kullanılan balıklarından immünolojik analizlerde kullanılmak üzere kan örneklerinin alınması. ....	17

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Grafik 4.1. Kontrol grubunun süperoksit radikal salınımları. ....	21
Grafik 4.2. 4 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları .....	22
Grafik 4.3. 8 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları .....	22
Grafik 4.4. 12 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları .....	23
Grafik 4.5. Florfenikol grubunun süperoksit radikal salınımları . ....	24
Grafik 4.6. Doksisiklin grubunun süperoksit radikal salınımları .....	24
Grafik 4.7. Kontrol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi ....	26
Grafik 4.8. 4 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	27
Grafik 4.9. 8 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi	27
Grafik 4.10. 12 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	28
Grafik 4.11. Florfenikol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	28
Grafik 4.12. Doksisiklin grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	29
Grafik 4.13. Kontrol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	31
Grafik 4.14. 4 mg Tetra grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi .....	31
Grafik 4.15. 8 mg Tetra grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	32
Grafik 4.16. 12 mg Tetra grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	32
Grafik 4.17. Florfenikol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	33
Grafik 4.18. Doksisiklin grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi. ....	34
Grafik 4.19. Grupların yaşama oranları (1: Kontrol; 2: 4 mg Tetra; 3: 8 mg Tetra; 4: 12 mg Tetra; 5: Florfenikol; 6: Doksisiklin).....	36

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 1.1. 2014 yılı dünya su ürünleri üretimi ve tüketim oranları 2014 yılı dünya su ürünleri üretimi ve tüketim oranları (ton) (FAO 2016) .....	1
Tablo 1.2. Akvakültür yolu ile üretilen su ürünleri üretim miktarları (TUIK 2016) (ton) .....	2
Tablo 1.3. Türkiye toplam su ürünleri üretiminin yıllara göre dağılımı (TUIK 2016) (ton) .....	3
Tablo 4.1. Deneme süresince, deneme gruplarının süperoksit radikal salınımlarında meydana gelen değişimler. ....	20
Tablo 4.2. Deneme süresince, deneme gruplarının lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler. ....	25
Tablo 4.3. Deneme süresince, deneme gruplarının myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler. ....	30
Tablo 4.4. Deneme gruplarının hematolojik analiz verileri. ....	35

## 1. GİRİŞ

Dünya sürekli olarak gelişmektedir ve buna paralel olarak insan nüfusu artmaktadır. 1980'lerde 15 kg dolaylarında olan hayvansal protein tüketiminin 2030'a gelindiğinde kişi başına 40 kg olacağı tahmin edilmektedir (FAO, 2016). Dünyanın artan hayvansal protein kaynağına paralel olarak hayvansal üretimin miktarları da günden güne artmaktadır. Bununla birlikte karasal alanlarda üretime ilişkin tarım alanlarının daralması ve hayvansal kaynaklı protein ihtiyacının karşılanmasındaki artan maliyetler ekonomik olarak sürdürülebilirliği sorgulamaktadır.

Su ürünleri üretim miktarı dünya çapında her geçen gün artmaktadır. Su ürünleri, dünya çapında gıda olarak önemli bir yer tutarken milyonlarca insan için de geçim kaynağı oluşturmaktadır. 2014 yılı dünya su ürünleri tüketimi kişi başı 20 kg ile rekor kırmıştır (FAO, 2016). Su ürünleri üretimi dünyada genel olarak avcılık yolu ile temin edilmekte olup uzun yıllardır 80-90 milyon ton civarında sabit kalmıştır. Bununla birlikte, akvakültür üretim miktarları her geçen gün artmaktadır. Günümüzde özellikle akvakültür sektörü insan tüketimi için kullanılan su ürünleri üretiminin yarısını karşılayacak duruma gelmiştir. Dünya avcılık ve akvakültür üretim ve tüketim oranları Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1. 2014 yılı dünya su ürünleri üretimi ve tüketim oranları 2014 yılı dünya su ürünleri üretimi ve tüketim oranları (ton)(FAO 2016).

	2009	2010	2011	2012	2013	2014
<b>BALIKÇILIK</b>						
İçsu	10,5	11,3	11,1	11,6	11,7	11,9
Deniz	79,7	77,9	82,6	79,7	81	81,5
<b>TOPLAM</b>	<b>90,2</b>	<b>89,2</b>	<b>93,7</b>	<b>91,3</b>	<b>92,7</b>	<b>93,4</b>
<b>AKVAKÜLTÜR</b>						
İçsu	34,3	36,3	38,6	42	44,8	47,1
Deniz	21,4	22,1	23,2	24,4	25,5	26,7
<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>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, su ürünleri üretimi açısından incelendiğinde su ürünlerinin büyük bir kısmının avcılık yolu ile elde edildiği görülmektedir. Bununla birlikte dünya üretiminde kontrollü şartlarda akvakültür yapılarak artan su ürünleri üretimi ülkemiz için de aynı artışı göstermektedir. Akvakültür yolu ile yapılan üretim her yıl artarak devam etmektedir (TUİK 2016). Türkiye su ürünleri üretimi Tablo 1.2’de verilmiştir. Türkiyede yetiştiricilik yolu ile elde edilen su ürünleri üretimi Tablo1.3’te sunulmuştur.

Tablo 1.2. *Türkiye toplam su ürünleri üretiminin yıllara göre dağılımı (TUİK 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

Akvakültür üretimi, dünyadaki gelişmelere paralel olarak her geçen gün artmaktadır. Gelişen teknoloji, yem, üretim modellerinin oluşturulması, yeni balık türlerin kültür şartlarında üretimlerinin sağlanması ve artan ihtiyaçlar bu gelişmeye taban oluşturmaktadır. Bununla birlikte, yoğun üretim sistemlerinin değiştiremediği en önemli kıstas balığın biyolojik yapısıdır. Özellikle teknoloji, çok yoğun balık üretimine olanak sağlasa da (Bilen, Bilen ve Önal 2015), stres kaynaklı olarak

bağışıklık sistemin zayıflaması ve balıkların hastalıklara daha açık hale gelmeleri mümkündür.

Tablo 1.3. *Akvakültür yolu ile üretilen su ürünleri üretim miktarları (TUIK 2016) (ton).*

Yıllar	Alabalık		Toplam	Çipura	Levrek
	İçsu	Deniz			
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, üretim sistemlerinde, balıkların hastalıklardan yada çevresel problemlerden kaynaklanan kayıplarının azaltılması veya korunması için yada hastalıkların oluşumunda kayıpların en az seviyelere indirebilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Hastalıklardan kaynaklanan kayıpların giderilmesini önlemek için en temel yol hastalıkların oluşmasını engellemektir. Balıkların hastalıklardan korunmasında en temel kullanılan yol aşılama değildir. Bu bağlamda balıklarda enfeksiyöz hastalıklardan korunmada bir çok aşı geliştirilmiştir (Eldar, Horovitz ve Bercovier, 1997; Lorenzen, Lorenzen, Einer-Jensen, Heppell, Wu, ve Davis, 1998). Bu aşular günümüzde birçok ticari marka altında kolaylıkla temin edilebilmektedir. Bununla birlikte aşılamanın en temel sorunu sadece belli bir patojene karşı koruma sağlamasıdır. Ayrıca bu koruma belli bir süre sonra sonlamakta, üretim döngüsüne ve risk faktörlerine bağlı olarak balıkların tekrar aşılama gerektirmektedir. Bu durum üretim maliyetlerini arttırdığı gibi iş yükünü ve çalışma performansını da etkilemektedir.

Balıkların enfeksiyöz hastalıklardan kaynaklanan hastalıkların korunmasında diğer önemli bir konu bağışıklık uyarıcıların kullanılmasıdır. Günümüzde kimyasal (Baba, Watase ve Yoshinaga, 1993; Mine, Yokota, Wakai, Fukuda, Nishida vd., 1983; Jeney ve Anderson, 1993), bakteriyel türevler (Solem, Jørgensen ve Robertsen, 1995) ve tıbbi bitkiler (Bilen, Ünal ve Güvensoy 2016a; Bilen, Altunoğlu, Ulu ve Biswas, 2016b; Bilen, Yılmaz, Bilen ve Biswas, 2014; Bilen, Bulut ve Bilen, 2011) bu konuda etkin olarak kullanılmaktadır. Bu ürünlerin kullanılmasında genel olarak maliyetlerden kaynaklanan sıkıntılar göze çarpmaktadır. Fiyat-etkili bir ürünün oluşturulması son derece uygun işlerden biri olacaktır.

Türkiye’de hastalıklara karşı en çok kullanılan yöntem, balıkların hastalandıkları dönemde tedavi amaçlı ilaç uygulamasıdır. Türkiye’de balık üretiminde kullanılan çok sayıda resmi, balık için üretilmiş ticari antibiyotik bulunmaktadır. Bu antibiyotikler genellikle hastalık oluşturan Gr- hastalıkların sağaltımında kullanılmaktadır. En çok tercih edilen ve düzenli saha kullanımı olan antibiyotik etken maddeleri florfenikol, enroflaksasin, sulfadiazin-tremetoprim, doksisisiklin ve oksitetrasiklidir. Bu antibiyotikler hastalık sorunlarına çözüm ortaya koysa da bu çözümler kısa süreli olmakta, bunlara ek olarak bakterilerde meydana gelen antibiyotik direnç, kullanım süresi ve sıklığını kısıtlamaktadır. Hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin diğer önemli sorunlarında biri de balıkların vücutlarında birikmeleri ve bu balıkların belli bir süre insan sağlığı açısından kullanımlarına mani olmasıdır. Genel olarak antibiyotiklerin vücuttan atım süreleri 450 gün/C° olarak belirlenmektedir. Bu süre antibiyotikten antibiyotiğe ve dozajına bağlı olarak değişmektedir.

Tüm sorunların çözümlerinde yeni çözüm önerileri mutlaka vardır. Özellikle bazı tıbbi bitkiler immunostimulant olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerin ve ya bitkilerden elde edilen ürünlerin kullanılmasında sorun olarak görülebilecek husus ürünlerin ticari olarak elde edilemeyişi yada maliyetlerinin yüksek olmasıdır. Türkiye, zengin bitki örtüsü ile birçok bitki türüne ev sahipliği yapmaktadır ve potansiyel olarak yüksek bir konuma sahiptir. Türkiye’de yetişip bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan tıbbi bitkiler mevcuttur (Bilen vd., 2016a; Bilen vd. 2016b; Bilen vd., 2014) ve tetra bunlara iyi bir örnektir. Tetranın alabalıkların ve japon balıklarının bağışıklık sisteminde olumlu



etkileri olduğu ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir (Bilen vd., 2016a). Antibiyotik kullanımından kaynaklanan sorunların giderilmesinde özellikle çok kısa sürelerde tedavi uygulamanın zorunlu olduğu durumlarda antibiyotik yerine antimikrobiyal aktivite etkinliği kanıtlanmış (Dulger, Hacıoğlu, Bilen), bağışıklık uyarıcı özelliği tespit edilmiş (Bilen vd., 2011) ürünlerin biosit yada doğal antibiyotik türevi olarak kullanılabilirliği son derece önem kazanmıştır. Bitkisel immunostimulantların vücutta herhangi bir bariyere takılmadan yüksek oranda emilmeleri, tek bir içerikten oluşmayıp bünyesinde birçok mineral, vitamin, antibiyotik türevi ve antioksidanlar içermesi, vücuttan kolay atılmaları ve kalıntı bırakmamaları bu bitkilerin koruyucu özelliklerine ek olarak tedavi edici özelliklerinin de belirlenmesine yol göstermektedir.

Bu çalışmada antimikrobiyal ve immunostimulant özelliklere sahip, aynı zamanda immunostimulant olarak kullanıldığında *A. hydrophila* patojenine karşı koruma sağlayan tetra bitkisinin sulu metanolik özütünün enfeksiyöz hastalıklardan *A. hydrophila*'nın sağaltımında kullanılabilirliği, bağışıklık ve hematolojik parametrelerin desteği ile tartışılmıştır.

### **1.1. Tetra (*Cotinus coggygia*)**

Tetra (*Cotinus coggygia*), 5 m boya kadar ulaşabilen bir çalı ağaçtır (Demirci, Demirci ve Başer, 2003). Genel olarak Merkez ve Güney Avrupa'da, Güney Rusya'nın Kırım, Kafkasya, Lazkiye bölgelerinde ve Türkiye'de yetişmektedir. Tetranın yerel isimleri arasında boyacı sumadı, tetre, sarı boya ağacı, sarıcan, sarıyaprak, duman ağacı ve pamuklu sumak yeralmaktadır (Demirci vd., 2003). Tetra tıbbi bitki olarak, halk arasında, antiseptik, anti-inflamatuvar, antimikrobial, antihaemorajik ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Bulgaristan'da genç olgunlaşmamış yaprakları parfüm yapımında da kullanılmaktadır. Ayrıca diabetik hastalar için yara iyileştirme performansı da dikkat çekmektedir (Aksoy, Sen, Sancar, Sekerler, Akakin, Bitis vd., 2016).

### 1.2. *A. hydrophila*

*Aeromonas hydrophila* Gr negatif, hareketli, çubuk şekilli, bir bakteri olup ‘hareketli Aeromonas Septisemi’ye neden olan ve son derece patojenik bir bakteridir (Angka, Lam ve Sin, 1995). Septisemik seyreden bu hastalık dünyada birçok farklı balık türünde ve dünyanın birçok farklı coğrafyasında hastalıklara neden olmaktadır (Janda ve Abbott 1998). *Aeromonas* ayrıca insanların kullanım alanlarında bu ortamlarında karışarak mide ve bağırsak yangılarına sebep olabildiği gibi (Altwegg, Martinetti, Lüthy-Hottenstein ve Rohrbach, 1991), immünolojik rahatsızlıklar yaşayan hastalarda sistemik enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Ko, Lee, Chuang, Liu ve Wu, 2000).

Bu çalışmanın amacı, önceki çalışmalarda antimikrobiyal ve immumostimulant etkinliği belirlenmiş olan tetra bitkisinin sulu metanolik özütünün gökkuşağı alabalığı üretimde önemli bir patojen olan *A. hydrophila* enfeksiyonuna tedavi edici özelliklerinin ve dozajlarının belirlenmesidir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bugüne kadar birçok çalışmada tıbbi bitkilerin bağışıklık sisteminde meydana getirdiği değişimler ve bazı patojenlere karşı koruyucu etkileri tespit edilmiş olmakla birlikte, tıbbi bitkilerden elde edilen özütlerin hastalıklarla mücadelede doğrudan biosid olarak kullanımını içeren hiçbir çalışma mevcut değildir. Bu bağlamda, yapılan çalışmalar kısmında tıbbi bitkilerin bağışıklık uyarıcı ve hastalık koruyucu etkileri değerlendirilmiştir.

Bilen ve Bulut (2010), çalışmalarında defne yaprağı tozunun alabalıkların bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu maksatla defne bitkisi alabalıkların yemlerine % 0,5 ve % 1 oranında katılmış, balıklar bu yemlerle 3 hafta boyunca beslenmişler, 3 haftanın sonunda balıklardan numuneler alarak bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. 3 hafta sonunda balıklar defne içermeyen yemlerle beslenmeye devam edilmiş ve çalışma 9 hafta boyunca sürmüştür. Çalışma sonunda hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları incelenmiş, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyeleri kontrol edilmiştir. Çalışma sonunda defne bitkisinin alabalıkların büyüme performansı ve bağışıklık yanıtı üzerinde herhangi bir etkisi tespit edilememiştir.

Bilen vd. (2011), tetra (*Cotinus coggyria*) ile yaptıkları çalışmada, alabalıkları % 0,5 ve % 1 tetra tozu içeren yemlerle 3 hafta boyunca beslemişler, 3 haftanın sonunda balıklardan numuneler alarak bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. 3 hafta sonunda balıklar tetra içermeyen yemlerle beslenmeye devam edilmiş ve çalışma 9 hafta boyunca sürmüştür. Çalışma sonunda hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları incelenmiş, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyeleri kontrol edilmiştir. Çalışmanın tüm örnekleme dönemlerinde % 0,5 ve %1 tetra içeren yemlerle beslenen alabalık gruplarının kontrol edilen tüm bağışıklık parametreleri kontrol grubu ile kıyaslandığında kayda değer oranda artış göstermiştir. En yüksek bağışıklık parametreler ise % 1 tetra içeren yemlerle beslenen grupta gözlenmiştir. Tetra balıkların büyüme performansları üzerinde olumlu yada olumsuz herhangi bir etkisi tespit edilememiştir.

Nya ve Austin (2011), yapmış oldukları çalışmada 14 g ortalama ağırlığa sahip alabalıkları 100 g yem içerisinde sırasıyla 0,5 g ve 1 gr sarımsak içeren yemlerle 14 gün boyunca beslemişlerdir. Fiziksel faktörler, bağışıklık yanıt, hematolojik değişimler, beslemenin temel yeme döndürüldükten 14, 21 ve 28 gün sonra da kontrol edilmiştir. Çalışma sonunda balıklar *A. hydrophyla* ile enfekte edilmiş ve 14 gün sonunda yapılan denemede en yüksek yaşama oranı kaydedilmiştir.

Awad, Awad, Austin ve Lyndon (2013), çörek otu yağı ve ticari bir ürün olan ve ısırğan otundan özütlenen Quercetin'in alabalıkların bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin incelemişlerdir. Quercetin yeme % 0,1, % 0,5 ve % 1 oranında, çörek otu yağı ise % 1, % 2 ve % 3 oranında eklenmiştir. Lizozim, antiproteaz, toplam protein, myeloperoksidaz, bakterisidal aktivite ve Ig titresi belirlenmiştir. Gruplarda Quercetin ve çörek otu yağının en yüksek dozları ile beslenenlerde lizozim, toplam protein, antiproteaz ve bakterisidal aktivite en yüksek oranlara ulaşmıştır. %1 Quercetin grubu hariç serum Ig seviyeleri kontrole kıyasla artış göstermiştir.

Sheikhzadeh, Pashaki, Nofouzi, Heidarieh, ve Tayefi-Nasrabadi (2012), kahverengi deniz yosunlarından olan *Laminaria digitata* ve *Ascophyllum nodosum*'dan elde edilen ticari bir ürün olan Ergosan'ın gökkuşağı alabalıklarının bağışıklık sisteminde meydana getirdiği değişimleri incelemişlerdir. Çalışma 50 gün sürmüştür, 45 ve 50. Günlerden balıklardan bağışıklık yanıt ile ilgili olan enzim aktiviteleri kontrol edilmiştir. Lizozim, proteaz, alkalın fosfataz ve esteraz deneme gruplarında artış göstermiştir. Deri yüzeyinde mukusun yüksek oranda *Yersinia ruckeri*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Sheikhzadeh, Nofouzi, Delazar, ve Oushani (2011), kafeini çıkarılmış yeşil çayın (*Camellia sinensis*) alabalıkların bağışıklık yanıtları üzerinde meydana getirdiği değişimleri incelemişlerdir. Balıklar kg yem içerisinde sırasıyla 20, 100 ve 500 mg kafeinsiz yeşil çay içeren yemlerle 30 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda 20mg/kg kafeinsiz yeşil çay içeren yemlerle beslenen balıkların *Yersinia ruckeri*'ye karşı serum bakterisidal aktiviteleri kayda değer yükselmiştir. 100 mg/kg grubunda ise

lizozim kontrol grubuna göre artmıştır. Peroksidaz tüm gruplarda kayda değer oranda azalma göstermiştir.

Awad ve Austin (2010), çalışmalarında alabalıkları % 1 acıbakal (*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 kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Acıbakla ve mango kullanımı alyuvar ve akyuvar sayılarında yükseliş göstermiş, ısırgan otu kullanılan grupta ise hematokrit ve hemoglobin seviyeleri artmıştır. Kontrol testlerinde tüm deneme gruplarına yaşama oranlarında artış gözlenmiştir.

Haghighi ve Rohani (2013), çalışmalarında zencefil (*Zingiber officinale*) tozunun alabalıkların bağışıklık yanıtı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Balıklar % 1 zencefil tozu içeren yemlerle günde bir defa 12 hafta boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda balıkların hematolojik analizleri, lizozim aktiviteleri ve solunum etkileri tespit edilmiştir. Akyuvar sayısında artış gözlenirken, solunum aktivitesi, lizozim aktivitesi, hematokrit seviyeleri ve kırmızı kan hücreleri sayısında kontrol grubuna oranla artışlar gözlenmiştir.

Bilen vd. (2016a), alabalıkları 30 gün boyunca % 0,1 ve % 0,5 oranında ısırgan otu ve istiridye mantarı sulu metanolik özütleri ile beslemişlerdir. Çalışma sonunda immun sistemde meydana gelen değişimler incelenmiş, ve balıklar *A. hydrophila* ile kontrol testlerine tabi tutulmuşlardır. Çalışmada NBT aktivitesi ve fahgozitik aktivite tüm gruplarda kay değer oranda artmıştır. En yüksek lizozim aktivitesi % 0,5 ısırgan otu ile beslenen grupta gözlenmiştir. Balıkların yaşama oranları % 0,5 ve % 1 ısırgan otu özütü içeren grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olarak gözlenmiştir.

Bilen vd. (2016b), yaptıkları çalışmada, alabalıkları 30 gün boyunca günde iki kere % 0,5 ve % 1 oranında karari (*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.



### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Balık Materyali

Çalışmada balık materyali olarak  $32,34 \pm 0,4$  g ortalama ağırlığa sahip gökkuşağı alabalıkları (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Gökkuşağı alabalıkları Kastamonu Üniversitesi İçsu ve Deniz Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

##### 3.1.2. Deneme Yeri

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne ait Balık Hastalıkları Araştırma Ünitesi'nde yürütülmüştür. Çalışmada her biri 110 L olan birbirinden bağımsız akvaryumlar kullanılmıştır.



Fotoğraf 3.1. Deneme kullanılan akvaryum sistemi ve balıklar.

### 3.1.3. Çalışmada Kullanılan Tıbbi Bitki (*Cotinus coggygia*)

Çalışmada, *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı etkilerini belirlemek üzere tetra (*Cotinus coggygia*) bitkisi kullanılmıştır. Tetra bitkisi, yaz döneminde Kırklareli İli, Vize İlçesi, Balkaya Köyü kırsalındaki ormanlık araziden toplanmış ve gölgede kurutulmuştur. Tamamen kuruyan bitkiler Katsamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yüksek hızlı bitki değirmeninde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitkinin sulu metanolik özütü çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016a).



Fotoğraf 3.2. Çalışmada kullanılan tetra bitkisi (*Cotinus coggygia*) tozu.

### 3.1.4. *Aeromonas hydrophila*

*Aeromonas hydrophila* heterotrofik, gram negatif bir bakteri olup oksijenli ve oksijensiz çevre şartlarında yaşamını sürdürebileceği gibi jelatin ve hemoglobini sindirebilmektedir. Genel olarak antibiyotiklere dirençli ve tüm dünyada yaygın bir enfeksiyon türüdür (Austin ve Austin 2007). Çalışmada ATCC 20662 kodlu *A. hydrophila* kullanılmıştır. Bu maksatla *A. hydrophila* saf suşları Aero Pseudo Selective Agar'a ekilmiş, oluşan suşlar API 20E ticari kiti kullanılarak tür teşhisine tabi

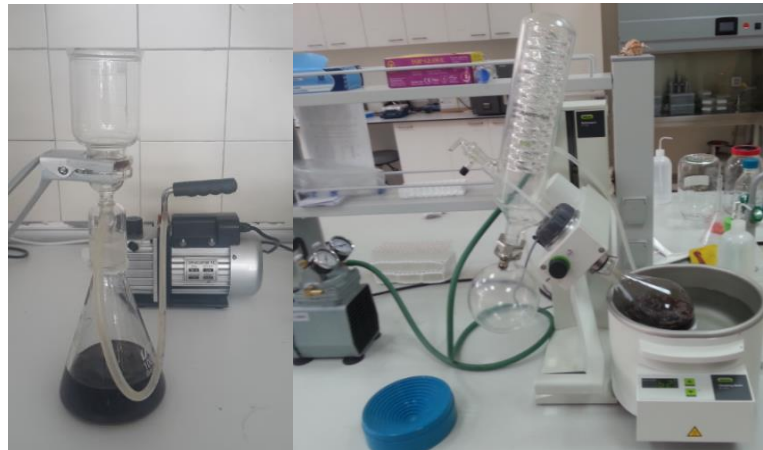


tutulmuştur. Daha sonra bu suşlar TSB içerisine inoküle edilmiş ve 37 C°'de 24 saat inkübe edildikten sonra hasat edilmiştir.

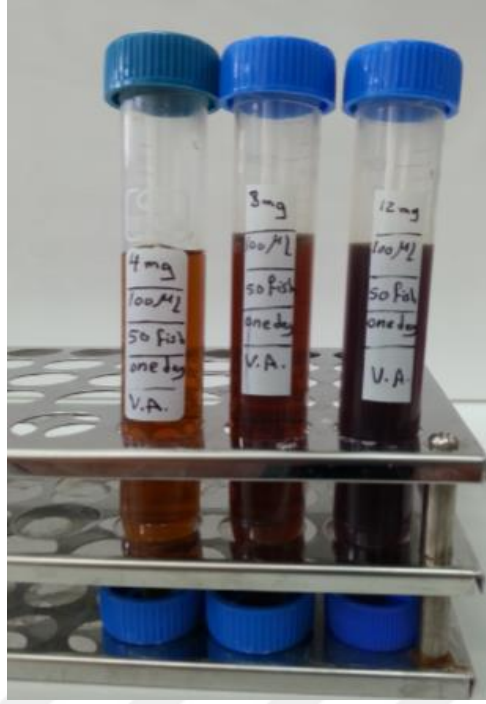
## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması

Bu çalışmada kullanılan tetra bitkisi (*Cotinus coggygia*), Kırklareli İli, Vize ilçesi, Balkaya Köyü yakınlarındaki ormanlık araziden temin edilmiştir. Toplanan bitkiler gölgede kuru bir ortamda normal şartlar altında kurutulmuştur. Kuruyan bitkiler yüksek devirli öğütücüde toz haline getirilmiştir. Daha sonra bu tozların sulu methanolik özütleri çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016b). Bu işlemde % 40'lık methanol hazırlanmış 1 L karışım içerisine 100 g bitki tozu eklenmiş ve güneş görmeyen yerde günde iki defa ters yüz edilerek üç gün boyunca beklenmiştir. Daha sonra bu örnekler Whatman filtre kâğıdından (47 mm) geçirilerek iri partiküller ayrılmıştır. Son sıvı kısım vakum evaporatöre transfer edilmiş ve burada tüm sıvı kısım giderilinceye kadar bekletilmiştir. Çalışma sonunda 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 +4 C°'de tutulmuştur.



Fotoğraf 3.3. Çalışmada kullanılan tetra bitkisi (*Cotinus coggygia*) sulu methanolik özütünün filtre edildikten sonra vakum evaporatörde çıkarılma işlemi.



Fotoğraf 3.4. PBS içersinde uygun dozda hazırlanmış kullanılmaya hazır tetra bitkisi (*Cotinus coggygia*) sulu methanolik özütleri.

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

Hastalık etmeni olarak kullanılan *Aeromonas hydrophila* (ATCC 20662) 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  $1 \times 10^8$  belirlenmiştir.

### 3.2.3. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar iki hafta boyunca aynı tip yemle beslenerek adaptasyon sürecine alınmış ve çalışma başlamadan önce ölen balıklar deneme ortamından uzaklaştırılmıştır. Deneme akvaryumlarının her birine balıklar 36 adet gelecek şekilde stoklanmış ve akvaryumların suları her gün % 30 oranında aynı ortamda dinlendirilmiş olan taze su ile değiştirilmiştir.

Balıklarda *Aeromonas hydrophila* (ATCC 20662) enfeksiyonuna karşı tetra bitkisinin sulu methanolik özütünün tedavi edici etkilerinin belirlenmesi için balıklar LD<sub>50</sub> dozu

belirlenen patojen amil ile denemenin 0. günde intramasküler olarak enfekte edilmişlerdir (Fotoğraf 3.5.). Aynı gün, 100 µl PBS içerisinde 0 mg (kontrol), 4 mg, 8 mg ve 12 mg tetra sulu metanolik özütü içeren hammadde ile besleme şiringası kullanılarak sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa balıklara oral yolla verilmiştir. Kontrol grubuna ek olarak ilgili bakterinin sağaltımında kullanılan florfikol ve doksisisiklin 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.



Fotoğraf 3.5. Denemede kullanılan balıkların *A. hydrophila* enfeksiyonu ile intramasküler olarak enfekte edilmesi.



Fotoğraf 3.6. Tetra özütü içeren hammaddelerin 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. Süperoksit Radikal Salınımları**

Süperoksit radikal salınımları NBT kullanılarak yapılmıştır (Siwicki ve Anderson, 1993). Balıklardan alınan kan örneklerinden 0,1 ml heparinize örnek % 0,2 NBT içeren 0,1 ml solüsyon ile karıştırılmıştır. 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.

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

Lizozim aktivitesi Siwicki, Anderson ve Rumsey (1994)'e göre turbidimetrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, serumda 100 µl örnek alınmış, bunun üzerine 200 µl *Mycrococcus lysodeikteis* (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

$$\text{MCV (fl)} = \text{Hct} \times 10 / \text{RBC}(106\mu\text{L}^{-1}) \quad (3.1)$$

##### 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

$$\text{MCH (pg)} = [\text{Hb (g dL}^{-1}) \times 10] / \text{RBC}(106/\text{mm}^{-1}) \quad (3.2)$$

##### 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).

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

#### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen bulgular SPSS 22 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Gruplar arası farkları belirlemek ilk önce tek yönlü ANOVA yapılmış ve varyans analizlerine göre gruplar arasında farklılık olup olmadığı tespit edebilmek için % 95 güven aralığında Fisher LSD analizi yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Başıklık Yanıtta Meydan Gelen Değişimler

#### 4.1.1. Süperoksit Radikal Salınımı

Çalışmada, 0, 3, 7 ve 10. günlerde balıklardan alınan kan örneklerinde süperoksit radikal salınımları belirlenmiştir (Tablo 4.1.). Elde edilen verilere göre, 0. gün sonuçlarında kontrol, 12 mg Tetra ve doksisisiklin gruplarında süperoksit radikal salınımlarının diğer gruplara kıyasla yükseldiği tespit edilirken ( $P<0,05$ ) bu grupların içerisinde kayda değer değişiklik gözlenmemiştir. 4 mg Tetra, 8 mg Tetra ve florfenikol gruplarında ise süperoksit radikal salınımları kayda değer düşük olarak gözlenmiştir. Bununla birlikte grupların kendi içlerinde herhangi bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ).

Tablo 4.1. *Deneme süresince, deneme gruplarının süperoksit radikal salınımlarında meydana gelen değişimler.*

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	4,29±0,37 <sup>a</sup>	2,74±0,13 <sup>a</sup>	2,61±0,52 <sup>a</sup>	1,82±0,10 <sup>a</sup>
<b>4 mg Tetra</b>	3,64±0,49 <sup>b</sup>	2,45±0,30 <sup>a</sup>	2,47±0,42 <sup>a</sup>	2,20±0,49 <sup>a</sup>
<b>8 mg Tetra</b>	3,71±0,52 <sup>b</sup>	2,31±0,47 <sup>a</sup>	2,41±0,16 <sup>a</sup>	1,92±0,36 <sup>a</sup>
<b>12 mg Tetra</b>	4,57±0,67 <sup>a</sup>	3,22±0,26 <sup>b</sup>	2,46±0,24 <sup>a</sup>	1,66±0,20 <sup>b</sup>
<b>Florfenikol</b>	3,60±0,88 <sup>b</sup>	3,45±0,30 <sup>b</sup>	2,36±0,67 <sup>a</sup>	1,76±0,30 <sup>b</sup>
<b>Doksisisiklin</b>	4,74±0,33 <sup>a</sup>	3,19±0,56 <sup>b</sup>	2,01±0,05 <sup>b</sup>	1,71±0,25 <sup>b</sup>

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

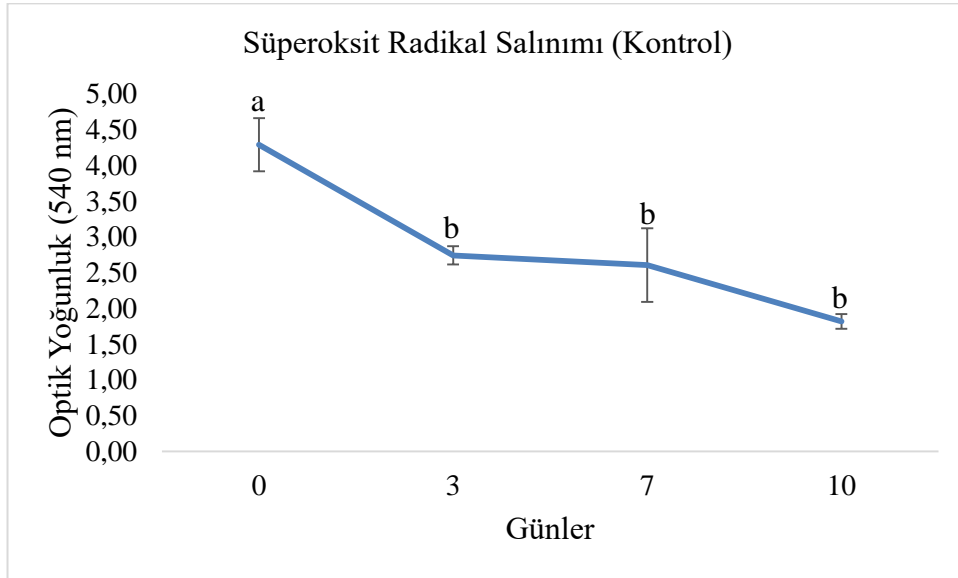
3. gün sonuçları değerlendirildiğinde, kontrol, 4 mg Tetra ve 8 mg Tetra gruplarında süperoksit radikal salınımları diğer gruplara kıyasla kayda değer oranda düşük olarak tespit edilmiştir. Nya ve Autstin (2009a), zencefil ile 14 gün besledikleri balıkların süperoksit radikal salınımlarında kayda değer artışlar tespit etmiştir. Bilen vd. (2011) yaptıkları çalışmada alabalıkları tetra tozu içeren yemlerle beslediklerinde süperoksit radikal salınımlarında artış tespit etmişler ve bu artış temel diyetten dönüldükten sonrada etkinliğini devam ettirmiştir. Nya ve Autstin (2009b), sarımsak ile besledikleri balıkların süperoksit radikal salınımlarında artış tespit etmişleridir. Bundan farklı olarak Bilen ve Bulut (2010), yapmış oldukları çalışmada defne yaprağı tozu ile beslenen alabalıkların süperoksit radikal salınımların bir değişim



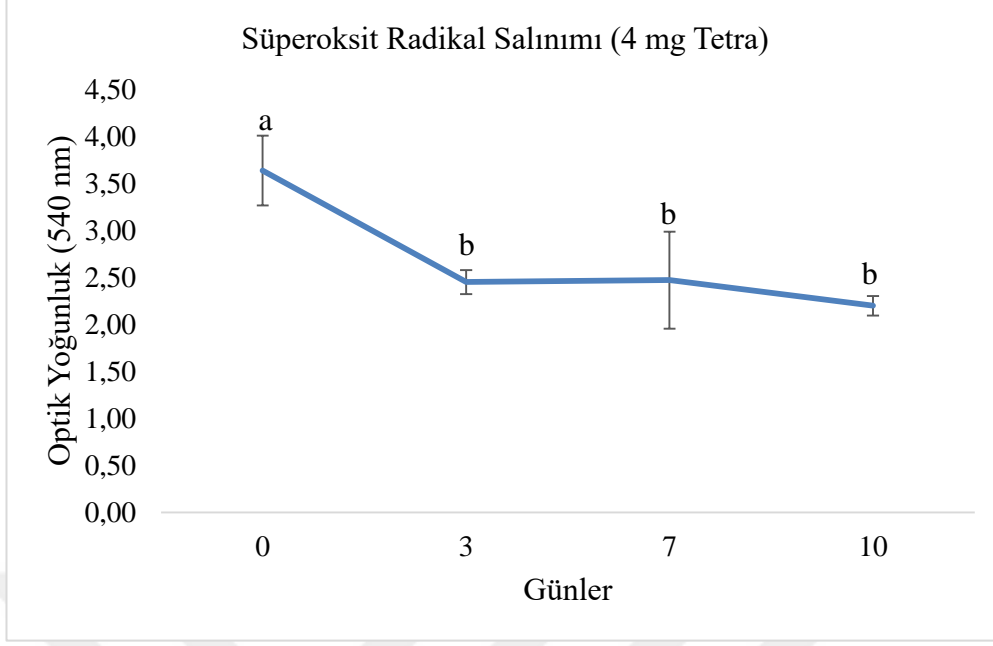
gözlemlememişlerdir. Bilen vd. (2013), tetra sulu metanolik özütleri ile besledikleri koi (*Cyprinus carpio*) balıklarının süperoksit radikal salınımlarında artış tespit etmişlerdir. Yine benzer olarak, Bilen vd. (2016a), kayın mantarı ve ısırgan otu sulu metanolik özütlerinin alabalıklar üzerinde, Bilen vd. (2016b), yapmış oldukları çalışmada ise kaparinin alabalıkların süperoksit radikal salınımlarını arttırdığını tespit etmişlerdir.

Grupların kendi içlerinde farklı günlerde meydana gelen değişimleri sırasıyla Grafik 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5. ve 4.6.'da belirtilmiştir. Buna göre kontrol grubunun süperoksit radikal salınımları incelendiğinde 0. güne kıyasla diğer günlerde süperoksit radikal salınımlarının düştüğü ( $P<0,05$ ), bununla birlikte 3,7 ve 10. günlerde gruplar arasında bir değişim gözlenmediği tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ).

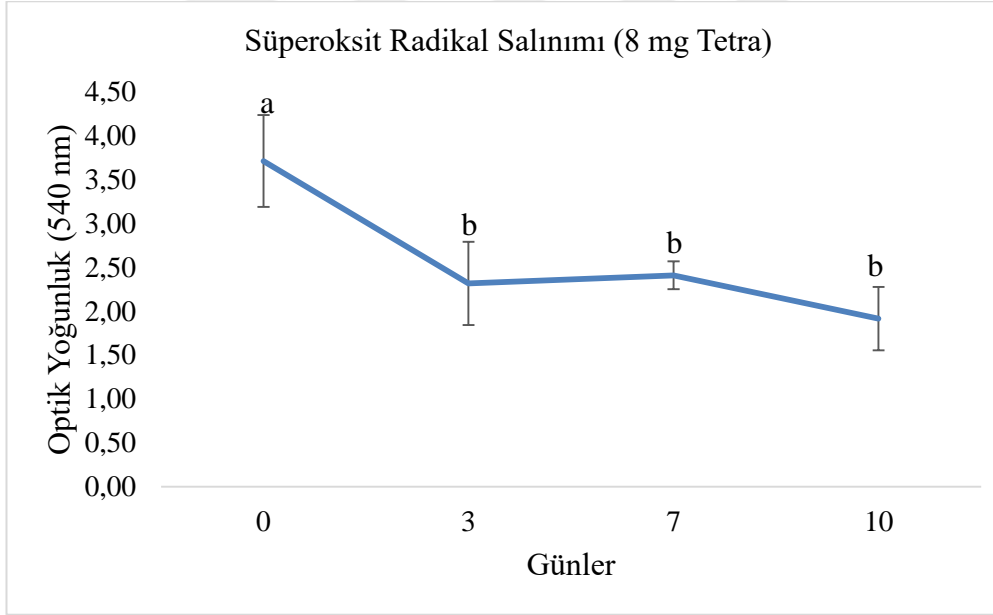
4 mg tetra içeren özüt ile tedavi edilen grubun süperoksit radikal salınımları denemenin ilk günündeki oranına nispeten diğer günlerde azalmış ve bu azalma önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). 8 mg tetra içeren grubun sonuçları değerlendirildiğinde 4 mg tetra grubuna benzer gözlemler sağlanmıştır. Çalışmanın ilk günü sonuçların diğer günlere kıyasla kayda değer yüksek olduğu tespit edilmiştir.



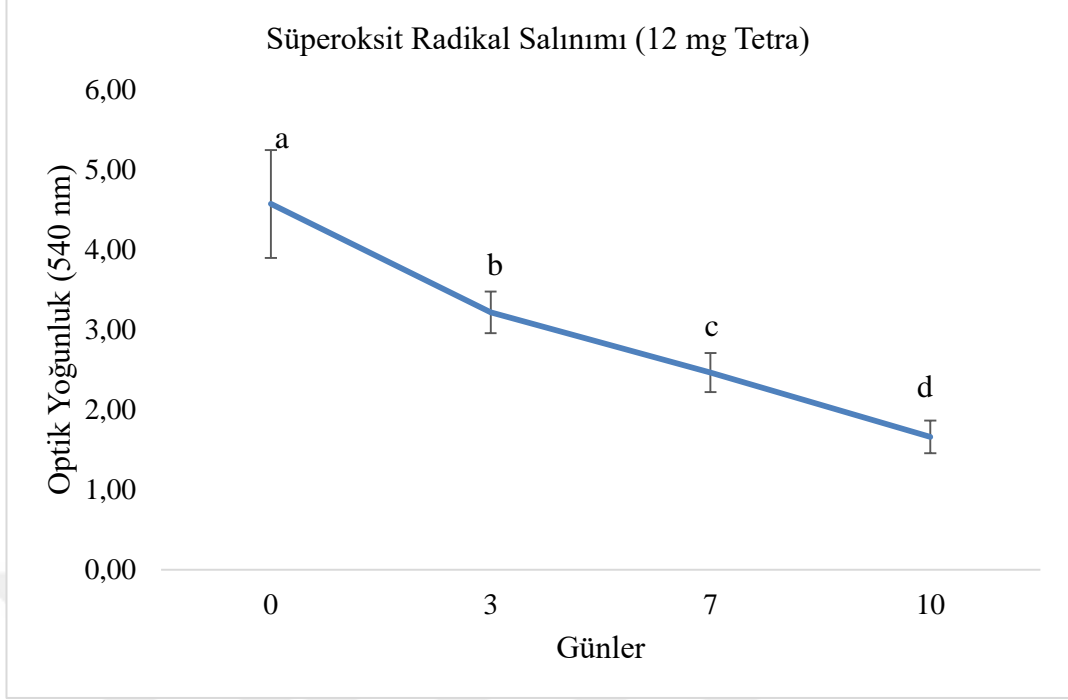
Grafik. 4.1. Kontrol grubunun süperoksit radikal salınımları.



Grafik. 4.2. 4 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları.



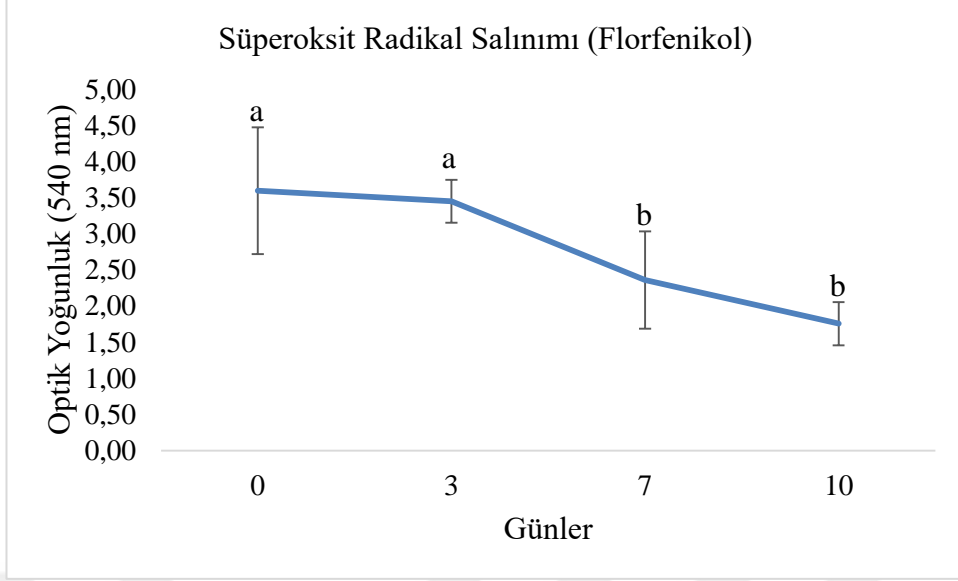
Grafik. 4.3. 8 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları.



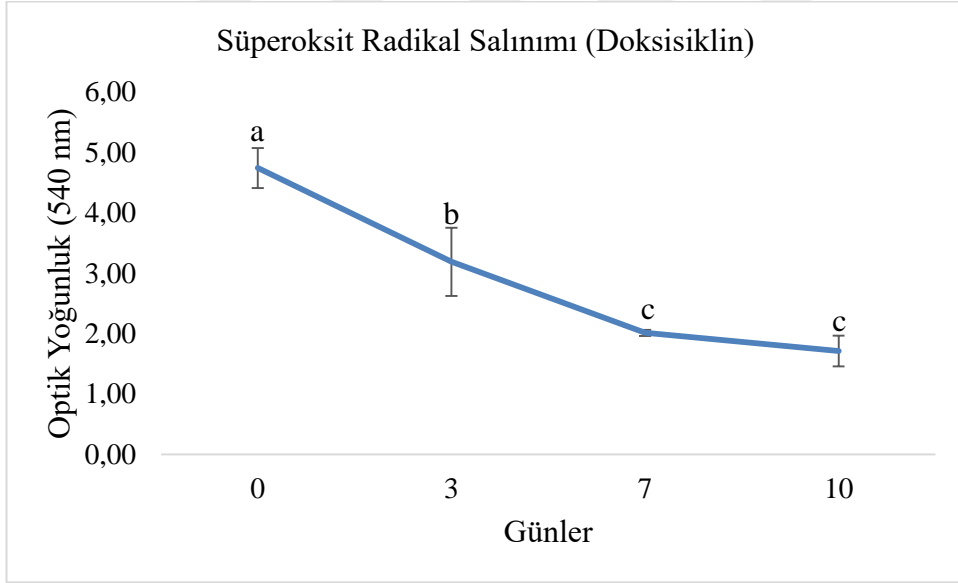
Grafik. 4.4. 12 mg Tetra grubunun süperoksit radikal salınımları.

12 mg tetra ile tedavi edilen balıkların günlere göre süperoksit radikal salınımları incelendiğinde her örnekleme gününde başlangıç gününe oranla azalarak gittiği tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Florfenikol ile tedavi edilen grupların 0 ve 3. gün verileri arasında bir farklılık tespit edilememişken 7 ve 10. günlerde yapılan analizlerde bu oranın azaldığı tespit edilmiştir.

Doksisiklin ile tedavi edilen grubun sonuçları da benzerlik göstermiştir. Çalışmanın 3. gününde 0. örnekleme gününe kıyasla süperoksit radikal salınımlarında azalma tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu azalma 7 ve 10. günlerde de gözlenmiştir. 7. ve 10. günlerde elede edilen süperoksit radikal salınımı kayda değer azalış göstermişken bu günler arasında bir farklılık gözlenmemiştir.



Grafik. 4.5. Florfenikol grubunun süperoksit radikal salınımları



Grafik. 4.6. Doksisiklin grubunun süperoksit radikal salınımları.

Tüm gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde genel olarak çalışma ilerledikçe süperoksit radikal salınımlarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ilgili bakteri ile enfekte edilen grupların 0-3 gün arasında azalan değerlerin bağışıklık yanıtın azalmasına yada yavaşlamasına işaret ettiği gözlenmektedir. Bu durum kontrol grubu içerisinde de gözleendiğinden ilaç ve tetra uygulamalarının doğrudan bağışıklık yanıt

üzerinde etkilerinin olup olmadığı konusunda net bilgi sunamamaktadır. Normalde tetra uygulaması koi balıklarının bağışıklık ve özellikle süperoksit radikal salınımlarında artış göstermesine rağmen (Bilen vd., 2013), bu çalışmada meydana gelen düşüşler, uygulamanın hastalık oluşumu ile başlaması ve özütün daha ziyade patojenik bakterilerin elemine edilmesinde etkin olduğu sonucu çıkarılabilir.

#### 4.1.2. Lizozim Aktivitesi

Çalışma sonunda elde edilen lizozim aktivitesi verileri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

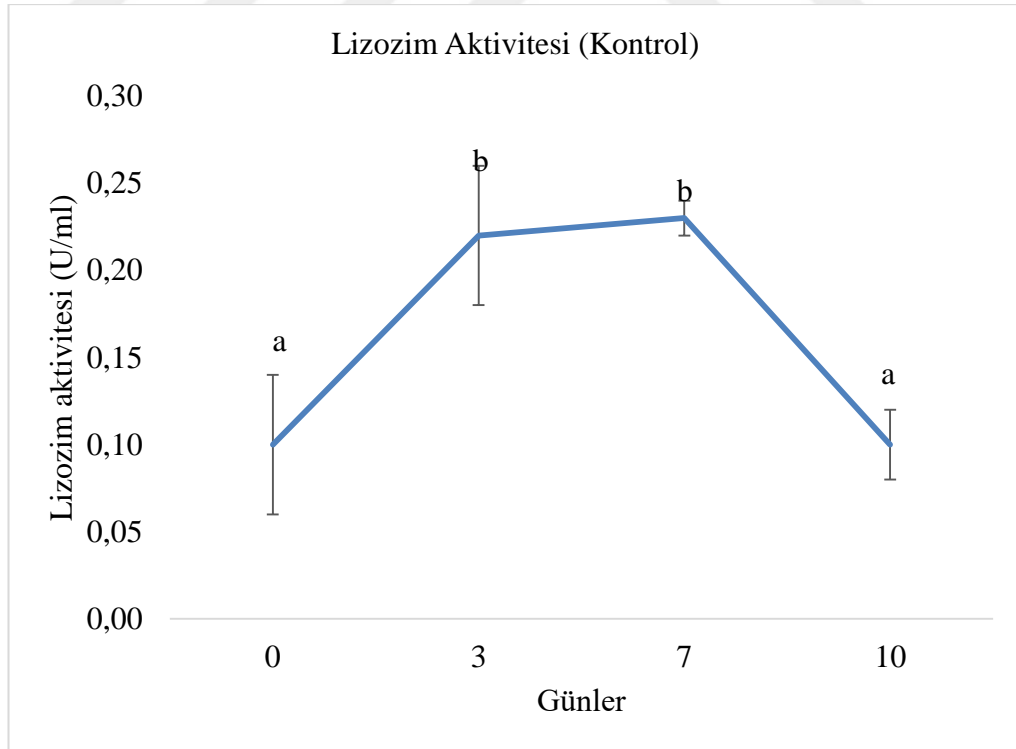
Tablo 4.2. *Deneme süresince, deneme gruplarının lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).*

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	0,10±0,09	0,22±0,04 <sup>a</sup>	0,23±0,10 <sup>a</sup>	0,10±0,05
<b>4 mg Tetra</b>	0,12±0,09	0,16±0,07 <sup>b</sup>	0,16±0,05 <sup>b</sup>	0,16±0,08
<b>8 mg Tetra</b>	0,20±0,09 <sup>a</sup>	0,09±0,05 <sup>c</sup>	0,12±0,07 <sup>b</sup>	0,13±0,08
<b>12 mg Tetra</b>	0,16±0,05	0,14±0,03 <sup>b</sup>	0,18±0,06 <sup>b</sup>	0,13±0,06
<b>Florfenikol</b>	0,18±0,04	0,17±0,05 <sup>b</sup>	0,33±0,03 <sup>c</sup>	0,06±0,02 <sup>a</sup>
<b>Doksisiklin</b>	0,13±0,06	0,09±0,13 <sup>c</sup>	0,20±0,04 <sup>a</sup>	0,14±0,06

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

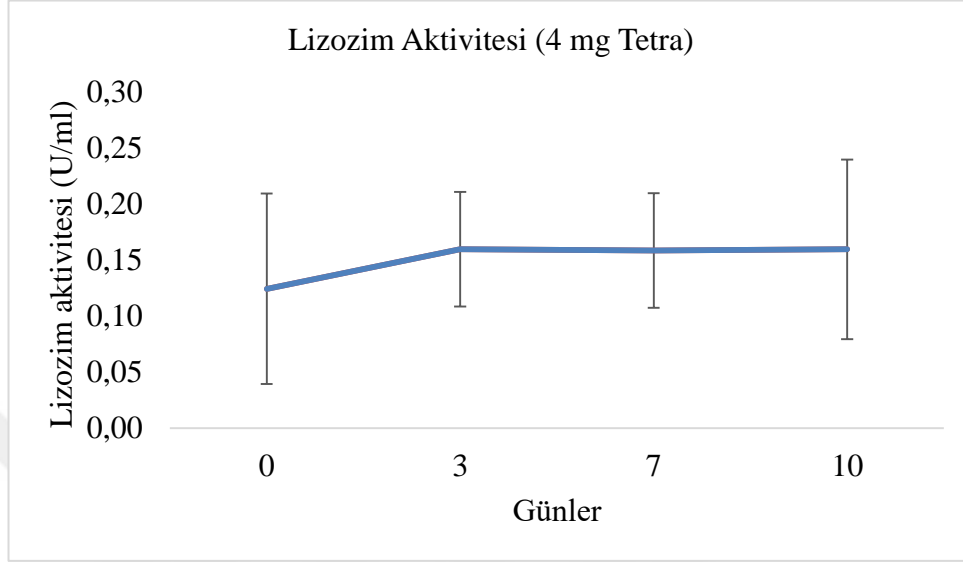
Çalışmanın başlangıcında hastalık uygulamasının yapıldığı ve tedavi sürecinin işletildiği 0. günde, grupların lizozim aktivitesi kontrol edildiğinde 8 mg Tetra içeren grubun lizozim aktivitesi tüm diğer gruplardan ve kontrol grubundan daha yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). 3. gün değerleri kontrol edildiğinde ise 0,22±0,04 U/ml değeri ile en yüksek seviyeye kontrol grubunda ulaşmıştır. 8 mg Tetra ve doksisiklin grubu benzer sonuçlar gösterirken, 4 mg Tetra, 12 mg Tetra ve Florfenikol gruplarının lizozim aktiviteleri düşük olarak tespit edilmiştir (P<0,05). 7. gün değerleri kontrol edildiğinde kontrol ve doksisiklin grupları arasında benzerlik söz konusu iken, 4 mg, 8 mg ve 12 mg tetra uygulanan gruplarda bu değer azalma göstermiştir. Bununla birlikte 7. günde lizozim aktivitesi en yüksek değerine florfenikol içeren grupta ulaşmıştır (P<0,05). Çalışmanın 10. gününde ise lizozim aktivitesinin kontrol edildiği son gün olan tüm gruplarda benzer lizozim aktiviteleri tespit edilmişken bunlardan farklı olarak florfenikol grubunda kayda değer bir azalma söz konusudur (P<0,05).

Bu sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde lizozim aktivitesi günlere göre gruplar arasında çok değişkenlik gösterirken kontrol grubuna kıyasla bir artıştan söz etmek mümkün değildir. Bilen ve Musa (2010) defne ile besledikleri alabalıkların bağışıklık yanıtlarında meydana gelen değişimleri inceledikleri lizozim aktivitesinde bir değişim gözlemlenmemişlerdir. Lizozim savunmada ilk defans sistemini oluşturan önemli enzimlerden biridir. Lizozim bakterilerin hidrolize edilerek öldürülmesini sağlayan bakterisit bir enzimdir (Magnadottir 2006). Baba, Uluköy ve Öntaş (2015), *Lentinula edodes* özütü uyguladıkları alabalıklarda lizozim aktivitesinin deneme gruplarında artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Zencefil ile beslenen alabalıklarda lizozim aktivitesi kayda değer artış göstermiştir (Nya ve Austin 2009). Awad vd. (2013), çörek otu ve ısırgan otu özütlerinde elde edilen Quercetin ile beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde kayda değer artışlar tespit etmişlerdir. Awad ve Austin (2010), yaptıkları çalışmada lupin, mango ve ısırgan otu uyguladıkları balıkların lizozim aktivitelerinde kayda değer artış tespit etmişlerdir.



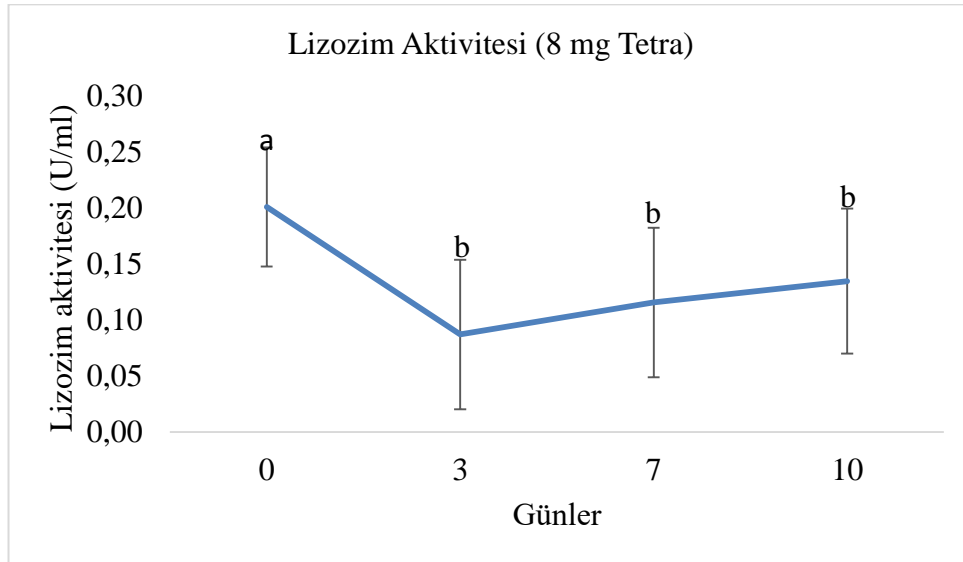
Grafik. 4.7. Kontrol grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

Lizozim aktivitesi grupların kendi içlerinde meydana getirdiği değişimler incelendiğinde, kontrol grubunda 3 ve 7. günlerde 0 ve 10. günlere kıyasla bir artış gözlenmiştir.



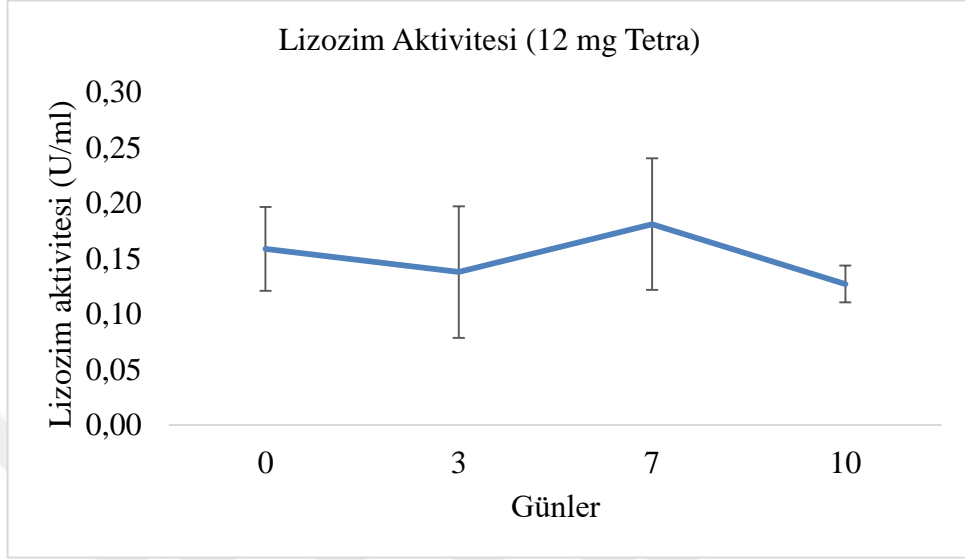
Grafik. 4.8. 4 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

4 mg Tetra grubunun günlere bağlı lizozim aktivitesi kontrol edildiğinde bir değişim gözlemlenmemiştir ( $P < 0,05$ ).



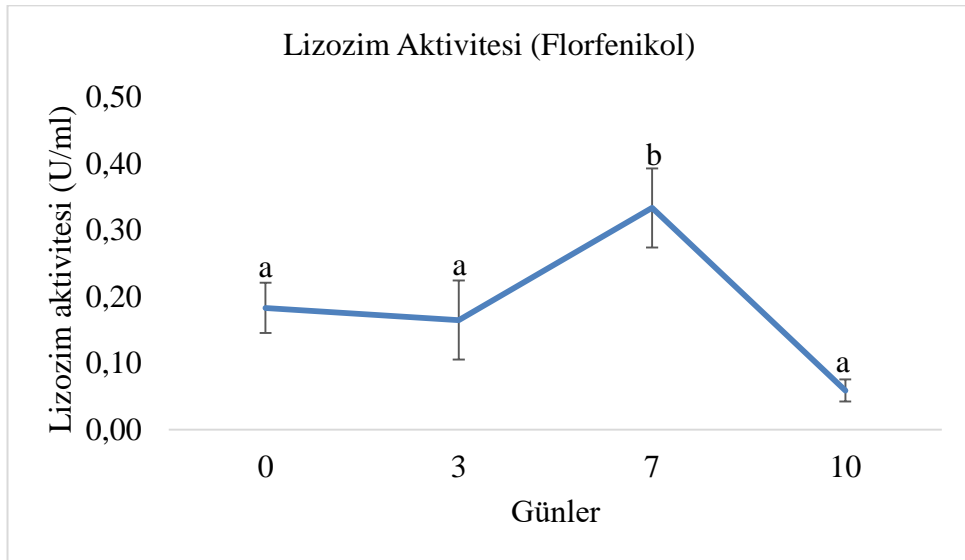
Grafik. 4.9. 8 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

8 mg Tetra uygulanan grupların günlere bağlı lizozim aktivitesi değişimleri kontrol edildiğinde, 0. güne kıyasla tüm diğer günlerde azalma gözlenmiş olup 3, 7 ve 10. günler arasında bir farklılık gözlenmemiştir.



Grafik. 4.10. 12 mg Tetra grubunun lizozim aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

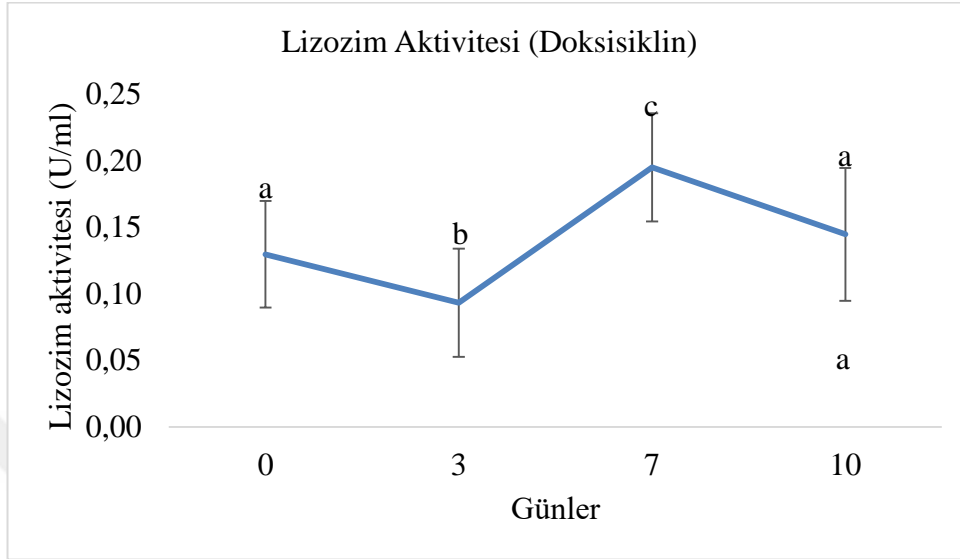
Grafik 4.10.'da görüldüğü üzere, 12 mg Tetra grubunun lizozim aktiviteleri 4 mg Tetra grubuna benzer olarak çalışma boyunca bir farklılık tespit edilememiştir ( $P>0,05$ ).



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



Florfenikol grubu kendi içerisinde lizozim aktivitesi yönünden günlere bağlı değişimi incelendiğinde 0, 3. ve 10. günler bir biri ile benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak 7. günde lizozim aktivitesi kayda değer artmıştır.



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

#### 4.1.3. Myeloperoksidaz Aktivitesi

Çalışma sonunda elde edilen myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.3.'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 0. gün incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla 4 mg grubunda bir azalma söz konusudur ( $P<0,05$ ). Kontrol grubu, 12 mg Tetra grubu ve doksisiklin grubunun myeloperoksidaz aktiviteleri ise benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, 8 mg ve Florfenikol gruplarının myeloperoksidaz aktiviteleri artış göstermiştir. En yüksek myeloperoksidaz aktivitesi, florfenikol uygulanan grupta gözlenmiştir. 3. gün verileri kontrol edildiğinde en düşük aktivite doksisiklin içeren grupta gözlenmiştir. Diğer tüm grupların myeloperoksidaz aktiviteleri kontrol grubuna göre artış göstermiştir ( $P<0,05$ ). 3 günde en yüksek myeloperoksidaz aktivitesi 8 mg ile Florfenikol grubunda gözlenmiştir. 7. gün verilerine göre myeloperoksidaz aktivitesi doksisiklin içeren grupta kayda değer oranda en yüksek seviyesine ulaşmıştır. 8 mg Tetra grubunda benzer olarak kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. 12 mg Tetra grubu kontrol grubu ile benzerlik gösterirken 4 mg Tetra grubu ve florfenikol uygulanan grubun myeloperoksidaz aktiviteleri azalmıştır ( $P<0,05$ ).

Tablo 4.3. Deneme süresince, deneme gruplarının myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler.

	0. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün
<b>Kontrol</b>	36,03±8,70 <sup>a</sup>	6,48±1,24 <sup>a</sup>	29,23±13,98 <sup>a</sup>	43,28±21,19 <sup>a</sup>
<b>4 mg Tetra</b>	20,46±6,44 <sup>b</sup>	18,77±7,44 <sup>b</sup>	15,24±7,03 <sup>b</sup>	34,89±13,59 <sup>b</sup>
<b>8 mg Tetra</b>	41,12±18,43 <sup>c</sup>	34,89±12,38 <sup>c</sup>	39,88±23,86 <sup>c</sup>	30,70±9,99 <sup>b</sup>
<b>12 mg Tetra</b>	33,80±21,43 <sup>a</sup>	27,70±10,73 <sup>d</sup>	31,13±18,37 <sup>a</sup>	32,32±23,6 <sup>b</sup>
<b>Florfenikol</b>	54,76±30,29 <sup>d</sup>	36,22±3,39 <sup>c</sup>	21,66±10,17 <sup>d</sup>	26,50±6,53 <sup>b</sup>
<b>Doksisiklin</b>	32,41±15,18 <sup>a</sup>	1,43±0,40 <sup>e</sup>	186,40±73,74 <sup>e</sup>	30,63±10,82 <sup>b</sup>

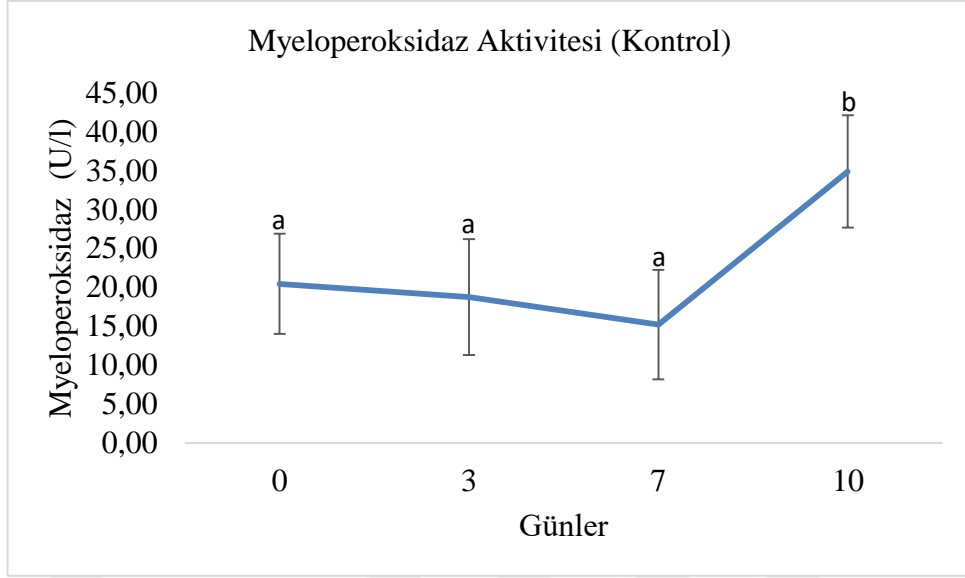
Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

10. gün verilerine göre, tüm deneme gruplarının myeloperoksidaz aktiviteleri kontrol grubuna göre kayda değer oranda azalma gösterirken ( $P<0,05$ ), grupların kendi içlerinde farklılık göstermediği tespit edilmiştir ( $P>0,05$ ).

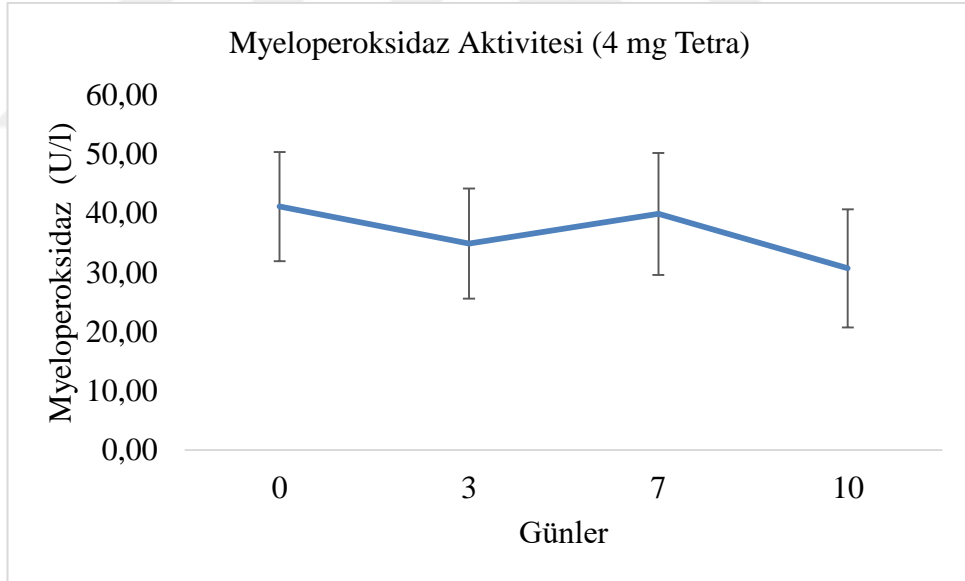
Myeloperoksidaz, balık bağışıklık sisteminde patojenlerin öldürülmesinde önemli rol alan bir enzimdir (Johnston, 1978). Awad vd. (2013), çörek otu ve ısırğan otu özütlerinde elde edilen Quercetin ile beslenen alabalıkların myeloperoksidaz aktivitelerinde artış kaydetmişlerdir. Bilen vd. (2013), koi balıklarına uygulanan tetra metanolik özütün balıkların myeloperoksidaz aktivitelerinde bir artış ortaya koyduğunu göstermektedir. Bilen vd. (2016a), istiridye mantarı ve ısırğan otu sulu metanolik özütlerinin ve yine Bilen vd. (2016b), kapari özütünün alabalıkların myeloperoksidaz aktivitelerinde artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Genel olarak tıbbi bitkilerin myeloperoksidaz aktivitelerini arttırdığı bir çok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (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 göre meydana gelen değişimler Grafik 4.13,14,15,16 ve Grafik 4.17’de verilmiştir.

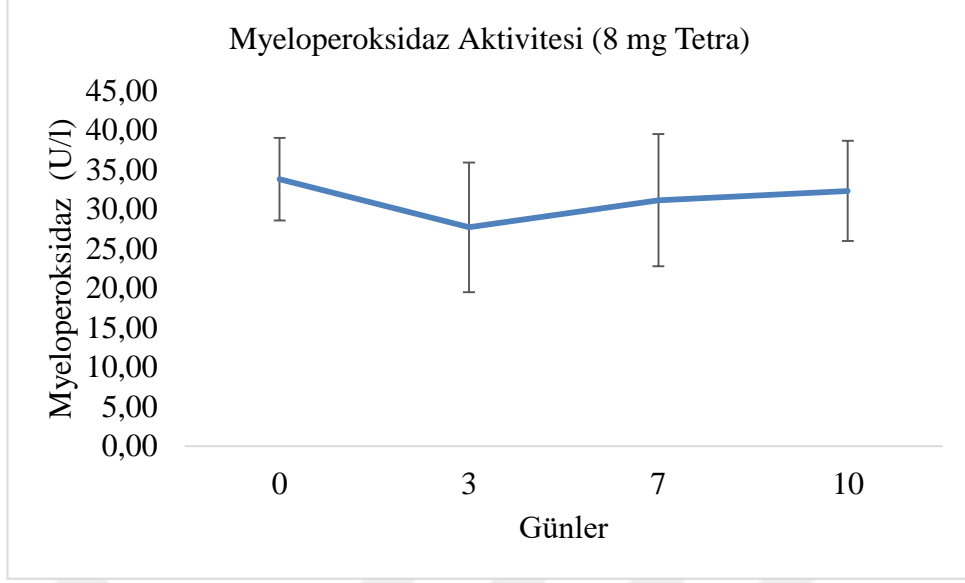
Bu verilere göre kontrol grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinde 10. günde bir artış gözlenmiştir. 0, 3 ve 7. günlerde yapılan kontrollerde elde edilen sonuçlar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. 4 mg Tetra uygulanan grupların myeloperoksidaz aktiviteleri tüm günlerde benzerlik göstermiş ve bir farklılık tespit edilememiştir.



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

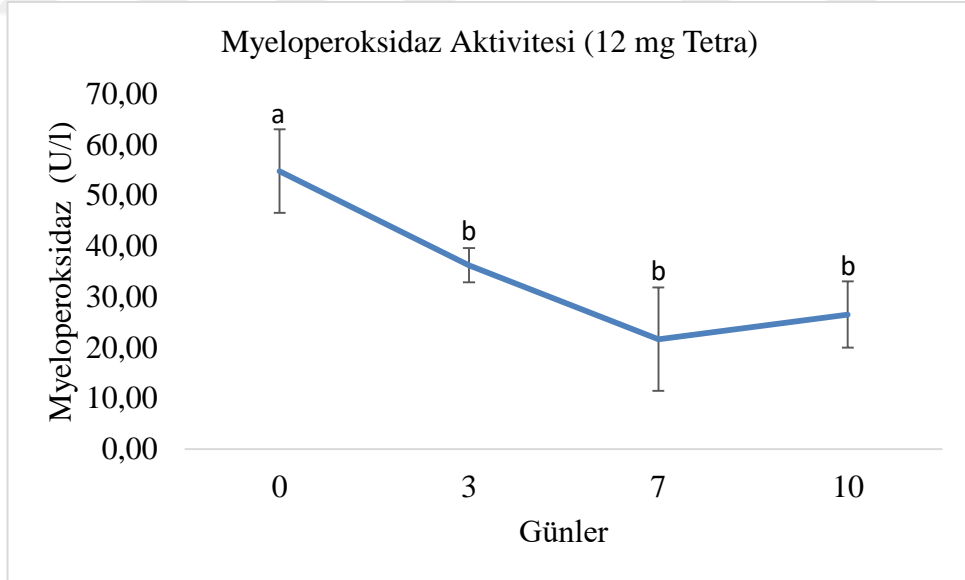


Grafik. 4.14. 4 mg Tetra grubunun myeloperoksidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.



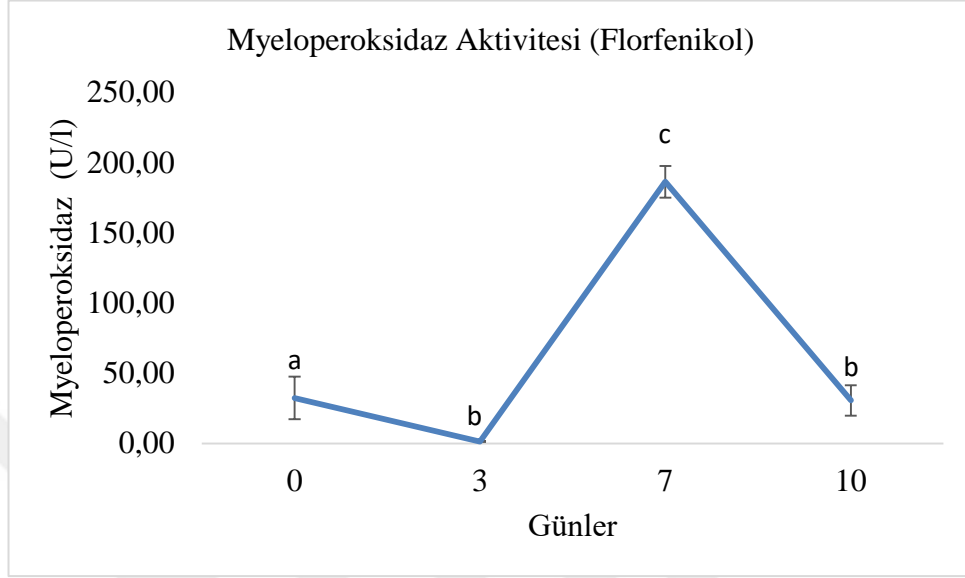
Grafik. 4.15. 8 mg Tetra grubunun myeloperoxidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

8 mg Tetra uygulanan grupların myeloperoxidaz aktiviteleri, 4 mg Tetra uygulanan gruplarınkine benzer olarak istatistiki açıdan bir farklılık göstermemiştir.



Grafik. 4.16. 12 mg Tetra grubunun myeloperoxidaz aktivitelerinin günlere bağlı değişimi.

12 mg Tetra grubunda 0. güne kıyasla diğer günlerde myeloperoksidaz aktivitesinde kayda değer bir azalma söz konusuken 3, 7 ve 10. günlerde bir farklılık gözlenmemiştir.



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

Florfenikol grubun günlere bağlı myeloperoksidaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde 3. ve 10. Günlere elde edilen değer, başlangıç gününe kıyasla azalma gösterirken 7. günde bir artış söz konusudur. Doksisisiklin grubunun verileri kontrol edildiğinde ise 3. Günde kayda değer bir azalma söz konusu iken 0, 7 ve 10. günlerde elde edilen aktiviteler arasında bir farklılık tespit edilememiştir. Tüm grupların kendi içlerindeki myeloperoksidaz aktiviteleri incelendiğinde gruplar arasında lizozim aktivitesine benzer olarak değişkenlikler tespit edilmiştir. Florfenikol grubunun 7. gününde elde edilen yüksek değer hariç genel olarak bir azalma yada değişimin olmadığı gözlenmektedir. Bu durum kullanılan materyallerin balıkların bağışıklık sistemi üzerinde aktivitelerinin belirlenen günlerde kısıtlı olduğu fikrini ortaya koymaktadır.



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

#### 4.2. Hematolojik Değişimler

Çalışma sonunda kan parametrelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.4.'te gösterilmiştir.

Çalışmada ele edilen verilere göre, RBC seviyelerinde farklılıklar gözlenmiş olmakla birlikte bu farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunamamıştır. Hemoglobin seviyelerinde meydana gelen değişimler, hematokrit seviyelerinde meydana gelen değişimlere benzer olarak değişkenlik göstermiştir. Bununla birlikte bu farklılıklar istatistiki açıdan önemli değildir. Çalışma sonunda elde edilen hemoglobin ve hematokrit seviyeleri herhangi bir farklılık göstermemekle birlikte Haghghi ve Rohani (2013)'un elde ettiği sonuçlara oranla düşük olduğu gözlenmektedir. Bu çalışmada farklı olarak zencefil uygulanan alabalıkların hematokrit ve RBC seviyelerinde artış gözlenmiştir (Haghghi ve Rohani 2013). Bilen vd. (2013), tetra metanolik 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 farklılık tespit edilememiştir. Tıbbi bitkilerin

uygulandığı ve uygulama sonrasında yapılan hematolojik analizlerde genel olarak artışlar gözlemlendiği birçok çalışmada tespit edilmiştir (Bilen, Yılmaz, Bilen ve Biswas, 2014; Bohlouli, Ghaedi, Heydari, Rahmani, Sadeghi, 2015; Adel, Pourgholam, Zorriehzahra, Ghiasi, 2016).

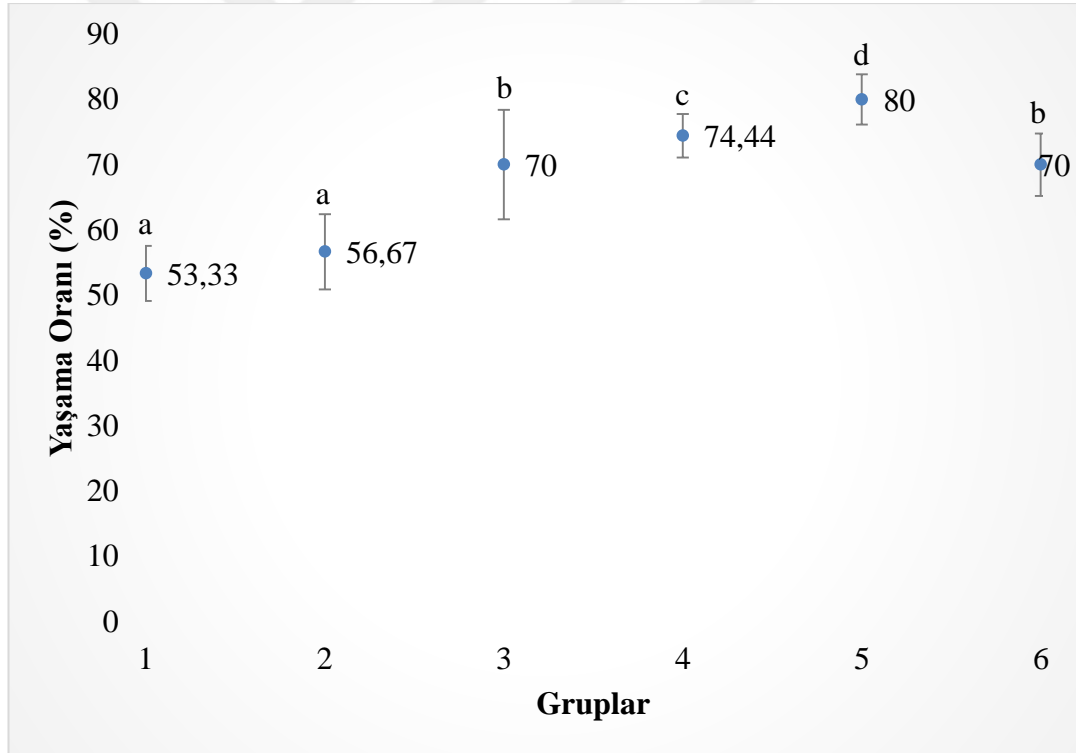
Tablo 4.4. *Deneme gruplarının hematolojik analiz verileri.*

		Kontrol	4 mg	8 mg	12 mg	Florfenikol	Doksisiklin
RBC (x10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> )	0.gün	0,89±0,08	0,87±0,12	0,91±0,12	1,12±0,27	0,72±0,15	0,87±0,16
	3.gün	1,14 ±0,08	1,05 ±0,14	0,82±0,27	0,97±0,24	1,22±0,24	0,92±0,04
	7.gün	0,97±0,04	1,02±0,16	1,14±0,15	1,01±0,09	0,99±0,12	1,06±0,15
	10.gün	0,76 ±0,15	1,20 ±0,24	1,03±0,17	0,98±0,12	0,73±0,18	1,05±0,11
Hb (g/dl)	0.gün	7,95±0,15	7,15±1,07	6,28±0,85	8,5±1,6	6,35±1,85	7,45±0,35
	3.gün	7,80±0,60	7,3±1,45	5,93±1,82	7,27±1,61	8,55±0,45	7,05±0,05
	7.gün	6,50±0,20	7,48±1,16	7,75±1,19	7,68±0,94	7,55±1,25	6,35±0,35
	10.gün	5,30±1,50	7,23±1,63	6,17±1,3	5,6±0,78	5,2±2,2	6,6±1,5
Ht (%)	0.gün	21,8±1,90	21,52±3,36	20,83±2,75	25,65±5,39	17,6±3,7	20,5±3,5
	3.gün	24,8±1,70	24,1±2,81	18,45±5,94	22,17±5,25	27,1±4	21±0,9
	7.gün	21,05±1,35	23,18±3,84	25,40±3,033	22,55±1,48	22,2±3,1	23,15±2,65
	10.gün	16,6± 3,70	24,32±5,57	21,33±3,72	22,13±2,34	16,25±4,95	22,20±3,8
MCV (µm <sup>3</sup> )	0.gün	245,45± 0,3	242,14±7,68	232,05±11,02	230,85 ±9,12	244,8±0,5	238,6±5,1
	3.gün	219,65± 1,5	230,98±6,07	226,22±8,54	229,58±7,21	224,95±11,6	230,3±1,5
	7.gün	218,50± 5,7	228,03±8,46	222,95±4,58	225,47±11,65	224,1±4,4	222±6,2
	10.gün	219,15±6,65	201,77±20,99	207,65±6,17	206,33±8,77	220,05±13,4	211,3±12,7
MCH (pg)	0.gün	89,85±6,35	115,93±77,9	70,33±9,6	77,32±9,16	86,55±7,65	88,55±12,8
	3.gün	68,95±1,05	75,6±5,46	72,85±4,68	75,57±4,85	72,1±10,5	77,15±3,25
	7.gün	67,35±0,35	73,6±5,04	67,65±3	76,72±9,79	75,8±3,4	61,2±5,4
	10.gün	68,85±6,65	60,17±8,08	59,52±4,33	57,13±4,72	67,9±13,4	62,3±7,5
MCHC (%)	0.gün	366±25	327,4±20,33	302,67±28,2	334,67±30	353,5±30,5	371±46
	3.gün	313,5±2,5	327,5±16,55	322,5±13,99	329,17±12,8	319,5±30,5	336±12
	7.gün	309±1	323,67±21,24	303,5±11,18	340±32,02	338±9	275,5±16,5
	10.gün	314±20	297,83±14,1	287,5±23,8	276,83±14,	307±42	294±17

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 Şekil 4.19.'da verilmiştir. Sonuçlardan da görüleceği üzere en düşük yaşama oranı kontrol ve 4 mg Tetra uygulanan gruplarda elde edilmiştir. 8 mg Tetra grubu ve Doksisisiklin grubundan %70 oranında yaşama oranı ele edilmiş, bu gruplar benzer olmamakla birlikte kontrol grubuna kıyasla kayda değer yüksek tespit edilmiştir. 12 mg Tetra uygulanan grupta yaşama oranı % 74,44 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç florfenikol grubundan sonra en yüksek yaşama oranına sahip olan grup olarak tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek yaşama oranı % 80 ile florfenikol uygulanan grupta tespit edilmiştir.



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

Çalışmada elde edilen sonuçlar özellikle *A. hydrophila* amiline karşı tedavi edici olarak denenmiştir. Tıbbi bitkileri ile yapılan çalışmalarda genellikle balıkların



bağışıklık yanıtlarının artması ve hastalıklara yakalanmaması konu alınmaktadır. Bu alanda ilk olan çalışma, konusu ile karşılaştırma yapılabilecek benzerlikte çalışma yoktur. Bununla birlikte, kontrol testlerine tabi tutulan özellikle tıbbi bitkilerin bağışıklık yanıtlarında meydana gelen değişimlerin ele alındığı çalışmalarda elde edilen yaşama oranları fikir oluşturmaktadır. Bu bağlamda, Nya ve Austin (2009a) alabalıkları 14 gün boyunca zencefil köklerinden ele ettikleri toz ürün içeren yemlerle beslediklerinde *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı alabalıkların yaşama oranlarının artıkları tespit etmişlerdir. Nya ve Austin (2009b) yapmış oldukları çalışmada sarımsak ile beslenen alabalıkların 14 gün sonunda yapılan kontrol testlerinde ise yine *A. hydrophila* ile yapılan kontrol testleri sonucu yaşam oranlarında kayda değer bir yükseliş tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2016a), ısırgan otu sulu metanolik özütü ile 30 gün besledikleri alabalıkların *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı yaptıkları kontrol testlerinde çalışmada uygulanan her iki dozun da yaşama oranının arttırdığını tespit etmişleridir. Bilen vd. (2016b), kapari sulu metanolik özütü ile yaptıkları çalışmada alabalıkların yaşama oranlarının kayda değer arttığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2014), tetra metanolik özütü ile besledikleri koi balıklarının 30 gün sonunda yaptıkları kontrol testlerinde yaşama oranının arttığını tespit etmişlerdir.

Tüm bu çalışma sonuçları, tıbbi bitkilerin balıkların bağışıklık yanıtlarını arttırarak *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruma sağladığını göstermiştir. Bununla birlikte tetra bitkisinin alabalıkların *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı tedavi edici özelliklerini belirlemek adına bu çalışma ilk çalışmayı oluşturmaktadır. Tamamen organik bir ürün olan tetra sulu metanolik özütünün *A. hydrophila*'a karşı tedavi edici özellikte olduğu bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, doğal yollarla temin edilen, Türkiye’de bol olarak bulunan tetra (*Cotinus coggygia*) bitkisinin *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı tedavi edici özelliklerinin belirlenmesi maksadıyla yapılmıştır. Çalışmada doğadan toplanan tetra bitkileri gölgede normal şartlarda kurutulmuş, sulu methanolik özütü çıkarılmış ve bu özütler kontrollü olarak *A. hydrophila* enfeksiyonu ile hastalandırılan alabalıklara günlük iki doz olmak üzere ve her doz içerisinde gruplara göre sırasıyla 4 mg/100 µl/32,34 g, 8 mg/100 µl/32,34 g, 12 mg/100 µl/32,34 g tetra sulu methanolik özütü ile besleme şırıngaları kullanılarak tüm gruplardaki balıklara tek tek oral yolla uygulanmıştır. Kontrol grubu balıklarına ise sadece 100 µl PBS ve yine sonuçları karşılaştırmak için *A. hydrophila* sağaltımında kullanılan doksisisiklin ve florfenikol uygulamaları yapılmıştır. Çalışmadaki ana temel, tetranın *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı halihazırda kullanılan antibiyotiklerin yerine tedavi edici olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesidir.

Sonuçlara göre en iyi sağaltım ticari bir antibiyotik olan ve bu hastalığı sağaltımında etkili şekilde kullanılan florfenikol gruplarında gözlenmiştir. Bununla birlikte 12 mg tetra uygulanan grupların yaşama oranı % 74,44 ile doksisisiklin uygulanan gruptan daha yüksek olarak tespit edilmiştir. 8 mg tetra uygulanan gruplarda ise doksisisiklin ile benzer yaşama oranları kaydedilmiştir.

Antibiyotikler su ürünleri üretiminde oldukça yüksek oranda kullanılmakta ve bu artış gün geçtikçe yükselmektedir. Antibiyotik kullanımının en az seviyelere indirilmesi son derece önemli bir başlık olmaktadır. Antibiyotik kullanımının başlıca sorunları balıkların vücudunda meydana gelen olumsuz değişimler, antibiyotik kullanımı ile çevreye kalıntı bırakılması, bakterilerde meydana gelen antibiyotik dirençlilik sayılabilir. 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. Immunostimulant uygulamalarında son yıllarda tıbbi bitkilere karşı artan bir ilgi vardır ve birçok çalışmada başarı ile kullanılmışlardır.

Bugüne kadar tıbbi bitkilerin balıkların bağışlılık sistemini uyardığı, hastalıklara karşı koruma sağladığı yapılan birçok çalışma ile tespit edilmiştir. Fakat en önemli kritik nokta, tespit edilen tıbbi bitkileri, yada profilaktik amaçla kullanılan tüm uygulamaların uygulama zamanı ve maliyetlerinin büyük ölçüde soru işareti uyandırmasıdır. Bu çalışmada kullanılan tetra bitkisi daha önceden patentli (TR 20102/01851 B) bir bağışlılık uyarıcı olarak tescil edilmiştir. Tetranın balıklara uygulandığı birçok çalışma da mevcuttur. Bu yüzden bu çalışmada, tetra bitkisinin sulu metanolik özütünün *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı balıkların tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağını belirlenmiştir. Yoğun balık üretiminde immunostimulant uygulamalarının uygun zaman aralıklarında yapılmaması yada aşı uygulamalarının geciktirilmesi, ve/veya çeşitli istenmeyen sebeplerle hastalıkların oluşması durumunda tedavi edici olarak antibiyotik kullanımı kaçınılmaz hale gelmektedir. Bu çalışma ile bu tip bir durumla karşılaşıldığında antibiyotik kullanılmadan balıkların sağaltımının yapılabileceği tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçları aynı zamanda organik balık üretiminde karşılaşılan en önemli sorunlardan biri olan hastalıklara karşı mücadelede yeni bir alternatif sunacaktır. Ayrıca bu bitkinin özütünün etken madde incelemesinin yapılması ve çalışma sonunda elde edilen ana etken maddelerin birlikte ayrı ayrı kullanımları yeni bir tedavi edici ürün yada antibiyotik olarak üretilmesinin önünü açacaktır.

## 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.
- 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.
- 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
- Dulger, B., Hacıoğlu, N., Bilen, S. (2009). Antimicrobial activity of *Cotinus coggyria* from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 4139-4140.
- 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.
- 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., Balasundaramb, 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- TUİK. (2016). Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Ankara.
- 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 : HOUSAM TAHER ELBESHTI  
Doğum Yeri ve Yılı : Libya – Tripoli – 1974  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce, Türkçe  
E-posta : hussambishty@yahoo.com



### Eğitim Durumu

Lise : Tripoli Lisesi  
Lisans : Tripoli Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi  
Yüksek Lisans :

### Mesleki Deneyim

İş Yeri : Merkez Hükümet Hayvan Kliniği  
İş Yeri : Şahsi Hayvan Kliniği  
İş Yeri : Libya Denizcilik Bakanlığı Kalite Kontrol Müfettişi