

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

**BAZI ODUN DIŞI ORMAN ÜRÜNLERİNİN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YETİŞTİRİCİLİĞİNDE
BAĞIŞIKLIK GÜÇLENDİRİCİ ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hatice GÜVENSOY

Danışman	Doç. Dr. Sabri ÜNAL
II. Danışman	Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Serdar BEKTAŞ
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Erol AKKUZU
Jüri Üyesi	Yrd. Doç. Dr. Kerim GÜNEY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

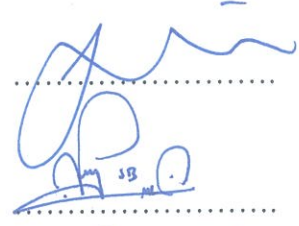
KASTAMONU- 2015

TEZ ONAYI

Hatice GÜVENSOY tarafından hazırlanan "Bazı Odun Dışı Orman Ürünlerinin Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yetiştiriciliğinde Bağışıklık Güçlendirici Etkilerinin Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Sabri ÜNAL
Kastamonu Üniversitesi



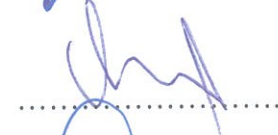
II. Danışman

Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Serdar BEKTAŞ
Sinop Üniversitesi



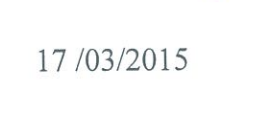
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Erol AKKUZU
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Kerim GÜNEY
Kastamonu Üniversitesi



17 /03/2015

Enstitü Müdürü

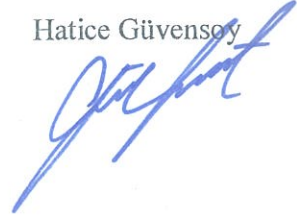
Prof. Dr. Ömer KÜÇÜK



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.

Hatice Güvensoy



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ODUN DIŞI ORMAN ÜRÜNLERİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAĞIŞIKLIK GÜÇLENDİRİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hatice GÜVENSOY
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sabri ÜNAL

II. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN

Bu çalışmada, kayın mantarı ve ısırgan otunun immünostimulant etkisi ve gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* hastalık etmenine direnci araştırılmıŐtır. % 0,1 ve % 0,5 dozlarında farklı ısırgan otu ve kayın mantarı yeme eklenmiş ve alabalıklar bu yemle dört hafta boyunca beslenmiştir. Dört haftanın sonunda gökkuşağı alabalıklarına *A. hydrophila* enjekte edilmiştir. Çalışma sonunda balıklarda, kontrol grubuna oranla önemli derecede ağırlık artışı görülmüştür. Yem değerlendirme oranı, kontrol grubuna göre deneme gruplarında azalış gösterirken, en az yem değerlendirme oranı % 0,1 dozda kayın mantarı uygulanan grupta gözlenmiştir. Nitroblue tetrazolium (NBT) ve fagozitik aktivite tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Lizozim aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli derecede artış tespit edilmiştir ($P<0,05$). % 0,5 ısırgan otu dozunun lizozim aktivitesinde en fazla artışı sağladığı tespit edilmiştir. Myeloperoksidaz aktivitesinde kontrol grubuna oranla artış gözlenirken, en fazla artış ısırgan otu ile beslenen grupta gözlenmiŐ ve ısırgan otu dozları farklılık göstermemiŐtir. Bu çalışma sonuçları $0,1 \text{ kg}^{-1}$ ve $0,5 \text{ kg}^{-1}$ ısırgan otu gruplarında canlı *A. hydrophila* ile kontrol testi yapıldığında en yüksek yaşama oranını ortaya koymuştur. Çalışma sonucunda, kayın mantarı ve ısırgan otunun gökkuşağı alabalığı bağışıklık sisteminde etkili bir immünostimulant olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, kayın mantarı, ısırgan otu, immünostimulant, *Aeromonas hydrophila*

2015, 55 sayfa
Bilim Kodu: 1205

ABSTRACT

MSc. Thesis

INVESTIGATION OF IMMUNOSTIMULANT EFFECTS OF SOME NON-FOREST PRODUCTS ON RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) CULTURE

Hatice GÜVENSOY
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Forest Engineer

Supervisor: Assoc. Prof. Dr Sabri ÜNAL

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr Soner BİLEN

In the study, the immunostimulant effects of the methanolic extract of oyster mushroom and nettle and diseases resistance against *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout were investigated. Two different concentrations of extracts were individually mixed with the basal diet and fed to rainbow trout for a four week period to assess the immunomodulatory characteristics of nettle and oyster mushroom. At the end of the study, rainbow trout was challenged with a strain of *A. hydrophila*. The study shows that final fish weight was higher in the experimental groups compared to control group ($P<0.05$) and no differences observed between oyster mushroom and nettle groups ($P>0.05$). Similar results were observed for groups SGR's. Both oyster mushroom and nettle groups FCR's were lower than control and the lowest one was % 1 oyster mushroom group. In the study all immune parameters were affected by dietary oyster mushroom and nettle extract intake ($P<0.05$). Nitroblue tetrazolium (NBT) activity was found higher in all experimental groups compared to control. Phagocytic activity was also determined higher in all experimental groups than control. However the highest level of phagocytic activity was observed in nettle groups. Lysozyme activity was higher in all experimental groups compared to control. However the highest level of lysozyme activity was observed in % 0.5 nettle group. Myeloperoxidase activity was investigated higher than control group but among the experimental groups, nettle was found highest and no differences observed with respect to dosage. This study shows that the rainbow trout treated with % 0.1 kg⁻¹ and % 0.5 kg⁻¹ nettle extract when challenged with live *A. hydrophila* had the highest survival rate. No differences were exhibited between control and oyster mushroom group. According to study results, oyster mushroom and nettle is an effective non-specific immunostimulant for rainbow trout.

Key Words: Rainbow trout, oyster mushroom, nettle, immunostimulant, *Aeromonas hydrophila*

2015, 55 pages
Science Code: 1205

TEŞEKKÜRLER

Çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen, bu alanda bana daima güvenen danışmanım Doç. Dr. Sabri ÜNAL 'a, bu alanda gelişmemi sağlayan, sabırla tüm sorularımı cevaplandıran, tezimin bu şekilde gelmesinde hiçbir yardımı esirgemeyen, her zaman destek olan yardımcı danışmanım Yrd. Doç. Dr. Soner BİLEN' e sonsuz teşekkür ve saygılarımı belirtirim.

Tezimin görsel olarak daha hoş bir sunuma kavuşmasında yardım ve fikirlerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yardımlarından dolayı Arş. Gör. Mertcan KARADENİZ ve Arş. Gör. Özkan EVCİN' e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana daima güvenen, bugünlere gelmemi sağlayan maddi manevi emeklerini hiçbir zaman ödeyemeyeceğim değerli annem E. Sema GÜVENSOY' a ve babam Y. Teoman GÜVENSOY' a sonsuz teşekkür ederim. Yanımda olmasalar bunu asla başaramazdım.

Hatice GÜVENSOY
Kastamonu, 03, 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ ONAYI.....	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜRLER.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kullanılan Bağışıklık Uyarıcılar	3
1.1.1. Kayın Mantarı.....	3
1.1.2. Isırgan Otu.....	4
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Deneyin Kurgulanması	18
3.2. Deneme Yeri	18
3.3. Deneme Balıkları.....	18
3.4. <i>Aeromonas hydrophila</i>	19
3.5. Genel Beslenme Protokolü.....	19
3.6. Bağışıklık Uyarıcı Özütle rin Hazırlanması ve Yemlere Katılması	20
3.7. Balık Büyüme ve Yem Analizleri	21
3.7.1. Nem Tayini	21
3.7.2. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması	21
3.7.3. Ham Kül İçeriğinin Saptanması.....	21
3.7.4. Ham Protein İçeriğinin Saptanması	22
3.7.5. Ham Selüloz İçeriğinin Saptanması.....	22
3.7.6. Ortalama Bireysel Ağırlık	23
3.7.7. Canlı Ağırlık Artışı	23

3.7.8. Yem Değerlendirme Oranı	23
3.7.9. Spesifik Büyüme Oranı	23
3.8. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi	24
3.8.1. NBT Aktivitesi.....	24
3.8.2. Fagozitik Aktivite	24
3.8.3. Lizozim Aktivitesi	25
3.8.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi.....	25
3.8.5. Kontrol Testi.....	25
3.9. İstatistiksel Analizler	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Ticari Yemin Kimyasal Kompozisyonu	27
4.2. Bağışıklık Uyarıcıların Büyüme ve Yem Değerlendirmeye Etkisi	27
4.3. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimler.....	30
4.3.1. NBT Aktivitesi.....	30
4.3.2. Fagozitik Aktivite	33
4.3.3. Lizozim Aktivitesi	36
4.3.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi.....	38
4.3.5. Kontrol Testi Sonuçları	40
5. SONUÇLAR.....	42
6. ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Su ürünleri yetiştiricilik üretim miktarı (ton)	1
Şekil 1.2. Kayın mantarı.....	3
Şekil 1.3. Isırgan otu.....	5
Şekil 4.1. Kayın mantarı ve ısırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların NBT aktivitesi.....	31
Şekil 4.2. Kayın mantarı ve ısırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitesi.....	35
Şekil 4.3. Kayın mantarı ve ısırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitesi.....	37
Şekil 4.4. Kayın mantarı ve ısırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların myeloperoksidaz aktivitesi	40
Şekil 4.5. Kayın mantarı ve ısırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların yaşama oranı.....	41

TABLULAR DİZİNİ

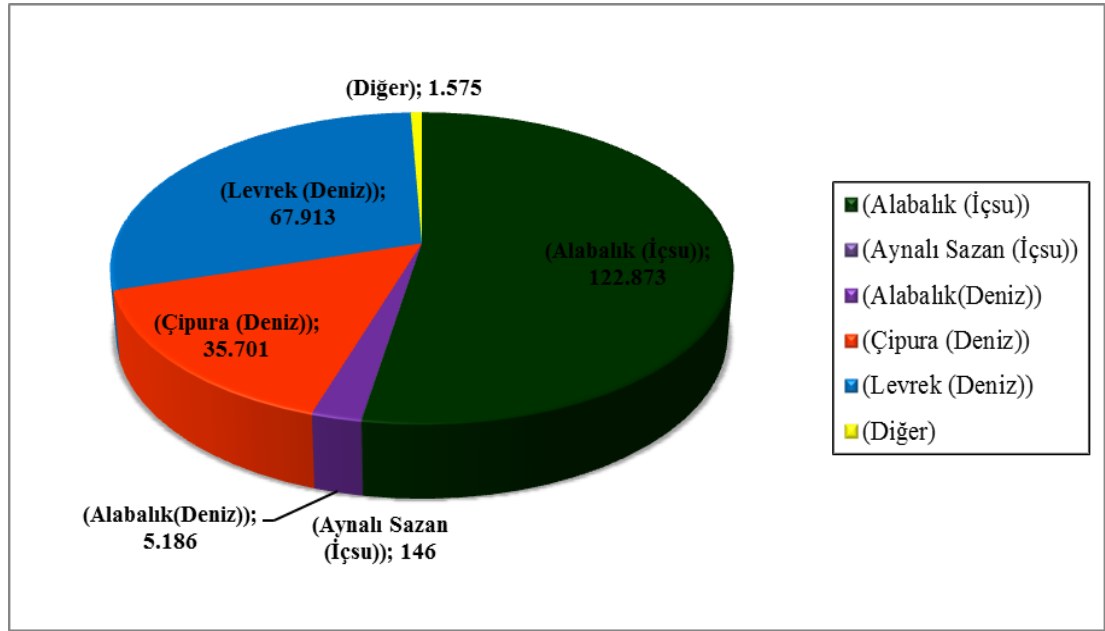
	Sayfa
Tablo 4.1. Deneme yeminin kimyasal kompozisyonu	27
Tablo 4.2. Denemede kullanılan yemlerin büyüme performansına etkisi	28
Tablo 4.3. Denemede kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun NBT aktivite-leri	31
Tablo 4.4. Denemede kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun fagositik aktivite-leri	34
Tablo 4.5. Denemede kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun lizozim aktivite-leri.....	36
Tablo 4.6. Denemede kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun myeloperoksidaz aktivite-leri	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
A.Ş.	Anonim Şirketi
C	Santigrat
Cm	Santimetre
FCR	Food Conversion Ratio
g	Gram
HCL	Hidroklorik asit
H ₂ SO ₄	Sülfirik asit
L	Litre
LSD	En az kayda değer değişim
Ltd. Şti	Limited Şirketi
kg	Kilogram
km	Kilometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MPO	Myeloperoksidaz
NBT	Nitroblue tetrazolium
nm	Nanometre
PBS	Phosphate Buffered Saline
pH	Çözünmüş Hidrojen İyonu Ters Logaritması
ppm	Milyonda bir
PVO	Protein Verimlilik Oranı
SBO	Spesifik Büyüme Oranı
SGR	Specific Growth Rate
TGC	Thermal Growth Coefficient
YDO	Yem Değerlendirme Oranı
°	Derece
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
µg	Mikrogram

1. GİRİŞ

Ülkemizde 1970'li yıllardan beri su ürünleri yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye 8,333 km'lik kıyı şeridinde ve 177,714 km uzunluğunda nehirlerle sahiptir. Üç tarafının denizlerle çevrili bir yarımada konumunda olmasıyla balıkçılık kaynaklarının etkin kullanımı büyük önem arz etmektedir. Yaklaşık 26 milyon hektar su alanının 24,6 milyon hektarını deniz, 1,2 milyon hektarını iç sular oluşturmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de su ürünleri yetiştiriciliği hızla artmaktadır. Bu durum 2013 yılı su ürünleri yetiştiriciliği istatistiklerinden de açıkça anlaşılmaktadır (Türkiye İstatistik Kurumu[TÜİK], 2013).



Şekil 1.1. Su ürünleri yetiştiricilik üretim miktarı (ton)

Birim alandan maksimum verim almayı amaçlayan yoğun üretimde karşılaşılan problemlerden birisi balıkların bağışıklık direncinin düşmesi ve hastalıklara karşı dirençsiz hale gelmeleridir. Üretimde yapılan elle muamele, yoğun stoklama, kalitesiz yem kullanımı, düşük su kalitesi gibi etmenler, balıklarda strese sebep olmakta ve balık türlerini patojenlere karşı hassas hale getirmektedir.

Bu nedenle de sıcaklığın yüksek olduğu ya da çevresel şartları optimize etmenin zor olduğu soğuk bölgelerde bulaşıcı hastalıklar oldukça ciddi problemler oluşturmaktadır (Sarder, Thompson, Penman ve Mcandrew, 2000).

Üreticiler tarafından uygulanan antibiyotik tedavisinde, ağız yoluyla verilen ilaçlar mide ya da bağırsağın ön kısmında sindirim sıvılarının etkisiyle bağırsağın aşağı kısmına gelmeden yıkılmakta ya da bağırsaktan emilememektedir (Rijkers, Teunissen, Van Oosterom ve Van Muiswinkel, 1980). Antibiyotik kullanımı arttıkça direnç sorunu da artmaktadır. Zararlı bakteriler antibiyotik varlığında dahi üreyebilecek ve hastalık yapabilecek duruma gelmektedir. Önlem alınmaz ve antibiyotik kullanımı bu hızda devam ederse direnç nedeniyle basit bir enfeksiyon dahi öldürücü olabilecek hale gelebilir. Bu gibi sıkıntılar göz önüne alınırsa yetiştiricilikte antibiyotik ve çeşitli kimyasal kullanımlarının en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle üreticiye çevreye zarar vermeden balıkların direncini artıracak ve olası hastalık risklerine karşı önlem oluşturabilecek alternatif kaynaklar sunmak gerekmektedir.

Ülkemizin zengin orman kaynaklarına ve bu kaynaklarda yetişen zengin bitki çeşitliğine sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda hastalıklara karşı dirençli bireyler elde etmek ve balıkların bağışıklık sistemini aktif hale geçirmek için alternatif bitkisel immüностimulantlar oluşturulması daha da önem arz etmektedir. Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde bitkisel kaynaklıların kimyasal kaynaklılara tercih edilmesinin çeşitli nedenleri vardır (Poppenga,2002).

1. Bitkisel immüностimulantlar vücut tarafından kolayca absorbe edilerek vücut bariyerine takılmadan büyük oranda emilirler.
2. Bitkisel immüностimulantlar tek bir maddeden oluşmayıp vitaminler, antibiyotikler, antioksidanlar ve besleyici maddeler gibi destekleyici içeriye sahiptirler.
3. Kimyasallar vücutta kalıntı bırakırken bitkisel immüностimulantların vücuttan atımı kolay ve hızlı olmaktadır.

1.1. Kullanılan Bağışıklık Uyarıcılar

1.1.1. Kayın Mantarı (*Pleurotus ostreatus*)

Pleurotus türleri kültür mantarı olarak tanınan ve ülkemiz piyasasında yaygın olarak bulunan, şapkaları, yetiştirme koşullarına ve tür özelliğine bağlı olarak odun üzerinde 5-15 cm çap büyüklüğüne; saman v.b. substart üzerinde ise, 30 cm ve üzerine çıkabilirler. Kirli beyazdan gri, gri kahverengi, kahverengi, kahverengimsi krem, pembe ve beyaza kadar değişken renkli bir mantar türüdür.

Lignin, selüloz ve hemiselülozu parçalayabilen özellikleri ile kısmen ya da tamamen çürümüş, devrilmiş kayın, kavak, kızılalağaç ve akçaalağaç gibi pek çok ağaç kütükleri üzerinde doğal olarak kolayca yetişmektedir (Ünal, 2005; Ünal ve Özcan, 2008). Şapka dil şeklinde, kenarları türe bağlı olarak düz ya da kıvrık olabilmektedir. Şapkanın hemen altında beyazımsı gri renklerde aşığıya doğru sarkık, geniş yüzeyli ve uzun veya kısa olan lameller bulundurmaktadır. Kayın mantarının sistematikteki yeri; Alem (Fungi), Bölüm (Thallophyta), Sınıf (Basidiomycetes), Familya (Polyporaceae), Cins (*Pleurotus* spp.), Tür (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kummer).



Şekil 1.2. Kayın mantarı (*Pleurotus ostreatus*)

Doğada mevsimlere bağlı olarak kendiliğinden yetişen pek çok yabancı mantar türü vardır. Bunların bazıları ilaç sanayinde ve diğer alanlarda kullanılmaktadır. Doğadaki yenebilen mantarların bazıları özellikle kırsal kesimde yaşayan halk tarafından tüketilmektedir (Ünal, Güney ve Evcin, 2012).

Protein içeriği baklagillerden sonra gelen *Pleurotus* 'larda, insan vücudu için gerekli Ca, P, Fe gibi tüm mineral tuzların oranı, sığır ve tavuk etlerinde bulunanın iki katıdır. Tüm mantarlar içinde *Pleurotus* cinsi en yüksek Vit. B1 (Thiamin) ve Vit. B2 (Riboflavin) miktarına sahip olanıdır (Ünal, 2012). *Pleurotus* mantarlarının antibiyotik, antiviral, antibakteriyel, bağışıklık sistemini güçlendirici, antitümör, antikolesterol ve antioksidant özellikleri belirlenmiştir (Cohen, Persky ve Hadar, 2002).

Mantardaki β -glukanlar bağışıklık sistemini güçlendirerek ve harekete geçirerek, kanser hücrelerinin gelişimini engellemekte ve sonuç olarak kanser tedavisinde, bağışıklık sistemi hastalığında ve ilaç tedavisinden sonra bağışıklık sisteminin yeniden oluşumunda uyarıcı etki yapmaktadırlar (Daba ve Ezeronye, 2003).

Çalışmada Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Laboratuvarı'ndan yetiştirilen Şekil 1.2.' de gösterilen kayın mantarları kullanılmıştır.

1.1.2. Isırgan otu (*Urtica dioica*)

Isırgan otu, tek yıllık bir bitki olup yaklaşık 30 - 60 cm boydadır. Gövde dik, dört köşeli ve dipten itibaren dallanır. Şekil 1.3.' de görüldüğü gibi uzun saplı yapraklar karşılıklı olarak dizilmiş olup, üst yüzeyleri koyu yeşil ve parlak, kenarları dişlidir (Özer, Tursun ve Önen, 2001). Çiçekleri salkım şeklinde olup erkek ve dişi çiçekler aynı bitki üzerindedir. Mayısın ortasına kadar çiçek açar. Tohumları; yumurta formunda, uç kısmı sivri ve ortadan basık, grimsi-sarı renkli, 1,8 - 2 mm uzunlukta, 1,2 mm genişlikte ve 0,3 - 0,5 mm kalınlıktadır (Özer vd., 2001). Sistematikteki yeri; Alem (Plantae), Familya (Urticaceae), Cins (*Urtica*), Tür (*Urtica dioica*).



Şekil 1.3. Isırgan otu (*Urtica dioica*)

Isırgan otunun içeriğinde birçok farmakolojik etkili metabolitin varlığı bilinir. Yaprak yüzeyinde bulunan yakıcı tüylerinde çeşitli kimyasal maddeler bulunmaktadır. Isırgan otunun bu yakıcı özelliği formik asit, histamin, serotonin ve kolinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Isırgan otu yaprakları mineraller, klorofil, aminoasitler, lesitin, karetenoidler, flavonoidler, steroller, taninler ve vitaminlerce zengindir. Bitki kökleri scopoletin, steroller, yağ asitleri, polisakkaritler ve izolectin gibi kimyasal maddeler bulundurur (Taylor 2005; Ayan, Çalışkan ve Çırak 2006).

Isırgan otunun temel kimyasal içeriğinde; asetofenon, asetilkolin, aglutinin, alkaloidler, astragalin, butiric asit, kafeic asit, karbonik asit, klorojenik asit, klorofil, kolin, kumarik asit, folasin, formik asit, fridelin, histamin, kaemferoller, koproporipirin, lectinler, lecitin, lignanlar, linoleik asit, linolenik ast, neoolilivil, palmitik asit, pantotenik asit, quersetin, quinik asit, scopoletin, serotonin, stesteroller, stigmasterol, suksinik asit, terpenler, violaxanthin, ksantofil bulunur (Taylor 2005; Ayan vd., 2006).

Yüksek oranda A ve B vitaminleri, klorofil, demir ve C vitamini içermesi dolayısıyla bitki özsuyunun kansızlık çekenler tarafından içilmesi önerilir. Bitki kan temizleyici olarak, egzama ve deri hastalıklarında, siyatik ve romatizmaya, ishale, idrar yolları iltihaplarına karşı ayrıca idrar söktürücü olarak kullanılır (Özer vd., 2001).

Kültür balıkçılığında immünostimulantların kullanımı ile balıkların çeşitli viral, paraziter ve bakteriyel hastalıklara karşı direnç kazandıkları; stresin olumsuz etkilerinin görülmediği bildirilmiştir (Abdel-Tawwab, Ahmad, Seden ve Sakr, 2010).

Balıklarda bağışıklık temel olarak yüksek vertebralılarla aynı yapıdadır. Fakat sıcakkanlılardan farklı olarak içinde yaşadığı ortamın sıcaklık, pH, oksijen miktarı gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri balığın bağışıklık sistemine doğrudan etki eder. Balıklarda doğal ve edinsel olmak üzere iki tip bağışıklık vardır (Magnadottir, 2006). Doğal bağışıklıkta, bakteri veya mantarın glukoproteinleri ve lipopolisakkaritleri ve hücre içi zarar veren veya hastalıklara sebep olan bileşiklerin yapılarını tanıyan kalıpları bünyesinde sınırlı sayıda bulundurur. Bunun sayesinde, mikropları tanır ve tepki verirler; fakat enfeksiyona yol açmayan yabancı maddelere tepki vermezler (Arda, Seçer ve Sarıyyüpoğlu, 2002). Edinsel bağışıklıkta ise mikroplarla savaşmak üzere özel mekanizmalar oluşturulmuştur. Humoral ve hücrel bağışıklık olmak üzere iki tip edinsel bağışıklık vardır (Abbas, Lichtman ve Pillai 2015). Humoral bağışıklık, antikor denilen proteinler tarafından oluşturulur ve hücre dışı mikrobik antijenleri tanır. B lenfositlerin ürettiği “antikor” adı verilen proteinler dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal kanalda ve solunum yolları gibi mukoza içeren organların lümenlerinde bulunabilen mikropları veya mikrobik toksinleri etkisiz hale getirirler (Magnadottir, 2006). Hücrel bağışıklık, T lenfositler vasıtasıyla hücre içinde gerçekleşir. T lenfositlerin bir kısmı fagositik vesiküller tarafından yutulan mikropları yok etmek için fagositleri aktive eder. T lenfositler hücre içindeki mikropların ürettiği antijenleri; B lenfositler tarafından üretilen antikorlar ise hücre dışı mikrobik antijenleri tanır. T lenfositlerin sadece mikrobik antijenleri tanırken; B lenfositlerin ürettiği antikorlar protein, karbonhidrat ve lipit içeren pek çok değişik mikrobik molekül tipini tanır. Bağışıklık sisteminin en az bir milyar farklı antijeni ve antijen parçasını birbirinden ayırt edebilme yeteneği vardır (Akaylı, 2001).

Balıklar için en önemli koruma kalkanı deri ve mukus tabakasıdır. Solungaçlardan salınan mukus derinin epitelyum tabakasını korurken; patojenleri yok eden çeşitli proteinlere sahiptir.

Balıklar kemik iliğine ve lenf nodüllerine sahip değildirler. Teleost balıklarda başlıca lenfoid organlar; timus, böbrek ve dalaktır (Alinterim, 2011). Böbrekler antikor üreten başlıca organlardır; alabalık böbreğinde sirküler kandan ya da diğer organlardan daha fazla sayıda fagositik makrofaj bulunmasından dolayı oldukça önemlidir. Timus balıklarda solungaç çemberinde dorso lateral olarak farengeal epitel altında bilateral olarak bulunan bir çift organdır (Alinterim, 2011).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bagni, Archetti, Amadori ve Marino (2000) levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) doğal bağışıklık sisteminde uzun süreli α -tokoferol ve β 1-3, β 1-6 glukan uygulamalarının, ne gibi değişikliklere sebep olacağını incelemiştir. Balıklar adaptasyon süreci sonrasında, farklı dozlarda α -tokoferol içeren yemlerle üç aylık süreç boyunca beslenmiştir. Çalışmada, vitamin ve glukan grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken; her iki grupta da lizozim aktivitelerinde artış olduğu belirtilmiştir.

Ortuna, Esteban ve Meseguer (2000) çipura (*Sparus aurata*) balıklarında α -tokoferolünün bağışıklığa etkisini çalışmışlardır. Deneme gruplarını, 600 mg/kg, 1200 mg/kg ve 1800 mg/kg içeren deneme yemleri ile 15, 30 ve 45 gün sürelerle besleyerek bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemiştir. 600 mg/kg dozda uygulanan grupta bağışıklık sisteminde herhangi bir değişim gözlenmezken; 1200 mg/kg uygulanan grupta bağışıklık parametrelerinde artış gözlenmekle birlikte istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilememiştir. 1800 mg/kg uygulanan grupta ise önemli oranda bir değişiklik tespit edilememiştir. 1200 mg/kg ve 30 gün süreyle uygulanan α -tokoferolün bağışıklık sistemini uyardığı belirlenmiştir.

Anbarasu ve Chandran (2001) *Mystus gulio* türünde askorbik asidin bağışıklık sistemine etkisini incelemiştir. Isıl işlem ve formalin uygulamasına tabii tutulan aşılar balığa uygulanmış aşılama öncesi vitamin verilmiştir. Aşılama öncesi vitamin verilen gruplarda vitamin verilmeyenler arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.

Sakai, Taniguchi, Mamoto, Ogawa ve Tabata (2001) sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında maya RNA'sından elde edilen nükleotitlerin oral yolla verilmesi sonucunda bağışıklık sisteminde meydana getirdiği etkileri incelemiştir. 3 günlük uygulama sonrasında fagozitik aktivitenin ve nitroblue tetrazolium aktivitelerinin arttığı; 10 gün sonra ise, böbrek hücrelerinde değişim meydana geldiği görülmüştür.

Lizozim aktivitesi ve serum komplement seviyeleri nükleotid uygulaması sonucu artmıştır. Bununla birlikte balıkların kanlarında bulunan *Aeromonas hydrophila* sayısında kayda değer düşüş gözlenmiştir.

Keleş, Candan, Bakırel ve Karataş (2002) gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) zeranolün anabolik etkisini ve bağışıklık sistemine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada balıklara 0, 2, 5, 10 ve 20 ppm zeranol içeren yemler 21 gün süresince verilmiştir. Boy uzunluğunun 5, 10 ve 20 ppm, canlı ağırlığın ise 10 ve 20 ppm zeranol verilen gruplarda istatistiksel olarak farklılık olduğu gözlenmiştir. İzole edilen lökositlerin fagositoz ve bakterisit aktivitesinin zeranolün dozuna bağlı olarak önemli düzeyde arttırdığı, total serum protein seviyesinde belirgin bir değişiklik gözlenmediği belirlenmiştir.

Düğenci, Arda ve Candan (2003) gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bitki ekstratlarının bağışıklık sistemine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada balıklara % 0,1 ve % 1 ökse otu (*Viscum album*); aynı oranda ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) bitkisi eklenmiştir. 3 hafta boyunca % 1 zencefile beslenen gökkuşacağı alabalıklarında doğal bağışıklık yanıtlarını önemli bulmuşlardır. % 0,1 zencefil içeren grup hariç tüm bitkisel katkılı balık yemlerinde, plazma toplam protein seviyesinin arttığını bildirmişlerdir.

Nazıroğlu, İspir ve Yonar (2003) E vitamininin balıklarda bağışıklık sistemi üzerine etkisini araştırmışlardır. E vitamini yetersizliğinin başta B ve T olmak üzere bağışıklığı çeşitli yönlerde bozduğunu; balık yemine eklenen E vitamininin hastalıklara karşı direnci arttırdığını belirtmişlerdir. Patojenlerden kaynaklanan ekonomik kayıpların en az düzeye indirilmesi ve ekonomik bir şekilde balık yetiştirilebilmesi için E vitaminin yemlere eklenebileceğini tespit etmişlerdir.

Rodriguez, Cuesta, Estaban ve Meseguer (2004) çipuraların (*Sparus aurata*) bağışıklık sistemine bir çeşit mantar türü olan *Mucor circinelloides*'in etkisini incelemişlerdir. Çalışmada mantar 10 g/kg olacak şekilde 2, 4 ve 6 haftalık sürelerde balıklara verilmiştir. Lizozim aktivitesinin arttığı, fagozitik aktivitenin ise 4 hafta sonrasında artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu mantar türünün balık çiftliklerinde uyarıcı olarak kullanılabileceği sonuç olarak belirtilmiştir.

Ashida ve Okimasu(2005) fermente edilmiş sebzelerin japon dil balığının (*Paralichthys olivaceus*) bağışıklık sistemindeki etkilerini incelemiştir. Farklı dozlarda yeme katılarak beslenen balıkların fagozitik aktivitelerinin arttığı; balıkların yem alımlarında da kayda değer bir artış olduğu gözlenmiştir.

Choudhury vd. (2005) *Labeo rohita* yavrularının yemsel kitin ve ribonükleik asit kullanımı sonucu hematolojik, solunum yükseltme aktivitesi ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı dirençleri incelenmiştir. % 0,1, 0,2 ve 0,4 oranında ribonükleik asit 25 mg/kg ve 50 mg/kg dozunda balıklara verilmiştir. % 0,4 kitin kullanılan balıklarda total lökosit sayısı ve fagositik aktivitede artış olduğu gözlenmiştir. *Aeromonas hydrophila*'ya karşı yapılan direnç testlerinde en yüksek oran da yine % 0,4 kitin uygulanan grupta gözlenmiştir.

Dörücü, İspir ve Türk (2005) gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) immüno stimulant olan levamisolün belirli dozlarda 1 saatlik banyo şeklinde uygulanarak etkisi incelenmiştir. 1, 7 ve 14. günde kontrol ve deney balıklarından kan alınarak eritrosit ve lökosit sayısı, hematokrit, hemoglobin miktarı ve eritrosit indeksleri saptanmıştır. Lökosit sayısında uygulamanın ilk gününden itibaren farklılık gözlenirken; levamisol uygulamasının diğer parametrelerde etkin bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir.

Harikrishnan ve Balasundaram (2005) sazanlarda (*Cyprinus carpio*) *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı Neem (Yalancı tesbih ağacı) *Azadirachta indica* bitkisini tedavi amaçlı uygulayarak; hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, lökosit hücrelerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığını, hemoglobin, hematokrit ve eritrosit miktarının ise azaldığını tespit etmişlerdir.

Sarihan (2005) levamisolün tilapia da (*Oreochromis niloticus*) doğal olmayan bağışıklık sistemine ve *Streptococcus iniae* enfeksiyonu üzerine etkisini araştırmıştır.

Üç ayrı deneme oluşturulmuştur. İlk denemede *S. iniae* intraperitoneal olarak enjekte edildikten sonra % 50'sini öldüren doz belirlenmiştir. İkinci denemede 24 saat banyo yoluyla 5, 7,5 ve 12,5 µg/ml levamisol uygulandıktan sonra denemenin 7, 14, 21 ve 28. günlerinde alınan kan örneklerinde hematokrit, lökosit, lökosit, nitroblue tetrazolium, miyeleperoksidaz aktivitesi, fagositik aktivite, periferik yayma tespit edilmiştir. Üçüncü denemede, 24 saatlik banyo yoluyla 5, 7,5 ve 12,5 µg/ml levamisol uygulandıktan sonra 14. gün balıklara *S. iniae* intraperitoneal olarak olarak enjekte edilerek, nispi yaşama yüzdesileri tespit edilmiştir. Sonuç olarak, levamisolün bağışıklığı arttırdığı; 7,5 ve 12,5 µg/ml düzeyinde 24 saat süre ile banyo şeklinde uygulandığında *S. iniae* enfeksiyonuna karşı % 51 oranında koruma sağlayacağını bildirmiştir.

Gopalakannan ve Arul (2006) sazanların (*Cyprinus carpio*) kitin, kitosan ve levamisol ekli yemlerle beslendiğinde büyüme performansları ve *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı dirençleri incelenmiştir. Yemlere kitin, kitosan ve levamisol eklenerek balıklar 90 gün boyunca beslenmiştir. 90 günün sonunda balıklara *Aeromonas hydrophila* enfekte edilmiştir. Enfekte işlemi takip eden 90 günün sonunda kitosanın doğal bağışıklık sistemini uyardığı; kitosan içeren yemle beslenen balıkların büyüme performanslarında önemli oranda gelişme olduğu saptanmıştır.

Kumari ve Sahoo (2006) bağışıklık sistemi siklofosamid ile uyarılmış Asya Kedi balıklarının (*Clarias batrachus*) β-1,3 glukoz, levamisol, C vitamini ve laktoferin uygulanarak bağışıklık sisteminde oluşan değişimleri test etmişlerdir. Çalışmada tüm uyarıcılar, balıklara enjekte edilmiş ve 72 saat sonra balıklardan numuneler alınarak humoral ve hücresel değişimler tespit edilmiştir. Tüm gruplarda bağışıklık parametrelerinin önemli oranda arttırdığı tespit edilmiştir.

Liang, Wang, Chang ve Mai (2006) Japon levrek'lerinde (*Lateolabrax japonicus*) hidrolizatın yemsel uygulama sonucu bağışıklık etkisini incelemişlerdir. Çalışmada % 0, 5, 15 ve 25'lik hidrolizattan oluşan yemler hazırlanmış ve balıklar bu yemlerle 60 gün boyunca beslenmişlerdir. Yemlemeden 30 ve 60 gün sonra balıklardan kan örnekleri alınarak lizozim ve komplement aktiviteleri test edilmiştir.

% 15'lik doz 30 günlük uygulama sonrasında en yüksek lizozim ve komplement aktivitesi sonucunu verirken; % 5 ve % 25 içeren dozların bağışıklık sisteminde herhangi bir değişim göstermediği tespit edilmiştir.

Misra, Das, Mukherjee ve Pattnaik (2006) farklı dozlardaki tuftsin enjeksiyonunun *Labeo rohita* yavrularında bağışıklık yanıtının *Aeromonas hydrophila* ve *Edwardsiella tarda* gibi bakterilere karşı ne şekilde etkilediğini tespit etmeye çalışmışlardır. Hazırlanan tuftsin enjeksiyonu 0, 5, 10 ve 15 mg/kg canlı ağırlık olacak şekilde dört farklı dozda her iki haftalık sürede toplam dört kez yapılmıştır. Her iki hafta sonunda bağışıklık testleri yapılmış ve çalışma 56 gün sürdürülmüştür. Çalışma sonunda balıklar hem enjeksiyonla hemde daldırma yöntemiyle *A. hydrophila* ve *E. tarda* enfeksiyonlarına maruz bırakılarak kontrol testleri yapılmıştır. Çalışmada uygulama sonrasında 42. günden sonra 10 mg/kg uygulama yapılan grupta bağışıklık parametrelerinde önemli oranda artış olduğu tespit edilmiştir.

Ocak (2006) balıklarda lenfoid organları ve bağışıklık sistemini araştırmıştır. Balıklarda, memelilerde bulunan lenf yumruları ve kemik iliği lenf organları yerine timüs, böbrek, dalak ve bağırsakla ilişkili lenfoid organların olduğunu tespit etmiştir. Sonuç olarak, balıklardaki bağışıklık sistemiyle ilgili yapılacak çalışmaların sağlıklı balık üretimi ve balıkçılık sektörünün gelişmesine katkı sağlayacağını bildirmiştir.

Kılıç, Şeker, Özcan ve İspir (2007) Elazığ ilindeki altı farklı alabalık işletmesinden alınan gökkuşağı alabalıklarının bağırsak, karaciğer, kan, böbrek ve vücut boşluğuna ait aerobik florasını araştırmışlardır. Biyokimyasal testlerde *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp. izole edilmiştir. En yüksek yüzde *Yersinia ruckeri* bakterisi olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, üç bakterisinde balıklarda ölümcül enfeksiyona yol açtığını, işletmenin hijyenik koşullara dikkat ederek yoğun stoklamadan kaçınmalarını gerektiklerini önlem olarak belirtmişlerdir.

Korkut, Kop, Demirtaş ve Cihaner (2007) balık beslemede gelişim performansının izlenmesi yöntemlerini çalışmışlardır. Bu kapsamda FCR, SGR, TGC gibi parametrelerden yararlanılmış; sonuç olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde gelişimi izleme parametreleri kullanılarak canlıların tüm verilerinin alınabileceğini ve bu sayede daha bilinçli bir yetiştiriciliğin yapılabileceğini belirtmişlerdir.

Rairakhwada vd. (2007) Sazan balığının doğal olmayan bağışıklık sistemi üzerinde mikrobiyal levanın etkilerini, 75 günlük yem uygulaması ile incelemiştir. % 0,1, 0,2, 0,5 ve 1,0 levan uygulama dozajı olarak kullanılmıştır. Eritrosit sayısı ve hemoglobin konsantrasyonu % 0,5 levan uygulanan grupta önemli oranda artarken; total protein oranı ve lökosit sayısında bir değişiklik olmamıştır. Fagositlerin solunum yükseltme aktivitesi ve lizozim aktivitesi, % 0,5 levan içeren grupta önemli oranda artış göstermiştir.

Sahu, Das, Mishra, Pradhan ve Sarangi (2007) *Labeo rohita* fingerling lerini *A. hydrophila* hastalık etmeninden korumak için sarımsağın yem içerisindeki dozunu belirlemeye çalışmışlardır. Sarımsağı (*Allium sativum*) yemlere % 0, % 0,1, % 0,5 ve % 1 oranlarında eklemiştir. 20 günde bir farklı biyokimyasal parametreler, hematolojik ve bağışıklık parametreleri üzerinde çalışmışlardır. 60 günün sonunda balıklar *A. hydrophila* ile enfekte edilmiş ve enfeksiyonu takip eden 10 gün boyunca ölüm oranını (%) kayıt etmişlerdir. Enfeksiyondan 10 gün sonra kontrol (% 0) grubunda hayatta kalma oranının (% 57) düştüğünü tespit etmişlerdir. Sarımsak uygulanan gruplarda hayatta kalma oranının arttığı tespit edilmiştir. Sarımsağın (*Allium sativum*) bağışıklığı uyarıcı etkisinin olduğu ve *L. rohita*'ları *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruduğunu tespit etmişlerdir.

Akşit ve Kum (2008) çalışmada gökkuşuğu alabalıklarında, bakteriyel hastalık etmenlerini, antibakteriyel ilaçlara karşı gösterdikleri duyarlılık derecelerini tespit etmeye çalışmışlardır. Sene boyunca ayda 8 adet olmak üzere toplam 96 adet balığın karaciğer, dalak, böbrek ve solungaçlarından uygun besi yerlerine ekimler yapmış ve 22 °C ve 37 °C'de inkübasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. İzolatların antibakteriyel ilaçlara karşı duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

İzolaların % 16,22'si *A. salmonicidae*, % 35,13'ü *L. garviea*, % 18,92'sini *V. anguillarum* ve % 29,73'ünü *Y. ruckeri*'nin oluşturduğunu tespit etmişlerdir. *L. garviea* ve *Y. ruckeri*'nin Mayıs-Ağustos arası; *A. salmonicidae* ve *V. anguillarum*'un Şubat-Nisan ayları arasındaki dönemde daha yüksek oranda izole edildiğini tespit etmişlerdir. Entofloksasin, florfenikol ve siprofloksasine karşı etkenlerin tümünün duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, izole edilen bakteriyel patojenlerin alabalıklarda zaman içinde antibakteriyellere karşı farklı duyarlılık ve direnç gösterdiğini belirterek; işletmelerde hijyen koşullarına dikkat edilerek, yoğun stoklama ve bilinçsiz antibakteriyel ilaç kullanımından kaçınılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Kav ve Erganis (2008) yapmış oldukları çalışmada balıklar da bağışıklık sistemini incelemişlerdir. Sonuç olarak, balıkların bağışıklık sisteminin memeli bağışıklık sisteminden çok büyük farklılıklar göstermemekle birlikte kendilerine ait (sıcaklık, antikor ve antijen tipi, uyarılma yolu vs.) sistemlerinin varlığını tespit edilmişlerdir.

Yousef, Zakı ve Abdelkhalek (2008) Nil tilapialarında (*Oreochromis niloticus*) farklı bağışıklık uyarıcılarının hastalık, bağışıklık ve büyüme performansına etkisini araştırmışlardır. Balıklar iki hafta boyunca levamisol (225 mg/kg), E vitamini (150 mg/kg) ve C vitamini (101,2 mg/kg) ile beslenmişlerdir. *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı vücut direnci dayanıklılığı analiz edilmiş, bazı bağışıklık parametreleri ve büyüme performansları test edilmiştir. Elde edilen veriler, levamisol eklendiğinde hücresel ve humoral doğal bağışıklık yanıtta önemli derecede artış olduğunu ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı direnci arttırdığını ortaya koymuştur. Levamisole nazaran büyüme için E ve C vitaminine daha fazla gereksinim olduğunu; E ve C vitamininin *A. hydrophila* enfeksiyonu ve bağışıklık yanıtta neredeyse etkisiz denebilecek düzeyde olduklarını tespit etmişlerdir.

Abd-El-Rhman (2009) çalışmasında propolisin tilapialara (*O. niloticus*) etkisini araştırmıştır. Çalışmada, etanol (kontrol), % 1 propolis etanolik ekstraktı, % 1 etanolü ham propolis (% 30 protein) içeren bazal yemler kullanılmıştır. 28 gün boyunca beslenen *O. niloticus*'un *A. hydrophila*'ya karşı kontrol testleri yapılmış, propolisin bağışıklığı uyarıcı ve büyüme performansına etkisi saptanmıştır.

En iyi büyüme oranı propolis etanolik ekstrakt içeren yemlerle elde edilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise büyüme ve yem etkinlik oranının en yüksek % 1 propolis etanolik ekstraktlı yemde olduğu bulunmuştur. Üç uygulama grubunda da lenfosit miktarında değişim gözlemlenmemiştir. Nötrofil miktarının % 1 propolis etanolik ekstraktlı yemde kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Propolis etanolik ekstraktlı yemle beslenen *O. niloticus*'un, ham propolisle beslenenlere göre büyüme, bağışıklık ve direnç mekanizmasında da daha fazla artış olduğu belirtilmiştir.

Dörücü, Özese Çolak, İspir, Alinterim ve Celayir (2009) çalışmalarında gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) % 5 çörek otunun diğer gruplara (% 1; % 2,5 çörek otu) göre hematokrit ortalamasını olumlu etkilediğini bildirmişlerdir.

Maqsood, Samoon ve Singh (2009) fingerling sazanlara (*Cyprinus carpio*) uygulanan levamisol (125, 250 ve 500 mg/kg)'ün *A. hydrophila*'ya karşı kan parametreleri ve büyüme parametreleri üzerine etkisini araştırmışlardır. 250 mg/kg levamisol uygulanan grupta kan parametrelerinde, büyüme oranında ve yem değerlendirme oranında önemli artışın olduğu tespit etmişlerdir.

Nya ve Austin (2009) gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) yemlerine % 0, 0,05, 0,1, 0,5 ve 1,0 zencefil (*Z. officinale*) eklemişlerdir. 14. günün sonunda balıkları *A. hydrophila* ile enfekte etmişlerdir. % 0,5 zencefil eklenmiş grubun % 0'a göre ölüm oranının düştüğü, protein etkinliği ve büyümede artışı tespit etmişlerdir. % 0,1, 0,5 ve 1 zencefil içeren gruplarda lenfosit, makrofaj ve nötrofil sayısındaki proliferasyon ve buna bağlı olarak fagositoz, lizozim, solunum patlaması, bakterisidal ve anti-proteaz aktivitesinin anlamlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Nya ve Austin (2009) gökkuşığı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) larında sarımsak (*Allium sativum*) bitkisinin bağışıklık sistemindeki biyokimyasal parametrelere etkisini araştırmışlardır. Deneyde % 0,05, % 0,1, % 0,5 ve % 1 oranında sarımsak içeren yemlerle alabalıklar 14 gün boyunca beslenmiştir. Çalışma sonunda % 0,5 ve % 1 sarımsak içeren gruplarda ölüm oranı kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır.

Büyümede artış ve proteini dönüştürmede önemli bir etki gözlenmiştir. Eritrosit ve lökosit sayısında uyarılma, kan hücresi oranında önemli bir yükselme tespit edilmiştir. Fagositik aktivite, solunum patlamasını, lizozim ve bakterisit aktiviteyi önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir.

Gündoğdu ve Çakmak (2010) gökkuşağı alabalığı rasyonlarına çinko sülfat, çinko oksit ve çinko pikolinatın ilave edilmesiyle büyüme parametreleri, protein sindirimi ve bazı dokulardaki çinko düzeylerine etkisini araştırmışlardır. 4 ay süren çalışmada toplam 360 adet balık kullanılmış ve çinko formları 30 mg/kg olarak rasyona katılmıştır. Deneme sonunda, büyüme parametreleri ve yemlerdeki protein sindirim değerleri arasındaki farkın önemli olmadığını; çinko formlarının yem dönüşüm oranı ve balık ağırlığı üzerinde etkili olmadığını tespit etmişlerdir.

Şahan ve Duman (2010) Nil tilapialarında (*O. niloticus*) β -glukan uygulamasının edinsel bağışıklığa ve hematolojik parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Balıklar % 0,5 ve % 0,1 oranlarında β -glukan içeren yemlerle iki hafta boyunca beslenmişlerdir. Denemenin sonunda, % 0,1 oranında β -glukan ile beslenen balıklarda lökosit ve fagositik aktivite miktarının, lenfosit ve monosit yüzdelerinin % 0,5 β -glukan ve kontrol gruplarına göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir.

Thanikachalam, Kasi ve Rathinam (2010) *Aeromonas hydrophila* bakterisi ile enfekte edilen Africa Kedi Balık (*Clarias gariepinus*)'larına % 0,5, % 1, % 1,5 sarımsak katkısının, eritrosit ortalamasını oldukça arttırdığı tespit edilmiştir.

Alinterim (2011) çalışmasında balıklarda enfeksiyona karşı bağışıklık sisteminin önemli olduğunu; yetiştiricilikte enfeksiyonları yok etmek için uygulanan kimyasal immüno stimulantların ilaca dirençli bakteriler oluşturduğu belirlenmiştir. Bitkilerden elde edilen immüno stimulantların balık hastalıklarının tedavisi ve bağışıklık sistemini güçlendirmek için daha uygun olduğu belirtilmiştir.

Can vd. (2011) çalışmalarında probiyotik olarak kullanılan bazı seçilmiş uygun bakterilerin bağırsak ortamına yerleştiğinde patojenlerle mücadele ederek bağışıklık sistemi ve mide morfolojisini geliştirdiğini belirtmişlerdir.

Akuakültür uygulamalarında kullanılan antibiyotiklerin ve kimyasalların azaltılması açısından alternatif olabileceği belirtilmiştir.

Bilen ve S. Bilen (2012) tetra (*Cotinus coggygia*) ve defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi teşvik edici etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, tetra bitkisinin alabalıklar üzerinde bağışıklık güçlendirici etkileri tespit edilmiş olmasına rağmen, bitkilerin % 1 ve % 1,5 oranlarında yeme spreyleme yöntemi ile katılması sonucu alabalıkların büyüme performansı, yem tüketimi ve yem değerlendirme oranı üzerinde herhangi bir olumlu yada olumsuz etkisi tespit edilmemiştir.

Keleştemur (2012) gökkuşuğu alabalığı yavrularının rasyonlarına β -karoten katkısının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularında malondialdehit oluşum düzeylerine olan etkisini araştırmıştır. 0, 30 ve 70 mg/kg β -karoten katkılı yemler hazırlanmış ve balıklar dört hafta boyunca vücut ağırlıklarının % 3'ü oranında beslenmiştir. Analiz sonuçlarına göre β -karoten katkılı rasyonlarla beslenen grupların serum ve kas dokularına ait malondialdehit düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli derecede azalış gösterdiği, karaciğer ve böbrek dokularına ait malondialdehit düzeyleri arasındaki farkın ise istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir.

Atamanalp, Uçar ve Alak (2013) çevresel toksikantların balıkların bağışıklık sistemine etkisini araştırmışlardır. Suların kirlenmesi, su kalitesinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik karakterinin optimumdan sapması halinde balıkların stres kaynaklarına karşı daha duyarlı hale geldikleri tespit edilmiştir.

Bilen S., Bilen M. ve Yılmaz (2013) tetra (*Cotinus coggygia*) özütünün koi balıklarında (*Cyprinus cario*) *Vibrio anguillarum* enfeksiyonuna karşı hematolojik ve immünolojik etkilerini incelemiştir. Koi balıklarına tetra 0, 0,5, 1 ve 1,5 g/kg dozunda dört hafta uygulanmıştır. Dört hafta sonunda balıklara *V. anguillarum* enfekte edilmiştir. Çalışma sonunda, tetranın büyüme parametrelerine etkisinin olmadığı; lizozim ve myeloperoksidaz aktivitelerini, akyuvar ve hemoglobin konsantrasyonlarını arttırdığı tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar iki hafta boyunca aynı tip yemle beslenmiştir. Adaptasyon sürecinden sonra balıklar boylanıp 30 adet balık, her biri 300 L olan akvaryumlara eşit gelecek şekilde stoklanmıştır. Akvaryumların her biri tesadüfi olarak seçilip üç tekerrürlü olacak şekilde gruplar rastgele örnekleme ile belirlenmiştir. Bu belirlenen gruplardan kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamış ve ticari yemle beslenmeye çalışma boyunca devam edilmiştir. Diğer gruplarda ise kayın mantarı ve ısırgan otu özütleri aynı ticari yem içerisine % 0,1 ve % 0,5 oranlarında gelecek şekilde karıştırılarak günde üç öğün verilmiştir. Otuz gün sonrasında her akvaryumdan rastgele beş adet balık alınmış ve bağışıklık testleri yapılmıştır. Deneme sonunda bağışıklık uyarıcı özellikleri test edilen kayın mantarı, ısırgan otu ve kontrol gruplarına *Aeromonas hydrophila* (ATCC 20662) bakterisi inoküle edilmiş ve iki hafta boyunca yaşama oranları kaydedilerek yaşama yüzdeleri belirlenmiştir.

3.2. Deneme Yeri

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne ait akvaryum ünitesinde yürütülmüştür. Çalışmada her biri 300 L olan kapalı devre akvaryumlar kullanılmıştır.

3.3. Deneme Balıkları

Çalışmada, ortalama $10,28 \pm 0,1$ g olan gökkuşağı alabalıkları (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Alabalıklar her akvaryuma 30'ar adet olarak stoklanmıştır.

3.4. *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas türleri *Vibrionaceae* familyasına ait olup, fakültatif anaerobik, gram negatif, 0.3-1.0 µm çapında ve 1.0-3.5 µm uzunluğunda uç kısımları kokkoid olan kısa çubuklar şeklinde, sporsuz, hareketsiz veya tek polar flagellum ile hareketli, nitratı nitrite indirgeyen mikroorganizmalardır (İşleyici ve Sancak, 2009). Katalaz ve oksidaz pozitif olan *Aeromonas* cinsi mikroorganizmalar sıcaklık gereksinimlerine ve hareketlilik özelliklerine göre *A. hydrophila* ve *A. salmonicida* olarak iki gruba ayrılırlar. *A. salmonicida* grubu hareketsiz olup 37 °C'de gelişmemektedir (İşleyici ve Sancak, 2009). *A. hydrophila* grubu ise hareketli olup 37 °C'de gelişebilmektedir. Bu sebeple bu gruba hareketli veya mezofilik *Aeromonas*'lar da denilmektedir (İşleyici ve Sancak, 2009). Hareketli *Aeromonas* türleri hayvanlar arasında temas yoluyla bulaştığı için, kültür balıklarında enfeksiyonların yayılma riski daha fazladır Robert ve Shepherd (1986 akt. İşleyici ve Sancak, 2009).

Genel olarak antibiyotiklere dirençli bir bakteri türüdür. Çalışmada bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan kayın mantarı ve ısırğan otunun kontrol testlerini yapmak amacıyla balıklar çalışma sonunda *Aeromonas hydrophila* (ATCC 20662) ile inoküle edilmiştir. Bu maksatla çalışma başlatılmadan önce alabalık yavruları için LD₅₀ dozunu belirlemek amacıyla her grup alabalık (20 adet olmak üzere) 1X10⁶, 1X10⁷, 1X10⁸, 1X10⁹ hücre içeren patojenik *Aeromonas hydrophila* kültürleri ile enfekte edilmiş ve iki hafta boyunca ölümler kayıt altına alınarak ilgili patojenin LD₅₀ dozu 1X10⁷ olarak tespit edilmiştir.

A. hydrophila Eğirdir Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden ATCC 20662 menşeli bakteri suşu olarak temin edildi.

3.5. Genel Beslenme Protokolü

Denemeler başlamadan önce iki hafta boyunca balıklar Sürsan Yem A.Ş. tarafından üretilen ekstrude, 2 mm ticari yemle günde üç defa yemlenmiştir.

Çalışma otuz gün sürmüştür ve deneme sonunda tüm balıklar 0,01 g hassasiyetindeki elektronik terazide tek tek tartılmak suretiyle ortalamaları hesaplanmıştır.

Çalışmaya balıkların adaptasyon sürecinde kullanılan yemlerle devam edilmiştir. Çalışmada kullanılan yemin kimyasal kompozisyonu Tablo 4.1.'de verilmiştir. Deneme yemlerinin kimyasal analizleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Yem Gıda Analiz Laboratuvarı'ndan yapılmıştır.

3.6. Bağışıklık Uyarıcı Özütlerin Hazırlanması ve Yemlere Katılması

Çalışmada, kayın mantarı (*Pleurotus ostreatus*) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) olmak üzere iki farklı materyal kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kayın mantarları laboratuvarında ve açık alanda kayın kütüğü üzerinde yetiştirilen mantarlardan, ısırgan otu Kastamonu-Gölköy mevkiindeki alanlardan ve ısırganlık orman deposu mevkiinde yol kenarlarından toplanılan ısırganlardan temin edilmiştir.

Odun dışı orman ürünleri, etüvde 40 °C'de 2 gün boyunca kurutulmuş ve kurutma işlemi bittikten sonra kayın mantarı ve ısırgan otunun metanol özütleri çıkartılmıştır. Özüt çıkarma işlemi Pakravan, Hajimoradloo ve Ghorbani (2012) belirtildiği gibi, 1 kg örnek 6 L (% 40 metanol) çözücü içerisinde üç gün boyunca ters düz edilerek bekletilmiştir. Daha sonra kaba ürün süzülmüş, son olarak 40 µ'luk filtre kâğıdından süzülerek sıvı kısım toplanmıştır. Toplanan bu sıvı evaporatörde uçurulmuş ve yaklaşık olarak 11 gr elde edilen özüt 100 mL etanol içerisinde çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir (Pakravan vd., 2012). Özütler yemlere spreyleme yöntemi ile katılmıştır. Bu maksatla 1 kg yem için gruplara göre 1 gr ve 5 gr örnek tartılmış bu örnek 3 mL olacak şekilde saf su ile seyreltilmiş ve spreyleme aleti ile yemlere püskürtülmüştür. Püskürtülen yemlerin homojen olabilmesi için yemler sürekli karıştırılmıştır. Daha sonra yemlerin üzerine 1 mL balık yağı spreylenecek özütlerin üzeri kaplanarak suya atıldığında balıklar yemi alana kadar dağılmaları engellenmiştir. Aynı işlem kontrol yemlerine de uygulanmış, bununla birlikte özüt yerine eşit miktarda saf su uygulanmıştır. Hazırlanan yemler kullanılanına kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.7. Balık Büyüme ve Yem Analizleri

3.7.1. Nem Tayini

Yem ve balığın nem içeriği A.O.A.C. (1995) prosedürüne göre belirlenmiştir. Özet olarak yem ve balık tartılmış ve fan destekli Scaltec etüvde sabit ağırlığa gelene kadar 105°C de kurutulmuştur. Örneklerin nem yüzdesi aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Nem (\%)} = (\text{Kuru örnek ağırlığı g} - \text{Yaş Örnek Ağırlığı g} / \text{Yaş Örnek Ağırlığı g}) \times 100 \quad (3.7.1.1)$$

3.7.2. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması

Balık ve yem örneklerinin toplam yağ içeriği soksalet ekstrasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Soksalet ekstrasyon işlemi yürütmek amacıyla, 3 g kuru madde tartılmış ve aletin ayrıştırıcı kısmına yerleştirilmiştir.

Örnek, 130 cm³ petrol eteri ile 40 dakika boyunca sifonlama işlemine tabi tutularak petrol eteri yağ baloncuğunda toplanmıştır. Bu işlemden sonra yaklaşık 70 dakika sirkülasyon olayı devam etmiştir. Bu peryottan sonra tekrar sifonlama işlemi yapılmış ve yağ baloncuğunda geriye kalan çözelti, buharlaşma yoluyla uzaklaştırılmıştır. Yağ baloncuğunun ağırlık değişimi örneğin yağ içeriğini orantılı olarak verir. Bu yüzden kuru maddedeki yağ oranı aşağıdaki formülde olduğu gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Yağ(\%)} = \text{Yağ baloncuğunda biriken yağ miktarı (g)} / \text{Örnek ağırlığı (g)} \times 100 \quad (3.7.2.1)$$

3.7.3. Ham Kül İçeriğinin Saptanması

Kuru materyalin ihtiva ettiği kül içeriği A.O.A.C (1995) göre belirlenmiştir. 500 mg kuru örnek tartılarak porselen kaba konulmuş ve NÜVE marka fırınında 525 °C'de 8 saat yakma işlemine tabii tutulmuştur. Porselen kapların ağırlık değişimine dayanarak örneğin kül içeriği aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Kül İçeriği(\%)} = \text{Porselen Kaptaki Ağırlık Değişimi} / \text{Örnek Ağırlığı} \times 100 \quad (3.7.3.1.)$$

3.7.4. Ham Protein İçeriğinin Saptanması

Yem örneklerinin protein içeriği Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir. Tipik olarak, sindirim tüpleri içerisine 500 mg kuru materyal üçlü tekerrür olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sonra tüpler içerisine 1 adet Kjeldahl katalizer tableti (3 g K₂SO₄, 105 mg CuSO₄, 5H₂O ve 105 mg TiO₂, Thompson and Capper Ltd, Runcorn, Cheshire) atılmış ve 15 ml sülfürik asit H₂SO₄ örnek ve katalizer tabletin üstüne eklenmiştir. Sindirim Gerhardt Kjeldatherm sindirim bloğunda gerçekleştirilmiştir. Sindirim tüpleri ilk önce 250 °C’de 30 dakika ardından da 380 °C’de 75 dakika yakılmıştır.

Sindirimden sonra soğuyan örnekler, Gerhardt Vapodest 3S distilasyon ünitesinde distile su ile nötröle edilmiş % 40’lık NaOH çözeltisi ile seyreltilmiştir. Örneklerdeki inorganik amonyum 25 ml doymuş orthoborik asit çözeltisine BDH ‘4,5’ indikatörü eklenmiş ve örneklerdeki inorganik amonyum toplanmıştır.

Örnekler 0,1 mol’lük hidroklorik asit (HCl) ile titrasyon yapılmıştır.

Kuru örneklerdeki protein yüzdesi aşağıdaki şekilde olduğu gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Protein(\%)} = [\text{titrasyonda harcanan} - \text{kör örnek}] \times 0,1 \times 14,007 \times 6,25 / \text{örnek ağırlığı} \times 100 \quad (3.7.4.1)$$

Formülde; 0,1 (HCl mol olarak değeri), 14,007 (Nitrojenin moleköl kütlesi), 6,25 (Örneğın nitrojen ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi belirleyen sabit katsayı)

3.7.5. Ham Selüloz İçeriğinin Saptanması

1 g kuru örnek 250 ml’lik bir behere tartılarak, üzerine 100 ml % 1,25’lik H₂SO₄ eklenip ısıtıcı üzerinde kaynatılmıştır. Kaynama sonrası, karışım 10 ml % 28’lik KOH çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Kaynatılan örnekler sıcak olarak süzöldükten sonra üzerlerine 10 ml % 1’lik H₂SO₄, sıcak saf su, 10 ml % 1’lik NaOH, sıcak saf su, sonra tekrar % 1’lik H₂SO₄, 22 defa sıcak su ve son olarak saf su eklenerek yıkanmıştır. Süzgeçte kalanlar 105 °C’lik etüvde 1,5 saat kurutulmuş, daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır. Bu birinci tartımdan sonra, 550 °C’lik kül fırınında 30 dakika yakılmış, desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

Bu ikinci tartımdan sonra aşağıdaki formülle ham selüloz miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Selüloz(\%)} = \text{Birinci Tartım (g)} - \text{İkinci Tartım (g)} / \text{Örnek Ağırlığı (g)} \times 100 \quad (3.7.5.1)$$

3.7.6. Ortalama Bireysel Ağırlık(g)

$$\text{Tartılan Balıkların Toplam Ağırlığı (g)} / \text{Tartılan Balıkların Sayısı} \quad (3.7.6.1)$$

3.7.7. Canlı ağırlık Artışı(%)

$$(\text{Son Ağırlık (g)} - \text{Başlangıç ağırlığı (g)}) / \text{Başlangıç Ağırlığı (g)} \times 100 \quad (3.7.7.1)$$

3.7.8. Yem Değerlendirme Oranı (YDO) (%)

Yem değerlendirme oranı, tüketilen yem miktarı ile balıkların ağırlık kazanımının oransal ifadesidir.

$$\text{Yem Değerlendirme Katsayısı (YDO)} = \text{Tüketilen Yem (g)} / \text{Ağırlık Artışı (g)} \times 100 \quad (3.7.8.1)$$

3.7.9. Spesifik Büyüme Oranı (SBO) (%)

Spesifik büyüme oranı herhangi bir periyotta günlük canlı ağırlık artışını yüzdelik olarak anlık büyümenin hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$\text{Spesifik Büyüme Oranı (\% gün}^{-1}\text{)} = [\text{Ln (Son Ortalama Ağırlık g)} - \text{Ln (Başlangıçtaki ortalama Ağırlık g)}] / \text{Deneme gün sayısı} \times 100 \quad (3.7.9.1)$$

3.8. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi

Bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelenmesi için her havuzdan alınan balıklar fenoksiethanol ile bayıldıktan sonra ağırlık ölçümleri yapılmış ve akabinde bağışıklık yanıt testlerini yapabilmek için kaudal venaları kesilerek kanları K3EDTA içeren kan tüplerine alınmıştır. Bu örneklerden NBT ve fagozitik aktivite doğrudan kandan, lizozim ve myeloperoksidaz testleri ise serumdan tespit edilmiştir. Çalışmalar, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. NBT aktivitesi

NBT aktivitesi Anderson ve Siwicki (1994) tarafından belirlenen yöntemle yapılmıştır. Bu maksatla 0.1 ml heparinize edilmiş kan örneği % 0,2 NBT içeren 0.1 ml solüsyon ile karıştırılmıştır. Karışım 25 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Karışım içerisinden 50 µl süspansiyon alınmış ve bunun üzerine 1,0 ml N,N-dimethyl formamid eklenmiş ve karışım 3000 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.

3.8.2. Fagozitik Aktivite

Fagozitik aktivite Siwicki, Anderson ve Rumsey (1994) tarafından belirlenen metoda göre yapılmıştır. Balıklardan alınan heparinize kan örnekleri hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiştir. Çalışmada her balık örneği için kandan 0,1 ml örnek alınmıştır. Mikrolevha içerisinde 0,1 ml PBS içerisinde 1×10^8 hücre/ml *Staphylococcus* sp. içeren solüsyon hazırlanmış ve içine 0,1 ml kan eklenmiş, iyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında levha nazik bir biçimde karıştırılmış ve 0,05 ml örnek alınmış ve kurutulmuştur. Karışım kuruduktan sonra etanol içerisinde fikse edilmiş ve hücreler ile fagozite edilmiş bakteriler sayılmıştır.

3.8.3. Lizozim Aktivitesi

Lizozim aktivitesi turbidimetrik yöntemle Siwicki vd., (1994)'e göre yapılmıştır. 100 µl serum örneği 2 ml myrococcus lysodeiktesu (0.2 mg/ml) ile karıştırılmış ve 520 nm dalga boyunda 0 ve 4. dakikalarda okunmuştur. Sonuçlar lizozim U/ml olarak verilmiştir.

3.8.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi

Toplam myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi Quade ve Roth (1997) ve Sahoo, Kumari ve Mishra (2005) tarafından yapılan değişikliklere göre yapılmıştır. 30 µl serum 370 µl Ca^{2+} veya Mg^{2+} içermeyen HBSS ile endorf tüpleri içerisinde seyreltildi. Bu karışımın üzerine 100 µl 0,1 mg/ml 3,3',5,5' -tetrametilbenzidin dihidroklorid ve % 0.006 hidrojen peroksit eklendi. Reaksiyon kinetik olarak artan absorbans farkının ölçülmesiyle belirlendi. Reaksiyon hızı IU olarak belirtilmiştir.

3.8.5. Kontrol Testi

Bir aylık deneme sonunda deneme akvaryumlarında kalan 25 adet balık üzerinde 100 µl PBS içerisinde 1×10^7 *A. hydrophila* hücreleri olacak şekilde seyreltildi. Bu süspansiyon tüm balıklara intraperitoneal yolla balıkların tümüne enjekte edildi ve balıkların yaşama oranları iki hafta boyunca kontrol edildi (Zhou vd., 2010).

Ortamdaki bakteri sayımı McFarland standart tüplerinin bulanıklığı skalası yardımı ile tayin edilmiştir.

3.9. İstatistiksel Analizler

Farklı bitkisel bağışıklık uyarıcıların büyüme performansları ve bağışıklık üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi SPSS 16.0 istatistik programı yardımıyla yapılmıştır. Çalışmada önce verilerin varyanslarının homojenlikleri Levene testi ile belirlenmiş daha sonra varyans analizine (ANOVA) sonra da LSD Multiple Range Test'ine tabi tutularak gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir ($\alpha=0,05$). Sonuçlar ortalama standart hata olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ticari Yemin Kimyasal Kompozisyonu

Çalışmada Sürsan Yem A.Ş.'ne ait yemlerin analizi sonucu ham proteini % 45,1 ve toplam yağı % 16,1 oranında bulunmuş olup elde edilen kimyasal kompozisyonu (Tablo 4.1.)'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *Deneme yeminin kimyasal kompozisyonu*

Kimyasal Kompozisyon (%)	Deneme Yemi
Nem	9,1 ± 0,07
Ham Protein	45,1 ± 0,32
Ham Yağ	16,1 ± 0,24
Ham Selüloz	1,6 ± 0,21
Ham Kül	8,5 ± 0,03

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Aynı parti yemden üç tekerrürlü analiz yapılmıştır. Yem 2 mm büyüklüğündedir.

4.2. Bağışıklık Uyarıcıların Büyüme ve Yem Değerlendirmeye Etkisi

Çalışma sonunda gruplar arasındaki ağırlıkça artış oranı, yem değerlendirme oranları, spesifik büyüme oranları ve protein verimlilik oranı değerlendirilmiştir. Büyüme performansına bağlı veriler (Tablo 4.2.)'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Denemede kullanılan yemlerin büyüme performansına olan etkileri

	Kontrol	Kayın Mantarı % 0,1	Kayın Mantarı % 0,5	Isırgan Otu % 0,1	Isırgan Otu % 0,5
Başlangıç Ağırlığı (g)	10,28±0,82	10,43±0,42	10,28±0,57	10,15±0,42	10,25±0,74
Son Ağırlık (g)	26,68±0,15 ^a	31,25±0,01 ^b	30,01±0,20 ^b	31,25±0,01 ^b	32,10±0,03 ^b
CAA (%)	241,08±0,15 ^a	271,70±7,57 ^b	269,31±1,90 ^b	284,85±0,11 ^c	298,25±7,25 ^c
YDO	0,98±0,15 ^a	0,87±0,01 ^b	0,91±0,03 ^c	0,90±0,02 ^c	0,91±0,04 ^c
SBO (%/gün)	3,18±0,15 ^a	3,66±0,02 ^b	3,57±0,03 ^b	3,75±0,01 ^b	3,81±0,05 ^b
PVO	2,27±0,15 ^a	2,55±0,01 ^a	2,44±0,10 ^a	2,47±0,30 ^a	2,44±0,10 ^a

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Her grupta verilen harfler o grup içerisindeki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$).

Balık yetiştiriciliğinde birim alandan maksimum verim elde etme birinci önceliktir. Bununla birlikte üretimi yapılan türde en az kayıp arzulanır. Canlı ağırlık artışı açısından tüm gruplarda, kontrol grubuna oranla önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Özellikle ısırgan otu ile beslenen gruplarda canlı ağırlık artışı diğer gruplara göre önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Bu sonuçlar deneme gruplarının canlı ağırlık artışı açısından gruplar arasında farklılıklar olduğunu göstermektedir. Genel olarak yem değerlendirme oranı (YDO) balıklara verilen yemin ete dönüşüm oranı olarak bilinmektedir. YDO balıklarda gelişim performansını belirlemede en çok kullanılan belirteçlerden birisidir Aquamedia (2006 akt. Korkut vd. 2007). Özellikle alabalıklarda YDO 1 civarında seyretmektedir. YDO'nun artması balıkların daha fazla yem tüketerek daha az et oluşturdukları anlamına gelmektedir. YDO balık büyüklüğüne, türe ve su sıcaklığına göre farklılıklar gösterebilir.

Balığa verilen yemdeki enerji değerleri kullanılarak da YDO hesaplanabilmektedir (Korkut vd., 2007). Yapılan araştırmalara göre yüksek enerjili yemlerle beslenen balıklarda daha hızlı büyüme gözlenmiştir. Bu durum sağlıklı, kaliteli ve kısa sürede pazara ulaşabilen balıkların da üretilmesini sağlar (Korkut vd., 2007). Yem değerlendirme oranında tüm gruplarda kontrol grubuna oranla önemli derecede azalış olduğu tespit edilmiştir. En düşük yem değerlendirme oranı ise % 0,1 kayın mantarı özütü içeren grupta gözlenmiştir ($P<0,05$).

Çalışmamızdan farklı olarak Ashida ve Okimasu (2005), bağışıklık etkisini inceledikleri fermente edilmiş sebze ürünlerinin japon dil balığının (*Paralichthys olivaceus*) büyümesinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına paralel olarak Nya ve Austin (2009) alabalıklarda sarımsak kullanımının büyüme performansını olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Li, Wang ve Gatlin (2006), bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan levamisolün çizgili levrek balıklarında (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*), Cook, Hayball, Hutchinson, Nowak ve Hayball D.J (2003), ticari bir ürün olan EcoActiva®'nın mercan balıklarında (*Pagrus auratus*), Keleş vd., (2002), zeranolün alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir. Düğenci vd. (2003), alabalıklar üzerinde kullandıkları zencefil, ökse otu ve ısırgan otunun büyüme parametrelerini optimum tuttuğunu tespit etmişlerdir.

Balıkların büyüme potansiyellerini doğru tahmin etmek, enerji veya günlük verilecek yem miktarını doğru hesaplamada öncelikli bir durumdur. Bu amaç için genelde kullanılan formül ise spesifik büyüme oranıdır (SBO). Büyüme somatik veya reproduktif şekilde olmaktadır (Korkut vd., 2007). Enerjinin korunumu eşitliğine göre büyüme balık vücudundaki enerji yeterliliğinin artması olarak tanımlanabilir. Genel anlamda büyüme, ağırlığın artışı olarak tanımlanmaktadır. Vücut ağırlığının artışı ile enerji yeterliliğinin artışı bir sinonim olarak kullanılmaktadır. Büyümeyi belirleyebilmek için ağırlık ile ağırlık artışı için geçen sürenin ilişkilendirilmesi gerekmektedir. SBO özellikle farklı ağırlıktaki balık grupları ve erken gelişme döneminde olan balıklarda geçerlidir. Çalışma da deneme grupları arasında spesifik büyüme oranında fark gözlenmezken; tüm değerlerde kontrol grubuna göre önemli derecede artış olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çalışmamıza benzer olarak, ginseng ile beslenen tilapia balıklarında Ashraf ve Goda (2008), sazan balıklarında yapılan bir çalışmada Maqsood vd. (2009) yem değerlendirme ve büyüme performanslarının önemli derecede artış gösterdiği belirtilmiştir. Yine benzer sonuçlar Gopalakannan ve Arul (2006) ve Siwicki ve Korwin-Kossakowski (1988) tarafından elde edilmiştir.

Çalışma sonuçlarından farklı olarak Bilen S., Bilen ve Bulut (2011) tetranın, Bilen ve Bulut (2010) defnenin; alabalıklar üzerindeki etkisini araştırdığı, Bilen vd. (2013) tetranın koi balıkları üzerinde etkisini araştırdığı çalışmalarda büyüme performansında herhangi bir değişikliğe rastlamamışlardır.

4.3. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimler

Araştırmada bağışıklık parametrelerinden NBT aktivitesi, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz aktivitesi kontrol edilmiştir. Bunlara ek olarak çalışma sonunda balıklar *A. hydrophila* ile enfekte edilerek yaşama oranları iki hafta boyunca kontrol edilmiş ve kontrol testleri tamamlanmıştır.

4.3.1. NBT Aktivitesi

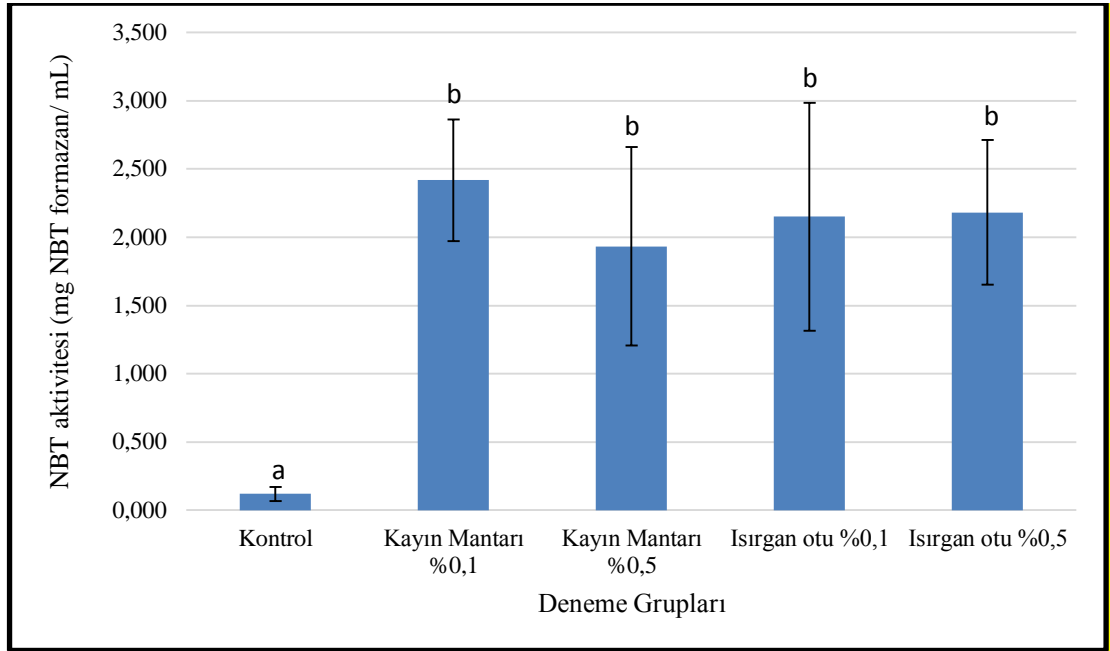
Solunum etkisi, etkinleştirilmiş oksijen türlerinin (süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit) farklı tipteki hücrelerden hızlı bir şekilde serbest bırakılmasıdır. Genellikle nötrofil ve monosit gibi bağışıklık hücrelerinden bu kimyasalların serbest bırakılmasını ifade eder. Vücuda yabancı amiller girdiği takdirde (bakteri, mantar, parazit) fagozitozis ile birlikte artış eğilimi gösteren bağışıklık tepkisini de ifade eder. Bu çalışmada süperoksit radikallerinin etkinliği NBT aktivitesinin tespiti ile belirlenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen NBT aktivitesi verileri (Tablo 4.3.)'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Denemede kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun NBT aktiviteleri

	Kontrol	Kayın Mantarı % 0,1	Kayın Mantarı % 0,5	Isırgan Otu % 0,1	Isırgan Otu % 0,5
NBT Aktivitesi	0,118±0,053 ^a	2,418±0,447 ^b	1,934±0,728 ^b	2,152±0,835 ^b	2,182±0,530 ^b

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Gruplardaki harfler o deneme içerisindeki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$).n=9.

(Tablo 4.3.)’de görüldüğü üzere tüm grupların NBT aktivitesi kontrol grubu ile kıyaslandığında kayda değer artış göstermiştir. Bununla birlikte deneme grupları arasında herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.1. Kayın mantarı ve Isırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıklardaki NBT Aktivitesi. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($\alpha=0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen verilere benzer olarak, Dalmo, Ingebrigtsen, Sveinbjornsson ve Seljelid (1996) oral yolla uyguladıkları laminaranın aynı şekilde uygulanan dektran ve sodyum kloride oranla NBT aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir. Verlhac, Obach, Gabaudan, Schuep ve Hole (1998), alabalıklarda C vitamini uygulamasının, Cook vd. (2001), ticari bir ürün olan Ecoactiva®'nın mercan balıklarında, 2. haftada solunum etkisini önemli oranda arttırdığını tespit etmişlerdir. Gatta vd. (2001) organik kromium uyguladıkları alabalıklarda, Jeney G. ve Jeney (2002), farklı gluklan dozlarının mersin balıklarında 8 haftalık uygulama sonrasında, Ashida ve Okimasu (2005) fermente edilmiş sebzelerle beslenen japon dil balıklarında (*Paralichthys olivaceus*), Gopalakannan ve Arul (2006) sazan balıklarında kitosan, kitin ve levamisolün, Li vd. (2006) levamisol uygulamasının, Tewary ve Patra (2008) C vitamininin yüksek dozlarda kullanılmasının rohu balıklarında (*Labeo rohita*) solunum etkisini arttırdığını belirtmişlerdir.

Cerezuela, Cuesta, Meseguer ve Esteban (2008) inulin uygulamasının, Kunttu, Valtonen, Suomalainen, Vielma ve Jokinen (2009) genç alabalıklarda uyguladıkları β -glukan ve HMB (β -hydroxy- β -methylbutyrate) oral uygulamasının, Cerezuela, Cuesta, Meseguer ve Estaban (2009) D₃ vitamininin yüksek dozlarda uygulanmasının, süperoksit radikal salınımını olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamıza benzer şekilde Bilen vd. (2011) tetra bitkisinin (*Cotinus coggyria*) alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) NBT aktivitesini olumlu yönde arttırdığını tespit etmişlerdir. Bilen vd. (2013); Bilen, Bilen S., Yılmaz ve Biswas (2014) tetra bitkisinin (*Cotinus coggyria*) koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) NBT aktivitesini olumlu yönde arttırdığını tespit etmişlerdir.

Çalışma verilerinden farklı olarak, Verlhac vd. (1998) gluklanın uygulamasının alabalıklarda; Esteban, Rodriguez, Cuesta ve Meseguer (2005) laktoferin içeren yemlerle besledikleri çipuralarda Cuesta, Rodriguez, Esteban ve Meseguer (2005) arıların ürettikleri propolis maddesinin yemlerle çipuralara verilmesi sonucu; Ortuno vd. (2000) E vitamininin yüksek dozlarda uygulanması sonucu çipura balıklarında süperoksit radikal salınımının etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Yine benzer sonuçlar Bilen ve Bulut (2010) defne yapraklarının alabalıkların hücre içi ve hücre dışı süperoksit radikal salınımları üzerinde herhangi olumlu ya da olumsuz etkilerinin olmadığını tespit etmişlerdir.

NBT aktivitesi, bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimlerin tespit edilmesinde özellikle kullanılan yöntemlerden birisidir. Yaptığımız çalışmada genel olarak bakıldığında hem kayın mantarı grubunda hem de ısırgan otu grubunda önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Kayın mantarı ya da ısırgan otunun hangi parametrelerinin bu özellikleri tetiklediği ayrı bir çalışma konusunu oluşturmaktadır. Bununla birlikte özütü çıkarılmış ürünlerin sadece belli başlı etken maddelerinin değil genel olarak kombinasyon etkilerinin de dikkate alınması gerekmektedir.

Bununla birlikte bağışıklık uygulamalarında NBT aktivite test sonuçlarının genel olarak arttığı bilinmektedir (Blazer ve Wolke, 1984; Sakai, 1999).

Oral yolla kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun bağırsak çeperlerinde bulunan bağışıklık mekanizmasında önemli rol alan makrofajları uyarması sonucu, solunum etkisinde meydana gelen artış açıklanabilir.

4.3.2. Fagozitik Aktivite

Fagozitozis balıkların savunma mekanizmasında gözlenen en temel aktivitedir. Fagozitozisin ilk adımı genellikle nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin yabancı amillere karşı harekete geçmesidir. Bu hücrelerin hareketi kemokinezis veya kemotaksi ile olur (Klesius ve Sealy, 1996). Fagozitozisteki ikinci adım amilin yutulmasıdır. Son adım ise yutulan amilin öldürülmesi ve sindirilmesi şeklindedir.

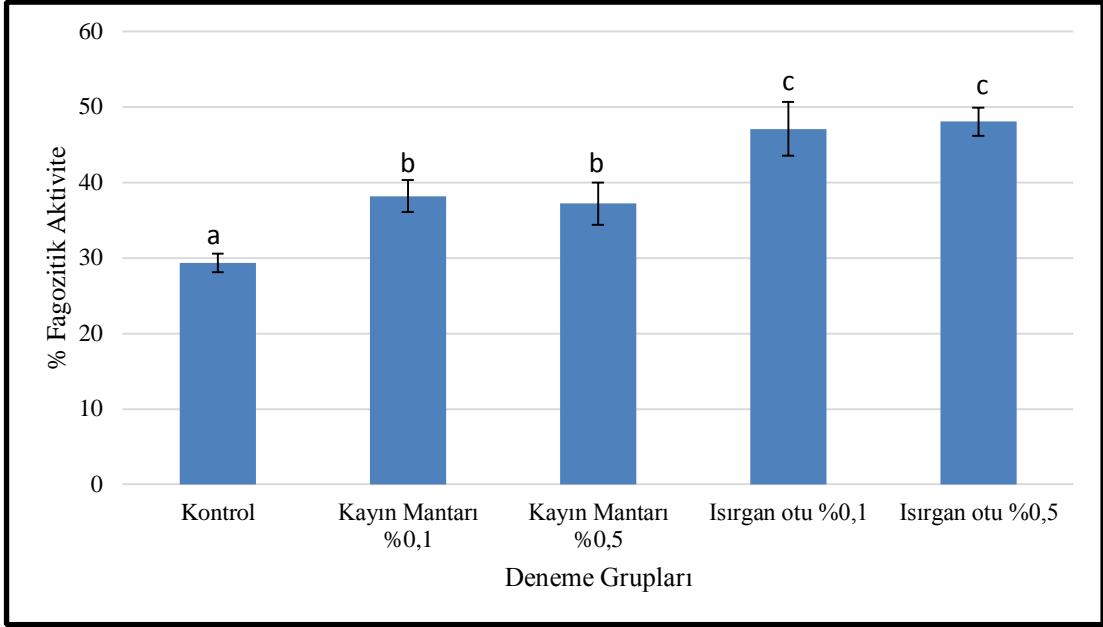
Çalışmamızda bağışıklık uyarıcı olarak kullandığımız kayın mantarı ve ısırgan otu uygulaması sonrasında yapılan fagozitik aktivite testlerinin sonuçları (Tablo 4.4.)'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Denemede kullanılan Kayın mantarı ve Isırgan otunun Fagozitik Aktiviteleri

	Kontrol	Kayın mantarı % 0,1	Kayın Mantarı % 0,5	Isırgan Otu % 0,1	Isırgan Otu% 0,5
Fagozitik Aktivitesi	29,35±1,24 ^a	38,21±2,14 ^b	37,22±2,78 ^b	47,12±3,57 ^c	48,1±1,87 ^c

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Gruplardaki harfler o deneme içerisindeki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$).n=9.

Çalışma sonuçlarına göre (Tablo 4.4.)'de görüldüğü gibi bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun alabalıkların fagozitik aktivitelerini tüm gruplarda önemli derecede artırdığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Bunlara ek olarak gruplar kendi içlerinde ve birbirleriyle kıyaslandıklarında ısırgan otu gruplarının fagozitik aktiviteleri kayın mantarlarına göre önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Grupların kendi içerisinde her hangi bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$). Kayın mantarı gruplarının fagozitik aktiviteleri ısırgan otu grupları ile kıyaslandığında önemli derecede azalış gösterirken ($P<0,05$) grup içerisinde bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$).



Şekil 4.2. Kayın mantarı ve Isırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların Fagozitik Aktivitesi a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($\alpha=0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Jeney, Galeotti, Volpatti, Jeney Z. ve Anderson (1997), çalışmamıza benzer olarak farklı glukan oranlarının alabalıklarda fagozitik aktiviteyi artırdığını bildirmişlerdir. Fakat glukan oranlarındaki değişimin çalışmamızdan farklı olarak fagozitik aktivitede herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. C vitamini dört haftalık uygulama sonrası çipuralarda fagozitik aktiviteyi arttırdığını bununla birlikte 6, 8 ve 10 haftalık uygulamalarda ise fagozitik aktivitede herhangi bir değişiklik meydana getirmediği tespit edilmiştir (Ortuna, Esteban ve Meseguer 1999).

Ortuno vd. (2000) çalışmamızdan farklı olarak E vitaminini 600 ve 1800 mg/kg uyguladıkları çipuralarda fagozitik aktivitede bir değişiklik tespit etmezken, çalışmamızda % 0,5 Isırgan uygulamasının % 1 Isırgan uygulamasından daha yüksek fagozitik aktivite göstermesine benzer olarak 1200 mg/kg E vitamini uygulanan gruplarda fagozitik aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir. Maya hücrelerinin RNA'sından izole edilen nükleotidlerin sazan balıklarında fagozitik aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir (Sakai vd. 2001). Çalışmamıza benzer olarak alabalıklarda kromium kullanımı da fagozitik aktiviteyi pozitif etkilemiştir (Gatta vd. 2001).

Alabalıklarda denenen bir diğ er bağı şıklık uyarıcı z eranol de dozajına bağı lı olarak fagozitik aktiviteyi önemli derecede etkilemiştir (Keleş vd. 2002).

4.3.3. Lizozim Aktivitesi

Lizozim 14-18 kDa moleküler ağı rlığında balık edinsel bağı şıklık sisteminde anahtar bileş enlerden biridir (Grind, Lie, Pope ve Salte 1988; Yousif ve Albright 1991). Bu enzim neredeyse tüm vertebratada göz lenmekte oldu ğ u gibi özellikle deniz ve tatlı su balıklarında geniş varlık gösterir. Genel olarak beyaz kan hü creleri tarafından salgılanır ve bu yüzden daha ziyade beyaz kan hü crelerinin bol oldu ğ u organlarda daha yüksek aktivite gösterir.

Çalış mada bağı şıklık sisteminde meydana gelen de ğ iş imlerin incelenmesinde kullanılan diğ er bir kı stas olarak tercih edilmiştir. Çalış ma sonrası elde edilen serum lizozim aktiviteleri (Tablo 4.5.)'de verilmiştir.

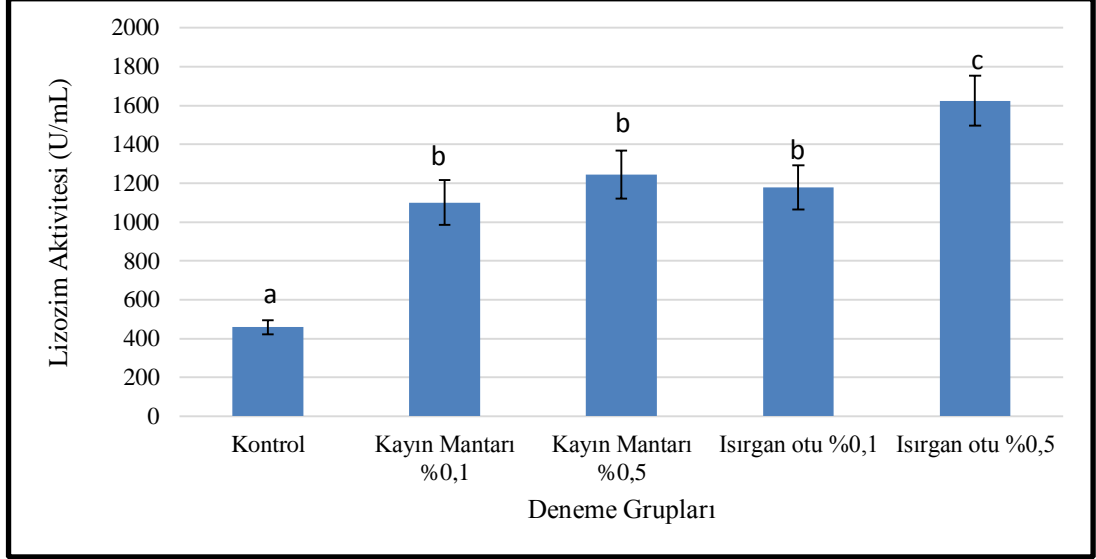
Tablo 4.5. Denemede kullanılan Kayın mantarı ve Isırgan otunun Lizozim Aktiviteleri

	Kontrol	Kayın Mantarı % 0,1	Kayın Mantarı % 0,5	Isırgan Otu % 0,1	Isırgan Otu % 0,5
Lizozim Aktivitesi	458,21±35,25 ^a	1100,23±115,32 ^b	1245,36±120,32 ^b	1178,87±114,01 ^b	1624,35±128,35 ^c

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Gruplardaki farklı harfler o deneme içerisindeki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$).n=9.

Çalış ma sonunda elde edilen verilere göre tüm grupların lizozim aktivitelerinde kontrol grubuna oranla önemli derecede artış göz lenmiştir ($P < 0,05$). Gruplar kendi içerisinde incelendiğinde ise kayın mantarı % 0,1, kayın mantarı % 0,5 ve ısırgan otu % 0,1 grupları arasında farklılık göz lenmemiştir ($P > 0,05$). Diğ er gruplara oranla ısırgan otu % 0,5 grubunda diğ er tüm gruplardan yüksek olmuştur ($P < 0,05$).

Gruplar arasında meydana gelen lizozim aktivitesi değişimleri Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Kayın mantarı ve Isırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıkların Fagozitik Aktivitesi a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($\alpha=0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Deneme sonuçlarına göre tüm gruplarda lizozim aktivitesi artmıştır. Benzer olarak Verlhac vd. (1998) alabalıklarda yüksek C vitamini seviyelerinin, Gatta vd. (2001) kromiumun yüksek dozda yemlere uygulanmasının, Liang vd. (2006) protein hidralistatinin yemlere % 15 oranında katılarak japon levreklerine (*Lateolabrax japonicus*) uygulanmasının, Gopalakannan ve Arul (2006) kitin, kitosan ve levamisolün yemlere katılarak sazan balıklarına uygulanmasının lizozim aktivitesini arttığını tespit etmişlerdir.

Benzer şekilde Rairakhwada vd. (2007) mikrobiyal levanın % 0,5 oranında yemlere katılarak uygulanmasının sazan balıklarında, Divyagnaneswari, Christyapita ve Michael (2007) *Solanum trilobatum*'un yaprak özütlerinin tilapia balıklarında, Gupta vd. (2008) mikrobiyal levan (% 1,25) uygulamasının *Labeo rohita*'da, Yin vd. (2009) *Astragalus radix* ve *Ganoderma lucidum* bitkilerinden oluşan karışımın yemlerle sazan balıklarında uygulamaları sonucu lizozim aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir.

Bilen vd. (2011) çalışmasında tetra bitkisinin (*Cotinus coggyria*) alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*), Bilen vd. (2013) ve Bilen vd. (2014), tetra bitkisinin (*Cotinus coggyria*) koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) lizozim aktivitesini önemli derecede artırdığını tespit etmişlerdir.

Bu sonuçlardan farklı olarak, Verlhac vd. (1998) β glukanların alabalıklarda, Kumari, Swain ve Sahoo (2003) asya kedi balıklarında (*Clarias batrachus*) yemlere 100 mg/kg laktoferin uygulaması sonrası yapılan testlerde; Bagni vd. (2005) ticari ürün olan Ergosan ve Macrogard'ın levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*), Esteban vd. (2005), laktoferin uygulaması yapılan çipuralarda (*Sparus auratus*), Lia vd. (2006) levamisolün yemlerle verildiği hibrit çizgili levreklerde (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*), Li, Wen ve Gatlin (2009), β 1-3 glukan içeriğinin doza bağlı olarak uygulandığı hibrit çizgili levreklerde (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*), Bilen ve Bulut (2010) defnenin (*Laurus nobilis*) alabalıklar üzerinde lizozim aktivitesini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Çalışma sonuçlarına göre kayın mantarı ve ısırgan otu özütlerinin lizozim aktivitesini önemli derecede arttırdığı söylenebileceği gibi, ileriki çalışmalarda özellikle lizozim aktivitesi ile ilişkili olan komplemen ve bakteriyositik aktivitelerin de kombine etkilerinin incelenmesiyle hastalık amillerine karşı etkinliklerinin daha verimli değerlendirilmesi sağlanabilir.

4.3.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi

Çeşitli hücre içi granülleri de kapsayan polimorfonükleer lökositler ya da nötrofiller doğal bağışıklıkta önemli role sahiptir (Borregaard, Sorensen ve Theilgaard-Monch 2007). Myeloperoksidaz (MPO), nötrofillerin anahtar içerikleri olup azurofilik granüllere bağlıdır (van der Veen, Winnther ve Heeringa 2009). MPO nötrofillerin reaktif oksijen türlerini, özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve klorid iyonlarından (Cl^-) hipoklorik asid (HOCl) üreterek, mikrobiyal aktiviteye katılmaları olarak düşünülmektedir.

HOCl yutulan mikroorganizmaların anahtar bileşimlerinin okside eder ve güçlü bir bakterisidal ve virisidaldır (Klebanoff, Kettle, Rosen, Winterboum ve Nauseef 2013). MPO eksikliğinin birçok hastalıktan kaynaklanan ölümlerin artmasında etken olduğu bilinmektedir (Lehrer, Hanifin ve Cline 1969; Lehler ve Cline 1969; Brovkovich vd. 2008).

Çalışma sonunda gruplar arasında myeloperoksidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler (Tablo 4.6.)' da verilmiştir.

Tablo 4.6. Denemede kullanılan Kayın mantarı ve Isırgan otunun Myeloperoksidaz Aktiviteleri

	Kontrol	Kayın Mantarı % 0,1	Kayın Mantarı % 0,5	Isırgan Otu % 0,1	Isırgan Otu % 0,5
MPO Aktivitesi	197,85±11,25 ^a	321,74±19,24 ^b	256,87±10,84 ^c	478,5±27,35 ^d	501,73±32,21 ^d

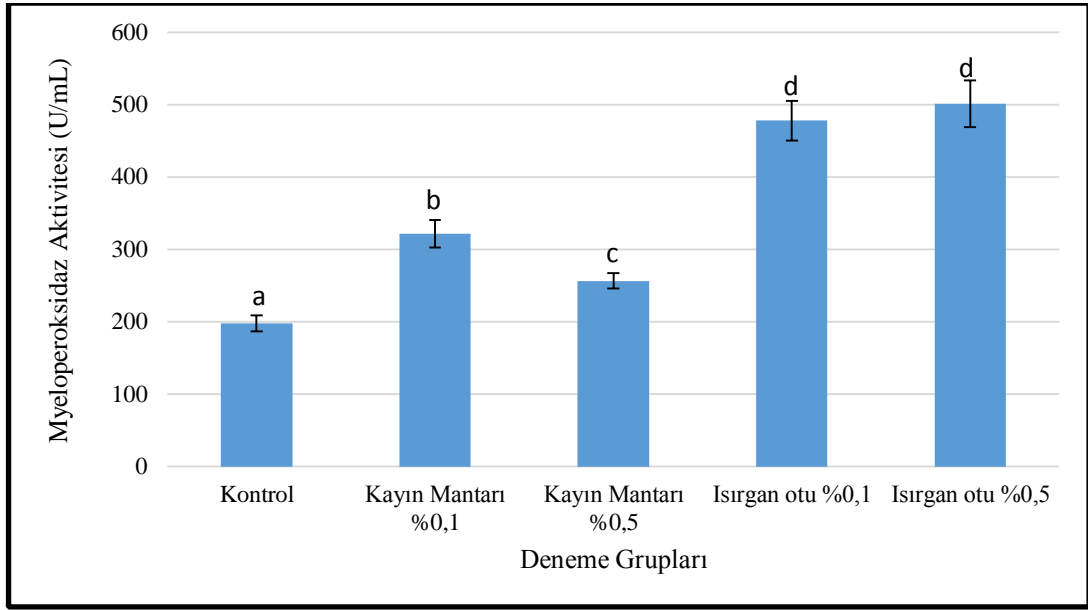
Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Gruplardaki farklı harfler o deneme içerisindeki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$).

Çalışma sonunda elde edilen veriler ışığında tüm deneme gruplarının MPO aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli derecede artmıştır ($P<0,05$).

Gruplar kendi içerisinde incelendiğinde en yüksek MPO aktivitesi ısırgan otu grubunda tespit edilmiştir. Bununla birlikte ısırgan otu grubu içerisinde dozajlar arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Kayın mantarı grubunda ise MPO aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede artarken ($P<0,05$) gruplar içerisinde de farklılık oluşmuş ve kayın mantarı % 0,1 içeren grupta daha yüksek tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Bilen vd. (2014) tetra (*Cotinus coggygria*) bitkisinin farklı dozda uygulamalarının çalışmamıza benzer şekilde MPO aktivitesini koi balıklarında (*Cyprinus carpio carpio*) kontrol grubuna kıyasla önemli derecede artırdığını tespit etmişlerdir.

Benzer olarak Alexander, Kirubakaran ve Michael (2010) *Tinospora cordifolia* bitkisinin tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balıklarında, Gültepe, Bilen, Yılmaz, Güroy ve Aydın (2014) tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balıklarında çemen (*Trigonella foenum graecum*) bitkisinin ve Kirubakaran, Alexander ve Michael (2010), *Nyctanthes arbortristis* bitkisinin tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balıklarında MPO aktivitesini olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir.



Şekil 4.4. Kayın mantarı ve Isırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıklarda Myeloperoxidaz Aktivitesi a, b, c ve d istatistiksel farklılığı ifade eder ($\alpha=0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 4.4.'de de açıkça gözlendiği üzere hem ısırgan otu hem de kayın mantarı alabalıklarda MPO aktivitesini olumlu yönde etkileyerek bağışıklık sistemini uyarılmışlardır. Bunlara ek olarak en uygun uygulamanın ısırgan otu % 0,5 içeren grup olduğu söylenebilir.

4.3.5. Kontrol Testi Sonuçları

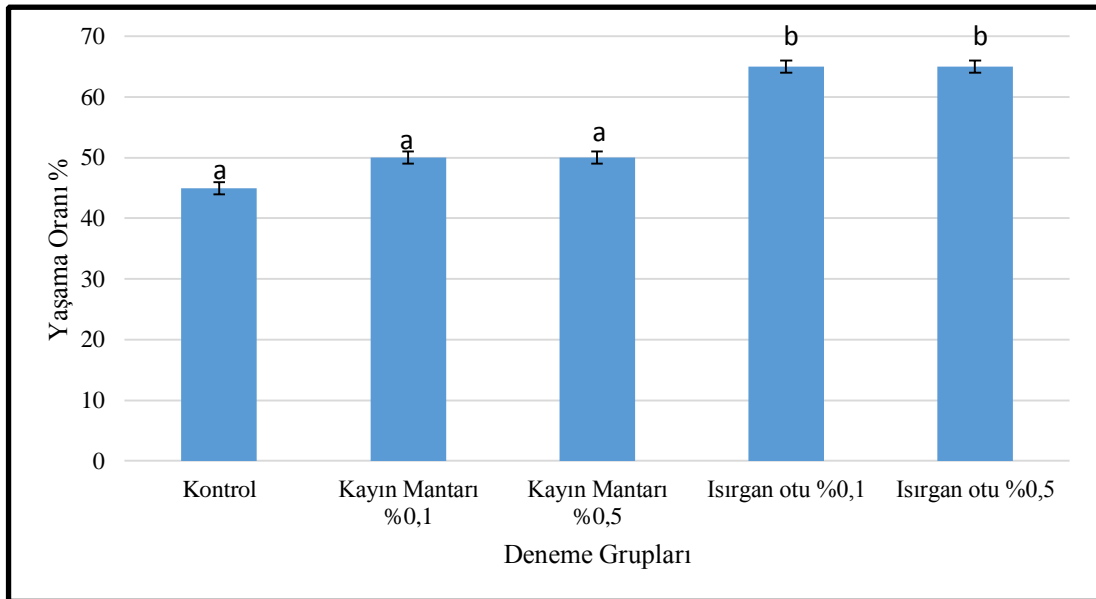
Deneme sonunda ele edilen yaşama oranlarına göre kontrol grubu ile kayın mantarı grubu arasına farklılık olmazken bu durum ısırgan otu grubunda farklılık göstermiştir.

Isırgan otu grubu içerisinde bir farklılık gözlenmezken diğer gruplara göre yaşama oranlarında artış olmuştur.

Kontrol testleri bağışıklık uyarıcı maddelerin, kimyasalların ya da bitkilerin kullanıldığı çalışmalarda referans noktası olarak önem arz etmektedir. Her ne kadar özellikle bitkiler tedavi edici değil uyarıcı olarak kullanılsa da hastalık amilleri ile yapılan kontroller son derece önemli fikirler vermektedir.

Aeromonas hydrophila balıklarda hastalığa neden olan son derece önemli bir bakteridir. Özellikle alabalıklarda sıklıkla hastalıklara sebep olmaktadır. Çalışmamızda da elde edilen sonuçlar ısırgan otunun önemli bir koruyucu olabileceği yönünde olmuştur.

Çalışmamıza benzer olarak Bilen vd. (2013), Bilen vd. (2014) yapmış oldukları çalışmalarda tetra ile beslenen Koi balıklarının *A. hydrophila* ve *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlarına karşı etkili olduğunu göstermiştir. Gültepe vd. 2014 yaptıkları çalışmada kekik (*Thymus vulgaris*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve çemen otunun tilapia balıklarında (*Trigonella foenum graecum*) *Streptococcus iniae* hastalığına karşı koruma oluşturduğunu göstermiştir.



Şekil 4.5. Kayın mantarı ve Isırgan otu içeren yemlerle beslenen alabalıklarda Yaşama Oranı

5. SONUÇLAR

Denemenin başlatıldığı ilk gün ve deneme sonu elde edilen verilere göre canlı ağırlık artışı açısından tüm gruplarda, kontrol grubuna oranla önemli derecede artışlar gözlenmiştir. Grupların kendi içerisinde farklılık gözlenmezken % 0,5 ısırgan otu ile beslenen gruplarda canlı ağırlık artışı diğer gruplara göre önemli derecede artış gözlenmiştir.

Balıklarda gelişim performansını belirlemede, sağlıklı ve kaliteli balık üretmede önemli bir parametre olan, yem değerlendirme oranı tüm gruplarda kontrol grubuna oranla önemli derecede azalış tespit edilmiştir. En düşük yem değerlendirme oranı ise % 0,1 kayın mantarı özütü içeren grupta gözlenmiştir.

Balıkların büyüme potansiyellerini doğru tahmin etmek, enerji veya günlük verilecek yem miktarını doğru hesaplamada kullanılan spesifik büyüme oranında deneme grupları arasında fark gözlenmezken, kontrol grubuna oranla değişim gözlenmiştir.

Bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimlerin tespit edilmesinde özellikle kullanılan yöntemlerden biri olan NBT aktivitesi, hem kayın mantarı grubunda hem de ısırgan otu grubunda önemli derecede artış gözlenmiştir. Kayın mantarı ve ısırgan otunun hangi parametrelerinin bu özellikleri tetiklediği ayrı bir çalışma konusunu oluşturmaktadır.

Fagozitozis balıkların savunma mekanizmasında gözlenen en temel aktivitedir. Bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan kayın mantarı ve ısırgan otunun alabalıkların fagozitik aktivitelerini tüm gruplarda önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Gruplar kendi içinde ve birbirleriyle kıyaslandıklarında ısırgan otu gruplarının fagozitik aktivitelerinde önemli derecede artış olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen verilere göre tüm grupların lizozim aktiviteleri kontrol grubuna göre önemli derecede artmıştır. Gruplar kendi içerisinde incelendiğinde ise kayın mantarı % 0,1, kayın mantarı % 0,5 ve ısırgan otu % 0,1 grupları arasında farklılık gözlenmemiştir. Isırgan otu % 0,5 grubu diğer tüm gruplardan yüksek olmuştur.

Çalışma sonunda elde edilen veriler ışığında tüm deneme gruplarının MPO aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli derecede artmıştır. Gruplar kendi içerisinde incelendiğinde en yüksek MPO aktivitesi ısırgan otu gruplarında tespit edilmiş, bununla birlikte özellikle en yüksek artış % 0,5 ısırgan otu içeren grupta tespit edilmiştir. Hem ısırgan otu hem de kayın mantarı alabalıklarda MPO aktivitesini olumlu yönde etkileyerek bağışıklık sistemini uyarılmışlardır.

Deneme sonunda elde edilen yaşama oranlarına göre kontrol grubu ile kayın mantarı grubu arasında farklılık olmazken bu durum ısırgan otu grubunda farklılık göstermiştir. Isırgan otu grubu içerisinde bir farklılık gözlenmezken diğer gruplara göre yaşama oranları yüksek olmuştur.

Kontrol testleri bağışıklık uyarıcı maddelerin, kimyasalların ya da bitkilerin kullanıldığı çalışmalarda referans noktası olarak önem arz etmektedir. Özellikle alabalıklarda sıklıkla hastalıklara sebep olan *Aeromonas hydrophila* bakterisine karşı; çalışmamızda da elde edilen sonuçlar doğrultusunda ısırgan otunun önemli bir koruyucu olabileceği yönünde olmuştur.

6. ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiriciliğinde esas konularından birisi üreticilerin birim alanda maksimum verim elde etmeyi amaçlamasıdır. Verimde istenen noktaya gelmek için yoğun üretim sistemlerinde stok yoğunluğu ve diğer uygulamalar balıkların sağlığını olumsuz etkilemekte ortam şartlarının bozulmasına neden olmaktadır. Bu şartlar doğal olarak balıkların bağışıklık sistemini de olumsuz yönde etkilemekte, hastalıklarda tedavi yöntemini değil koruma unsurunu öne çıkarmaktadır. Bunların yoğun üretim sisteminde karşılanabilmesi ancak balıkların daha aktif ve uyarılmış bağışıklık sistemine sahip olmaları ile mümkündür.

Hastalıkların tedavisinde birçok antibiyotik ve aşı kullanılmaktadır. Fakat bazı hastalıklar için henüz tedavi yöntemi bulunamamıştır. Bu gibi hastalıkların tedavi edilmesinde bitkisel kaynakların yemlere uygulanmasının etkili olup olmayacağı araştırılmalı, böylece maliyet azaltılarak sağlıklı türlerin gelişimi sağlanabilmelidir.

Araştırmalarda farklı bitki, vitamin gibi yapıların bağışıklık güçlendirici etkisinin olduğu ve kullanılabilirliği tespit edilmiştir. Bunların içeriğindeki hangi bileşenlerin bağışıklığı uyardığı ve üreticiler için en kolay şekilde bunun nasıl piyasaya sunulabileceği araştırılmalıdır.

Araştırmalar kimyasaldan uzaklaşarak doğal, çevreyi kirletmeyen, balık için olumsuz etki oluşturmayacak alternatif kaynaklar bulma doğrultusundadır. Üreticilere kimyasalların olumsuz etkileri konusunda daha fazla bilgi verilmeli ve çalışmalarda uygulandığı müspet şekilleri ile bağışıklık güçlendirici ürünlerin piyasaya sunularak su ürünleri yetiştiricilerinin bunları kullanmaları teşvik edilmelidir.

Balıklarda görülen *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. gibi birçok bakteri türü insanlara da geçerek yaşayabilmektedir. Bununla birlikte bilinçsiz kullanılan ve balık bağırsağından emilemeyerek soframıza kadar ulaşan antibiyotikler mevcuttur. Önemli olan, hastalık görüldüğünde tedavi etmek için uğraşmak değil, uygun koşullarda, bağışıklığı güçlü bireyler elde ederek hastalığa karşı balığı fizyolojik ve kimyasal olarak korumaktır.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2015). Doğal bağışıklık. Y.Camcıoğlu, G.Deniz (Eds), Temel İmmünoloji. 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevi.
- Abd-El-Rhman, A.M. (2009). Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by Propolis and Its Effect On The Performance Of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunology, 27(3), 454-459. doi: 10.1016/j.fsi.2009.06.015
- Abdel-tawwab, M., Ahmad, H.M., Seden, M.E., Sakr, S.F.M. (2010). Use of Green Tea, (*Camellia sinensis L.*), in Practical Diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, (*Oreochromis niloticus L.*), Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Journal of The World Aquaculture Society, 41,s(2), 203-213. doi: 10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x
- Akaylı, T. (2001). Kültür Çipura Balıklarında (*Sparus auratus*, L 1758) *Vibriosis*'in ELISA ve Bakteriyolojik Yöntemlerle Teşhisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Akşit, D., Kum, C. (2008). Gökkuşuğu Alabalıkları'nda (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Sık Görülen Patojen Mikroorganizmaların Tespiti ve Antibiyotik Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi. YYÜ Vet. Fak. Dergisi, 19(1), 1-7.
- Alexander, C.P., Kirubakaran, C.J., Michael, R.D. (2010). Water soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in *Oreochromis mossambicus*. Fish Shellfish Immunol, 29(5), 765–772. doi: 10.1016/j.fsi.2010.07.003
- Alınterim, B. (2011). Balık immünolojisi, Bitkisel ve Kimyasal İmmünostimulantlar. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 1(4), 69-76.
- Anbarasu K., Chandran M.R. (2001). Effect Of Ascorbic Acid On The İmmune Response Of The Catfish, *Mystus gulio* (Hamilton), To Different Bacterins Of *Aeromonas Hydrophila*. Fish Shellfish Immunology, 11, 347–355. doi:10.1006/fsim.2000.0322
- Anderson, D.P., Siwicki, A.K. (1994). Simplified assays for measuring non-specific defence mechanisms in fish; Fish Health Section. Am. Fisheries Soc. Meeting, Seattle, WA, USA, pp. 1–26.
- A.O.A.C.,(1995). Official methods of analysis of the association of the official analysis chemists. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M. (2002). Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayınevi.

- Ashida, T., Okimasu, E. (2005). Immunostimulatory Effects Of Fermented Vegetable Product On The Non-Specific Immunity Of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. Fisheries Science, 71, 257-262. doi: 10.1111/j.1444-2906.2005.00958.x
- Ashraf, M.A., Goda, S. (2008) Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. Journal of World Aquaculture Society, 39(2), 205–214. doi:10.1111/j.1749-7345.2008.00153.x
- Atamanalp, M., Uçar, A., Alak, G. (2012). Balıkların Bağışıklık Sistemi Üzerine Çevresel Toksikantların Etkileri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6(1), 124-127.
- Ayan, A.K., Çalışkan, Ö., Çırak, C. (2006). Isırgan Otu (*Urtica spp.*)’nun Ekonomik Önemi ve Tarımı, OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21(3), 357-363.
- Bagni, N., Archetti, L., Amadori, M., Marino G., (2000). Effect of Long term Oral Administration Of An Immunostimulant Diet On Innate Immunity In Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Vet. Med., 47(10), 745-751. doi: 10.1111/j.1439-0450.2000.00412.x
- Bagni, M., Romano, N., Finioia, M.G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P.G., Sarti, M., Marino G. (2005). Short- and Long-Term Effects of a Dietary Yeast B-Glucan (Macrogard) and Alginic Acid (Ergosan) Preparation on Immune Response in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Shellfish Immunology, 18(4), 311-325. doi:10.1016/j.fsi.2004.08.003
- Bilen, S., Bulut, M. (2010). Effects of Laurel (*Laurus nobilis*) on the Non-Specific Immune Responses of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Journal of Animal and Veterinary 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 Shellfish Immunology, 30 (2), 451-455. doi: 10.1016/j.fsi.2010.12.013.
- Bilen, S., Bilen, M. (2012). Tetra (*Cotinus coggyria*) ve Defne (*Laurus nobilis*) Bitkilerinin Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Büyüme Teşvik Edici Etkileri, Alınları 22(B) 26-33.
- Bilen, S., Bilen, M.A., Yılmaz, S. (2013). Influence of Tetra(*Cotinus coggyria*) Extract against *Vibrio Anguillarum* Infection in Koi Carp, *Cyprinus carpio* with Reference to Haematological and Immunological Changes. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13(3), 517-522. doi: 10.4194/1303-2712-v13_3_16

- Bilen, S., Yılmaz, S., Bilen, M.A., Biswas, G. (2014). Effects of dietary incorporation of tetra (*Cotinus coggygia*) extract on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in koi Carp (*Cyprinus carpio*), 7 pages. The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh. 66, 1-6.
- Blazer, V.S., Wolke, R.E. (1984). The Effects of α -tocopherol on Immune Response and Non-Specific Resistance Factors of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 37(1), 1–9. doi: 10.1016/0044-8486(84)90039-5
- Brovkovich, V., Gao, X.P., Ong, E., Brovkovich, S., Brennan, M.L., Su, X., et al. (2008). Augmented inducible nitric oxide synthase expression and increased NO production reduce sepsis-induced lung injury and mortality in myeloperoxidase-null mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 295(1), L96–L103. doi: 10.1152/ajplung.00450.2007
- Borregaard, N., Sorensen, O.E, Theilgaard-Monch, K. (2007). Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins *Trends Immunol*, 28(8), 340–345.
- Can, E., Kurtoğlu, İ.Z., Kayım, M., Akhan, S., Kızak, V., Kocabaş, M., Köse, Ö., Demirtaş, N., Sonay Delihasan, F., Othan, A. (2011). Alabalıklarda Probiyotik Uygulamaların Bugünü ve Geleceği. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4(1), 45-52.
- Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer J., Esteban M. A. (2008). Effects of Inulin on Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Innate Immune Parameters. *Fish Shellfish Immunology*, 24(5), 663-668. doi:10.1016/j.fsi.2007.10.002
- Cerezuela, R., Cuesta, A., Meseguer J. ve Esteban M.A. (2009). Effects of Dietary Vitamin D3 Administration on Innate Immune Parameters of Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunology*, 26(2), 243–248. doi:10.1016/j.fsi.2008.11.004
- Choudhurya D., Pal, A.K., Saha N.P., Kumara S., Dasb S.S., Mukherjeeb S.C. (2005). Dietary Yeast RNA Supplementation Reduces Mortality by *Aeromonas hydrophila* In rohu (*Labeo rohita* L.) Juveniles. *Fish Shellfish Immunology*, 19(3), 281-291.
- Cohen, R., Persky, L., Hadar, Y. (2002). Biotechnological Applications and Potential of Wood-Degrading Mushrooms of the Genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(5), 582- 594.
- Cook T.M., Hayball J.P., Hutchinson W., Nowak F.B. ve Hayball D.J. (2003). Administration of a Commercial Immunostimulant Preparation, EcoActiva™ as a Feed Supplement Enhances Macrophage Respiratory Burst and The Growth Rate Of Snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider)) In Winter. *Fish Shellfish Immunology*, 14(4), 333–345. doi:10.1006/fsim.2002.0441

- Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban A.M., Meseguer, J. (2005). In Vivo Effects of Propolis, a Honeybee Product, on Gilthead Seabream Innate Immune Responses. *Fish Shellfish Immunology*, 18(1), 71-80. doi: 10.1016/j.fsi.2004.06.002
- Daba, A.S., Ezorenye, O.U. (2003). Anti-cancer Effect of Polysaccharides Isolated from Higher Basidiomycetes Mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 672-678.
- Dalmo, R.A., Ingebrigtsen, K., Sveinbjornsson, B., Seljelid, R. (1996). Accumulation of Immunomodulatory Laminaran (β (1-3) -D-glucan) in The Heart, Spleen and Kidney of Atlantic Cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Disease*, 19(2), 129-136.
- Divyagnaneswari, M., Christyapita, D., Michael, R.D. (2007). Enhancement Of Nonspecific Immunity And Disease Resistance In *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* Leaf Fractions. *Fish Shellfish Immunology*, 23(2), 249-259. doi:10.1016/j.fsi.2006.09.015
- Dörücü, M., Özesen çolak, S., İspir, U., Altınterim, B., Celayir, Y. (2009). The Effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the Immun Response of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 2(2), 1-7.
- Düğenci, S., Arda, N., Candan, A. (2003). Some Medical Plants as Immunostimulant for Fish. *Journal of Ethnopharmacology*; 88(1), 99-106. doi:10.1016/S0378-8741(03)00182-X
- Dürücü, M., İspir, Ü., Türk, C. (2005). Levamisolün Gökkuşacağı Alabalığı'nın (*Oncorhynchus mykiss*, W) Bazı Kan Parametrelerine Etkisinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh. Bilimler Dergisi*, 17(2), 405-411.
- Esteban, A.M., Rodriguez, A., Cuesta, A., Meseguer J. (2005). Effects of Lactoferrin on Non-Specific Immune Responses of Gilthead Seabream (*Sparus auratus* L.). *Fish Shellfish Immunology*, 18(2), 109-124.
- Gatta, P.P., Thompson, K.D., Smullen, R., Piva, A., Testi, S., Adams, A. 2001. Dietary Organic Chromium Supplementation and Its Effect on The Immune Response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunology*, 11(5), 371–382. doi:10.1006/fsim.2000.0323
- Grinde, B., Lie, O., Poppe, T., Salte, R. (1988). Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. *Aquaculture*, 68(4), 299–304. doi:10.1016/0044-8486(88)90243-8
- Gopalakannan, A., Arul, V. (2006). Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin, Chitosan ve Levamisole on Immune System of *Cyprinus carpio* and Control of *Aeromonas hydrophila* Infection in Ponds. *Aquaculture*, 255, 179-187.

- Gupta, K.S., Pal, K.A., Sahu, P.N., Dalvi, R., Kumar, V., Mukherjee, C.S. (2008). Microbial Levan in the Diet of *Labeo rohita* Hamilton Juveniles: Effect on Non-Specific Immunity and Histopathological Changes After Challenge with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fish Diseases*, 31(9), 649–657. doi: 10.1111/j.1365-2761.2008.00939.x
- Gültepe, N., Bilen, S., Yılmaz, S., Güroy, D., Aydın, S., 2014. Effects of herbs and spice on health status of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) challenged with *Streptococcus iniae*. *Acta Veterinaria Brno*. 83, 125-131. doi:10.2754/avb201483020000
- Gündoğdu, H., Çakmak, N.M. (2010). Gökkuşığı Alabalığında(*Oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792) Farklı Çinko Formlarının Büyüme, Sindirim ve Doku Çinko Düzeyleri Üzerine Etkileri. *Fırat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*, 22(1), 1-9.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. (2005). Modern Trends in *Aeromonas hydrophila* Disease Management with Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 13(4), 281-320. doi:10.1080/10641260500320845
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C. (2009). Gıdalarda Hareketli *Aeromonas*'lardan Kaynaklanan Sağlık Riskleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 69-74.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z., Anderson, D.P. (1997). Prevention of Stress in Rainbow Trout (*O. mykiss*) Fed Diets Containing Different Doses of Glucan. *Aquaculture*, 154(1), 1-15. doi:10.1016/S0044-8486(97)00042-2
- Jeney G. ve Jeney Z. (2002). Application of Immunostimulants for Modulation of the Non-Specific Defense Mechanisms in Sturgeon Hybrid: *Acipenser ruthenus* x *A. baerii*. *Journal of Applied Ichthyology*, 18(4-6), 416–419. doi:10.1046/j.1439-0426.2002.00405.x
- Kav K., Erganis O. (2008). Balıklarda Bağışıklık Sistemi. *Vet. Bil. Dergisi*, 24(1), 97-106.
- Keleş O., Candan A., Bakırel T. ve Karataş S. (2002). Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Zeranolün Anabolik Etkinliği Ve Spesifik Olmayan Ümmun Sisteme Yönelik Etkisinin İncelenmesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 26, 925-931.
- Keleştemur Tuna, G. (2012). Gökkuşığı Alabalığı Yavrularının(*Oncorhynchus mykiss*, w.1792) Diyetlerine Katılan β -Karotenin Doku MDA Düzeyine Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 26(2), 61-64.
- Kılıç, A., Şeker, E., Özcan, M., İspir, Ü. (2007). Elazığ'daki Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) İşletmelerinin Bakteriyel Yönden İncelenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 19(2), 129-132.

- Kirubakaran, C.J.W., Alexander, C.P., Michael, R.D. (2010). Enhancement of non-specific immune responses and disease resistance on oral administration of *Nyctanthes arbor-tristis* seed extract in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture Research*, 41 (11), 1630-1639.
doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02516.x
- Klebanoff, S.J., Kettle, A.J., Rosen, H., Winterbourn, C.C., Nauseef, W.M. (2013). Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *Journal of Leukocyte Biology*, 93(2), 185–198.
doi:10.1189/jlb.0712349
- Klesius P.H. ve Sealy W.M., 1996. Chemotactic and Chemokinetik Responses of Channel Catfish Macrophages to Exoantigen from *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 8(4), 314-318.
doi:10.1577/1548-8667(1996)008<0314:CACROC>2.3.CO;2
- Korkut, A.Y., Kop, A., Demirtaş, N., Cihaner, A. (2007). Balık Beslemede Gelişim Performansının İzlenme Yöntemleri. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*,24(1-2), 201-205.
- Kumari, J., Swain, T., Sahoo, P.K. (2003). Dietary Bovine Lactoferrin Induces Changes in Immunity Level and Disease Resistance in Asian Catfish *Clarias batrachus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94(1-2), 1-9.
doi:10.1016/S0165-2427(03)00065-5
- Kumari J., Sahoo P.K. (2006). Non-Specific Immune Response Of Healthy And Immunocompromised Asian Catfish (*Clarias batrachus*) To Several Immunostimulants. *Aquaculture*, 255(1-4), 133-141.
[doi:10.1016/j.aquaculture.2005.12.012](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.012)
- Kunttu, H.M.T., Valtonen, E.T., Suomalainen, L.R., Vielma, J., Jokinen I.E. (2009). The Efficacy of Two Immunostimulants Against *Flavobacterium Columnare* Infection in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunology*, 26(6), 850-857. doi:10.1016/j.fsi.2009.03.013
- Lehrer, R.I., Hanifin, J., Cline, M.J. (1969). Defective bactericidal activity in myeloperoxidase-deficient human neutrophils. *Nature*, 223, 78–79.
doi:10.1038/223078a0
- Lehrer, R.I., Cline, M.J. (1969). Leukocyte myeloperoxidase deficiency and disseminated candidiasis: the role of myeloperoxidase in resistance to *Candida* infection. *The Journal of Clinical Investigation*, 48(8), 1478–1488.
doi: 10.1172/JCI106114
- Liang, M., Wang, J., Chang, Q., Mai, K., (2006). Effects Of Different Levels Of Fish Protein Hydrolysate In The Diet On The Nonspecific Immunity Of Japanese Sea Bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1828). *Aquaculture Research*, 37(1), 102-106. doi: 10.1111/j.1365-2109.2005.01392.x

- Li, P., Wen, Q., Gatlin M. (2009). Dose-Dependent Influences of Dietary β -1,3-Glucan on Innate Immunity and Disease Resistance of Hybrid Striped Bass *Morone chrysops* X *Morone saxatilis*. *Aquaculture Research*, 40(14), 1578-1584. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02257.x
- Li P., Wang X. ve Gatlin M.D., 2006. Evaluation of Levamisole as a Feed Additive for Growth and Health Management of Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 251(2), 201–209. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.11.015
- Magnadottir, B., (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. 20(2), 37–151. doi:10.1016/j.fsi.2004.09.006
- Maqsood, S., Samoon, M.H., Singh, P. (2009). Immunomodulatory and Growthpromoting Effect of Dietary Levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings Against the Challenge of *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9, 111-120.
- Misra K.C., Das K.B., Mukherjee C.S., Pattnaik P., (2006). Effect Of Multiple Injections Of β -Glucan On Non-Specific Immune Response And Disease Resistance In *Labeo rohita* Fingerlings. *Fish Shellfish Immunology*, 20(3), 305-319. doi:10.1016/j.fsi.2005.05.007
- Nazıroğlu, M., İspir, Ü., Yonar, M.E. (2003). Balıklarda E vitamininin İmmün Cevap Üzerine Etkileri. *Kafkas Üniversitesi Vet. Fak. Dergisi*, 9(1), 101-106.
- Nya, E.J., Austin, B., 2009. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32, 963-970.
- Nya, E., Austin, B., 2009. Use of Dietary Ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an Immunostimulant to Control *Aeromonas hydrophila* Infections in Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Diseases*, 32, 971- 977.
- Ocak, F. (2006). Balıklarda Lenfoid Organlar ve İmmün Sistemin Özellikleri. *Erciyes Üniversitesi Vet. Fak. Dergisi*, 3(1), 61-66.
- Ortuno, J., Esteban, M. A., Meseguer J., (1999). Effect of High Dietary Intake of Vitamin C on Non-Specific Immune Response of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunology*, 9(5), 429–443. doi:10.1006/fsim.1998.0201
- Ortuno J., Esteban M. A. ve Meseguer J., (2000). High Dietary Intake Of alpha-Tocopherol Acetate Enhances The Non-Specific Immune Response Of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol*, 10(4), 293–307.
- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H., (2001). Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam (Gıda ve Tedavi), 4RENK Yayınları, ISBN: 975-8205-08-0. Sh. 253.

- Pakravan, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R. (2012). Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquac Res*, 43, 861-869. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02901.x
- Poppenga, R.H., (2002). Herbal medicine: Potential for intoxication and interactions with conventional drugs. *Topics in Companion Animal Medicine*, 17(1), 6-18. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/svms.2002.27785>
- Quade, M.J., Roth, J.A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Veterinary Immunology and Immuno pathology*, 58(3), 239-248.
- Rairakhwada D., Pal A.K., Bhatena Z.P., Sahu N.P., Jha A., Mukherjee S.C.,(2007). Dietary Microbial Levan Enhances Cellular Non-Specific Immunity and Survival Of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Juveniles. *Fish Shellfish Immunology*, 22(5), 477-486. doi:10.1016/j.fsi.2006.06.005
- Rijkers, G.T., Teunissen, A.G., Van oosterom, R., Van muiswinkel, W.B., (1980). The Immune System of Cyprinid fish. The Immunosuppressive Effect of The Antibiotic Oxytetracycline in Carp. *Aquaculture*. 19(2), 177–189. doi:10.1016/0044-8486(80)90018-6
- Rodriguez A., Cuesta A., Esteban M.A. ve Meseguer J.(2004). The Effect Of Dietary Administration Of The Fungus *Mucorcircinelloides* On Non-Specific Immune Responses Of Gilthead Seabream. *Fish Shellfish Immunology*, 16, 241–249.
- Sahoo, P.K, Kumari, J., Mishra, B.K. (2005). Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *J Appl Ichthyol*, 21, 151-155.
- Sahu, S., Das, B. K., Mishra, B. K., Pradhan, J., Sarangi, N.,(2007). Effect of *Allium sativum* on the Immunity and Survival of *Labeo rohita* Infected with *Aeomonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*. 23(1), 80-86. doi: 10.1111/j.1439-0426.2006.00785.x
- Sakai, M. (1999). Current Research Status of Fish Immunostimulants. *Aquaculture*, 172(1-2), 63-92. doi:10.1016/S0044-8486(98)00436-0
- Sakai M., Taniguchi K., Mamoto K., Ogawa H., Tabata M. (2001). Immunostimulant Effects Of Nucleotide Isolated From Yeast RNA On Carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 24(8), 433-438. doi: 10.1046/j.1365-2761.2001.00314.x
- Sarder, R., Thompson, K., Penman, D., Mcandrew, B., (2000). Immun Responses of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Clones: I. Non-Specific Responses. *Developmental and Comperative Immunology*, 25(1), 37-46. doi:10.1016/S0145-305X(00)00040-9

- Sarıhan, F. (2005). Tilapia(*Oreochromis niloticus*)'larda Levamisol ve *Streptococcus iniae* Uygulamasından Sonra Oluşan İmmün Yanıtın İzlenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects nonspecific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 41(1-2), 125-139. doi: 10.1016/0165-2427(94)90062-0
- Siwicki, A.K., Korwin-Kossakowski, M. 1988. The influence of levamisole on the growth of carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 4(4), 178-181. doi: 10.1111/j.1439-0426.1988.tb00559.x
- Şahan, A., Duman, S. (2010). Influence of β - 1,3/ 1,6 Glucan Applications on Some Non-Specific Cellular Immune Response and Haematologic Parameters of Healthy Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L., 1758). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 34(1), 75-81.
- Taylor, L. 2005. The Healing Power of Rain forest Herbs. 24/02/2015 tarihinde http://www.rain-tree.com/book2.htm#.VOu3v_msVtw adresinden alınmıştır.
- Thanikachalam, K., Kasi, M., Rathinam, X. (2010). Effect of Garlic Peel on Growth, Haematological Parameters and Disease Resistance Against *Aeromonas hydrophila* in African Catfish (*Clarias gariepinus*) Fingerlings. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 3(8), 614-618. doi:10.1016/S1995-7645(10)60149-6
- Tewary, A., Patra, B.C. (2008). Use Of Vitamin C as An Immunostimulant. Effect On Growth, Nutritional Quality, and Immune Response of *Labeo rohita* (Ham.). *Fish Physiol Biochem*, 34(3), 251–259.
- Ünal, S. (2005). Orman Fitopatolojisi, Kastamonu Orman Fakültesi II. Baskı, Kastamonu.
- Ünal, S., Özcan, E. (2008). Kastamonu Yöresinde Kayın ve Kavak Kütüklerinde *Pleurotus ostreatus* (Jack. Ex. Fr.) Kum. (Kayın Mantarı) Üretiminin Araştırılması. Türkiye VIII. Yemeklik Mantar Kongresi, Aslanbey M. Y. O, İzmit.
- Ünal, S., Güney K., Evcin, Ö. (2012). Kastamonu Yöresinde Ağaç Mantarları Yetiştiriciliği. Kırgızistan Birinci Uluslararası Biyoloji Kongresi, Bişkek, Kırgızistan.
- Ünal, S. (2012). Kayın (İstiridye) Mantarı (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.)) Yetiştiriciliği Tanıtım El Kitabı, KÜMMER basılmamış yayın,2012.
- Van der Veen, B.S., de Winther M.P., Heeringa, P. (2009). Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease *Antioxid Redox Signal*, 11(11), 2899–2937. doi: 10.1089/ARS.2009.2538.

- Verlhac, V., Obach, A., Gabaudan, J., Schuep, W., Hole R., 1998. Immunomodulation by Dietary Vitamin C and Glucan in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunology*, 8, 409–424.
- Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z., Jeney, G. (2009). Chinese Herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) Enhance Immune Response of Carp, *Cyprinus carpio*, and Protection Against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunology*, 26(1), 140–145. doi:10.1016/j.fsi.2008.08.015
- Yousef, M.A.A, Zaki, H.V., Abdelkhalek, M.K.N. (2008). Effect of Some Immunostimulants on Health Status and Disease Resistance of Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*). *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 1073.
- Yousif, A.N., Albright, L.J., Evelyn, T.P.T. (1991). Occurrence of lysozyme in the eggs of coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Dis Aquat Org*, 10, 45–49.
- Zhou, L., Wang, X., Liu, Q., Wang, Q., Zhao, Y., Zhang Y.X. (2010). A novel multivalent vaccine based on secretory antigen-delivery induces protective immunity against *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas hydrophila* *J Biotechnol*, 146(1), 25–30. doi: 10.1016/j.jbiotec.2009.12.010.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hatice GÜVENSOY
Doğum Yeri ve Yılı : Konya- 25/04/1989
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : htcgvnsy89@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Özel Lale Lisesi (2004-2007)
Lisans : Kastamonu Üniversitesi- Orman Mühendisliği (2008-2012)