

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ANASON (*Pimpinella anisum*)’UN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI VE SPESİFİK OLMAYAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE İMMUNOSTİMULAN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Saadet Yağmur ÇELİK

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ**

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ANASON (*Pimpinella anisum*)’UN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI VE SPESİFİK OLMAYAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE İMMUNOSTİMULAN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Saadet Yağmur ÇELİK

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

TEMMUZ 2021

ANTALYA

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

**ANASON (*Pimpinella anisum*)’UN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI VE SPESİFİK OLMAYAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE İMMUNOSTİMULAN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

**Saadet Yağmur ÇELİK
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FDK-
2020-5028 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANASON (*Pimpinella anisum*)’UN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA
(*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI VE SPESİFİK OLMAYAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE İMMUNOSTİMULAN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Saadet Yağmur ÇELİK
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 09/07/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Jale KORUN (Danışman)
Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU
Prof. Dr. Öznur DİLER
Prof. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN
Dr. Öğr. Üyesi Baki AYDIN

ÖZET

ANASON (*Pimpinella anisum*)’UN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI VE SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE İMMUNOSTİMLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Saadet Yağmur ÇELİK

Doktora Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Jale KORUN

Temmuz 2021; 130 sayfa

Bu çalışmada anason (*Pimpinella anisum*)’un gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine immunostimulan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla anasonun alabalıklarda, lökosit ve eritrosit sayısı, hemotokrit değeri, NBT (Nitrablu Tetrazolium), fagositoz aktivitesi, serum lizozim aktivitesi, kanın biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri, karaciğer, böbrek, dalak, solungaç ve bağırsak dokuları üzerine histolojik etkisi ile gökkuşığı alabalıklarının büyüme parametreleri üzerine olan etkisi ve sindirilebilirlik durumu da incelenmiştir. Bu amaç ile anasonun toz formunun %0,1, %0,5, %1,5 %3, %5 oranlarında eklenmesiyle hazırlanan yemler ve bir kontrol yemi ile alabalıklar 56 gün boyunca beslenmiştir. 4. ve 8. hafta bitiminde balıkların ağırlıkları ölçülmüş ve kan örnekleri alınarak analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, anasonun gökkuşığı alabalıklarında büyümeyi desteklemek amacıyla %0,1 ile %1,5 oranında kullanılabilir olduğu anlaşılmıştır. Alabalıkların bağışıklık sistemini desteklemek için ise %1,5 oranında ve 28 gün süre ile kullanılabileceği, yüksek dozlarda (%3-%5) kullanımının hematolojik, serolojik ve immünolojik parametreler üzerine negatif etki ettiği tespit edilmiş ve bu histolojik çalışmalar ile de doğrulanmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Anason, Bağışıklık, Gökkuşığı Alabalığı, İmmunostimulan

JÜRİ: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Prof. Dr. Öznur DİLER

Prof. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN

Dr. Öğr. Üyesi Baki AYDIN

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE IMMUNOSTIMULANT EFFECT OF ANISE (*Pimpinella anisum*) ON GROWTH PERFORMANCE AND NON-SPECIFIC IMMUNE SYSTEM IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Saadet Yağmur ÇELİK

PhD Thesis in Aquaculture Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Jale KORUN

July 2021; 130 pages

In this study, it was aimed to determine the immunostimulant effect of anise (*Pimpinella anisum*) on the non-specific immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In order to determine the effect of anise on the non-specific immune system of fish, its effects on leukocyte and erythrocyte count, hematocrit value, NBT (Nitrablue Tetrazolium), phagocytosis activity and serum lysozyme activity, biochemical parameters of blood and histological studies on liver, kidney, spleen, gill and intestinal tissues, effect on the growth parameters and digestibility of rainbow trout were also investigated. For this purpose, the baits prepared by adding the powder form of anise at the rates of 0,1%, 0,5%, 1,5%, 3%, and a control feed were fed to the trout for 56 days. At the end of the 4th and 8th weeks, the weights of the fish were measured and blood samples were taken and analyzed. It has been understood that anise can be used at a rate of 0,1% to 1,5% to support the growth of rainbow trout. It has been determined that trout can be used at a rate of 1,5% and for 28 days to support the immune system, and that the use of high doses (3%-5%) has a negative effect on hematological, serological and immunological parameters, and this has been confirmed by histological studies.

KEYWORDS: Anise, Immunity, Immunostimulant, Rainbow Trout

COMMITTEE: Prof. Dr. Jale KORUN

Prof. Dr. Mehmet GÖKOĞLU

Prof. Dr. Öznur DİLER

Prof. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN

Asst. Prof. Dr. Baki AYDIN

ÖNSÖZ

Yürütülen bu doktora tez çalışmasında, balık hastalıkları ile mücadelede kemoterapotik kullanımını azaltmak amacıyla, yemlere immünostimulan olarak anason eklenip balıkların bağışıklık sisteminin kuvvetlendirilmesi amaçlanmıştır.

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden daima faydalandığım, her konuda yardım ve hoşgörüsü ile destek olan sayın danışman hocam Prof. Dr. Jale KORUN'a en içten dileklerle teşekkür ederim. Tez izleme komitesinde bulunan Sayın Prof. Dr. Öznur Diler ve Prof. Dr. Mehmet Gökoğlu ve tez savunma jürisinde bulunan Prof. Dr. Rüştü ÖZEN ile Dr. Öğr. Üyesi Baki AYDIN'a katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Tez projemin sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi adına, bana kurumlarını ve tüm imkanlarını sonuna kadar açan T.C. Tarım Orman Bakanlığı, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü'ne ve personellerine teşekkürü bir borç bilirim. Deneme ünitesinin kurulması ve denemenin yürütülmesi boyunca katkılarını ve önerilerini benden esirgemeyen, yönlendirmeleriyle bu çalışmaya katkısı bulunan değerli hocam Doç. Dr. Hüseyin SEVGİLİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Arazi örneklemelerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Ahmet MEFUT, Vet. Hekim Eda ONUR VURAL, Vet. Hekim Cemil Onurcan GÜÇLÜ ve Vet. Hekim Ufuk OĞUZ' a, kimyasal analizleri içeren kısımlarında destek oldukları için Dr. Faruk PAK ve Dr. Özgür AKTAŞ'a;

Hayatım boyunca yanımda olan ve beni her daim destekleyen annem Gülay Eldemir'e; projenin yürütülmesi sırasında her türlü desteği bana sağlayan kayınvalidem Ayşe ÇELİK ve kayınpederim Ömer ÇELİK'e; gösterdikleri anlayış ve desteklerden dolayı eşim Erkan Osman ÇELİK ve oğlum Ömer Ege ÇELİK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xviii
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK TARAMASI	3
2.1.Gökkuşuğu Alabalığı.....	3
2.2.Balıklarda Büyüme Performansı	4
2.2.1. Yem dönüşüm oranı (FCR)	5
2.2.2. Spesifik büyüme oranı (SBO).....	5
2.3. Balık Hematolojisi	5
2.3.1. Kanın hücresel elementleri	6
2.3.1.1. Eritrositler	6
2.3.1.2. Lökositler	6
2.3.2. Kanın hümmoral elementleri	8
2.3.3. Kanın Biyokimyasal Parametreleri	9
2.4. Balık İmmünolojisi.....	10
2.4.1. Primer lenfoid organlar	11
2.4.2. Sekonder lenfoid organlar	12
2.5. Balıklarda Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi ve Elemanları.....	13
2.5.1. Deri ve mukus.....	13
2.5.2. Fagositik hücreler	14
2.5.3. Lizozim	14
2.5.4. C-reaktif proteinleri.....	14
2.5.5. Kompleman	15
2.5.6. Transferrin.....	15
2.6. İmmünostimulanlar	16

2.6.1. İmmünostimulanların balıklara veriliş şekli ve etkileri.....	16
2.7. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler.....	17
2.7.1 Su ürünleri yetiştiriciliğinde tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ve biyolojik aktiviteleri	17
2.8. Anason (<i>Pimpinella anisum</i>).....	18
2.8.1. Anason bitkisinin botanik, fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	18
2.8.2. Anasonun biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar	19
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Balık Materyalinin Temini, Adaptasyonu ve Denemenin Yürütülmesi	21
3.2. Deneme Ünitesi Su Analizleri.....	22
3.3. Mikrobiyolojik Çalışmalar.....	22
3.4. Denemede Çalışmalarında Kullanılan Yemin Hazırlanması ve Paketlenmesi...	23
3.5. Besin Madde Analizi	28
3.5.1. Kuru madde analizi	29
3.5.2. Ham kül analizi.....	29
3.5.3. Ham yağ analizi	30
3.5.4. Ham protein analizi	30
3.5.5. Yağ asitleri analizi	30
3.5.6. Kromik oksit analizi.....	30
3.6. Anason Tohumunun Büyüme ve Yemden Yararlanma Performansı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi.....	30
3.7. Organ İndeksleri.....	32
3.8. Anason Tohumunun Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	32
3.8.1. Dışkı besin madde analizleri.....	33
3.9. Balıklardan Kan Alımı	33
3.10. Hematolojik ve Serolojik Analizler	34
3.11. İmmünolojik analizler.....	35
3.11.1. NBT (Nitroblue Tetrazolium) (+) hücre Sayımı	35
3.11.2. Serum Lizozim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	36
3.11.3. Fagositik aktivitenin belirlenmesi	37
3.12. Histolojik Analizler	38
3.13. İstatistiksel Analizler	39

4. BULGULAR.....	40
4.1. Deneme Ünitesi Su Analizleri.....	40
4.2. Mikrobiyolojik Analizler	40
4.3. Anason Tohumunun Büyüme ve Yemden Yararlanma Performansı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi.....	41
4.3.1. Canlı ağırlık artışı	41
4.3.2. Spesifik büyüme oranı (SBO).....	42
4.3.3. Yemden yararlanma oranı (FCR).....	43
4.4. Denemede Kullanılan Yemin Analizi	45
4.5. Deneme Grubu Balıkların Besin Madde İçerikleri	46
4.6. Dışkı besin Madde Analizi Sonuçları	48
4.7. Organ İndeksleri.....	51
4.8. Hematolojik ve Serolojik Analiz Sonuçları.....	51
4.8.1. Eritrosit sayısı.....	51
4.8.2. Lökosit sayısı.....	53
4.8.3. Hematokrit değerleri	55
4.8.4. Hemogloblin değerleri.....	56
4.8.5. Diğer hematolojik parametreler	57
4.8.6. Serolojik analiz sonuçları	65
4.9. İmmünolojik Analiz Sonuçları	70
4.9.1. NBT (Nitrablue Tetrazolium) analizi sonuçları.....	70
4.9.2. Serum lizozim aktivitesi	71
4.9.3. Fagositik aktivite ve fagositik indeks	73
4.10. Histolojik Analiz Sonuçları.....	76
5. TARTIŞMA	110
6. SONUÇLAR.....	119
7.KAYNAKLAR	120
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Anason (*Pimpinella anisum*)’un gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)’nda büyüme performansı ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine immunostimulan etkisinin belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

09/07/2021

Saadet Yağmur ÇELİK

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	: Gram
kg	: Kilogram
μ	: Mikron
mm^3	: Milimekreküp
%	: Yüzde
dL	: Desilitre
μL	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
mm	: Milimetre
L	: Litre
Mj	: Megajul
dk	: Dakika
cm	: Santimetre
cm^3	: Santimetreküp
M	: Molar
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir
p	: Olasılık
pg	: Pikogram
fL	: Femtolitre

Tezde ondalık ayırıcı olarak virgül kullanılmıştır.

Kısaltmalar

FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
MEGEP	: Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi
CA	: Canlı ağırlık
CAA	: Canlı ağırlık artışı
SBO	: Spesifik büyüme oranı
OB	: Oransal büyüme
YO	: Yaşama oranı
FCR/YDO	: Yem dönüşüm oranı
BSGM	: Balıkçılık ve su ürünleri genel müdürlüğü
Ig	: Immunoglobulin
Na	: Sodyum
Cl	: Klorür
K	: Potasyum
Ca	: Kalsiyum
P	: Fosfor
MMC	: Melanomakrofaj merkezleri
RES	: Retikuloendotelial sistem
IgM	: İmmünoglobülin M
NBT	: Nitrablu tetrazolium
CRP	: C-Reaktif Proteinleri
BHIA	: Beyin kalp infüzyon agar
CMC	: Karboksimetil selüloz
AOAC	: Association of Official Agricultural Chemists
KOH	: Potasyum hidroksit

Rpm	: Revolutions per Minute
TP	: Total protein
ALB	: Albümin
ALP	: Alkalen fosfatez
GLU	: Glukoz
TBIL	: Total bilirubin
IP	: Serum inorganik fosfor
TCHO	: Total kolesterol
GGT	: Gama glutamil transferaz
GPT	: Alanine aminotransferaz
Ca	: Kalsiyum
CRE	: Kreatin
BUN	: Kan üre azotu
MCV	: Ortalama korpüsküler eritrosit hacmi
MCH	: Eritrosit hücrelerindeki hemoglobin miktarı
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
RDW	: Eritrosit hacmi dağılım genişliği
PLT	: Total trombosit
MPV	: Ortalama trombosit hacmi
PDW	: Trombosit dağılım genişliği
PCT	: Prokalsitonin miktarı
PBS	: Fosfat tamponlu salin
FA	: Fagositik aktivite
Fİ	: Fagositik indeks
Std	: Standart sapma
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

VSI	: Visero-somatik indeks
PÇI	: Plorik çekum indeksi
HSI	: Hepato-somatik indeks
KF	: Kondisyon faktörü
Hv	: Hepatik vena
Si	: Sinizoid,
He	: Hepatosit
H&E	: Hematoksilen&Eozin
L	: Likefaktif nekroz odakları
V	: Vakuoler dejenerasyon
Bp	: Beyaz pulpa,
Kp	: Kırmızı pulpa
PL	: Primer lamel
SL	: Sekonder lamel
M	: Mukus hücreleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Türkiye’ de yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri üretim miktarı.....	1
Şekil 2.1. Ülkemizdeki alabalık üretim miktarlarının yıllara göre değişimi	3
Şekil 2.2. Gökkuşakğı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	4
Şekil 2.3. Balıklarda kan hücrelerinin yapısı	8
Şekil 2.4. Kemikli balıkların immün sistem organları	11
Şekil 2.5. a) Anason çiçeğı; b) Anason tohumu	19
Şekil 3.1. Besleme denemesinin yürütüldüğü sistem.....	21
Şekil 3.2. a). Adaptasyon sürecinde alabalıkların ticari yem ile beslenmesi b) Besleme bitiminde atıkların sifonlanarak ortamdaki uzaklaştırılması.....	22
Şekil 3.3. a) Balıklara paraziter muayene b) nekropsi işleminin uygulanması	23
Şekil 3.4. Anason tohumunun öğütülmesi işlemi	24
Şekil 3.5. Hammaddelerin formülasyona göre karıştırılması işlemi	24
Şekil 3.6. Hammaddelerin su eklenerek hamur kıvamına getirilmesi ve kıyma makinesi ile pelet haline getirilmesi	25
Şekil 3.7. a) Hazırlanan peletlerdeki fazla suyun uzaklaştırılması; b) Deneme yemlerinin etüvde kurutulması	26
Şekil 3.8. a) Peletlerin eleğre alınması; b) Eleme işlemi ile tozların uzaklaştırılması; c) peletlerin poşetlenmesi; d) Partiler halinde hazırlanan yem torbalarından oksijenin uzaklaştırılması amacıyla azot gazı ile muamele edilmesi .	26
Şekil 3.9. a) Tüm vücut örneklerinin homojenize edilmesi; b) homojenize edilen örneklerin kuru madde düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kurutma dolabında bekletilmesi.....	28
Şekil 3.10. a) Tüm vücut örneklerinin kurutma sonrası desikatörde bekletilmesi; b) kurutulan örneklerin besin madde analizleri için öğütülmesi; c) numunelerin paketlenerek saklanması	29
Şekil 3.11. a) Dışkıların sifonlama ile toplama aparatına aktarılması; b) Dışkıların çöktürme aparatından tüplere aktarılması	33
Şekil 3.12. a) Kaudal venadan kan alımı; b) alınan kanın tüplere aktarımı.....	34

Şekil 3.13. a) Santrifüj edilen kandan elde edilen serum; b) Edtalı tüpe alınan kan; c) jelli tüpten elde edilen serumun ayrı tüp içerisinde muhafaza edilmesi	35
Şekil 3.14. a) Kan örneklerinin lam üzerine alınması; b) inkübasyon sonunda lamların yıkanması; c) lamlardaki fazla suyun alınması	36
Şekil 3.15. a) Serum örneklerinin alınması; b) çukurlara koyulması	37
Şekil 3.16. a) Donan parafin bloklardan mikrotom ile kesit alınması; b) doku kesitlerinin sıcak su banyosunda bekletilmesi; c) doku kesitlerinin boyanması; d) boyanan doku kesitlerinin kalıcı preparat haline getirilmesi	38
Şekil 4.1. İnkübasyon süresi sonunda bakteri gelişimi görülmeyen besiyeri	40
Şekil 4.2. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre canlı ağırlık artışı	41
Şekil 4.3. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre spesifik büyüme oranları	42
Şekil 4.4. Çift kırık çizgi modeline göre tahmin edilen, kullanılabilecek minimum ve maksimum anason oranları.....	43
Şekil 4.5. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre yem dönüşüm oranları	44
Şekil 4.6. Yemden yararlanma oranı için kırık çizgi modeli ile tahmin edilen kullanılabilecek maksimum anason düzeyi.....	44
Şekil 4.7. Gökkuşığı alabalığında tespit edilen, kontrol grubuna ait eritrosit hücreleri.....	52
Şekil 4.8. Eritrosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi.....	53
Şekil 4.9. %1,5 anason ilaveli yem ile beslenen gökkuşığı alabalığında tespit edilen monosit (sarı ok) ve lenfosit (kırmızı ok) hücreleri	54
Şekil 4.10. Lökosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi.....	55
Şekil 4.11. Kan örneklerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişen bazı hematolojik parametreleri	58
Şekil 4.12. Gruplara ve günlere göre eritrositlerin hücre çaplarında meydana gelen değişim	59
Şekil 4.13. Kontrol grubuna ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen normal eritrosit hücre çekirdekleri.....	60
Şekil 4.14. %3 anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen büyümüş eritrosit hücre çekirdekleri, makrositik anemi	60

Şekil 4.15. % 5 anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen büyümüş eritrosit hücre çekirdekleri, makrositik anemi	61
Şekil 4.16. 28. Gün sonunda %1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait nötrofil aktivasyonu	71
Şekil 4.17. NBT değerlerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi.....	71
Şekil 4.18. a) 28. gün sonunda %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait serum lizozim aktivitesi; (b) kontrol grubuna ait serum lizozim aktivitesi	72
Şekil 4.19. 56. Gün sonunda a) %1,5 anason ilaveli yem ile beslenen grubun serum lizozim aktivitesi; b) kontrol grubunun serum lizozim aktivitesi	73
Şekil 4.20. Serum lizozim aktivitesinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi....	73
Şekil 4.21. Denemenin 56. gününde %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen gruptan alınan kan örneklerinde tespit edilen, bakteri yutan fagositik hücreler.....	75
Şekil 4.22. Yirmisekizinci güne ait karaciğer dokularının histolojik kesitleri a) kontrol grubu, b) %0,1 anason, c) %0,5 anason, d) %1,5 anason, e) %3 anason ve f) %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler. hv: hepatik ven, si: sinizoid, s: safra kanalı, he: hepatosit	77
Şekil 4.23. Yirmisekizinci güne ait böbrek dokularının histolojik kesitleri a) kontrol grubu, b) %0,1 anason, c) %0,5 anason, d) %1,5 anason, e) %3 anason ve f) %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler. bt: böbrek tübülleri, g: glomerulus, m: melanomakrofaj merkezi	78
Şekil 4.24. 28. gün sonunda alınan dalak dokularına ait histolojik kesitler, a) kontrol grubu, b) %0,1 anason, c) %0,5 anason, d) %1,5 anason, e) %3 anason ve f) %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler	79
Şekil 4.25. 28. gün sonunda alınan solungaç dokularına ait histolojik kesitler, a) kontrol grubu, b) %0,1 anason, c) %0,5 anason, d) %1,5 anason, e) %3 anason ve f) %5 anason içeren yem ile beslenen grup.....	80
Şekil 4.26. Bağırsak dokularına ait histolojik kesitler, a) kontrol grubu, b) %0,1 anason, c) %0,5 anason, d) %1,5 anason, e) %3 anason ve f) %5 anason içeren yem ile beslenen grup	81
Şekil 4.27. Kontrol grubuna ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, hv: hepatik ven, si: sinizoid, he: hepatosit.....	82
Şekil 4.28. %0,1 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, hv: hepatik vena, si: sinizoid, he: hepatosit k: sinüzoidler arasına kan hücreleri infiltrasyonu.....	83

Şekil 4.29. %0,1 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, k: sinüzoidler içerisinde kan hücrelerinin infiltrasyonu	83
Şekil 4.30. %0,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, h: hepatositler, s: sinüzoidler, k: sinüzoidler içerisinde kan hücrelerinin infiltrasyonu.....	83
Şekil 4.31. %0,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, v: vakuoler dejenerasyon.....	85
Şekil 4.32. %1,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (mavi ok) ve hidropik dejenerasyon (sarı ok)	86
Şekil 4.33. %1,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 60x)	87
Şekil 4.34. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda hiperemi ...	88
Şekil 4.35. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda L: likefaktif nekroz odakları, v: vakuoler dejenerasyon.....	88
Şekil 4.36. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 20x).....	89
Şekil 4.37. 56. gün sonunda %5 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda L: likefaktif nekroz odakları, v: hidropik dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 20x)	90
Şekil 4.38. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun histolojik kesiti.....	91
Şekil 4.39. %0,1 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek doku kesitinde saptanan glomerular dejenerasyon (beyaz ok) ve kavum glomeruli genişliğinde artış (sarı ok)	91
Şekil 4.40. %0,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitlerinde belirlenen kavum glomerulide genişleme (ok ile gösterilmiştir).....	92
Şekil 4.41. %1,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (mavi ok) ve renal distal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok).....	92
Şekil 4.42. %3 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (mavi ok) ve renal distal ve proksimal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok).....	93
Şekil 4.43. %5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (kırmızı ok), renal proksimal ve distal tübüler	

epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok) ve böbrek tübülleri içerisinde kan hücreleri infiltrasyonu (mavi ok).....	94
Şekil 4.44. Kontrol grubunun dalak dokusuna ait histolojik kesit	95
Şekil 4.45. %0,1 anason içeren yem ile beslenen grubun dalak dokusuna ait histolojik kesit.....	95
Şekil 4.46. %0,5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma, bp: beyaz pulpa, kp: kırmızı pulpa	96
Şekil 4.47. %1,5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma	96
Şekil 4.48. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma	97
Şekil 4.49. % 5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen kırmızı ve beyaz pulpalarda boşalma.....	97
Şekil 4.50. Kontrol grubuna ait solungaç filamentleri	98
Şekil 4.51. %0,1 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentleri	99
Şekil 4.52. %0,5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentleri, lamel sekonder lamellerde dejenerasyon ve kayıp (sarı ok) PL: primer lamel, SL: sekonder lamel, m: mukus hücreleri	100
Şekil 4.53. %1,5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentlerinin sekonder lamellerinde dejenerasyon ve dökülme (ok), lamel uçlarında kıvrılma (yıldız) ve sekonder lamellerde füzyon (üçgen)	101
Şekil 4.54. %3 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç dokuda sekonder lamellerde füzyon (yıldız), sekonder lamel kaidelerinde ödem (üçgen) ve sekonder lamellerde hafif telengiektazi (daire)	102
Şekil 4.55. %5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentlerinin kıkırdak dokusunda dejenerasyon (yıldız)	103
Şekil 4.56. %5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filament uçlarında dejenerasyon (üçgen), sekonder lamellerin epitel hücrelerinde dökülme (ok) ve hiperplazi (yıldız)	103
Şekil 4.57. Kontrol grubuna ait bağırsak dokusunun histolojik kesiti.....	104
Şekil 4.58. %0,1 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak dokusu	105

Şekil 4.59. %0,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde (ok) ve lümende (yıldız) dökülme 106

Şekil 4.60. %1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde dökülme (yıldız), bağırsak lümeninde nekroz (üçgen), propria mukozada ödem (ok) 107

Şekil 4.61. %3 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde nekroz (yıldız) ve propria mukozada vakuolizasyon (üçgen)..... 108

Şekil 4.62. %5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde dökülme (yıldız) ve vakuolizasyon (üçgen) 109



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Doğal bağışıklığın hücresel ve sıvısal faktörleri	15
Çizelge 2.2. Anason yağındaki ana bileşikler (Avrupa Farmakopesi 7.0).....	19
Çizelge 3.1. Farklı miktarlarda anason tohumu içeren diyetin bileşen ve yüzdeleri .	27
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan yemlerin analiz ile belirlenen besin madde içerikleri	28
Çizelge 4.1. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre canlı ağırlık artışı	41
Çizelge 4.2. Deneme gruplarının spesifik büyüme oranları SBO 2: 2. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 4: 4. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 6: 6. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 8: 8. Hafta sonunda elde edilen veriler ..	42
Çizelge 4.3. Deneme gruplarının haftalara göre yem dönüşüm oranları	43
Çizelge 4.4. Farklı oranlarda anason ilave edilen yem gruplarına ait besin madde içerikleri	45
Çizelge 4.5. Farklı oranlarda anason ilaveli yemlerle beslenen gökkuşacağı alabalığı gruplarının deneme sonu besin madde içerikleri	47
Çizelge 4.6. Farklı dozlarda anason içeren yemlerin gökkuşacağı alabalıkları için besin madde sindirilebilirlik katsayıları	49
Çizelge 4.7. Farklı dozlarda diyetisel anason ile beslenen gökkuşacağı alabalıklarında besin madde tüketim, kazancı ve vücutta tutulma oranları	50
Çizelge 4.8. Farklı düzeylerde anason içeren yemlerle beslenen gökkuşacağı alabalıklarının deneme sonu organ indeksleri VSI: visero-somatik indeks, PÇI: plorik çekum indeksi, HSI: hepato-somatik indeks, KF: kondisyon faktörü	51
Çizelge 4.9. Eritrosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	51
Çizelge 4.10. Lökosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	54
Çizelge 4.11. Hematokrit değerlerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	56
Çizelge 4.12. Hemoglobin konsantrasyonlarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	57
Çizelge 4.13. Farklı oranlarda anason içeren yem ile beslenen grupların eritrosit hücre çekirdeği çapları.....	59
Çizelge 4.14 . 28'inci günde alınan kan örneklerine ait hematolojik parametreler ...	63
Çizelge 4.15. 56'ıncı günde alınan kan örneklerine ait hematolojik parametreler	64

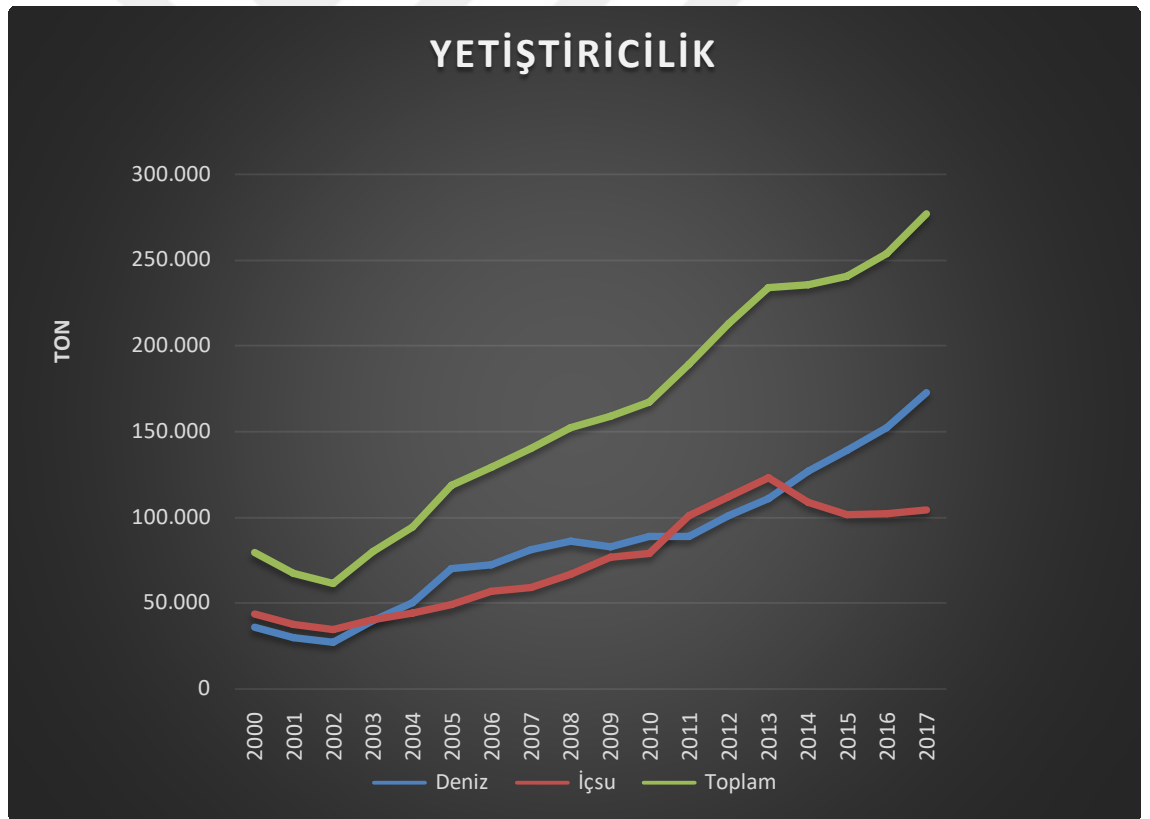
Çizelge 4.16. 28. gün örneklerinin serolojik parametreleri	68
Çizelge 4.17. 56. gün örneklerinin serolojik parametreleri	69
Çizelge 4.18. NBT sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	70
Çizelge 4.19. Serum lizozim aktivitesinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	72
Çizelge 4.20. Fagositik aktivitenin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi	74
Çizelge 4.21. Gruplara ve günlere bağlı olarak fagositik endeks değerlerindeki değişim	74



1. GİRİŞ

Dünya nüfusu 2020 yılı itibarıyla 7,8 milyar civarında iken, Birleşmiş Milletlere göre bu oranın önümüzdeki 10 yıl içerisinde 8 milyara, 2050’li yıllarda ise 12–13 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. FAO (2014), dünyadaki nüfus artışına paralel olarak gelecek 20 yılda hayvansal ürün talebinin 2 kat artacağını belirtmiştir. Günümüzde besin bileşenleri ve insan sağlığı üzerine olan etkileri incelendiğinde ihtiyaç duyulan bu protein kaynağı balık olarak değerlendirilmekte ve insanların protein gereksinimlerinin yaklaşık yüzde 17’sini balıklardan karşıladıkları bildirilmektedir (FAO 2020).

Dünya su ürünleri üretim miktarında, toplam üretimin yüzde 44,6’sını yetiştiricilik yolu ile elde edilen üretim oluşturmakta olup bir önceki yıla göre bu üretimin %18,7 artış gösterdiği bildirilmiştir (TÜİK 2019). Ülkemizde balığın besin değerinin anlaşılmasıyla kişi başına ortalama balık tüketimi günden güne artış göstermektedir. TÜİK Su Ürünleri İstatistik verilerine göre, kişi başına su ürünleri tüketim miktarı 2018 yılında 6,14 kilogram iken, 2019 yılında %2 oranında artarak 6,26 kilograma yükselmiştir. Toplam su ürünleri üretimi ise geçen yıl bir önceki yıla göre % 33,1 artış göstererek 836,524 ton olarak kaydedilmiştir (TÜİK 2019).



Şekil 1.1. Türkiye’ de yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri üretim miktarı (TÜİK 2019)

Türkiye’de yetiştiriciliği en çok yapılan tatlı su türlerinin başında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.) gelmektedir. TÜİK 2019 yılı verilerine göre 2018

yılında Türkiye’ de toplam alabalık üretim miktarı 109,657 ton iken, üretimin 103,705 tonu içsularda 5,952 tonu ise denizlerde gerçekleştirilmiştir (TUIK 2019).

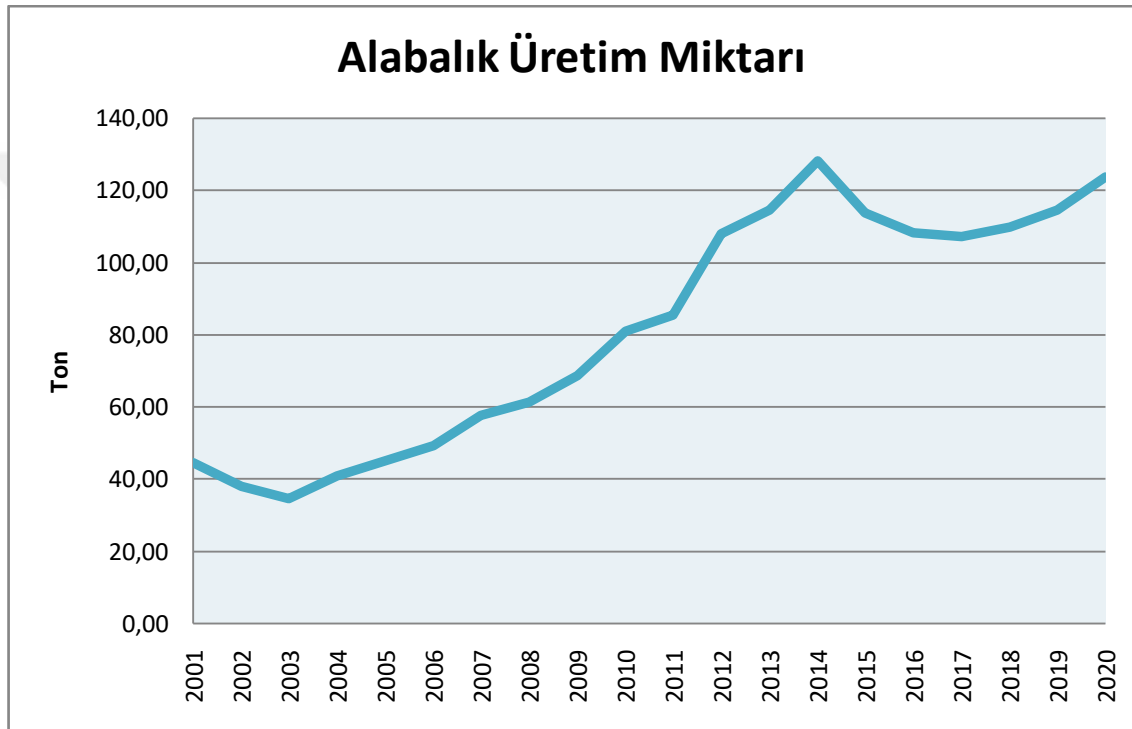
Balık yetiştiriciliğinde verimliliği artırmak amacı ile yemlere çeşitli katkı maddelerinin eklenmesi, bağışıklık güçlendirici olarak immüностimulan uygulamaları, çeşitli işlemler için anestezi uygulamaları ve tedavi amacı ile antibiyotik, antiparaziter ve antifungal ajanların kullanımı mevcuttur. Bunlardan özellikle bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için antibakteriyel ajanların bilinçsiz ve sık bir şekilde uygulanması sonucunda bakteriler de direnç gelişimi ile birlikte, bu ajanların balık etinde birikmesi ve/veya doğal ekosisteme zarar vermesi gibi olumsuz sonuçlar görülebilmektedir (Monteiro 2009). Bu nedenlerden ötürü, antimikrobiyal ajanlardan kaynaklanabilecek olası olumsuz etkiler nedeniyle günümüzde daha çok bitkisel içerikli ürünlerin kullanımına yönelme söz konusu olmuştur (Zapata vd. 1997; Sommerset vd. 2005). Su ürünleri yetiştiriciliğinde kemoterapötiklere ve aşılarla alternatif olarak farklı tıbbi ve aromatik bitkilerin, balıkların büyüme ve üreme performansını artırmak için (Balcı ve Aktop 2019), bağışıklık sistemini güçlendirmede immüностimulan olarak, hastalıkların tedavisinde (Diler vd. 2018) ve anestezik madde olarak (Metin vd. 2018) kullanımlarının yönelik bilimsel çalışmaların sayısında artış görülmüştür.

Bu çalışmada gökkuşığı alabalıklarının besin madde ihtiyacına göre hazırlanan temel rasyona %0,1, %0,5, %1,5, %3 ve %5 oranlarında anason katılarak yapılan besleme çalışmalarının balıkların büyüme, yem değerlendirme, besin maddelerinin sindirilebilirliği, yaşama oranı, vücut kompozisyonu ve et kalitesine etkileri ile spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkileri araştırılarak, anasonun immüностimulan olarak kullanım oranının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)

Gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) Kuzey Amerika'nın önemli bir alabalık türüdür. Günümüzde en fazla gökkuşığı alabalığı üretimi Kuzey Amerika, Avrupa, Avustralya ve Japonya da yapılmaktadır (Alpbaz 2005; Karataş 2015). Ülkemizde gökkuşığı alabalığı üretimi 1970 li yıllarda başlamış olup, üretim miktarı hemen hemen her yıl artış göstermiştir (BSGM 2019). Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre 2019 yılında iç sularda gerçekleştirilen gökkuşığı alabalığı üretimi 123,573 ton olup, toplam yetiştiricilik üretiminin yaklaşık % 33 ünü oluşturmuştur (TÜİK 2019).



Şekil 2.1. Ülkemizdeki alabalık üretim miktarlarının yıllara göre değişimi (TÜİK 2019)

Ülkemizde gökkuşığı alabalığı üretimi genellikle arza bağlı olarak değişim göstermekle birlikte, her geçen yıl artarak sürekli büyüme eğiliminde olmuştur. Yalnızca 2014-2017 yılları arasında ülkemizde gökkuşığı alabalığı üretimi düşüş göstermiş ancak sonrasında tekrar yükselişe geçmiştir.

Gökkuşığı alabalığı uzamış ve hafif basık vücut yapısına sahiptir. Dorsalinde kaudal yüzgecin önünde bir yağ yüzgeci bulunur. Yanal çizgi kısmı pembemsi, karın kısmı ise gümüş rengindedir (Karataş 2015).



Şekil 2.2. Gökkuşáğı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (Anonim)

Gökkuşáğı Alabalığının Sistematığı

Alem	: Animalia
Şube	: Chordata
Altşube	: Vertebrata
Sınıf	: Actinopterygii
Takım	: Salmoniformes
Aile	: Salmonidae
Cins	: Oncorhynchus
Tür	: <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum 1792) (Geldiay ve Balık)

Gökkuşáğı alabalığının yetiştiricilikte tercih edilme sebepleri arasında yumurta nakli ve alımının kolay olması, yemden yüksek oranda yararlanabilmesi, yüksek adaptasyon yeteneğinin olması, hastalıklara karşı diğer salmonid türlerine göre daha dayanıklı olması ve yüksek su sıcaklığı veya düşük oksijen miktarı gibi çevresel koşullara dayanıklı olması bulunmaktadır (Cihangir ve Diler 2016).

2.2. Balıklarda Büyüme Performansı

Yaşamlarını devam ettirebilmek için enerjiye ihtiyaç uyan tüm canlılar aldıkları enerjiyi önce solunum, sindirim, boşaltım ve dolaşım gibi temel metabolizma faaliyetlerini yerine getirmek için kullanırlar. Geriye kalan enerji ise büyüme için sarf edilir (Korkut vd. 2007). Balıklarda büyüme, yem tüketimini takiben yemin değerlendirilmesine bağlı olarak oluşan boy ve ağırlık artışıdır (Nikolsky 1963). Balıkların beslenmesi ile büyümeleri arasındaki ilişkiyi açıklamak amacı ile kullanılan bazı faktörler vardır. Bu faktörlerden en önemlileri yem dönüşüm oranı (FCR) ile spesifik büyüme oranıdır. Balıklarda büyüme ve yem dönüşüm oranı; balıkların yemleme zamanları ve miktarı, kullanılan yemin kalitesi, balıkların yem alımı ve havuz suyusıcaklığı gibi parametrelerden etkilenmektedir (Korkut vd. 2007).

2.2.1. Yem dönüşüm oranı (FCR)

Yemin yumurta ve et dönüşümü olarak ifade edilen FCR/YDO balığın gelişim performansını belirlemek için sıklıkla kullanılan belirteçtir. Genel olarak FCR 1'e yaklaşık çıktığında değeri artar. FCR balıkların ağırlık artışını gösteren bir değer olmasının yanı sıra balıkların sağlıklı olarak da yetiştirilebilmelerini sağlar (Hoşsu vd. 2003; Korkut vd. 2007). Tanklarda alabalık yetiştiriciliği için 1,2-1,4 yem dönüşüm oranının iyi olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Demir vd. 2014). FCR aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır (Korkut vd. 2007).

$$\text{Yem dönüşüm oranı (FCR)} = \frac{\text{Toplam tüketilen yem (g)}}{\text{Toplam kazanılan canlı ağırlık (g)}}$$

2.2.2. Spesifik büyüme oranı (SBO)

Spesifik büyüme oranı (SBO) genel olarak balıklardaki büyüme ağırlık artışı olarak tanımlanır (Aykan ve Sarıözkan 2019). Yetiştiricilikte balıkların büyümeleri için gerekli olan en öncelikli durum, balıkların ihtiyaç duydukları enerjiyi ve günlük yemleme miktarını doğru şekilde belirlemektir. Büyümeyi belirleyebilmek için ağırlık ile ağırlık artışı için geçen sürenin ilişkilendirilmesine gerek duyulur (Hoşsu vd. 2003). Özellikle alabalıklarda bilimsel olarak büyümenin tespiti spesifik büyüme oranı kullanılarak yapılır. Formüldeki büyüme doğrusal (lineer) değil üssel (logaritmik) dir. Balık büyüklüğü arttıkça spesifik büyüme oranı azalmaktadır (Korkut vd. 2007). Spesifik büyüme oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmaktadır (Hoşsu vd. 2003).

$$\begin{aligned} \text{Spesifik büyüme oranı (SBO, \% gün}^{-1}\text{)} \\ = 100 \times \frac{\ln \text{ son ağırlık} - \ln \text{ başlangıç ağırlık}}{\text{gün}} \end{aligned}$$

2.3. Balık Hematolojisi

Hematoloji; kanın yapısını ve kan hastalıklarını inceleyen bir bilim dalıdır (Yılmaz 2015). Balıklarda kanın yapısı; hücresel ve sıvısal (plazma) olmak üzere iki kısımdan oluşur. Kanın hücresel kısmını oluşturan elementler eritrositler, lökositler ve trombositlerdir. Lökositler; lenfosit, monosit ve granülosit olmak üzere üçe ayrılır. Granülositler ise nötrofil, bazofil ve eozinofil olmak üzere kendi içerisinde üçe ayrılır. Kanın sıvısal kısmı plazma olarak adlandırılır. Bu kısım vücudun metabolik faaliyetlerinde önemli rol oynar. (Roberts 2001). Plazmanın içeriğinde kolloid ve kristalloidler mevcut olup, bu yapı ile plazma, besin maddelerinin, atık maddelerin, hormonların ve çok az miktarda çözünmüş gazların taşınmasını gerçekleştirir. Balıklarda kan hacmi türlere göre değişiklik göstermekle birlikte genel olarak vücut ağırlıklarının %1,5-3 ü kadardır. (Timur 2006).

2.3.1. Kanın hücresel elementleri

2.3.1.1. Eritrositler

Eritrositler(alyuvarlar) kırmızı kan hücreleri olup, balıkların kan hücreleri arasında en fazla miktara sahip, yassılaşılmış-oval, çekirdekli ve ortalama 7-9 mikron çapında kan hücreleridir (Başusta 2005, Timur 2006). Kırmızı renkte olmalarının nedeni renksiz bir protein olan globin ile kırmızı pigmentli bir protein olan hemoglobine sahip olmalarından kaynaklanır. Hemoglobinler, organizma ile çevre arasında bir ara yüzey oluşturmaları nedeniyle balıkların adaptasyonu ve yaşamları açısından önemlidir (Landini vd. 2002). Eritrositlerin en önemli görevleri yapılarındaki hemoglobinin sudaki oksijeni solungaçlardan doku ve organlara, doku ve organlardaki karbondioksiti ise solungaçlara taşımaktır. Bu şekilde eritrositler sudaki çözünmüş oksijenin %99 unu doku ve organlara taşımış olurlar (Karataş 2010). Dolayısıyla kanın oksijen taşıma kapasitesi solunum pigmenti olan hemoglobinin miktarına göre değişiklik gösterir. Balık kanındaki eritrosit miktarı türlere göre değişiklik göstermekle birlikte, genel olarak $0,06 \times 10^3/\mu\text{l}$ - $5,3 \times 10^6/\mu\text{l}$ arasındadır. Eritrosit sayılarındaki değişimin hastalık belirtisi olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Hurubec ve Smith 2000).

Memelilerde kan hücreleri kemik iliğinde üretilirken, balıklarda kemik iliği bulunmaz. Bu nedenle, kan hücre üretimi anterior (ön) böbrek üstlenmiştir. Kırmızı kan hücrelerinin oluşumu ve gelişimine eritropoez adı verilir. Balıklarda eritropoez hücre oluşumunu takiben yumurta kesesi içinde başlar (Roberts 2001). Eritrositler kökenlerini eritroblast olarak adlandırılan periferik kandaki embriyonik hücrelerden alır. Eritroblastlar birbirini takip eden mitoz bölünmeler geçirip bolca hemoglobin oluşturarak eritrositleri meydana getirir. Eritropoez teleost balıklarda böbrekte meydana gelirken daha ilkel olan çenesiz (Agnatha) ve kıkırdaklı (Chondrichthyes) balıklarda ise gastrointestinal sistemin ön dalak dokusu üzerinde ve dalakta görülür (Glomski vd. 1992).

Gökkuşaklı alabalıklarında, embriyon globinleri 6-7 günlük embriyoların içinde notokordun altında yer alırken, olgun globinler kanda, böbrekte ve karaciğerdeki eritroid hücrelerde bulunur (Maruyama vd. 2004).

2.3.1.2. Lökositler

Lökositler, bir diğer adıyla akyuvarlar pigmentsiz ve çekirdekli kan hücreleridir. Bu hücrelerin başlıca fonksiyonu enfeksiyonlar ile mücadele etmektir. Görevlerini yapmak için kılcal kan damarlarından çıkarak dolaşım sisteminden ayrılırlar (Yılmaz 2015). Balıklarda lökositler oval şekilli olup, büyüklükleri 10-33 μ arasında değişir. Lökositlerin sayısı eritrositlerden daha azdır ve 1 mm^3 kanda 20,000- 150,000 arasındadır (Timur 2006). Lökositler memeliler gibi daha yüksek organizmalarda kemik iliğinde üretilirken balıklarda bu görevi böbrek, dalak ve timus üstlenmiştir (Ocak 2006).

Beyaz kan hücrelerinin %4-40 kadarını oluşturan lökositler, sitoplazmalarında granüllerin bulunmasına göre granüllü ve granülsüz olmak üzere ikiye ayrılır (Yılmaz 2015). Lökosit hücrelerinin çok loblu çekirdeğe ve çok sayıda sitoplazmik granüle sahip olanları granülosit olarak adlandırılırken tek loblu ve loblara ayrılmamış bir çekirdeği

olan ve sitoplazmasında çok az veya hiç granüle sahip olmayanlar ise granülsüz lökositler olarak adlandırılır (Diker 2005). Granülositler spesifik olmayan savunma mekanizmasında yer alır ve spesifik antijeni tanımazlar. Böbreğin hematopoietik dokularındaki granoblast hücreleri tarafından üretilirler. Bu hücreler invazyonun olduğu vücut kısmına göç ederek, fagositoz veya sitolojik yanıt olarak da bilinen doğrudan öldürme ile yabancı partikülleri tahrip ederler. Bu süreç yangı yanıtı olarak adlandırılır (Roberts 2001). Granülositler asidik, bazik ve nötr boyalar ile boyanma özelliklerine göre eozinofil, bazofil ve nötrofil olmak üzere üç gruba ayrılır. Balıklarda en yaygın olarak görülen beyaz kan hücreleri nötrofil ve eozinofiller iken, bazofiller ise birçok balık türünde bulunmaz (Karataş 2010).

Balık kanındaki granülosit sayıları stresli koşullarda artış gösterir ve zarar verici etki ortadan kalkana kadarda lökositler sayıca artmaya devam eder (Van 1985).

Nötrofiller nötral boyalar ile boyanan lökositlerdir. Balık lökositleri içerisinde sayıca en fazla olan granülositler arasında yer alır. Balık hastalıklarında görülen birçok akut inflamasyonda önemli rol oynarlar (Van 1997). Bu hücreler damar duvarından kan dışına çıkarak ameboid hareketlerle zarar görmüş olan dokuya göç ederek bakterileri ve zarar gören doku parçacıklarını fagosite ederler. Segmentli çekirdeğe sahip olan nötrofillerin sitoplazmasındaki granüller, kan boyaları ile boyandıklarında çok hafif boya alırlar (Yılmaz 2015).

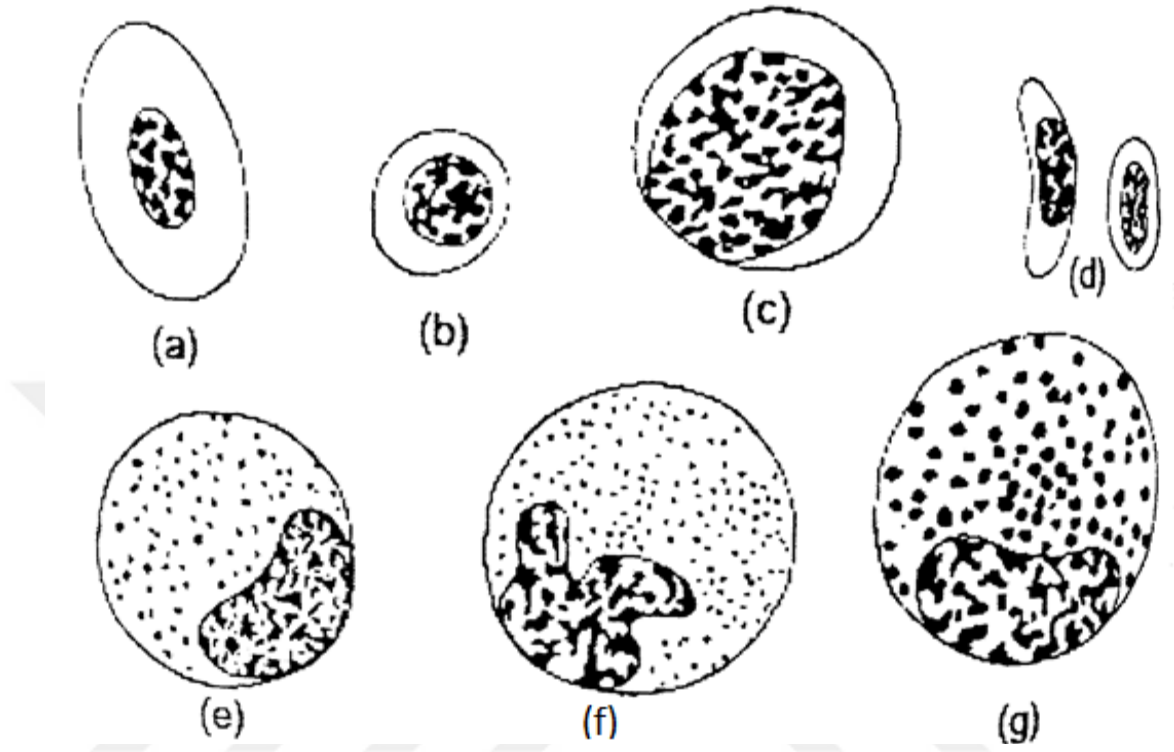
Eozinofiller sitoplazmalarında büyük kırmızı granüller bulundurur ve eozin gibi asidik boyalar ile boyanma özelliklerine sahiptir. Bu kan hücreleri, iç parazitlerin yıkımında ve alerjik yangı reaksiyonlarında görev alıp paraziter hastalıkların varlığında ise sayıca artış gösterirler (Roberts 2001).

Bazofiller sitoplazmalarında bazik boyalar ile boyanan granüllere sahiptir ve balık kanındaki sayıları oldukça azdır. Bazofil lökositlerin granüllerinde histamin ve heparin bulunur (Timur 2006).

Agranüler lökositler lenfositler ve monositlerdir. Lenfositler küre şeklinde oldukça büyük bir çekirdeğe sahip olan beyaz kan hücreleridir. B- lenfosit ve T- lenfosit olmak üzere ikiye ayrılırlar. Bu lökositler, hastalıklar ile mücadelede görev alırlar. B lenfositler anterior böbrekten köken alan ve antikorların üretimine dahil olan bağışıklık sistemi beyaz kan hücreleri olup, humoral bağışıklıktan sorumludur. T-lenfositler ise timusun bulunmasına bağlı olarak gelişen lenfosit hücreleridir. Bu hücreler hücresel bağışıklıktan sorumludur. Timus bezindeki lenf dokusundan meydana gelen timositler yani olgunlaşmamış lenfositler çoğalarak T-lenfositleri oluşturur. Lenfositlerin büyük miktarı böbrek ve dalakta bulunur (Diker 2005).

Monositler büyük nükleuslu beyaz kan hücreleridir ve balık kanında bulunan lökositlerin büyük kısmını oluştururlar. Vücuda giren bakterileri ve diğer yabancı maddeleri fagosite ederek imha edebildikleri için bunlara aynı zamanda fagosit adı da verilir. Granülositler gibi spesifik olmayan savunma mekanizması ve yangı yanıtında görev alan monositler makrofajın habercileridir. Böbrekteki stem hücrelerinden köken alırlar ve balık kanındaki sayıları azdır (Timur 2006).

Trombositler ova, iğ, sivri uçlu ve parçalı olmak üzere 4 farklı morfolojik forma sahip olan kan hücreleridir. Bu hücreler kanın pıhtılaşmasında görev alır. Kandaki sayıları lökositlerin yarısı kadar olup, sağlıklı balıklardaki trombosit sayıları 2,000-78,900 μL arasında değişim gösterir (Hurubec ve Smith 2010).



Şekil 2.3. Balıklarda kan hücrelerinin yapısı **a)** eritrosit, **b)** lenfosit, **c)** monosit, **d)** trombosit, **e)** asidofilik granülosit, **f)** nötrofilik granülosit, **g)** bazofilik granülosit (Lagler 1962)

2.3.2. Kanın hümmoral elementleri

Kan antikoagülan madde içeren bir tüpte santrifüj edildiğinde, tüpün üst kısmında kalan açık renkli sıvıya plazma adı verilir. Plazma eldesi sırasında pıhtılaşma önlediği için materyal içerisinde koagülasyon faktörleri bulunur. Eğer kan, içerisinde antikoagülan madde içermeyen bir tüpte oda sıcaklığında veya 37 °C de bekletilirse kan içerisindeki şekilli elemanlar dibe çöker ve tüpün üst kısmında kalan sıvıya serum adı verilir. Serum oluşumu sırasında pıhtılaşma faktörleri kullanıldığından içerisinde koagülasyon faktörleri bulunmaz (Magnadottir vd. 2006).

Plazmanın %90'ı su %10'u ise inorganik ve organik maddelerden oluşur. İçerisinde antikorlar, mineraller, enzimler, çözünmüş gazlar, sindirilmiş besin maddeleri ve doku atıkları bulunur. Plazma içerisindeki organik maddeler albuminler, globulinler (alfa-beta-gama-Ig), koagülasyon faktörleri ve antikorlar gibi proteinler olup, proteinlerinin büyük bir kısmını albuminler oluşturur (Pastoret vd. 1998). Plazma, vücuttaki kan basıncının belli düzeyde kalmasını, vücut sıcaklığının bütün dokulara eşit dağılmasını ve vücuttaki asit-baz dengesinin sabit tutulmasını sağlar (Timur 2006).

2.3.3. Kanın biyokimyasal parametreleri

Kan serumu (plazma), balıkların fizyolojik durumu ve iç organlarında meydana gelmiş olabilecek doku hasarları hakkında bilgi vermektedir. Balık kanının biyokimyasal açıdan incelenmesi için albumin ve globulin gibi kan proteinleri, kolesterol, trigliserit ve glukoz gibi kanın metabolit parametreleri ve sodyum (Na), klorür (Cl), potasyum (K), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) gibi elektrolit değerlerine bakılmaktadır (Duncan vd 1994). Serum parametreleri özellikle çevresel stres ve ağır metallerin toksik etkilerinin belirteçleri olarak kullanılmaktadır (Bergdahl vd. 1997).

Total protein, kolesterol ve trigliserid, alanine aminotransferaz (GPT) ile alkalen fosfataz (ALP) beslenme durumunun belirteçleri olup karaciğer doku hasarı hakkında bilgi vermektedir (Yang ve Chen 2003).

Serumdaki total protein başlıca albumin, globulin, lipoprotein ve glikoproteinden oluşmaktadır (Yılmaz 2014). Total protein miktarı, balıkların beslenme niceliği ve niteliği ile ilgili bir parametre olup, balığın herhangi bir nedenle yetersiz beslenmesi ile ilgili bir durumu gösterir (Mayer 1998). Karaciğerin zarar göstergesi olarak kullanılan total proteinin balık kanında artması durumunda, yüksek enerji sarfiyatına ve düşük çevresel pH da kan akış dengesinin bozulmasına neden olmaktadır (Çelik ve Bilgin 2007). Açlık durumunda total protein miktarı artmakta, dehidrasyon durumunda ise azalmaktadır (Mayer 1998).

Albumin, kılcal damarlar ile dokular arasında madde alışverişi ve su değişimini gerçekleştirerek osmotik dengeyi sağlamaktadır (Karagül vd. 2000). Kandaki albumin seviyesi, dehidrasyon sonucunda artarken, karaciğer ve böbrek hastalıkları veya yetersiz beslenme durumunda azalmaktadır (Mayer 1998).

Globulin, kandaki immünolojik aktif proteinler olan immünoglobulinlerin kaynağı olarak kabul edilir (Jha vd. 2007). Kandaki seviyesi antikor konsantrasyonu ve balığın bağışıklık durumunu hakkında bilgi verir (Goda 2008). Genellikle, balıkların kan plazmasındaki toplam protein, albumin, globulin miktarlarında meydana gelen artış, bağışıklığın iyileştiği yönünde bilgi vermektedir (Wiegertjes vd. 1996).

Kolesterol balıkların beslenme durumları dışında, stres nedeniyle meydana gelen etkileri değerlendirmek için de kullanılmaktadır (Wedemeyer ve McLeay 1981). Kolesterol, hiperkolesterolemi ve hiperlipidemi durumlarında artmakta, hepatik dejenerasyon, hipertiroidizm ve yetersiz beslenme durumlarında ise azalmaktadır (Karagül vd. 2000).

Besinlerle alınan lipidlerin büyük kısmını oluşturan trigliseritin kanda yetersiz bulunması durumunda balıkların yaşamsal faaliyetleri azalmaktadır (Watanabe vd. 1985). Trigliserit ve kolesterol konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon mevcuttur ve uzun süreli açlık durumunda trigliserit değerinde azalma meydana gelir (Karagül vd. 2000).

Kan kökenli bir pigment olan bilirubinin serumda artış göstermesi, eritrosit yıkımları ve hemolitik hastalıkların olabileceğini ifade etmektedir (Karagül vd. 2000).

Kan üre azotu (BUN) böbreğin uzaklaştırdığı azotlu artıkların miktarı hakkında bilgi vererek solungaç ve böbreklerin işlevinin yapılamamasının göstergesi olarak kullanılır (Wood 1993). BUN değeri böbrek hastalıklarının varlığında yükselme gösterirken, karaciğer hasarlarında ise azalma göstermektedir (Karagül vd. 2000).

Kreatinin, kas metabolizmasının oluşturduğu organik bir atık ürünüdür. Düşük konsantrasyonlarının klinik bir önemi bulunmazken, artan konsantrasyonları yapısal zararlardan dolayı böbreklerin işlevini etkileyebilir (Kaplan ve Sazabo 1979). Glomerular filtrasyonda azalma, böbrek dokuda yaralanma ve renallerin görevlerini yapmaması durumunda kreatinin düzeyleri artmaktadır (Berndt 1981). Balıklarda kreatinin artışına, endüstriyel atıklar ve oksijen eksikliğinin neden olduğu bildirilmiştir (Oikari ve Soivio 1977). Kreatinin artışı, balıkların enfeksiyon hastalıklarında dokularda meydana gelen protein yıkımının göstergesi olarak kabul edilir (Aydın vd. 2001).

Balıkların en kolay kullandığı karbonhidrat olan glukoz, kanda bulunan tek şekerdir. Kan glukozu balıkların karaciğerlerinde glikojen olarak depolanmakta ve organizmanın ihtiyaç duyduğu anlarda glukozu çevrilerek kana verilmektedir (Çelik vd. 2008). Balıklar, stres veya hastalık gibi olumsuz etkenlerle başa çıkabilmek adına ihtiyaç duydukları enerjiyi kan glukozundan sağlamak ve stres varlığında plazma glukoz düzeyinde artış meydana gelmektedir (Iwama vd. 1999).

Balıklar vücutları için gerekli olan Na, Cl, K, Ca, P gibi iyonları sudan solungaçları vasıtasıyla temin etmektedir (Eddy 1982). Ancak çevresel stres, hastalık veya sudaki ağır metallerle kirleticilere maruz kaldıklarında iyon alımı hasar görmekte ve iyon dengesi bozulmaktadır (McDonald 1983; Wood 1989).

2.4. Balık İmmünolojisi

Bağışıklık (immünite) kelimesi bir canlının, başta enfeksiyonlar olmak üzere hastalıklara karşı direncini tanımlamak için kullanılır (Ocak 2006). Bağışıklık sistemi diğer bir ifade ile immün sistem, canlının enfeksiyonlara karşı direncini sağlayan moleküller, hücreler ve dokular topluluğuna verilen addır. Bu sistemin görevi vücuda giren mikroorganizmalar gibi yabancı molekülleri tanımak ve yok etmektir. Vücudun antijen ile karşılaşması durumunda immün sistem koordineli bir şekilde reaksiyon vererek immün yanıtını oluşturur (Abbas ve Lichtman 2007).

Sıcakkanlı hayvanlar ve insanlarda olduğu gibi balıklarda da canlıyı çeşitli enfeksiyonlara karşı koruyan ve canlının hayatta kalmasını sağlayan gelişmiş bir bağışıklık sistemi mevcuttur (Magnodittir 2006). Bununla birlikte, balıklarda diğer yüksek omurgalılardan farklı olarak immün sistem diğer tüm fizyolojik sistemlerde olduğu gibi suyun sıcaklığına bağlıdır (Kav ve Erganis 2008). Bu nedenle ılık veya sıcak su balıklarının oluşturduğu immün yanıt soğuk su balıklarına oranla daha erken oluşmakta ve daha çabuk korunma meydana gelmektedir. Ayrıca, su sıcaklığı dışında suyun pH'ı, çözülmüş oksijen miktarı ve tuzluluk gibi fiziko-kimyasal parametreleri de balığın immünsistemi üzerine doğrudanetki gösterir (Van 1997).

Balıkların bağışıklık sistemi hem spesifik olmayan (doğal), hem de spesifik (kazanılmış) savunma sistemlerinden oluşur. Spesifik olmayan bağışıklık sistemi, balıkların vücudunda doğal olarak bulunmakta ve doğal savunma faktörlerini

içermektedir. Bu faktörler; yavrulara kalıtsal olarak aktarılan genetik faktörler, vücut sıcaklığı, su sıcaklığı, yaş ve beslenme gibi fizyolojik faktörler, vücut yüzeyinde bulunan mukus, pul ve deri gibi fiziksel bariyerler, glikoprotein ve lizozim gibi spesifik olmayan humoral faktörler ile lenfosit (T-yardımcı, T-sitotoksik), trombosit, monosit ve granülosit (eozinofil, nötrofil, bazofil) gibi spesifik olmayan hücresel faktörlerdir (Altınterim 2011). Spesifik bağışıklık sistemi aktif ve pasif olarak ikiye ayrılır. Aktif bağışıklıkta vücuda giren veya verilen antijenler kan ile taşınarak lenfoid organ, doku ve hücrelere gelerek, burada lenfositler makrofajları uyarak immün yanıt oluştururlar. Pasif bağışıklıkta ise aşıli anaçlar ile yumurtaya, yumurtadan da yavruya geçen maternal antikorlar görev alır (Van 1997).

Balıkların immün sisteminde görevli olan lenfoid organ ve dokuları iki gruba ayrılır. Bunlar primer ve sekonder lenfoid organlardır. Primer lenfoid organlar timus, dalak ve böbrek iken sekonder lenfoid organlar ise karaciğer, bağırsaklar, deri ve mukoza ile ilişkili dokulardır (Roberts 2001). Şekil 2.4.'de kemikli balıkların immün sistemde görev yapan organlara yer verilmiştir (Johnson 2014).



Şekil 2.4. Kemikli balıkların immün sistem organları (Johnson 2014).

2.4.1. Primer lenfoid organlar

Primer lenfoid doku ve organlar, lenfositler için kök ve progenitör hücrelerin bulunduğu, lenfositlerin immunkompetan hale geldikleri bölgelerdir (Tanyolaç 1999). Memelilerde kan hücreleri kemik iliğinde üretilirken, balıklarda kemik iliği ve lenf düğümleri bulunmaz (Pastoret 1998).

Timus balıklarda solungaç çemberinde dorso-lateral olarak farengeal epitelin altındabilateral olarak bulunan bir çift organdır (Hibiya 1982). Bu organ balıklarda özel bir göreve sahip olup, memelilerdeki gibi T-lenfositlerin olgunlaştığı yerdir. Lenfositler daha sonra immün yanıt katılmak amacı ile timusu terk ederek, kan dolaşımına ve sekonder lenfoid organ ve dokulara göç ederler (Ellis 2001). Timus antikor üretimi ve antijenlerin yakalanmasında görev almaz (Erganiş ve İstanbulluoğlu 1993).

Böbrekler balıklarda vücut boşluğunun dorsalinde yer alan bir çift organ olup anterior (ön) ve posterior (arka) böbrek olmak üzere iki kısımdan oluşur. Böbreğin anterior kısmı sadece hematopoietik görev üstlenirken posterior kısmı ise hem renal hem hematopoietik göreve sahiptir. Anterior böbrek morfolojik olarak memelilerdeki kemik iliğini andırmakta ve lenf düğümünün analoğu olarak ifade edilmektedir (Bozkurt ve Eren 2009). B lenfositleri böbreğin lenfoid dokusundan köken almakla birlikte bu doku immün reaksiyonun da gerçekleştiği kısımdır (Timur 2006).

Böbreklerin hemopoietik dokusunda memelilerde gözlenmeyen, grup halinde koyu hücreler içeren melanomakrofaj merkezleri (MMC) bulunur. Ayrıca böbrekler antijenin tutulması ve antikor üretiminde de görev alır (Channonachookhin vd. 1991). Alabalıklarda, böbrek sinuzoidal endotelial hücreler ve makrofajlar tarafından, kan kaynaklı kendisinden olan ve olmayan maddeler endosite edilerek idrar yolu ile dışarı atılır. Antijenik maddeler ise antijen sunan hücreler tarafından işlenir ve T-hücrelerine sunulur spesifik immün yanıt başlatılır (Zapata vd. 2006).

Dalak, koyu kırmızı siyah renkte bir organdır. Dalak midenin kaudal-ventralinde yer alır ve ince barsak duvarına tutunur. Kırmızı ve beyaz pulpa alanlarına sahip olan dalak kashücrelerinin bulunmadığı fibröz bir kapsüle sahiptir (Bozkurt ve Eren 2009). Dalagın büyük bir kısmını oluşturan kırmızı pulpa eritrositlerin bulunduğu kısımdır (Pres ve Evensen 1999). Daha az gelişmiş olan beyaz pulpa ise melanomakrofaj merkezleri ve elipsoidleri içerir. Melanomakrofaj merkezleri, önceleri metabolik atıkların biriktirildiği çöplükler olarak ifade edilmiş ancak daha sonra antijenleri immün kompleksler halinde saklamaları nedeniyle daha yüksek omurgalılarıdaki germinal merkezlerle eş tutulmuştur (Channonachookhin 1991). Elipsoidlerin ise yaşlı hücrelerin, patojenlerin, lipopolisakkaritlerin, immün kompleksler halinde yakalanmalarında özel bir fonksiyona sahip olduğu bildirilmiştir (Magnadottir 2006).

2.4.2. Sekonder lenfoid organlar

Sekonder lenfoid doku ve organlar antijenlere karşı immün yanıtın oluşturulduğu doku ve organlardır (Tanyolaç 1999).

Karaciğer balıkların immün sisteminde çok fazla görev yapmasa da retikuloendotelial sistem (RES) içerisinde yabancı partikülleri yakalama özelliğine sahiptir. Kupffer hücreleri olarak adlandırılan karaciğer makrofajları birçok balık türünde tespit edilmiştir (Boshra vd. 2006).

Balıklarda deri mukus tabakasıyla kaplıdır. Mukus deri dışında sindirim kanalı mukozası ve solungaçlarda bulunan goblet hücreleri tarafından sürekli salgılanmakta ve bu bölgeler üzerinde mikroorganizmaların çoğalmalarına engel olmaktadır (Ocak 2006). Mukus immünglobulinler (Ig), komplement, lizozim ve lektinler gibi savunma faktörlerini içermesi nedeni ile savunma sisteminde önemli bir role sahiptir. Balıklarda enfeksiyon veya stres durumunda salgılanan mukus miktarı artar. Ayrıca, deride bulunan epidermal fagositik hücreler yara bölgesine göç ederek fagositik aktivite gösterir. Bu şekilde yarının iyileşmesinde rol oynarlar (Magnodottir 2006).

Komplement, deri mukusunda bulunan önemli bir antimikrobiyel madde olarak kabul edilir (Nielsen ve Esteve 2006).

Gastrointestinal kanal, tripsin ve pepsin gibi sindirim enzimlerine sahip olmasının yanı sıra içerdiği düşük pH nedeniyle mikrobiyal invazyon için iyi bir bariyer oluşturur. Balıklarda makromoleküllerin emiliminin gerçekleştiği ana bölge ön bağırsaktır. Bu emilim ile antijenlerin sindirilmeden dolaşım sistemine ve hemopoietik organlara nakli immunolojik yönden önem taşır (Ocak 2006).

Farklı balık türlerinde yapılan çalışmalarda bağırsak ve safralarında bulunan immunoglobulinlerin, serumlarındaki immünoglobulinlerle benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Zapata vd. 2006). Kemikli balıklarda memelilerin peyer plakalarına benzer şekilde organize olan lenfoid dokuları yoktur. Ancak yapılan çalışmalarda sazan balıklarının ön bağırsak kısmında lamina propria ve epitelde önemli ölçüde lökosit popülasyonları tespit edilmiştir (Channonachookhin vd. 1991; Clem vd. 1996; Pastoret vd. 1998).

2.5. Balıklarda Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi ve Elemanları

Balıklarda spesifik olmayan bağışıklık sistemi sahip olunan doğal direnci ifade eder. Doğal bağışıklık sisteminin koruyucu etkisi invaziv ajanın antijenik yapısı ile doğrudan alakalı değildir. Bundan dolayı, bu sisteme ait hücreler antijeni tanımazlar (Kav ve Erganis 2008). Hücresel ve humoral faktörlere sahip olan bu sistem, patojenlere karşı kalıcı ve gerçek bir engeldir (Evans 1998).

Spesifik olmayan savunma sisteminin sahip olduğu ilk bariyerler mukus ve deridir. Deri, solungaçlar, mide ve bağırsak yüzeyinde bulunan mukus, mikroorganizmaların epitel doku hücrelerine tutunmasına engel olur (Altınterim 2011). Derinin bütünlüğünün bozulması halinde mikroorganizmalar kolayca vücut içerisine girerek hastalık meydana getirir. Bu nedenle derinin korunması balığın savunma sistemi için oldukça önemlidir. Patojenler bir şekilde bu engelleri aşarak vücuda girmeyi başardığında bu kez spesifik olmayan bağışıklık sisteminin hücresel ve humoral elemanları ile karşılaşır. Bu sistemin en önemli elemanları fagositik hücrelerdir. Kompleman ve lizozim gibi elemanlar bu hücrelere yardımcı olur (Karataş 2001).

2.5.1. Deri ve mukus

Balıkların vücut yüzeyinde bulunan mukus ve epidermis spesifik olmayan savunma sisteminin ilk koruma hattıdır. Bu nedenle balıklarda deri bütünlüğünün korunması savunma sisteminin doğru çalışması yönünden önemlidir (Timur 2006).

Balıkların deri, solungaç, mide ve bağırsak yüzeyinde bulunan mukus, mikroorganizmaların epitelyum yüzeye tutunmalarına engel olur (Karataş 2001). Mukusun yapısında lizozimler, lektinler, kompleman proteinleri, antibakteriyel peptitler ve IgM (İmmünoglobülin M) bulunur (Altınterim 2011). Mikroorganizmalar vücudun ilk koruma hattını aştıkları zaman balığın spesifik savunma sistemine ait hücresel ve humoral elementleri ile karşılaşır (Roberts 2001).

2.5.2. Fagositik Hücreler

Fagositoz antijenik maddelerin fagositik hücreler tarafından hücre içerisine alınarak yok edilmesidir. Fagositoz spesifik olmayan bağışıklık sisteminin en önemli fonksiyonu olarak kabul edilir (Timur 2013). Balıkların fagositik hücreleri makrofajlar, nötrofiller ve b-lenfosit hücreleridir.

Fagositoz işlemi, kemotaksi, tutunma (yapışma), yutma ve sindirme olmak üzere dört aşamada gerçekleşir. Bu olay antijenik maddenin kemotaksi ile fagositik hücreleri uyarması ve akabinde bu hücrelerin antijenin olduğu bölgeye göç etmesiyle başlar (Roch 1999). Fagositik hücreler antijenle karşılaştıklarında antijene sıkıca tutunmaları gerekir. Fagositler antijene tutunup onu hücre içine alarak, antijeni oksijenli ve oksijensiz olmak üzere iki farklı şekilde sindirirler. Fagositoz başladığında fagositik hücreler tarafından moleküler oksijen tüketimi oldukça artar. Bu olay solunumsal patlama ya da İngilizce respiratory burst olarak adlandırılır. Solunumsal patlamadan ilk salınan ürünün oksijen olması nedeniyle, oksijenin doğru bir şekilde ölçülmesi solunumsal patlamanın şiddetini belirlemede önemli bir kriter olarak kabul edilir (Karataş 2001).

Oksijenin ölçülmesinde kullanılan metotlar arasında nötrofillerin metabolik aktivitesini belirleyen NBT (Nitrablu Tetrazolium) testi de yer alır. NBT suda eriyen sarı renkli redoks bir boyadır. Bu boya ile muamele edilen nötrofil hücreleri solunumsal patlama gerçekleştirerek boyanın mavi renk almasına neden olurlar. Yeterli solunumsal patlama olmazsa boyanın renginde herhangi bir değişme gözlenmez (Roch 1999).

2.5.3. Lizozim

Lizozim lökositler tarafından salgılanan ve bakterilerin hücre duvarındayer alan peptidoglikan tabakasındaki N-asetil glukosamin ile N-asetilmuramik asiti hidrolize eden bir enzimdir (Magnodittir 2005). Komplemanlar ve diğer enzimler bakterinin hücre duvarında tahribat oluşturdudan sonra lizozim etki göstermektedir. Lizozim, lökositleri aktif hale getirebilir ya da antijeni makrofajlara tanıtan opsonin gibi rol oynayabilir (Karataş 2001).

Lizozimin Gram-pozitif bakteri türleri üzerine karşı etki gösterdiğinin bilinmesinin yanı sıra Gram-negatif bakteri türleri, parazitler ve virüslere karşı da oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Jolles ve Jolles 1984).

Lizozim balıklarda mukus, serum, lökosit yönünden zengin ön böbrek ile deri, solungaç ve gastrointestinal sistem gibi bakteriyel invazyona açık olan bölgelerde de bulunmuştur (Grinde vd. 1988; Lie vd. 1989; Karataş 2001). Bu durum, balıkların spesifik olmayan bağışıklık sisteminin enfeksiyonlarla mücadelede lizozimin önemini ortaya koymuştur (Grinde vd. 1988; Yano 1996; Karataş 2001).

2.5.4. C-reaktif proteinleri (CRP)

Fagositoz yönünden bir partikülün kaplanması olayına opsoninleşme, kaplama materyaline ise opsonin adı verilir. C-reaktif proteinleri opsonin olarak görev yapar. Bu proteinlerin sayılarında bakteriyel enfeksiyonesnasında hızlı bir şekilde artış görülerek

bakterilerin çoğalması üzerinde sınırlayıcı etki oluşturup böbrek immun hücreleri uyarılır (Kodama 1999).

2.5.5. Kompleman

Kompleman, fagositleri mikroorganizmaların giriş yaptığı bölgeye çekerek fagositoz olayını başlatan serum proteinleridir. Memeli serumunda yaklaşık 20 kompleman olmasına rağmen balıklarda birkaç serum komplemanının olduğu bildirilmiştir (Karataş 2001; Altınterim 2011). Komplemanlar bakteriler üzerine parçalayıcı bir etkiye sahip olmakla beraber, antijen antikör kompleksinde antikora bağlanarak fagositozu kolaylaştırır (Nazıroğlu vd. 2003).

2.5.6. Transferrin

Transferrinler, karaciğerde üretilen ve demir bağlayan glikoproteinlerdir. Transferrinler bakterilerin içerdiği demiri bağlayarak bakterilerin gelişmelerine engel olurlar (Karataş 2001). Bakteriyel enfeksiyon durumunda kandaki transferin miktarının arttığı ve bir çok balık türünden de izole edildiği de bildirilmiştir (Yano 1996).

Çizelge 2.1. Doğal bağışıklığın hücresel ve sıvısal faktörleri (Ellis 1999).

Doğal Bağışıklık	
Hümmoral (Sıvısal) Faktörler	a) İnhibitörler
	Transferrin (Farklı genotiplerde)
	Antiproteaz (α 1 antiproteaz, α 1 makroglobulin)
	Lektinler
Hümmoral (Sıvısal) Faktörler	b) Lizinler
	Antibakteriyel peptitler
	Proteaz
	Lizozim
Hümmoral (Sıvısal) Faktörler	CRP (C reaktif proteinler)
	Kompleman (litik, yangısal, şemotaksik ve opsonizasyon faktörü)
Hümmoral (Sıvısal) Faktörler	a) Nötrofiller
	b) Makrofajlar
	c) Makrofaj/Nötrofil

2.6. İmmünostimulanlar

İmmünostimulanlar, tek başlarına verildiklerinde spesifik olmayan bağışıklık sistemini aktive edebilen, aşılarda birlikte verildiklerinde ise spesifik bağışıklık sisteminin yanıtını artıran doğal ve sentetik bileşiklerdir (Sakai 1999). Bu bileşikler kimyasal madde, ilaç, bitki ya da bitkisel ürünler olabilmektedir (Ocak 2006). İmmünostimulanlar; besleyici özellikte olmaları, biyolojik olarak parçalanabilmeleri ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olmaması nedeniyle ön plana çıkmıştır (Baba 2017). Kültür balıkçılığında immünostimulanlar farklı konsantrasyonlarda yeme eklenerek, enjeksiyon yoluyla, banyo uygulaması veya vücut yüzeyine sürme şeklinde kullanılmaktadır. İmmünostimulan maddelerin kullanılması ile balığın genel performansının artarak balıklarda enfeksiyon nedeni ölüm oranlarının azaldığı, bakteriyel, paraziter ve viral enfeksiyonlara karşı balığın direncinin arttığı, genç balıklarda ise ölüm oranlarını azaltıcı etki gösterdiği ayrıca antimikrobiyal maddeler ile sinerjistik etki oluşturarak uygulanan tedavinin etkinliğini arttırdığı bildirilmiştir (Magnadottir 2006).

2.6.1. İmmünostimulanların balıklara veriliş şekli ve etkileri

Balıklarda immünostimulanlar; balığın yemine karıştırılarak, banyo yoluyla, enjeksiyonla veya balığın vücut yüzeyine sürme şeklinde verilmektedir (Baba 2017).

Yeme karıştırılarak verilen immünostimulanların etkinliği bir süre sonra geçebilmektedir. İmmünostimulanların balıklarda immün yanıtı uzun dönemde artırmamasının nedeni ise henüz anlaşılamamıştır (Altınterim 2011). Vervarcke vd. (2005) yaptıkları çalışmada glukon ve oligosakkarit ekledikleri yem ile Afrika yayın balığını (*Clarias gariepinus*) beslemişler ve 30. gün sonunda NBT pozitif hücre sayısının arttığını ancak 45. gün sonrasında ise bu artışta devamlılık görmediklerini bildirmişlerdir.

Banyo yöntemi ile uygulama şeklinde ise verilen maddenin yoğunluğu ve uygulama süresinin kısa olması nedeniyle alınan etkinin düşük olduğu bildirilmektedir (Altınterim 2011). Ancak uygun doz ve zamanlama ile immünostimulan etkide istenen sonuçlar elde edilebilmektedir (Kumari ve Sahoo 2006). Hashimoto vd. (2016) Nil tilapyası (*O. niloticus*)'da monogen parazitlere karşı, immersiye yöntemiyle *Mentha piperi* ve *Lippia sidoides* esansiyel yağlarını immünostimulan etkiyi belirlemek amacıyla kullanmışlar ve nötrofil ile monosit sayısında artış gözlemlerken parazit sayısında ise düşüş tespit etmişlerdir. Findlay ve Munday (2000), Atlantik salmon (*Salmo salar* L.)'unda uyguladıkları banyo yöntemi ile yeterli uyarımı elde edemediklerini bildirmiştir.

Logambal vd. (2000) Mozambik tilapyası (*O. mossambicus*)'nda *Ocimum sanctum*'un immünostimulan etkisini enjeksiyon yöntemi ile araştırmışlar ve antikor cevabı ile nötrofil sayısında artış tespit etmişlerdir. Alberto vd. (2005) *Aeromonas salmonicida*'ya karşı enjeksiyon ile C vitamini uygulamasının antikor üretiminde artış meydana getirdiğini bildirmiştir.

Sürme yöntemi ile çörekotu yağının deri tabakalarından geçiş ve etkilerini değerlendiren Altınterim (2011), sürülen yağın epidermisten emiliminin oldukça hızlı olduğunu ve molekül büyüklüğü 500 kilodalton olan moleküllerin deri üzerindeki geçiş bölgelerinden kolayca nüfuz ederek etki ettiğini bildirmiştir.

2.7. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ‘doğal olana’ yönelme eğilimi özellikle tıbbi ve aromatik bitkileri popüler hale getirmiştir. Tıbbi ve aromatik bitkiler terim olarak birlikte kullanılmasına rağmen anlam olarak birbirinden farklıdır. İnsanlar ve hayvanlarda oluşan hastalıkların sağaltımı için kullanılan bitkiler tıbbi bitki olarak adlandırılırken, kokulu bitkiler ise aromatik bitki olarak adlandırılır (Göktaş ve Gıdık 2019). Günümüzde, dünya genelinde eczacılık, kozmetik, ziraat ve gıda sektörlerinde kullanılan sentetik içerikli ürünlerin yerini, doğal üretim adına tıbbi ve aromatik bitkiler almaya başlamıştır. Tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkiler genellikle doğadan toplanmasına rağmen, büyük bir kısmının ise hem dünyada hem de ülkemizde kültür yolu ile üretimi yapılmaktadır (Acıbuca ve Bostan 2018).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin en yaygın kullanım şekli rahatsızlıkları ya da hastalıkları tedavi etmek üzerinedir. Geleneksel tedavi adı altında bitkiler ile tedavi yöntemi dünyanın birçok ülkesinde uygulanmaktadır. Bu tedavi yöntemi ile ilgili ilk kayıtların Mezopotamya uygarlığında M.Ö. 5000’lerde olduğu kaydedilmiş ve 250 bitkisel ürünün kullanıldığı tespit edilmiştir. Günümüzde ise bu bitkiler en fazla Asya, Afrika ve Orta Doğu ülkelerinde kullanılmaktadır (Acıbuca ve Bostan 2018).

2.7.1 Su ürünleri yetiştiriciliğinde tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ve biyolojik aktiviteleri

Su ürünleri yetiştiricilik sektöründe, kaliteli ürün eldesi ve düşük maliyet için uygulanan tekniklerde kullanılan sentetik içerikli ürünlerin yerini tıbbi ve aromatik bitkiler almaya başlamıştır. Bitkisel ürünlerin tercih edilme nedenleri arasında ucuz olmaları, kolay temin edilebilmeleri, düşük dozlarda dahi etkili olabilmeleri, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, patojenlere karşı etkili olabilmelerinin yanı sıra çevre dostu olmaları da yer almaktadır (Cihangir ve Diler 2016).

Bitkisel ürünlerin kullanımında, bitkiye ait kök, gövde, yaprak veya tohum gibi çeşitli kısımlar ya da bu kısımlardan elde edilen maddelerden yararlanılmaktadır. (Yiğitarıslan vd. 2011). Bitkilerin içerdikleri kimyasal moleküller genel olarak primer ve sekonder metabolitler olarak ikiye ayrılır. Primer metabolitler; canlının büyüme, gelişme ve üreme gibi temel yaşamsal faaliyetlerinde rol alırken sekonder metabolitler ise bu faaliyetler ile doğrudan ilişkili olmayıp, biyosentetik yollarla primer metabolitler tarafından üretilir (Ülger ve Yabancı 2020). Tıbbi ve aromatik bitkilerin sekonder metabolitlerinin yüksek antioksidan içeriğine sahip olmaları ve antimikrobiyal etki gibi biyolojik aktiviteleri nedeni ile ilaç, gıda, ziraat ve kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerin sekonder metabolitleri terpenoidler, fenolikler ve alkaloidler olmak üzere üç grup altında toplanmakta ve etanol, metanol, etil asetat, aseton gibi çözügen maddeler kullanılarak bitkinin ekstraksiyonu sonucu elde edilmektedir (Do vd. 2014; Karataş vd. 2019).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, tıbbi ve aromatik bitkilerin biyolojik aktivitelerini araştırmak amacı ile yapılan bilimsel çalışmalarda en fazla fesleğen (*Ocimum basilicum*), nane (*Mentha piperita*), adaçayı (*Salvia officinalis*), kekik (*Thymus vulgaris*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*) gibi bitkilerin dahil olduğu Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyası üyeleri kullanılmıştır (Çelik 2020). Bu çalışmalarda, balıkların büyüme ve üreme performansı (Balcı ve Aktop 2019), bağışıklık sistemini güçlendirmede immünostimulan etkisi ile antimikrobiyal aktiviteleri (Diler vd. 2018) ve anestezi madde olarak etkileri (Metin vd. 2018) incelenmiştir. Ayrıca bitkisel ürünlerin antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra, balıkların gelişimini kolaylaştırdığı ve yoğun üretim yapılan ortamlarda ortaya çıkabilecek stresin önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Harikrishnan vd. 2011).

2.8. Anason (*Pimpinella anisum*)

Anason (*Pimpinella anisum*), Asya ve Doğu Akdeniz de doğal yayılım gösteren ve gerek sahip olduğu aroma gerekse tedavi edici özellikleri nedeni ile ekonomik değeri yüksek bir bitkidir. Anason ayrıca Asya, Afrika ve Avrupa da tarımı yapılan ilk aromatik bitki türleri arasında yer almaktadır (Haşimi vd. 2014).

Anason bitkisi Avrupa Konseyi tarafından doğal yem tatlandırıcı kaynağı olarak listelenmiş ve Amerika Birleşik Devletleri tarafından güvenli olduğu bildirilmiştir.

2.8.1. Anason bitkisinin botanik, fiziksel ve kimyasal özellikleri

Anason maydanozgiller familyasında yer alan *Pimpinella* cinsinin bir üyesidir. Anason tıbbi ilaç ve baharat bitkilerinden olup farmakognozide uçucu yağ bitkileri sınıflandırılmasına dahildir. Günümüzde anason üreten ülkeler arasında başta ülkemiz olmak üzere İspanya, Balkan ülkeleri ile Rusya yer alır. Ülkemizde anason üretiminin büyük çoğunluğu Denizli, Burdur, Muğla, Antalya da üretilirken, daha az miktarlarda ise Bursa, Balıkesir, Afyon, Uşak ve İzmir de üretilmektedir (DİE 2003).

Anason (*P. anisum* L.) 50-70 cm boyunda, heterofili özelliğe sahip, beyaz çiçekli tek yıllık otsu bir bitkidir (Tanker vd. 2004). Bitkinin tohumları 2 mm genişliğinde, 6 mm uzunluğunda ve armut şeklinde olup, üzeri kısa tüylerle kaplıdır. Anason küçük tohumlu bir bitkidir. Bitki tohumunun bin dane ağırlığı 1-3 gr arasında değişiklik gösterir (MEGEP 2013).

Anason bitkisinin botanik sınıflandırılması

Bölüm	: Spermatophyta	
Altbölüm	: Angiospermae	
Sınıf	: Magnoliopsida	
Altsınıf	: Rosidae	
Takım	: Apiales	
Familya	: Apiaceae (Umbelliferae)	
Cins	: Pimpinella	
Tür	: <i>Pimpinella anisum</i> L.	(Tanker vd. 2004)



Şekil 2.5. a) Anason çiçeği; b) Anason tohumu (Anonim)

Anason bitkisi %1,5-3 oranında yağ içerir ve genel anlamda içeriğindeki uçucu yağ için bitkinin üretimi yapılmaktadır (MEGEP 2013). Anason un sahip olduğu uçucu yağın en önemli maddesi trans-anetholdür. Trans-anethol anasona kendine has kokusu ve tadını verir (Tabanca vd. 2003).

Çizelge 2.2. Anason yağındaki ana bileşikler (Avrupa Farmakopesi 7.0)

Bileşik	%
Trans-anethole	87-94
Estragole	0,5- 5,0
Anisaldehyde	0,1-1,4
Linalol	<1,5
Alpha-terpineol	<1,2
Cis-anethole	0,1-0,4
Pseudoisoeugenyl 2-methylbutirate	0,3-2,0
Fenchone	max 0,01

2.8.2. Anasonun biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar

Hoby vd. (2015) yaptıkları çalışmada, İsviçre'nin Basel şehrindeki hayvanat bahçesinde bulunan sumatran orangutanları ve gorillerde anasonun oral yol ile kullanımı sonucu öksürük, soğuk algınlığı, solunum hastalıkları ve sindirim sistemi üzerinde olumlu etki meydana getirdiğini ve hayvanlarda süt üretiminin arttığını bildirmiştir.

Barakat vd. (2016), bir günlük Cobb broiler civcivleri üzerinde yaptıkları çalışmada, anasonun civcivlerin büyüme performansını, bağışıklığını ve yem dönüşüm oranı ile antioksidan aktivitelerini artırdığını tespit etmiştir.

Birinci ve Türker (2018), anasonun yapraklarından elde ettikleri esansiyel yağ kullanarak, bu yağın balıklar için patojenik bakteri türleri üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak, anasondan elde edilen esansiyel yağın *A. hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* için etki gösterdiği ancak *A. salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus garvieae* ve *Streptococcus agalactiae* üzerinde ise etkili olmadığını bildirilmiştir.

Parasa vd. (2012), anasonun esansiyel yağının balık patojenleri üzerindeki antimikrobiyal özelliklerini araştırarak, esansiyel yağın *A. hydrophila*, *A. salmonicida* ve *Edwardsiella tarda* üzerinde etkili olduğunu ortaya koymuştur.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Balık Materyalinin Temini, Adaptasyonu ve Denemenin Yürütülmesi

Çalışmada materyal olarak kullanılan balıkların adaptasyonları, beslenmeleri ve çalışma süresince yapılan tüm analizler Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Kepez Yerleşkesi'ne ait yetiştiricilik ünitesi ve ilgili laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Denemede kullanılacak gökkuşağı alabalığı Fethiye' de faaliyet gösteren ticari bir alabalık işletmesinden temin edilmiştir. Çalışmada 540 adet, $5,71 \pm 2$ gr ağırlığında gökkuşağı alabalığı kullanılmıştır. Deneme, 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup, denemelerde 50 L hacminde, 18 adet dikdörtgen tanklar kullanılmıştır (Şekil 3.1). Balıklar 6 gruba ayrılarak her bir tanka 30 adet balık olacak şekilde yerleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Besleme denemesinin yürütüldüğü sistem

Tanklara yerleştirilen balıklar 2 hafta süre ile her gün, sabah 9:00 ve 16:00'da olmak üzere günde 2 kez kontrol yemi ile beslenerek adaptasyonları sağlanmıştır (Şekil 3.2). Yemleme işlemi balıklar doyuncaya kadar devam etmiştir. Yemlemeden sonra, tank dibinde birikmiş artık yemler ile dışkılar sifonlanarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Adaptasyon sürecinde her bir tanka 2 L/dakika olacak şekilde taze su girişi sağlanmıştır. Araştırmada balıklar üzerinde gerçekleştirilecek prosedürler ve uygulamalar Tarım Orman Bakanlığı Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandıktan sonra çalışma başlatılmıştır (Rapor no:2019/06, Rapor tarihi: 20.09.2019).



Şekil 3.2. a). Adaptasyon sürecinde alabalıkların ticari yem ile beslenmesi **b)** Besleme bitiminde atıkların sifonlanarak ortamdan uzaklaştırılması

3.2. Deneme Ünitesi Su Analizleri

Gökkuşuğu alabalıklarının hem adaptasyon süreçlerinde hem de deneme boyunca her bir tanka 2 L/dakika olacak şekilde taze su girişi sağlanmıştır. Deneme süresince her bir tankın su sıcaklığı, çözülmüş oksijen ve pH değerleri günlük olarak ölçülmüş ve optimum değerlerde olması sağlanmıştır.

3.3. Mikrobiyolojik Çalışmalar

Araştırmaya başlamadan önce mikrobiyolojik analizler için her gruptan rastgele 5 balık seçilerek, Araştırma Enstitüsünün Kepez Yerleşkesinde bulunan balık hastalıkları araştırma laboratuvarına getirilmiştir. İlk olarak balıkların deri, yüzgeç ve solungaçlarından sürtme preparatlar hazırlanarak balıklar ektoparazit yönünden incelenmiştir. Daha sonra 2-fenoksi etanolün aşırı dozu uygulanarak, balıkların ötenazi işlemleri gerçekleştirilerek, balıkların nekropsileri yapılmıştır (Korun 2016). Balıkların karaciğer, önböbrek ve dalağından, beyin kalp infüzyon agar (BHIA) besiyerine ekimleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Daha sonra ekimli besiyerleri etüvde 24 °C de 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir (Seeley ve VanDemark 1991). İnkübasyon süresi sonunda bakteri kolonilerinin gelişimi yönünden petri kutuları kontrol edilerek fotoğrafları çekilmiştir.



Şekil 3.3. a) Balıklara paraziter muayene b) nekropsi işleminin uygulanması

3.4. Denemede Kullanılan Yemin Hazırlanması ve Paketlenmesi

Çalışmada kullanılan yerli anason yerel bir aktardan temin edilmiştir. Deneme yemleri %45 protein ve 21,9 MJ/kg toplam enerji seviyesinde izoproteik ve izoenerjitik olarak formüle edilmiştir. Formülasyona göre 560 g anason tartılarak öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir (Şekil 3.4). Yem yapımında kullanılacak olan karboksimetil selüloz (CMC), vitamin karması, mineral karması, kolin klorid ve indikatör olarak kromik asit Tablo 1 de belirtilen miktarlarda tartılmış ve üzerine 614 g soya unu eklenmiştir. Daha sonra iyice karıştırılarak partikül büyüklükleri <500 µm olacak şekilde öğütücüden geçirilmiştir. Balık unu, tavuk unu ve buğday gluteni tartılarak ana karışım homojen hale gelinceye dek karıştırılmıştır (Şekil 3.5). Bu karışıma sırasıyla anason, buğday gluteni, selüloz ve fosfor eklenerek homojen olana kadar karıştırılmıştır. Karışımın üzerine balık yağı eklenerek tekrar karıştırılmış ve bu son karışım öğütücüden geçirilerek toz haline getirilmiştir. Bu işlem, anasonun % 0,1, % 0,5 % 1,5, % 3 ve % 5 oranlarında eklenmesiyle oluşturulan 5 grup ve anason ilavesinin yapılmadığı 1 kontrol grubu olacak şekilde toplam 6 grup için yem karışımı olacak şekilde devam ettirilmiştir ve yemler kodlanarak poşetlere koyulmuştur.



Şekil 3.4. Anasonun öğütülmesi işlemi



Şekil 3.5. Hammaddelerin formülasyona göre karıştırılması işlemi

Her poşet içerisindeki yem karışımı önce bir leğene dökülmüş ve içerisine 1440 g saf su eklenerek, elde tutup sıkınca dağılmayacak şekilde kıvam alana dek yoğrulmuştur. Kıvam alınca üzeri örtülerek 5 dakika süre ile dinlendirilmiştir. Karışımı sağlanan hammaddeler kıyma makinesi ile 3 mm çapında pelet haline getirilmiştir (Şekil 3.6). Peletler plastik torbalar üzerine serilerek vantilatör ve klima karşısında 10-15 dk süre ile bekletilerek peletlerin içeriğindeki fazla nemin uzaklaşması sağlanmıştır. Bu süre sonunda muşamba üzerindeki yemler 5 L'lik bidon içerisine koyulup bidon kapağı kapatılmış ve hızlıca sallanıp yaklaşık 5 cm boyunda olan peletler kırılarak küçültülmüştür. Pelet boyları 0,3-0,5 cm olana dek işlem devam ettirilmiş ve daha sonra tepsi üzerine yayılarak 65 °C sıcaklıktaki etüve koyulmuştur. 24 saat sonunda el ile karıştırılarak yapışmaları önlenmiş ve etüv içerisindeki tepsiler yer değiştirilerek eşit oranda kurumaları sağlanmıştır. Peletler etüvde toplam 48 saat süre ile tutulmuştur (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Hammaddelerin su eklenerek hamur kıvamına getirilmesi ve kıyma makinesi ile pelet haline getirilmesi



Şekil 3.7. a) Hazırlanan peletlerdeki fazla suyun uzaklaştırılması; **b)** Deneme yemlerinin etüve kurutulması

Kurutma işlemi sonunda peletler elek üzerine alınarak yapışmış olanlar hafifçe ayrılmıştır. Daha sonra elekten geçirilerek tozların yemden uzaklaştırılması sağlanmış ve kodlanarak poşetlere aktarılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. a) Peletlerin eleğe alınması; **b)** Eleme işlemi ile tozların uzaklaştırılması; **c)** peletlerin poşetlenmesi; **d)** Partiler halinde hazırlanan yem torbalarından oksijenin uzaklaştırılması amacıyla azot gazı ile muamele edilmesi

Her bir deneme yemi 400 g olacak şekilde tartılarak ayrı ayrı kilitli plastik torbalara koyulmuş ve her torba azot gazı ile muamele edilerek içindeki oksijenin uzaklaşması sağlanmıştır (Şekil 3.8). Yemler denemelerde kullanılabilece kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Farklı miktarlarda anason içeren diyetin bileşen ve yüzdeleri (%)

Hammadde	Kontrol	% 0,1	% 0,5	% 1,5	% 3	% 5
Balık unu	31,91	31,91	31,91	31,91	31,91	31,91
Anason	0,00	0,10	0,50	1,50	3,00	5,00
Buğday unu	27,36	27,21	26,69	25,32	23,31	20,64
Balık yağı	9,30	9,29	9,25	9,14	8,97	8,75
Fosfor	0,63	0,63	0,64	0,67	0,70	0,75
Alfa selüloz	0,00	0,06	0,21	0,66	1,31	2,15
Soya unu	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Mısır gluteni	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Buğday gluteni	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Tavuk unu	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
CMC	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
*Vitamin	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
**Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Kolin klorit	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Kromik oksit	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
TOPLAM	100	100	100	100	100	100

*Her 5 kg'da; vitamin A: 20,000 000 IU, vitamin D3: 2,000 000 IU, vitamin E: 200,000 mg, vitamin K3: 12,000 mg, vitamin B1: 20,000 mg, vitamin B2:30 000 mg, Niacin: 200, 000 mg, Cal.D. Pantothenate: 50,000 mg, vitamin B6: 20,000, vitamin B12: 50 mg, D-Biotin: 500 mg, Folik asit: 6,000 mg, vitamin C: 200 000 mg, inositol: 300 000 mg bulunmaktadır

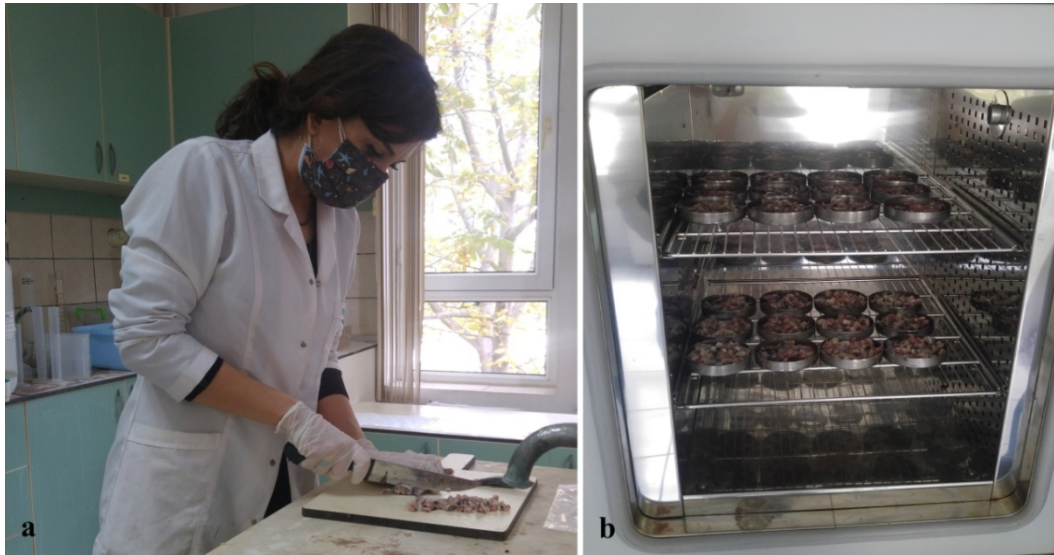
**Her 1 kg'da; mangan50,000 mg, çinko 50,000 mg, bakır 10,000 mg, kobalt 150 mg, iyot 800 mg, selenyum 150 mg ve Demir 50,000 mg bulunmaktadır

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan yemlerin analiz ile belirlenen besin madde içerikleri

Besin Maddeleri (%)	Gruplar					
	Kontrol	% 0,1	% 0,5	% 1,5	% 3	% 5
Kuru madde	96,45	96,45	96,46	96,59	97,15	97,19
Protein	46,91	47,95	46,99	46,59	46,03	46,97
Lipid	12,89	12,87	12,80	13,21	13,32	13,91
Fosfor	8,13	8,27	8,37	8,39	8,33	8,66
Enerji (MJ/kg)	21,68	21,72	21,62	21,69	21,68	21,82
Sindirilebilir Enerji	16,10	16,17	16,05	15,98	15,98	15,75

3.5. Besin Madde Analizi

Deneme süresi tamamlandığında -20'de tutulan balıklar ince ince kesilerek kıyma haline getirilmiştir. Daha sonra kıyma haline getirilen balıkçetleri ve denemede kullanılan yem örnekleri 2 g civarında tartılarak etüve alınmış ve 68 °C'de bir gün süresince kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.9). Ertesi gün kuruyan numuneler öğütülerek homojen hale getirilmiştir (Şekil 3.10). Bu numunelerden 3 tekrarlı olacak şekilde kül, yağ, protein ve yağ asitleri analizleri yapılmıştır (AOAC 2000).



Şekil 3.9. a) Tüm vücut örneklerinin homojenize edilmesi; **b)** homojenize edilen örneklerin kuru madde düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kurutma dolabında bekletilmesi



Şekil 3.10. a) Tüm vücut örneklerinin kurutma sonrası desikatörde bekletilmesi; **b)** kurutulan örneklerin besin madde analizleri için öğütülmesi; **c)** numunelerin paketlenerek saklanması

3.5.1. Kuru madde analizi

Yaklaşık 2 g ağırlığındaki örnek kurutma kaplarına alınarak eşit bir şekilde dağılması için dikkatlice sallanmıştır. Örnek kapları 105 °C'ye ayarlanmış etüvde sabit ağırlık elde edene kadar tutulmuş ve ardından oda sıcaklığına kadar desikatörde bekletilmiştir. Daha sonra kaybolan nem miktarı üzerinden aşağıdaki formüle göre kuru madde oranı hesaplanmıştır (AOAC 2000).

$$\%Nem = 100 \times \frac{\text{Örnekteki ağırlık kaybı (g)}}{\text{Alınan örnek miktarı (g)}}$$

$$\%Kuru\ madde = 100 - \%Nem$$

3.5.2. Ham kül analizi

Ham kül analizinde kullanılacak olan krozelere önce kül fırınında yakılarak sabit tartıma getirilmiş. Daha sonra desikatöre koyularak oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur. Yaklaşık 2 g civarında tartılan örnekler, bu krozelere yerleştirildikten sonra 600 °C'de 2 saat süre ile kül fırınında yakılmıştır. Yakılan örnekler desikatöre alınarak, odasıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur. Ham kül miktarı aşağıdaki formülegöre hesaplanmıştır (AOAC 2000).

$$\%Kül = 100 \times \frac{\text{Örnek miktarı (g)} - \text{Yakmada kaybolan miktar (g)}}{\text{Örnek miktarı (g)}}$$

3.5.3. Ham yağ analizi

Kurutularak öğütülen örnekler yaklaşık 0,25 g tartılarak XT4 filter bag içerisine koyulmuş ve ağzı yapıştırılmıştır. Filter bag'ler 3 saat süre ile 105 °C de etüvde bekletildikten sonra tekrar tartımları yapılmıştır. Tartılan filter bag'ler ANKOM XT15 model yağ tayin cihazına yerleştirilmiştir. Dietileter kullanılarak 30 dakika süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi bittikten sonra tekrar 30 dakika süre ile 105 °C'de etüvde bekletilmiştir. Etüvden çıkarılan örneklerin son tartımları yapılarak, tartımlar arası fark hesaplanmış ve ham yağ miktarı belirlenmiştir (AOAC 2000)

3.5.4. Ham protein analizi

Kurutularak öğütülen örnekler yaklaşık 50 mg olacak şekilde kalay kapsüller içerisinde tartıldıktan sonra VELP Dumas AzotAnaliz Cihazı 701 kullanılarak Dumas metodu ile örneklerin ham protein miktarları tespit edilmiştir (AOAC 2000).

3.5.5. Yağ asitleri analizi

Yağ ekstraksiyon işlemi Bligh ve Dyer (1959) metoduna göre yapılmıştır. Yağ asitleri metil esterleri, Ichihara vd. (1996) tarafından tanımlanmış metoda göre n-hexane ve metanol içerisinde 2 M KOH kullanılarak transmetilasyon ile hazırlanmıştır. Ekstrakte edilmiş 10 mg'lık yağ örneği üzerine 4 ml, 2 M'lık KOH ve 2 ml n-hekzan ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırılmış ve 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra hekzan tabakası gaz kromatografi cihazında analiz için kullanılmıştır.

Yağ asitleri analizi bir adet alev iyon detektörü ve silika kılcal kolon (30 m x 0,32 mm, ID x 0,25 µm film) ile donatılmış Thermo Focus GC cihazında yapılmıştır. Yağ asitleri FAME karışımının (SUPELCO) gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla yapılmış ve sonuçlar % olarak ifade edilmiştir (Bligh ve Dyer 1959).

3.5.6. Kromik oksit analizi

Yaklaşık 50-100 mg arasındaki örneklerin tartımları yapıldıktan sonra önce nitrik asit sonrasında ise perklorik asit ile yakım işlemleri yapılmıştır. Yakılan örneklerin kromik oksit oranları 350 nm'de spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir (Furukawa ve Tsukahara 1966).

3.6. Anasonun Büyüme ve Yemden Yararlanma Performansı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Balıklar sabah 09:00 ile akşamüzeri 16:00 da olmak üzere günde iki kez doyana kadar beslenmiştir. Balıkların büyüme performanslarının belirlenmesi amacı ile 4'üncü ve 8'inci haftaların bitiminde boy ve ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir.

Mutlak oransal ve spesifik büyüme hesaplanarak canlı ağırlık ve boy olarak büyüme tespit edilmiştir. Deneme çalışmalarının sonunda balıkların büyüme parametrelerinin hesaplanmasında aşağıda belirtilen formüller kullanılmıştır (Diler vd. 2017).

Deneme sonunda büyüme parametrelerinin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır (Diler vd. 2017).

Canlı ağırlık artışı (CAA, g) = Son vücut ağırlığı – Başlangıç vücut ağırlığı

$$\text{Oransal Büyüme (OB\%)} = \frac{\text{Canlı ağırlık artışı}}{\text{Deneme başı ortalama balık ağırlığı}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Spesifik büyüme oranı (SBO, \% gün}^{-1}\text{)} \\ = 100 \times \frac{\ln \text{ son ağırlık} - \ln \text{ başlangıç ağırlık}}{\text{gün}} \end{aligned}$$

$$\text{Yem dönüşüm oranı (FCR)} = \frac{\text{Toplam tüketilen yem (g)}}{\text{Toplam kazanılan canlı ağırlık (g)}}$$

$$\text{Yaşama oranı (YO)} = \frac{\text{Deneme sonunda tankta kalan balık sayısı}}{\text{Deneme başı balık sayısı}} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{Günlük yem tüketimi (g/kg MVA/ gün)} \\ \text{(Yem tüketimi (kuru madde üzerinden) / MVA}^{0,8}\text{)} \\ = \frac{\text{gün}}{\text{gün}} \end{aligned}$$

Metabolizma vücut ağırlığı

$$= \sqrt[0,8]{\text{Deneme başı vücut ağırlığı} \times \text{Deneme sonu vücut ağırlığı}}$$

$$\begin{aligned} \text{Günlük besin madde tüketimi (g/kgMVA}^{0,8}\text{gün}^{-1}\text{)} \\ \text{N, lipit, enerji tüketimi / MVA}^{0,8}\text{)} \\ = \frac{\text{gün}}{\text{gün}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Günlük ağırlık kazancı (g/kgMVA}^{0,8}\text{gün}^{-1}\text{)} \\ \text{(deneme sonu ağırlık} \times \text{deneme sonu besin madde düzeyi) - (başlangıç ağırlığı} \times \text{başlangıç besin madde düzeyi) / MVA}^{0,8}\text{)} \\ = \frac{\text{Gün}}{\text{Gün}} \end{aligned}$$

$$\text{Besin madde tutumu (\%)} = 100 \times \frac{\text{Günlük besin madde kazancı}}{\text{Günlük besin madde tüketimi}}$$

3.7. Organ İndeksleri

Deneme çalışmasının sonunda balıkların organ indekslerini belirlemek amacıyla her tanktan rastgele 4 balık seçilerek, boy, ağırlık, iç organ, pilorik çekum ve karaciğer ölçümleri yapılmıştır. Organ indekslerini belirlemek amacıyla aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$\text{Viserosomatik indeks (\%)} = 100 \times \frac{\text{Viseral ağırlık (g)}}{\text{Vücut ağırlığı (g)}}$$

$$\text{İç organ yağ indeksi (\%)} = 100 \times \frac{\text{İç organ çevresindeki yağ ağırlığı (g)}}{\text{Vücut ağırlığı (g)}}$$

$$\text{Hepatosomatik indeks (\%)} = 100 \times \frac{\text{Karaciğer ağırlığı (g)}}{\text{Vücut ağırlığı (g)}}$$

3.8. Anasonun Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi

Anasonun sindirilebilirliğinin tespiti için 3-4 günde bir dışkı toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Dışkı toplamadan bir gün önce, akşam yememesinden sonra sifonlama yapılarak tankların hepsi temizlenmiştir. Ertesi gün ağız kısmına vana bağlanmış bir pet şişe içerisine dışkılar sifonlama yapılarak toplanmış ve buradan da vana açılarak plastik tüplere aktarılmıştır (Şekil 3.11). Her tank için ayrı ayrı numaralandırılan tüpler üzerindeki fazla sıvı döküldükten sonra derin dondurucuda 2-3 saat süre ile dondurulmuştur. Daha sonra dışkılar tüplerden alınarak yine numaralandırılmış poşetlere aktarılarak analiz gününe kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Farklı zamanlarda toplanan dışkı örnekleri tanklara göre tekrar bir araya getirilerek besin madde analizlerine tabi tutulmuştur. Besin madde sindirilebilirlik katsayıları aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır (Maynard ve Loosli 1969).

$$\text{Kuru madde sindirilebilirliği (\%)} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{\% \text{ İyem}}{\% \text{ İdışkı}} \right) \right]$$

$$\text{Sindirilebilirlik oranı} = 100 \times \left[1 - \frac{\% \text{ İyem}}{\% \text{ İdışkı}} \times \frac{\% \text{ Byem}}{\% \text{ Bdışkı}} \right]$$

Burada; “İ” indikatör (kromik oksit) ve “B” besin maddelerini (kuru madde, protein, lipit ve enerji) ifade etmektedir.



Şekil 3.11. a) Dışkıların sifonlama ile toplama aparatına aktarılması; **b)** Dışkıların çöktürme aparatından tüplere aktarılması

3.8.1. Dışkı besin madde analizleri

Dışkıların kuru madde, protein ve kül düzeyleri AOAC 1990'a göre belirlenmiştir. Kuru madde; 105°C de sabit ağırlığa kadar kurutularak, protein; Dumas Protein/Nitrogen Analyzer NDA 701 cihazı ile ve kül ise 600°C'de 2 saat yakılarak belirlenmiştir. Örneklerin lipit düzeyleri ANKOM XT 15 ile hızlı ekstraksiyon yöntemine göre tespit edilmiştir (AOAC 1990). Yemlerin ve dışkının kromik oksit analizleri ise Furukawa (1966)'e göre belirlenmiştir. Yağ asitleri kompozisyonlarının tespiti için yeterli miktarda lipit Bligh ve Dyer (1959)'e göre izole edilmiştir. Yağ asitlerinin metil esterleri Ichihara vd. (1996) tarafından bildirildiği şekilde hazırlanmıştır. Yağ asitleri profili oto örnekleyicisi olan bir gaz kromatografi cihazı (Thermo Focus, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) kullanılarak tespit edilmiştir.

3.9. Balıklardan Kan Alımı

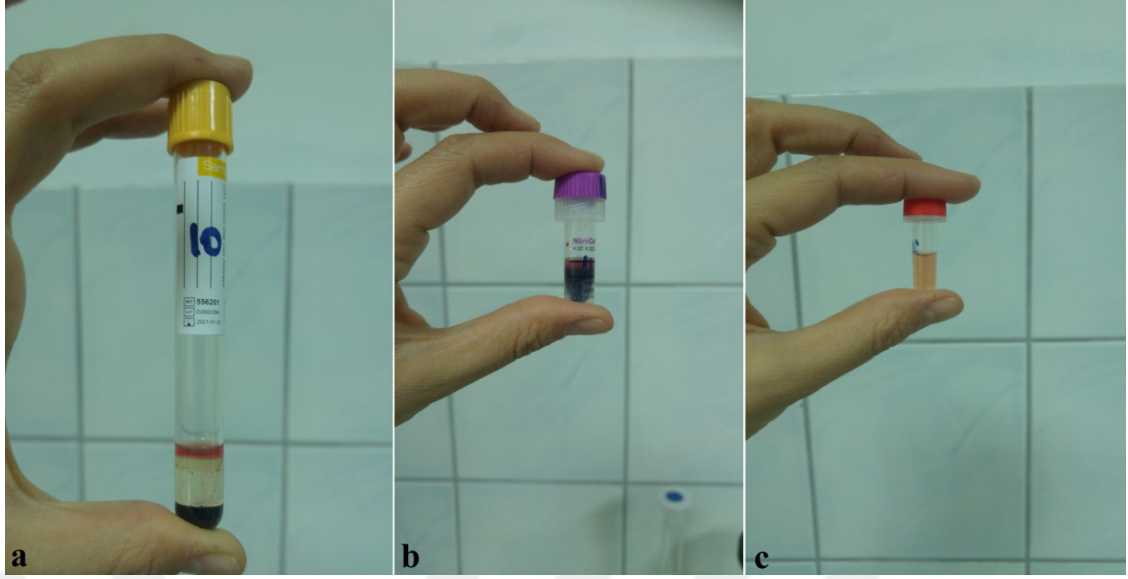
Denemenin 4. ve 8. haftasının bitiminde gökkuşağı alabalıklarından kan örneği alınmıştır. Bunun için balıklar önce 0,2 ml/L 2-fenoksiethanol ile anestezi edilmiştir. Daha sonra balıklar sağ tarafları üzerine yatırılarak, yan çizgi üzerinden kaudal venaya omurga hissedilinceye kadar insülün enjektörü kullanılarak girilmiş ve negatif basınç hissedildiğinde enjektör çekilerek kan örneği alınmıştır (Şekil 3.12) (Diler vd. 2018). Kan örneği alındıktan sonra bir kısmı yayma preparatlar içindirek lama, bir kısmı hematolojik analizler için EDTA'lı tüplere bir kısmı ise immünolojik analizler için jelli tüplere aktarılmıştır.



Şekil 3.12. a) Kaudal venadan kan alımı; b) alınan kanın tüplere aktarımı

3.10. Hematolojik ve Serolojik Analizler

Anasonun serum biyokimyasal parametrelerine olan etkisinin belirlenmesi amacıyla balıktan alınan kan iki eşit kısma bölünerek bir kısmı EDTA tüpe alınmış ve Mindray BC2800 cihazı ile hemogram (eritrosit, lökosit, hematokrit, hemoglobin) analizi yapılmıştır. Diğer kan örnekleri ise jelli biyokimya tüplerine alınarak 10 dakika süre ile 3000 rpm’de santrifüj edilmiş ve serumlar elde edilmiştir (Şekil 3.13). Elde edilen serumlardan, total protein (TP), albümin (ALB), alkalen fosfataz (ALP), glukoz (GLU), total bilirubin (TBIL), serum inorganik fosfor (IP), total kolesterol (TCHO), gama glutamil transferaz (GGT), alanine aminotransferaz (GPT), kalsiyum (Ca), kreatin (CRE) ve kan üre azotu (BUN) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen serumlar analiz süresine kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir. Bu biyokimyasal parametrelerin tespiti için Fujifilm Biyokimya cihazı kullanılmıştır.



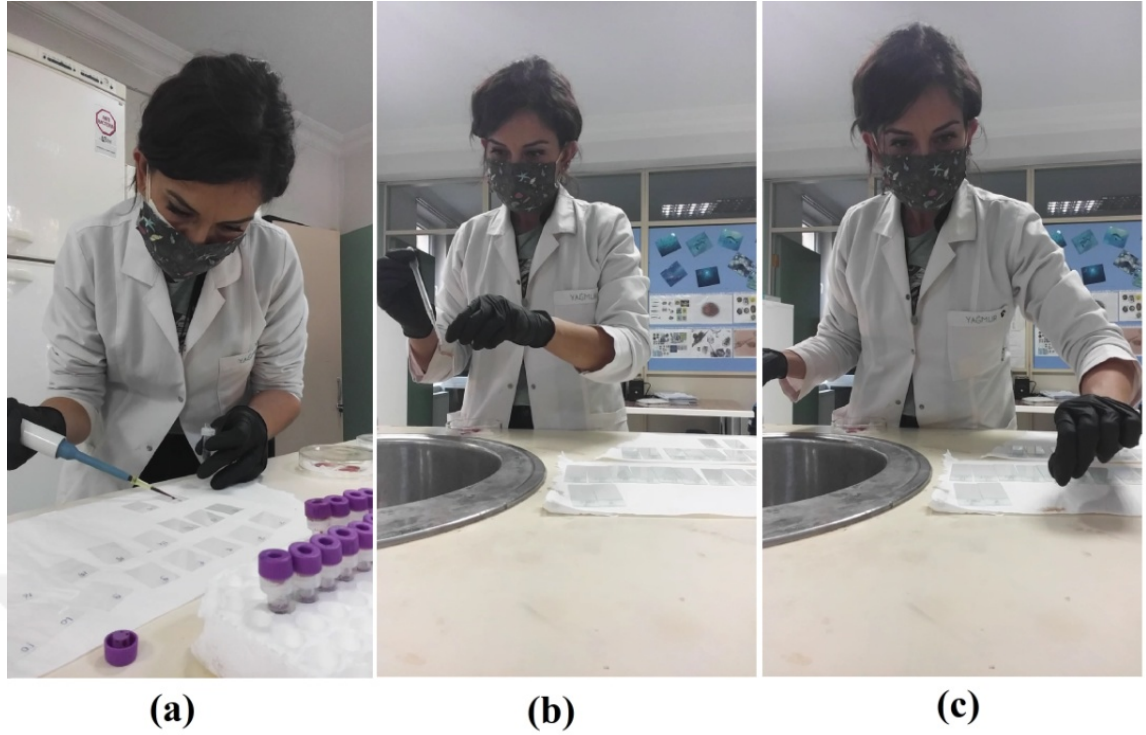
Şekil 3.13. a) Santrifüj edilen kandan elde edilen serum; **b)** EDTalı tüpe alınan kan; **c)** jelli tüpten elde edilen serumun ayrı tüp içerisinde muhafaza edilmesi

3.11. İmmünolojik analizler

3.11.1. NBT (Nitroblue Tetrazolium) (+) hücre Sayımı

NBT sayımı için ilk olarak steril fosfat tamponlu Salin (pH 7,2) ile %0,2 oranında Nitroblue tetrazolium (NBT) solüsyonu hazırlanmıştır. Petri kapları içerisine saf su ile ıslatılan kağıt mendil koyularak nemlendirmeleri sağlanmıştır. Daha sonra üzerine 50 µl kan damlatılmış olan lamel petri içerisine yerleştirilerek 22 °C’de 30 dk süre inkübe edilmiştir.

Petri kaplarını nemlendirmek amacıyla içerisine saf su ile ıslatılmış kağıt mendil yerleştirilerek üzerine 50 µl kan damlatılan lamel 22 °C’de 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda lamel fosfat tamponlu salin ile dikkatlice yıkanarak cama yapışan nötrofiller dışındaki kan hücreleri lamelden uzaklaştırmıştır (Şekil 3.14). Daha sonra bir lam üzerine bir damla NBT solüsyonu damlatılarak, bu lamel üzerine kırmızı kan hücrelerinden arındırılmış olan lamel kapatılmış ve nemli petrilerde 22 °C’de 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda lam mikroskop altında 40x büyütmede incelenerek mavi boyanan hücreler sayılmıştır. Örneklenen her balık için iki lamel hazırlanmış ve her lamel üzerinde tesadüfi üç mikroskobik alan sayılarak aritmetik ortalamaları hesaplanmıştır (Anderson vd. 1992).



Şekil 3.14. a) Kan örneklerinin lam üzerine alınması; **b)** inkübasyon sonunda lamaların yıkanması; **c)** lamlardaki fazla suyun alınması

3.11.2. Serum lizozim aktivitesinin belirlenmesi

Serum lizozim aktivitesinin belirlenmesinde diffüzyon agar yöntemi kullanılmıştır. Bunun için fosfat tamponlu salin içine %0,5 agar ve %0,12 g liyofilize *Micrococcus lysodeikticus* eklenerek, pH'sı 6,2'ye ayarlanmış ve böylece test ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan ortam otoklavlandıktan sonra petrilere dökülerek donduran sonra petri kaplarının ortasına ortalama 5 mm çapında çukurlar açılmıştır. Bu çukurlara 25 µl serum örnekleri koyulmuştur (Şekil 3.15). Daha sonra petriler 25 °C'de 20 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda çukurların etrafında meydana gelen zonların çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Test numunelerindeki lizozim miktarını belirlemek amacı ile standart olarak egg white lizozim kullanılmıştır (Diler vd. 2018).



Şekil 3.15. a) Serum örneklerinin alınması; b) çukurlara koyulması

3.11.3. Fagositik aktivitenin belirlenmesi

Fagositik aktivitenin belirlenmesi için mikropolanın çukurcuklarına 50 µl kan örnekleri eklenmiştir. Üzerine Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan temin edilen *Yersinia ruckeri* seyreltme yöntemi ile 1×10^7 hücre/ml içeren solüsyonu hazırlanmıştır. Daha sonra bu solüsyondan 50 µl alınarak çukurcuklarda bulunan kan üzerine eklenmiştir. Çukurcuklar içerisindeki kan ve bakteri süspansiyonuna pipetaj yapılarak iyice karışması sağlanarak oda sıcaklığında 20 dk süre ile inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bu süspansiyondan 5 µl alınıp lam yüzeyine koyularak yayma preparatı hazırlanmıştır. Yayma preparatı kuruduktan sonra %95 etil alkolde 5 dakika bekletilerek hücrelerin fikse edilmesi sağlanmıştır. İşlem sonrasında preparatlar % 7 giemsa ile 10 dakika boyanmıştır. Kuruyan preparatlar mikroskop altında incelenerek aşağıdaki belirtilen formüller ile (Siwicki ve Anderson 1993) fagositik aktivite (FA) ve fagositik indeks (Fİ) tespit edilmiştir.

$$\text{Fagositik Aktivite (FA)} = \frac{\text{Bakteri yutan fagositik hücre sayısı}}{\text{Fagosit sayısı}} \times 100$$

$$\text{Fagositik İndeks (Fİ)} = \frac{\text{Yutulan bakteri sayısı}}{\text{Fagositik hücre sayısı}}$$

3.12. Histolojik Analizler

Histololojik inceleme için deneme başı (0. gün), deneme ortası (28. gün) ve deneme sonunda (56. gün) her gruptan rastgele 3'er balık seçilerek ötenazi (3 ml/l 2-fenoksietanol) uygulandıktan sonra karaciğer, böbrek, dalak, bağırsak ve solungaç dokularından örnek alınmıştır. Doku örnekleri keskin bir bistüri yardımıyla 0,5 cm³ büyüklüğüne getirilerek ve %10'luk nötral formalin çözeltisinde 24-48 saat süre ile tespit edilmiştir. Tespit işlemi sonrasında dokular önce akan suda yıkanmıştır. Dokunun sahip olduğu suyu gidermek için önce 3 tekrarlı olacak şekilde %30' luk alkolde 1 saat bekletilmiştir. Sonra sırayla %50' lik alkolde 1 saat ve % 70 lik alkolde tüm gece bekletmiştir. Ertesi gün sırayla %90 ve %100' lük alkollerde 1'er saat süre ile bekletilerek alkol serilerinden geçirilmiştir. Dehidratasyonun sonunda doku örneğini kapatacak şekilde 1 kısım % 100'lük alkol + 1 kısım ksilolde 15 dakika tutularak doku alıştırılmış daha sonra sadece ksilole alınarak 10 dakika süre ile beklenmiştir. Bu süre sonunda ksilol içerisindeki örnek üzerine ksilol miktarı kadar sıvı parafin (1 kısım ksilol + 1 kısım parafin olacak şekilde) eklenerek etüvde 15 dakika boyunca parafine alıştırılmıştır. Daha sonra dokular 1er saat olmak üzere 3 kez parafinden geçirilmiştir.

Gömme işlemini gerçekleştirmek için kullanılacak parafin etüv içerisinde tutularak sıvı kalması sağlanmıştır. 2x5 cm ebatlarında metal dikdörtgen bloklar bir mermer üzerine yerleştirilmiş ve içerisine sıvı parafin dökülmüştür. Daha sonra vakit kaybetmeden gömülecek olan dokular pens yardımıyla dikkatlice alınmış ve kalıbın içerisinde istenilen noktaya bırakılmıştır. Donan parafin bloklar -20 ye bırakılarak iyice sertleşmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.16. a) Donan parafin bloklardan mikrotom ile kesit alınması; **b)** doku kesitlerinin sıcak su banyosunda bekletilmesi; **c)** doku kesitlerinin boyanması; **d)** boyanan doku kesitlerinin kalıcı preparat haline getirilmesi

Daha sonra parafin bloklardan rotary mikrotom yardımıyla 5µ kalınlığında kesitler alınarak 38-40 °C sıcaklıktaki su banyosuna bırakılmış ve katlanan kesitlerin açılması sağlanmıştır. Bu kesitler lam üzerine yerleştirilerek hematoksilin-eosin yöntemi ile boyanmıştır. Boyama işlemi sonrasında lam entellan ile kapatılarak sabit

preparat haline getirilmiş ve preparatlar ışık mikroskobu altında incelenerek fotoğraflanmıştır (Şahan vd. 2017; Ateş 2007).

3.13. İstatistiksel Analizler

Denemede elde edilen bütün verilerin ortalama ve standart sapma ($\pm$ Std) değerleri Microsoft Office Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. Veriler normallik ve varyans homojenlik testlerinden sonra SPSS istatistik paket programı kullanılarak tek yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve polinomial kontrastlarla analiz edilmiştir. ANOVA testinin önemli bulunması halinde, farklılık gösteren muamelelerin tespiti için Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.



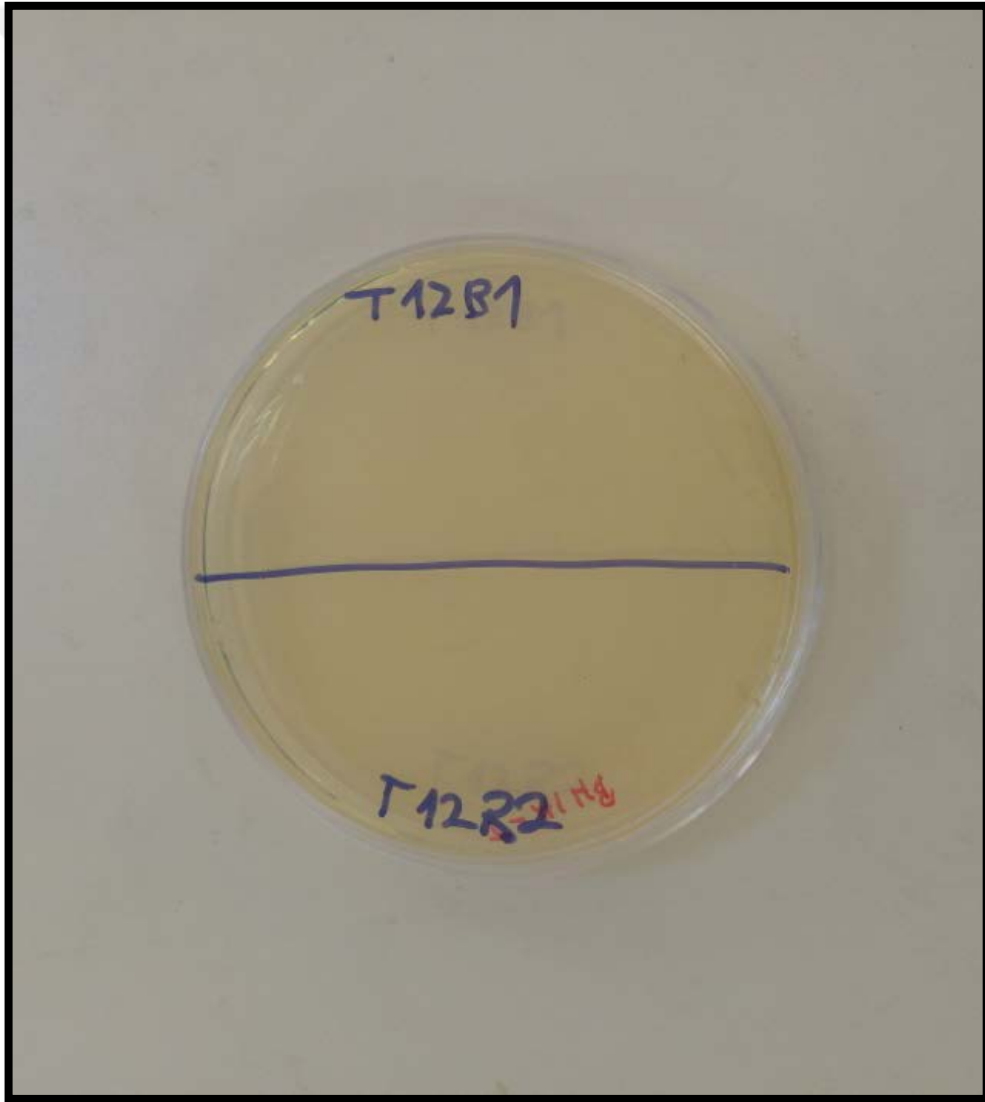
4. BULGULAR

4.1. Deneme Ünitesi Su Analizleri

Deneme çalışmalarında balıkların tutuldukları tanklardaki su sıcaklığı, çözünmüş oksijen ve pH değerleri günlük olarak ölçülmüştür. Su sıcaklığı $15,87 \pm 0,63$ °C, çözünmüş oksijen değeri $7,38 \pm 3,41$ ppm ve pH $8,31 \pm 0,01$ olarak tespit edilmiş ve kaydedilmiştir.

4.2. Mikrobiyolojik Analizler

Bakteriyolojik çalışma amaçlı ekim yapılan besiyerlerinde inkübasyon süresi sonunda herhangi bir koloni gelişimi tespit edilmemiştir (Şekil 4.1). Yapılan parazitolojik çalışmalar sonucunda da balıklarda dış ve/veya iç parazite rastlanılmamıştır.



Şekil 4.1. İnkübasyon süresi sonunda bakteri gelişimi görülmeyen besiyeri

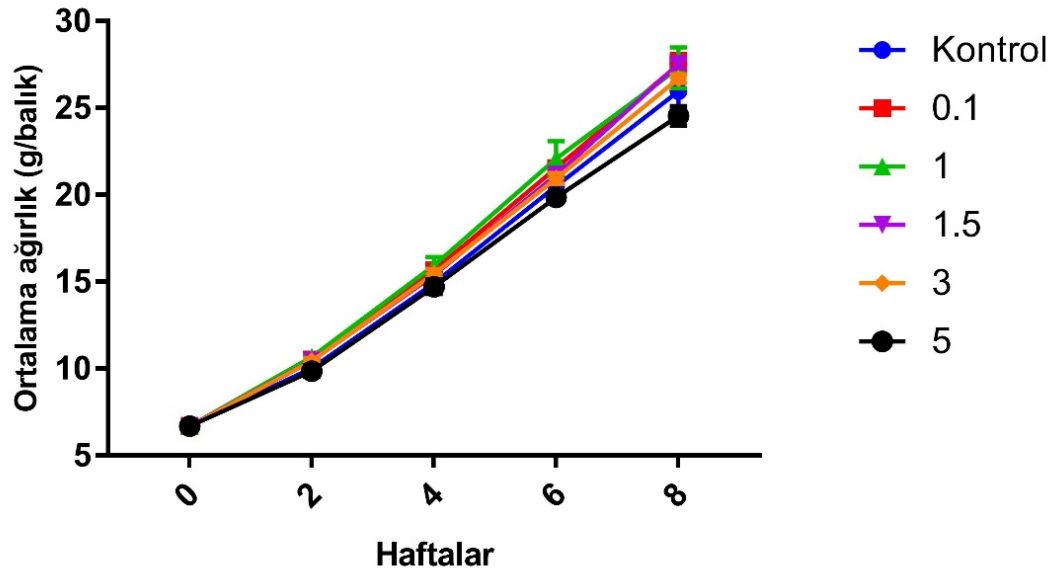
4.3. Anasonun Büyüme ve Yemden Yararlanma Performansı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

4.3.1. Canlı ağırlık artışı

Denemede kullanılan yeme %0,1, %0,5, %1,5, %3 ve %5 oranında anason ilavesi yapılarak beslenen gruplara ve kontrol grubuna ait, deneme başında ve 2 hafta arayla yapılan ölçümlerle elde edilen canlı ağırlık artışı çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre canlı ağırlık artışı

Dönemler	Deneme Grupları						Analiz		
	Kontrol	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
Başlangıç	6,71±0,03	6,69±0,01	6,70±0,02	6,71±0,01	6,70±0,02	6,69±0,02	-		
2. Hafta	10,02±0,33	10,53±0,29	10,67±0,14	10,46±0,11	10,44±0,16	9,87±0,34	0,229	0,806	0,079
4. Hafta	14,92±0,46	15,67±0,33	15,94±0,48	15,38±0,31	15,47±0,27	14,72±0,41	0,286	0,926	0,203
6. Hafta	20,50±0,59 ^a	21,55±0,07 ^a	22,08±1,02 ^a	21,15±0,43 ^a	20,95±0,32 ^{ab}	19,86±0,28 ^{ab}	0,136	0,527	0,214
8. Hafta	25,98±1,07 ^a	27,51±0,60 ^a	27,31±1,18 ^a	27,53±0,25 ^a	26,69±0,25 ^{ab}	24,55±0,57 ^{ab}	0,094	0,827	0,032



Şekil 4.2. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre canlı ağırlık artışı

Balıkların canlı ağırlık ortalamaları gruplara ve haftalara göre değerlendirildiğinde, 6. haftaya kadar farklı düzeylerde anason kullanımının istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Deneme sonunda, yemde artan anason düzeylerinin canlı ağırlık üzerinde istatistiksel olarak önemli bir kuadratik etki ($p=0,032$) gösterdiği kaydedilmiştir. %3 anason ilavesinden itibaren canlı ağırlık oranında düşüş meydana gelmeye başladığı, ancak bu grupta istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($p>0,05$) kaydedilmesine rağmen, %5 anason

içeren yem ile beslen grupta meydana gelen canlı ağırlık düşüşünün anlamlı olduğu belirlenmiştir.

4.3.2. Spesifik büyüme oranı (SBO)

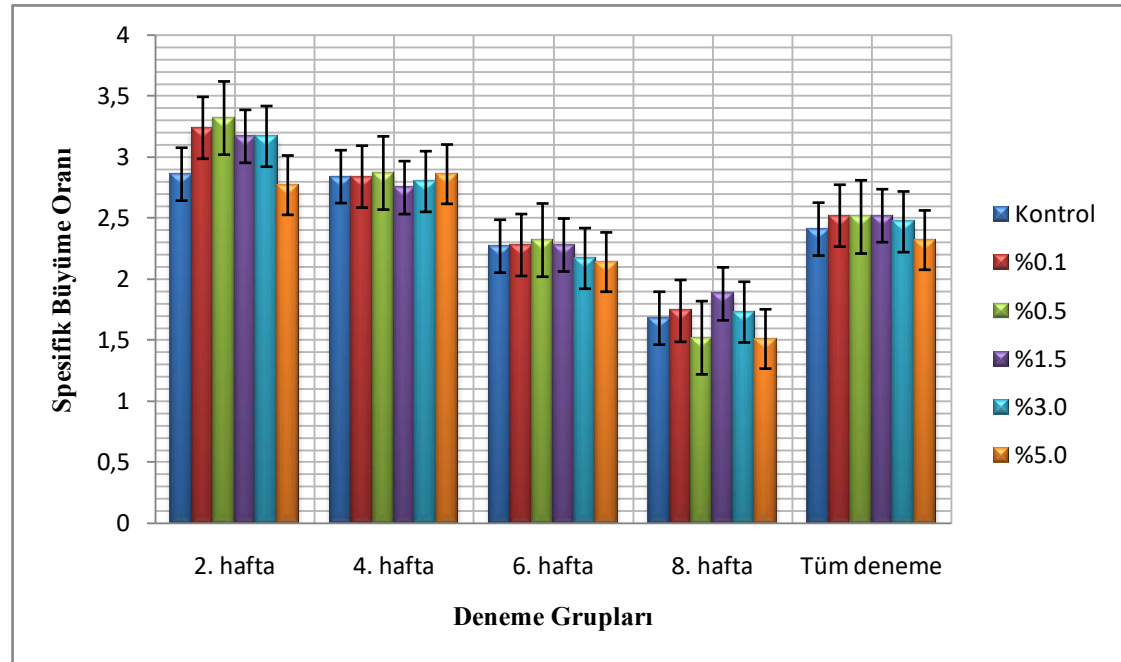
Deneme gruplarının 2 hafta arayla yapılan ölçümler sonucunda elde edilen spesifik büyüme oranları çizelge 4.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Deneme gruplarının spesifik büyüme oranları

Haftalar	Deneme Grupları						Analiz		
	Kontrol	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
SBO 2*	2,86±0,21	3,24±0,20	3,32±0,10	3,17±0,07	3,17±0,09	2,77±0,27	0,228	0,792	0,081
SBO 4	2,84±0,01	2,84±0,05	2,87±0,12	2,75±0,08	2,80±0,03	2,86±0,14	0,929	0,044	0,302
SBO 6	2,27±0,04	2,28±0,17	2,32±0,14	2,28±0,06	2,17±0,06	2,14±0,10	0,815	0,288	0,971
SBO 8	1,68±0,10	1,74±0,13	1,52±0,10	1,88±0,08	1,73±0,07	1,51±0,11	0,146	0,459	0,062
Tüm deneme	2,41±0,07	2,52±0,04	2,51±0,08	2,52±0,01	2,47±0,01	2,32±0,04	0,077	0,851	0,028

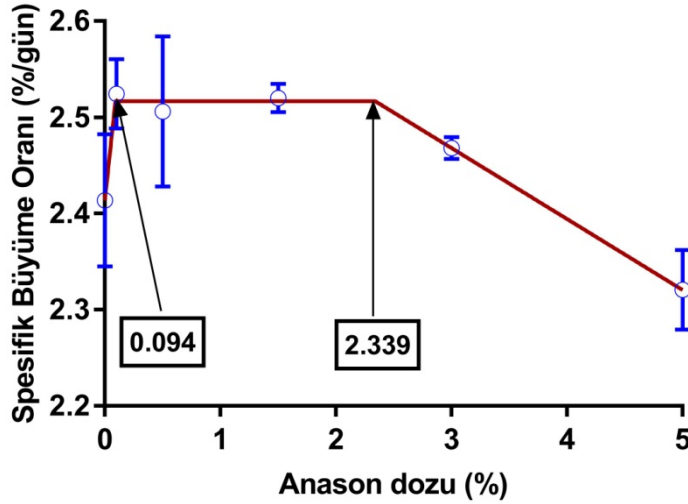
*SBO 2: 2. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 4: 4. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 6: 6. Hafta sonunda elde edilen veriler; SBO 8: 8. Hafta sonunda elde edilen veriler

Yapılan ANOVA testine göre deneme gruplarının spesifik büyüme oranları arasında, anason miktarına bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Yemdeki anason dozlarının farklı dönemlerde SBO üzerine etkileri ne doğrusal ne de kuadratik olarak etkilenmemiş (son dönem kuadratik bir trend göze çarpsa da; $p=0,062$), tüm deneme periyodu dikkate alındığında önemli bir kuadratik etki ($p=0,028$) gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre spesifik büyüme oranları

Deneme gruplarının spesifik büyüme oranları için çift kırık çizgi modeli ile minimum ve maksimum anason düzeyleri tahmin edilmiş olup şekil 4.4.'de sunulmuştur. Buna göre spesifik büyüme oranı için minimum anason düzeyi %0,094 olarak belirlenirken, kullanılabilir maksimum anason miktarının %2,339 olabileceği tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Çift kırık çizgi modeline göre tahmin edilen, kullanılabilir minimum ve maksimum anason oranları

4.3.3. Yemden yararlanma oranı (FCR)

Deneme gruplarının 2 hafta arayla yapılan ölçümler sonucunda elde edilen yem dönüşüm oranları çizelge 4.3.'de sunulmuştur.

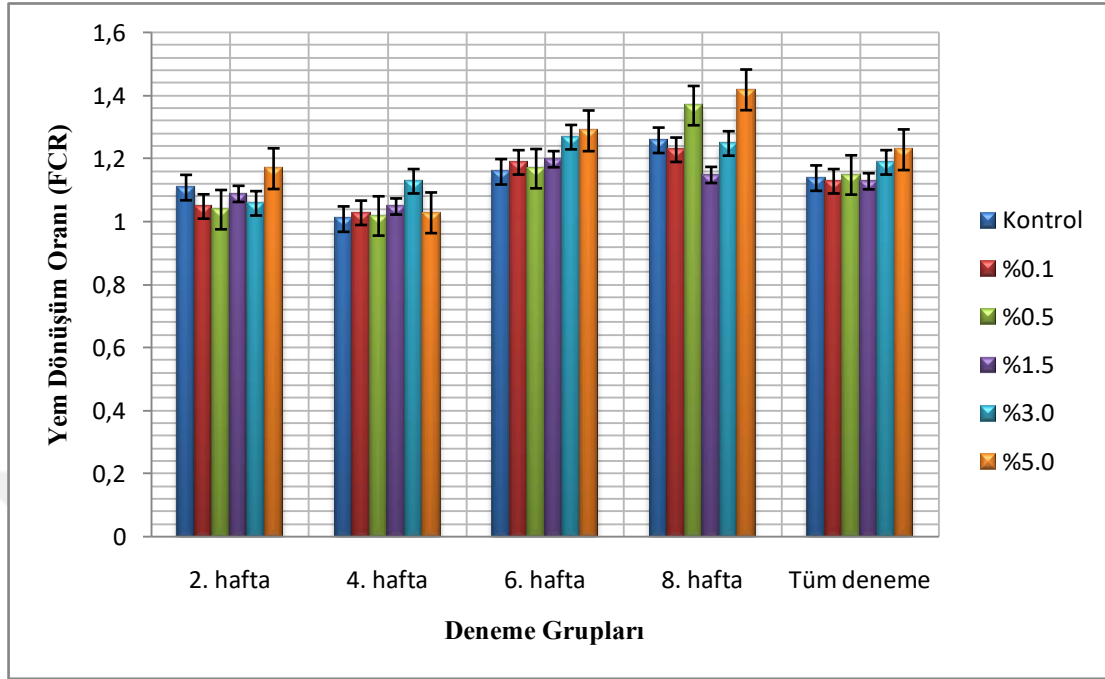
Çizelge 4.3. Deneme gruplarının haftalara göre yem dönüşüm oranları*

*Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirilerinden önemli derece farklıdır

Haftalar	Deneme Grupları						P değerleri		
	Kontrol	%0.1	%0.5	%1.5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
2. hafta	1,11±0,04	1,05±0,00	1,04±0,02	1,09±0,01	1,06±0,01	1,17±0,11	0,404	0,737	0,219
4. hafta	1,01±0,02	1,03±0,04	1,02±0,03	1,05±0,01	1,13±0,08	1,03±0,05	0,468	0,037	0,048
6. hafta	1,16±0,03	1,19±0,06	1,17±0,07	1,20±0,01	1,27±0,03	1,29±0,06	0,347	0,037	0,715
8. hafta	1,26±0,05 ^{ab}	1,23±0,05 ^{ab}	1,37±0,07 ^{ab}	1,15±0,04 ^b	1,25±0,04 ^{ab}	1,42±0,08 ^a	0,048	0,624	0,032
Tüm deneme	1,14±0,02 ^b	1,13±0,03 ^b	1,15±0,03 ^b	1,13±0,01 ^b	1,19±0,02 ^{ab}	1,23±0,01 ^a	0,038	0,025	0,042

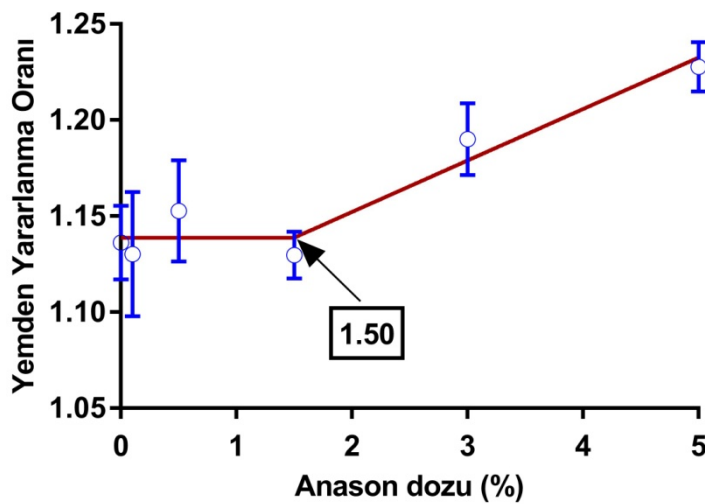
Veriler tek yönlü ANOVA ile test edildiğinde 6-8 hafta arası ile tüm deneme periyotlarında gruplar arasında önemli bir farklılık görülmüştür ($p<0.05$). Buna göre %5 anason içeren yemler ile beslenen balıklar %3 anason içerenler hariç diğerlerinden önemli derecede daha kötü yemden yararlanma göstermişlerdir ($p<0.05$). Dönemsel veriler polinomal kontrastlarla test edildiğinde, 4 hafta anason düzeyleri arttıkça yemden yararlanma oranları kuadratik ve 6 hafta linear bir düşme dikkat çekmektedir ($p<0.05$). Tüm deneme periyodu göz önüne alındığında ise yemden yararlanma

oranlarının anason düzeyleri arttıkça kuadratik olarak arttığı (kötüleştigi) görülmüştür ($p<0,05$).



Şekil 4.5. Deneme gruplarında kullanılan anason oranlarına göre yem dönüşüm oranları

Deneme gruplarının yemden yararlanma oranları için kırık çizgi modeli ile kullanılabilir maksimum anason düzeyi tahmin edilmiş olup şekil 4.6. da sunulmuştur. Buna göre maksimum yemden yararlanma oranı %1,5 anason oranlarında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Yemden yararlanma oranı için kırık çizgi modeli ile tahmin edilen kullanılabilir maksimum anason düzeyi

4.4. Denemede Kullanılan Yemin Analizi

Denemede kullanılan yemin kuru madde, ham protein, ham yağ, ham kül ve nem miktarları çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı oranlarda anason ilave edilen yem gruplarına ait besin madde içerikleri

Deneme Grupları						
Analizler	0 (Kontrol)	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5
Kuru Madde	96,45±3,55	96,45±3,55	96,46±3,54	96,59±3,41	97,15±2,85	97,19±2,81
Ham Protein	45,24±0,63	46,25±0,53	45,33±0,51	45,03±0,20	44,72±0,15	45,65±0,47
Ham Yağ	12,43±0,265	12,41±0,007	12,35±0,180	12,76±0,036	12,94±0,449	13,52±0,528
Ham Kül	7,84±0,01	7,98±0,09	8,07±0,06	8,10±0,10	8,09±0,09	8,42±0,03
Nem	3,55±0,05	3,55±0,02	3,54±0,06	3,41±0,05	2,85±0,10	2,81±0,07

Kuru madde oranları anason içermeyen yeme göre, yem örneklerine eklenen anason miktarlarındaki artışa bağlı olarak artmıştır. En düşük kuru madde miktarı (%96,45±3,55) ile kontrol grubunda tespit edilirken, en yüksek kuru madde miktarı ise %5 anason eklenerek hazırlanan yem grubunda (%97,19±2,81) tespit edilmiştir. Diğer %0,1, %0,5, %1,5, %3 oranlarında anason ilave edilerek hazırlanan grupların yem kuru madde miktarları ise, sırasıyla %96,45±3,55, %96,46±3,54, % 96,59±3,41, %97, %15±2,85 olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Denemede kullanılan yemlerin ham protein miktarları bütün gruplarda kontrol grubuna yakın değerlerde tespit edilmiş olup gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Ham yağ miktarları ise en yüksek %5 anason içeren grupta 13,52±0,528 olarak tespit edilmiştir. Diğer grupların ham yağ miktarları kontrol grubu ile yaklaşık değerlere sahip olup, %0,1, %0,5, %1,5, %3 oranlarında anason içeren gruplarda sırasıyla 12,41±0,007, 12,35±0,180, 12,76±0,036, 12,94±0,449 olarak kaydedilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Ham kül miktarları kontrol grubuna göre anason oranı arttıkça artış göstermiş olup, en düşük ham kül oranı kontrol grubunda 7,84±0,01 olarak tespit edilmiştir. En yüksek ham kül miktarı ise %5 anason içeren yem ile beslenen grupta 8,42±0,03 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Deneme yemlerinin % nem miktarları incelendiğinde 3,55±0,05 olarak en yüksek kontrol grubunda bulunmuştur. Yemlerin nem oranları, %0,5 anason ilave edilen yem grubuna kadar sabit kalmış ancak daha sonra %1,5, %3 ve % 5 oranında

anason ilave edilmiş olan gruplarda düşüş göstererek sırasıyla $3,41 \pm 0,05$, $2,85 \pm 0,10$ ve $2,81 \pm 0,07$ olarak kaydedilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p > 0,05$).

4.5. Deneme Grubu Balıkların Besin Madde İçerikleri

Kontrol grubu dahil olmak üzere %0,1, %0,5, %3 ve %5 oranında anason eklenerek hazırlanan yemler ile beslenen balıklardan deneme süresi sonunda alınan örneklerde yürütülen tüm vücut kompozisyonları Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Balıkların deneme sonu tüm vücut kuru madde, protein, lipit, kül ve enerji değerlerinin başlangıç değerler ile yakın değerlerde olduğu tespit edilmiş olup, yemdeki anason düzeylerinden önemli derecede etkilenmedikleri belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.5. Farklı oranlarda anason ilaveli yemlerle beslenen gökkuşığı alabalığı gruplarının deneme sonu besin madde içerikleri

Yemler	Başlangıç	Deneme Grupları						İstatistiksel Analiz		
		Kontrol	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
Kuru madde	25,47	29,42±0,68	29,12±1,11	30,03±0,28	29,45±0,66	28,89±0,62	28,98±0,79	0,888	0,569	0,979
Kül	2,35	2,34±0,03	2,26±0,07	2,34±0,06	2,26±0,07	2,38±0,03	2,32±0,03	0,475	0,569	0,808
Lipit	7,84	10,81±0,44	11,06±0,36	11,01±0,12	11,13±0,64	10,67±0,67	10,80±0,42	0,980	0,754	0,957
Protein	14,09	15,73±0,81	15,69±0,51	16,26±0,24	15,83±0,49	15,56±0,44	15,45±0,50	0,908	0,676	0,799
Enerji	6,42	7,98±0,35	8,07±0,26	8,19±0,09	8,13±0,33	7,89±0,36	7,91±0,27	0,968	0,701	0,885

4.6. Dışkı Besin Madde Analizi Sonuçları

Farklı düzeylerde anason içeren yemlerin gökkuşağı alabalıkları için besin madde sindirilebilirlikleri Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Deneme yemlerinin kuru madde sindirilebilirliklerinin ANOVA testi ile karşılaştırılması %0,1 ile %5 arasında önemli farklılığı ortaya koymuştur. Ancak anason dozlarının kuru madde üzerine etkisi trend olarak incelendiğinde, değerlerin linear olarak azaldığı dikkat çekmektedir ($p=0,0497$).

Deneme yemlerinin protein sindirilebilirliği anason düzeyinin %3 ve 5'e yükseltilmesi durumunda önemli derecede azalmış ($p<0,05$), bu azalma linear bir trend şeklinde olmuştur ($p<0,001$).

Lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirlikleri ise muameleler arasında önemli derecede farklılık göstermemiş ($p>0,05$) olmasına karşın, yemlerdeki anason dozlarının artışı enerji sindirilebilirliğini linear olarak düşürmüştür ($p=0,041$).

Farklı anason düzeyleri içeren yemlerin gökkuşağı alabalığında besin maddeleri dengesine etkisi Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Günlük yem tüketimi üzerine anason dozlarının etkisi gruplar arasında herhangi bir fark yaratmazken, artan dozlar kudratik bir trend sergilemiştir ($p=0,021$). Nitrojen ve enerji tüketimi farklı anason dozlarından önemli derecede etkilenmezken, lipid tüketimi gruplar arasında önemli bir farklılık göstermiştir. %3 ve %5 düzeyinde anasonlu yem ile beslenen alabalıklar kontrol grubuna göre daha yüksek lipit tüketmişler, artan anason dozları ile lipit tüketimi linear olarak artmıştır ($p<0,05$). Nitrojen, lipit ve enerji kazancı ve tutumu ile ilgili değerler lipit tutumu hariç anason düzeylerinden önemli derecede etkilenmemiştir ($p>0,05$). Lipit tutumu ise diyetel anason düzeyi ile ters oranlı olarak doğrusal olarak azalmıştır ($p=0,041$).

Çizelge 4.6. Farklı dozlarda anason içeren yemlerin gökkuşağı alabalıkları için besin madde sindirilebilirlik katsayıları*

Besin maddeleri	Deneme Grupları						İstatistiksel Analiz		
	0 (Kontrol)	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
Kuru madde	64,21±0,63 ^{ab}	64,49±0,42 ^a	64,30±0,15 ^{ab}	63,23±1,00 ^{ab}	63,74±0,89 ^{ab}	61,14±0,55 ^b	0,035	0,0497	0,261
Protein	89,45±0,21 ^a	89,63±0,12 ^a	89,35±0,14 ^a	88,82±0,22 ^{ab}	88,61±0,46 ^{ab}	88,15±0,19 ^b	0,010	0,001	0,347
Lipit	94,89±0,98	94,43±0,32	94,51±0,92	94,39±0,18	94,10±0,44	92,92±0,57	0,399	0,200	0,482
Organik madde	67,61±0,59	67,88±0,40	67,63±0,17	66,96±0,92	67,09±0,77	65,02±0,45	0,056	0,200	0,440
Enerji	74,25±0,53	74,46±0,28	74,20±0,20	73,69±0,69	73,72±0,67	72,17±0,42	0,071	0,041	0,378

*Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirilerinden önemli derece farklıdır

Çizelge 4.7. Farklı dozlarda diyetel anason ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarında besin madde tüketim, kazancı ve vücutta tutulma oranları* (*Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden önemli derece farklıdır)

	Kontrol	%0,1	%0,5	%1,5	%3	%5	Anova	Linear	Kuadratik
Tüketim									
Yem tüketimi (g/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	10,91±0,34	11,33±0,21	11,25±0,24	11,33±0,15	11,44±0,14	11,04±0,18	0,172	0,231	0,021
Nitrojen (g/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	0,82±0,03	0,87±0,02	0,85±0,02	0,84±0,01	0,84±0,01	0,83±0,01	0,186	0,409	0,554
Lipit(g/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	1,41±0,04 ^a	1,46±0,03 ^{ab}	1,44±0,03 ^{ab}	1,50±0,02 ^{ab}	1,52±0,02 ^a	1,54±0,02 ^a	0,009	0,001	0,076
Enerji(kJ/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	236,45±7,37	245,95±4,63	243,32±5,09	245,80±3,17	248,06±3,06	240,79±3,84	0,191	0,046	0,064
Kazanç									
Nitrojen (g/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	0,25±0,01	0,26±0,00	0,27±0,01	0,26±0,01	0,25±0,01	0,23±0,01	0,268	0,642	0,156
Lipit(g/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	1,14±0,06	1,21±0,01	1,18±0,05	1,22±0,09	1,12±0,10	1,07±0,07	0,688	0,745	0,399
Enerji(Kj/kg MVA^{0.8} gün⁻¹)	81,80±3,80	86,13±0,66	85,65±2,93	87,10±4,25	80,66±5,65	76,25±4,77	0,488	0,691	0,264
Tutulma oranı									
Nitrojen (%)	30,62±2,02	29,90±0,67	31,35±0,30	31,13±1,06	29,31±1,15	27,68±1,42	0,352	0,393	0,282
Lipit (%)	81,07±4,72	83,17±1,62	81,67±1,60	81,56±4,79	73,38±6,00	69,71±3,42	0,177	0,041	0,802
Enerji (%)	34,68±2,05	35,05±0,73	35,18±0,52	35,41±1,40	32,49±2,03	31,62±1,50	0,384	0,159	0,682

4.7. Organ İndeksleri

Deneme gruplarına ait viserosomatik ve hepatosomatik indeksleri çizelge 4.8.'de sunulmuştur. Buna göre yemdeki anason düzeyleri arasında gökkuşağı alabalıklarının VSI, PÇI, HSI ve KF bakımından önemli derecede etkilenmedikleri tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ancak VSI verilerinin rasyondaki anason düzeylerinden özellikle %5 anason içeren yem ile beslenen balıklarda kuadratik olarak etkilenmiştir ($p=0,015$). Bu araştırmada yemdeki anason seviyesi arttıkça, gökkuşağı alabalıklarının PÇI'lerinin kuadratik olarak arttığı görülmüştür ($p_{linear}=0,003$; $p_{kuadratik}=0,001$). HSI ve KF değerleri ise tüm gruplarda yakın değerlerde belirlenmiş ve gruplar arası farklılıkların istatistiksel açıdan önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.8. Farklı düzeylerde anason içeren yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarının deneme sonu organ indeksleri

İndeksler	Deneme Grupları						Analiz		
	A	B	C	D	E	F	Anova	Linear	Kuadratik
VSI*	13,21±0,52	13,09±0,02	13,07±0,40	13,83±0,46	13,78±0,10	11,80±1,26	0,279	0,414	0,015
PÇI	3,85±0,11	4,29±0,10	4,59±0,22	5,06±0,37	5,19±0,60	4,25±0,35	0,112	0,003	0,001
HSI	1,21±0,08	1,20±0,09	1,31±0,06	1,23±0,08	1,25±0,07	1,22±0,02	0,861	0,674	0,510
KF	1,13±0,07	1,14±0,02	1,17±0,02	1,16±0,04	1,14±0,01	1,13±0,03	0,947	0,969	0,554

***VSI:** visero-somatik indeks, **PÇI:** plorik çekum indeksi, **HSI:** hepato-somatik indeks, **KF:** kondisyon faktörü

4.8. Hematolojik ve Serolojik Analiz Sonuçları

4.8.1. Eritrosit sayısı

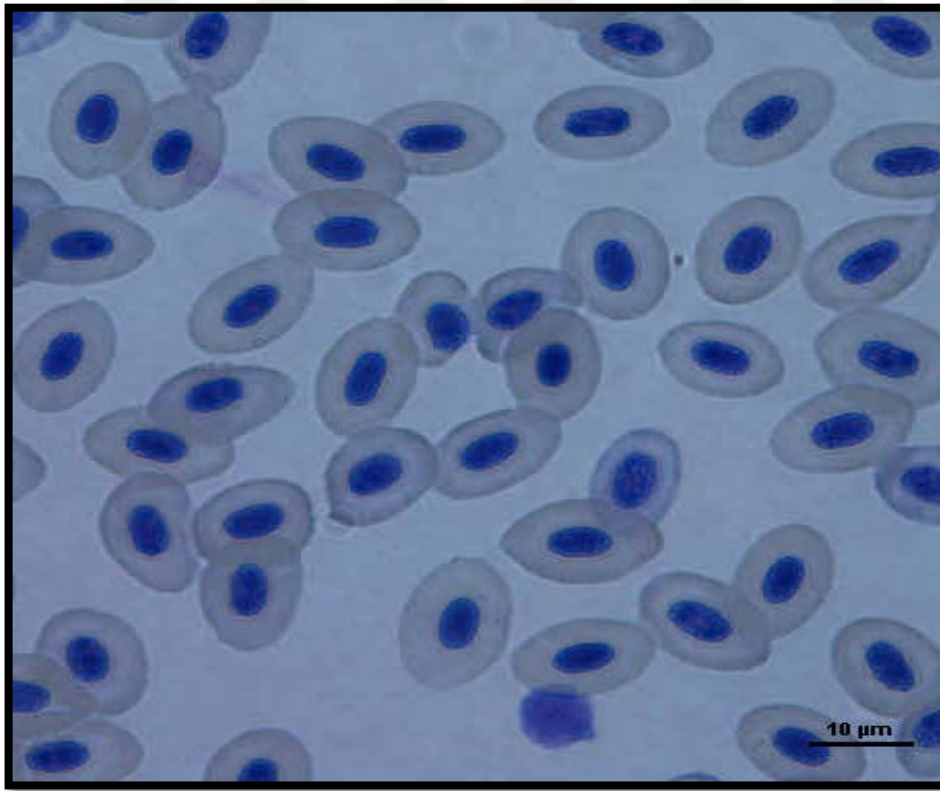
Gökkuşağı alabalıklarının %0,1, %0,5, %1,5, %3, %5 oranlarında anason ilave edilerek hazırlanan yemler ile beslenmesi sonucu, eritrosit sayılarında meydana gelen değişim dozlara ve günlere bağlı olarak Çizelge 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Eritrosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

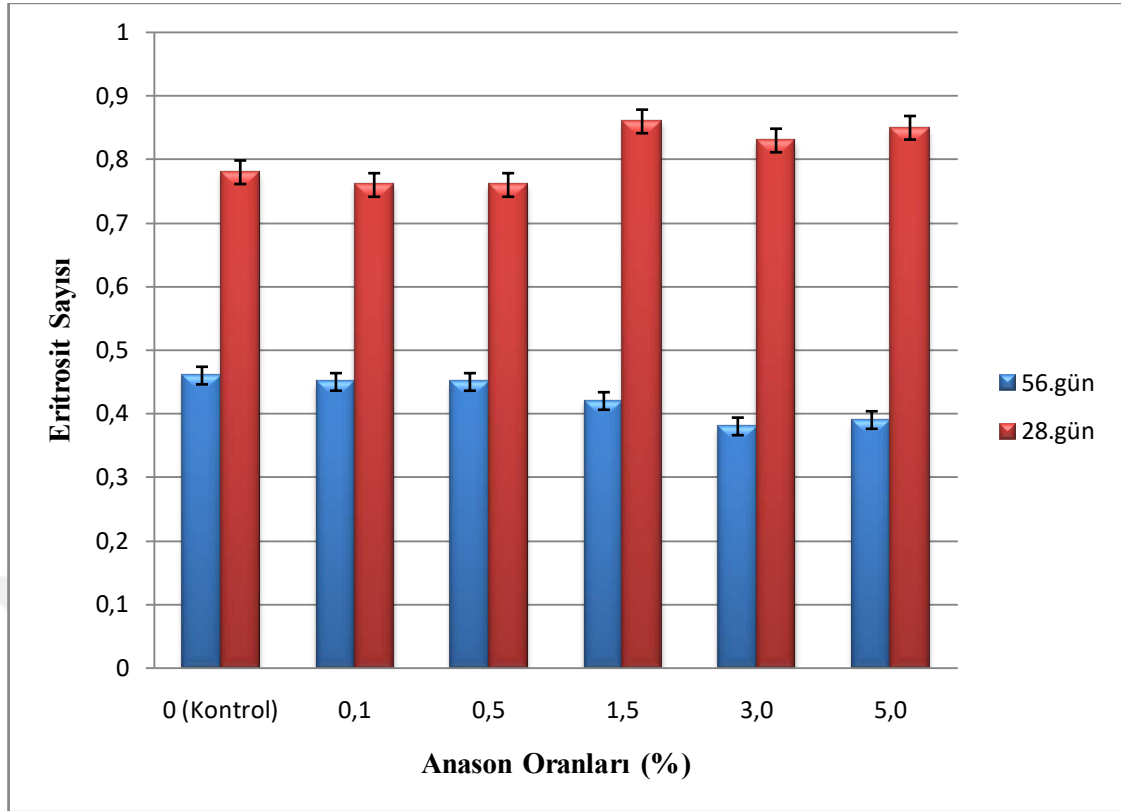
Doz	Günler	
	28. gün ($\times 10^{12}/L$)	56. gün ($\times 10^{12}/L$)
Kontrol	0,39±0,02	0,45±0,16
%0,1	0,39±0,03	0,60±0,11
%0,5	0,40±0,03	0,66±0,03
%1,5	0,43±0,02	0,71±0,02
%3	0,36±0,03	0,67±0,02
%5	0,36±0,09	0,66±0,02

Deneme gruplarındaki balıklara verilen dozlar ile kontrol grubuna ait eritrosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında 28. günde en yüksek eritrosit sayısı $0,43 \times 10^{12} \pm 0,02$ /L ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen balık grubunda tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise eritrosit sayım sonucu $0,39 \times 10^{12} \pm 0,02$ /L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7). %1,5 oranında anason ile beslenen deneme grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında her iki grup arasındaki artışın Anova tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı anlaşılmıştır ($p > 0,05$). Yemdeki anason miktarı %0,1' den %1,5'a kadar arttırıldığında eritrosit değerleri artış gösterirken, yemdeki anason miktarı %1,5'dan %5'e kadar arttırıldığında ise eritrosit değerlerinde azalma tespit edilmiştir. %3 ve %5 anason ile beslenen deneme gruplarının eritrosit sayım sonuçları sırası ile $0,36 \times 10^{12} \pm 0,03$ /L ve $0,36 \times 10^{12} \pm 0,09$ /L olmak üzere birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.9).

Deneme gruplarındaki balıklara verilen dozlar ile eritrosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında 56. günde en yüksek eritrosit sayısı $0,71 \times 10^{12} \pm 0,02$ /L ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda bulunmuştur. Gruplar arasında eritrosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında en düşük olarak $0,45 \times 10^{12} \pm 0,02$ /L ile kontrol grubunda tespit edilmiştir. %1,5 oranında anason ile beslenen deneme grubu ile kontrol grubu arasındaki eritrosit değerlerindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$). Yirmi sekizinci güne kadar beslenen deneme gruplarında olduğu gibi yemdeki anason miktarı %0'dan %1,5'a kadar arttıkça eritrosit değerleri de artmıştır (Çizelge 4.9). Yemdeki anason oranı %1,5'dan %5 de dahil olmak üzere arttıkça eritrosit değerleri azalma göstermiştir.



Şekil 4.7. Gökkuşığı alabalığında tespit edilen, kontrol grubuna ait eritrosit hücreleri 100x (Orijinal)



Şekil 4.8. Eritrosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

4.8.2. Lökosit sayısı

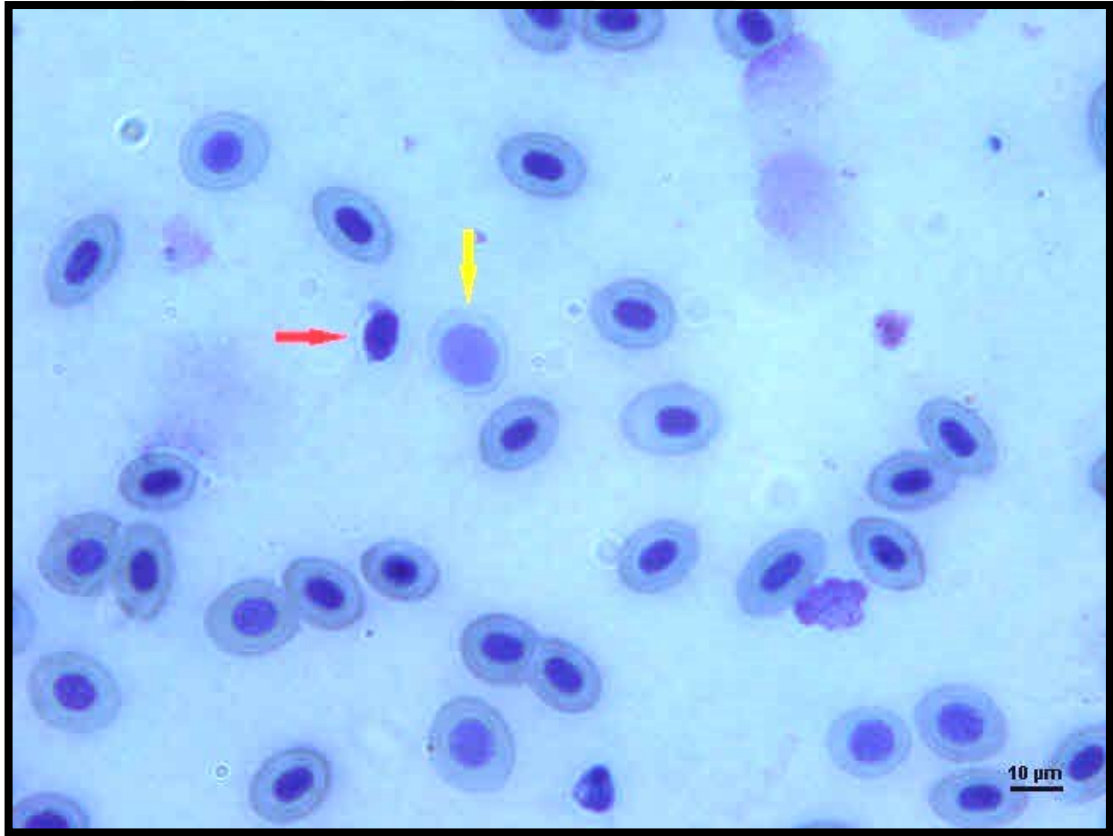
Gökkuşaklı anason ilaveli yemler ile beslenmesi sonucu, lökosit sayılarında meydana gelen değişim dozlara ve günlere bağlı olarak Çizelge 4.10.'da verilmiştir.

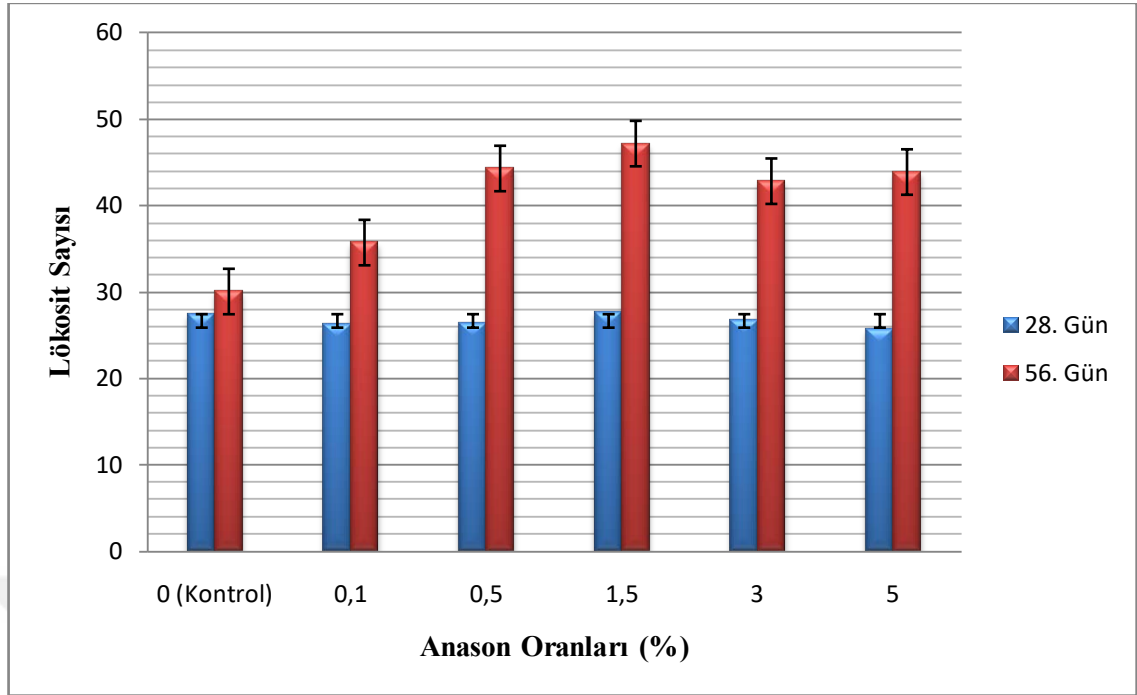
28. gün sonunda deneme gruplarındaki balıklara verilen dozlar ile lökosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında %5 anason ilaveli yem ile beslenen grup dışında diğer tüm gruplar ile kontrol grubunun lökosit sayıları yakın değerlerde tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile %0,1, %0,5 ve %3'lük deneme gruplarının lökosit sayıları sırasıyla $27,40 \pm 0,26 \times 10^9/L$, $26,15 \pm 1,64 \times 10^9/L$, $26,31 \pm 1,42 \times 10^9/L$ ve $26,71 \pm 1,15 \times 10^9/L$ olarak kaydedilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubu balıklarında lökosit sayım sonucu $27,66 \pm 0,73 \times 10^9/L$ ile diğer gruplardan biraz daha yüksek bulunmuştur. Kontrol ve deneme grupları arasında en düşük lökosit sayımı $25,61 \pm 1,83 \times 10^9/L$ ile %5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda tespit edilmiştir. Anova tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre anason katkılı yemlerle beslenen deneme grupları ile kontrol grubu arasında lökosit sayıları yönünden istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.10. Lökosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Doz	Günler	
	28. gün ($\times 10^9/L$)	56. gün ($\times 10^9/L$)
Kontrol	27,40 $\pm$ 0,26	30,04 $\pm$ 1,34 ^a
%0,1	26,15 $\pm$ 1,64	35,70 $\pm$ 3,45 ^a
%0,5	26,31 $\pm$ 1,42	44,27 $\pm$ 1,10 ^a
%1,5	27,66 $\pm$ 0,73	47,15 $\pm$ 0,57 ^{ab}
%3	26,71 $\pm$ 1,15	42,80 $\pm$ 1,46 ^{ab}
%5	25,61 $\pm$ 1,83	43,86 $\pm$ 3,08 ^{ab}

**Şekil 4.9.** %1,5 anason ilaveli yem ile beslenen gökkuşağı alabalığında tespit edilen monosit (sarı ok) ve lenfosit (kırmızı ok) hücreleri (Orijinal, Giemsa)



Şekil 4.10. Lökosit sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Deneme gruplarındaki balıklara verilen dozlar ile lökosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında 56. günde yapılan lökosit sayım sonuçlarına göre en yüksek değer $47,15 \pm 0,57 \times 10^9/L$ ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda bulunmuştur. Kontrol grubu ile %1,5 oranında anason ile beslenen deneme grubu arasındaki artışın istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşturduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

4.8.3. Hematokrit değerleri

Farklı oranlarda anason ilave edilerek hazırlanan yemler ile beslenen balık gruplarına ait hematokrit değerleri Çizelge 4.11.'de verilmiştir. Kontrol ve deneme grubu balıklarından 28. günde alınan kan örneklerinde hematokrit değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek $16,40 \pm 4,27$ ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda bulunmuştur. En düşük hematokrit değeri ise $13,67 \pm 4,27$ ile %5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda tespit edilmiştir. 28. gün sonunda alınan örneklerde hematokrit seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli bir düşüş veya artış göstermediği tespit edilmiş olup, grupların hematokrit seviyeleri arasında görülen farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.11. Hematokrit değerlerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Doz	Günler	
	28. gün (%)	56. gün (%)
Kontrol	16,26±1,15	15,16±1,05
%0,1	14,46±0,37	16,16±0,65
%0,5	15,66±0,98	18,10±0,72
%1,5	16,40±4,27	19,06±0,52
%3	13,67±3,22	14,70±1,98
%5	13,16±4,02	14,03±3,99

Kontrol ve deneme grubu balıklarından 56. günde alınan kan örneklerinde hematokrit değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek %19,06±0,52 ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda tespit edilirken, en düşük hematokrit değeri ise %14,03±3,99 ile %5 oranında anason içeren yemle beslenen deneme grubu balıklarında bulunmuştur (Çizelge 4.11). %0,5 ve %1,5 oranında anasonlu yem ile beslenen grupların hematokrit seviyelerinde kontrol grubuna göre artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bunlardan %1,5 anasonlu gruptaoluşan artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

4.8.4. Hemogloblin değerleri

Kontrol ve deneme gruplarından 28'inci ve 56'ıncı günde alınan kan örneklerine ait hemogloblin değerleri Çizelde 4.12'de verilmiştir. Kontrol ve deneme grubu balıklarından 28. günde alınan kan örneklerinde hemogloblin değeri en yüksek kontrol grubunda bulunmuştur. %0,1, %0,5, %1,5, %3 ve %5 oranlarında anason ilaveli yemle beslenen deneme grupları arasında en yüksek hemogloblin değeri 11,53±4,27 ile %1,5 oranında anason ilaveliyemle beslenen deneme grubunda bulunmuştur (Çizelge 4.12).

Hem 28. gün hem de 56. gün örneklerinde tüm grupların hemogloblin seviyeleri birbirine oldukça yakın değerlerde belirlenmiş olup, gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Aynı şekilde günlere bağlı olarak hemogloblin seviyeleri incelendiğinde 28. gün ve 56. gün örnekleri arasında anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.12. Hemoglobin konsantrasyonlarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Doz	Günler	
	28. gün (g/dL)	56. gün (g/dL)
Kontrol	11,10±0,72	10,73±0,58
%0,1	10,90±0,45	10,96±0,65
%0,5	10,33±0,35	10,76±0,58
%1,5	11,53±0,20	11,33±0,60
%3	10,90±0,75	11,30±0,26
%5	11,00±0,34	10,43±0,20

4.8.5. Diğer hematolojik parametreler

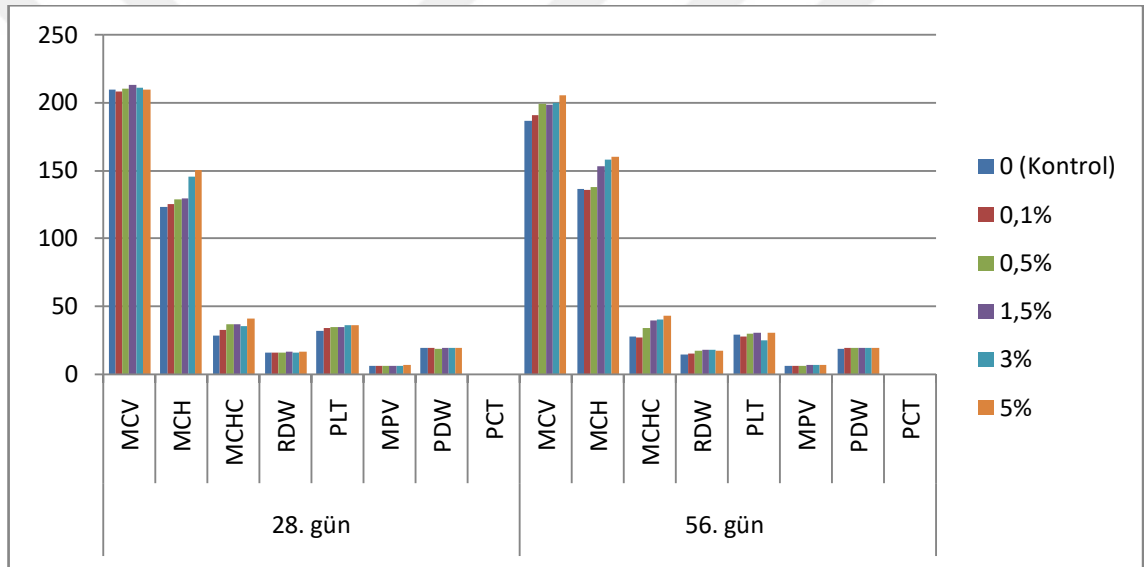
Kontrol ve deneme grubu balıklarından alınan kan örneklerindeki ortalama korpüsküler eritrosit hacmi (MCV), eritrosit hücrelerindeki hemoglobin miktarı (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), eritrosit hacmi dağılım genişliği (RDW), total trombosit (PLT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW) ve prokalsitonin miktarı (PCT) çizelge 4.14.'de sunulmuştur.

Ortalama korpüsküler eritrosit hacmi (MCV), denemenin 28. gününde alınan kan örneklerinde birbirine yakın değerlerde çıkmış olup, gruplar arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ancak 56. gün sonunda alınan kan örneklerinin MCV değerleri en düşük kontrol grubunda $191,06\pm6,33$ fL, en yüksek ise %5 anason içeren grupta $205,46\pm11,06$ fL olarak tespit edilmiştir. Diğer tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış meydana gelmesine rağmen, sadece %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruptaki MCV artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Günlere bağlı olarak değerlendirildiğinde 28. gün ve 56. gün örnekleri arasındaki MCV değerleri birbirinden çok farklı olmayıp, gruplar arası farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz olarak kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Eritrosit hücrelerindeki hemoglobin miktarı (MCH), 28. güne ait örneklerde incelendiğinde en düşük kontrol grubunda $122,93\pm5,43$ pg olarak tespit edilirken, diğer tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış meydana geldiği görülmüştür. En yüksek değer %3 ve %5 anason içeren yem ile beslenen grupta sırasıyla $145,50\pm8,40$ pg ve $150,46\pm5,91$ pg olarak tespit edilirken, kontrol grubuna göre meydana gelen bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 56. gün örneklerinde de benzer şekilde artış görülmüş olup en yüksek değerler %1,5, %3 ve %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruplarda sırasıyla $153,19\pm4,58$ pg, $158,23\pm4,70$ pg ve $159,99\pm3,98$ pg olarak kaydedilmiştir. Kontrol grubuna göre meydana gelen bu artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Grupların MCH değerleri günlere bağlı

olarak değerlendirildiğinde 28. ve 56. gün örnekleri arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), 28. gün örneklerinde en düşük $28,80\pm1,76$ g/dL olarak kontrol grubunda tespit edilirken, en yüksek MCHC oranı ise %5 anason içeren yem ile beslenen alabalıklarda $41,15\pm4,34$ g/dL olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak sadece %5 anason içeren yem ile beslenen gruptaki artışın anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır ($p<0,05$). 56. gün örneklerinde de benzer şekilde en düşük değer $27,79\pm1,51$ g/dL olarak kontrol grubunda, en yüksek değer ise %5 anasonlu yem ile beslenen grupta $41,15\pm4,34$ g/dL olarak tespit edilmiştir. Örneklemenin yapıldığı her iki dönemde de kontrol grubuna göre meydana gelen bu artış anlamlı olarak kaydedilmiştir ($p<0,05$). Grupların MCHC değerlerindeki değişim günlere bağlı olarak değerlendirildiğinde 28 ve 56. gün sonunda elde edilen değerler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

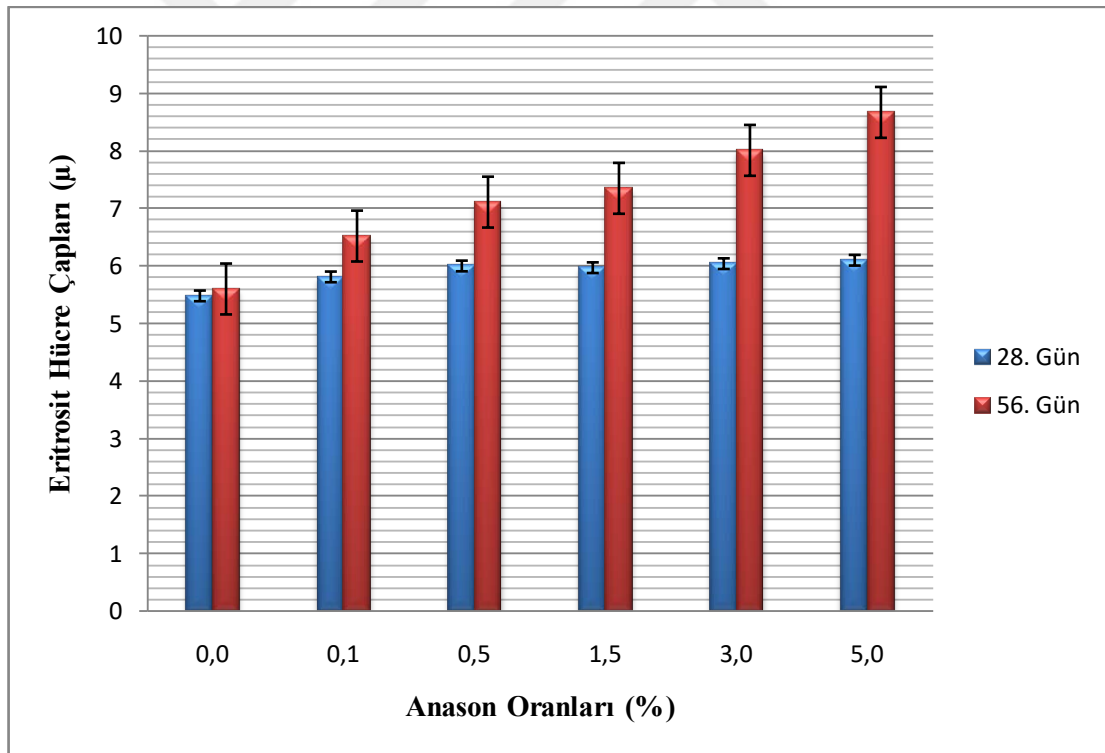


Şekil 4.11. Kan örneklerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişen bazı hematolojik parametreleri

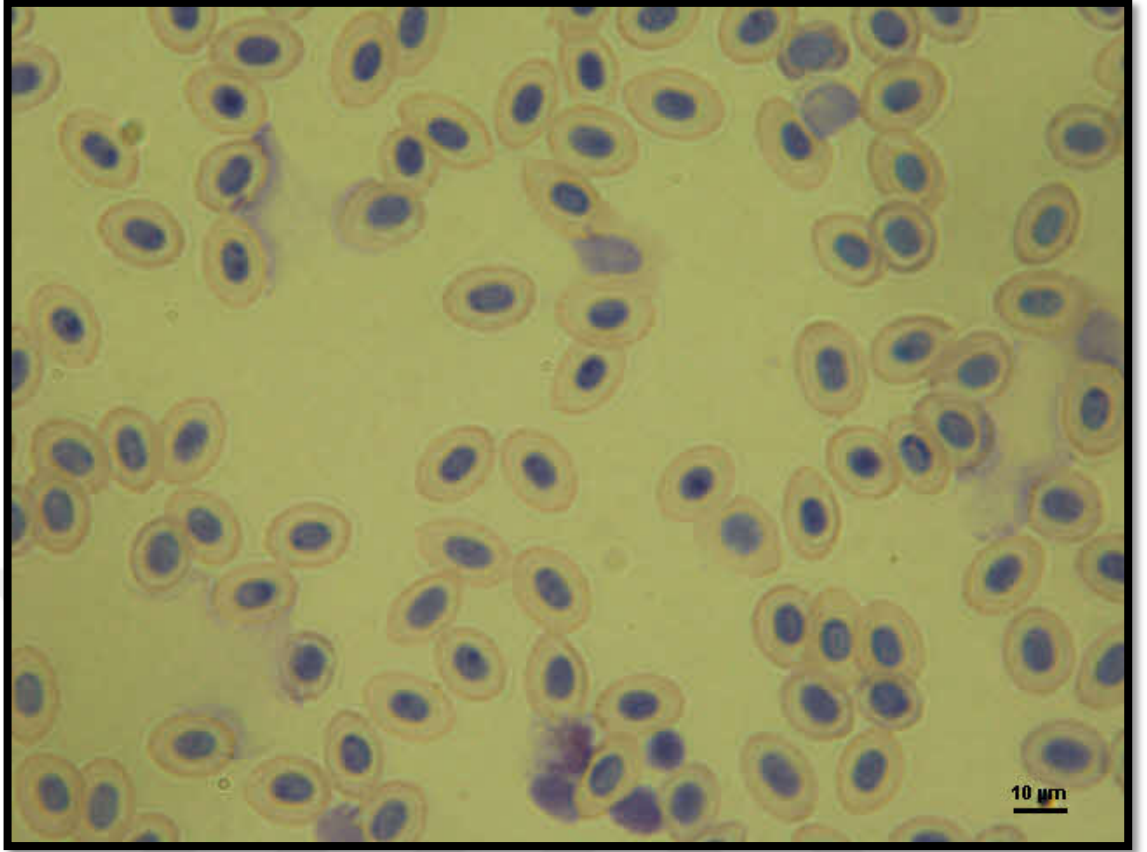
Eritrosit indeksleri olarak tanımlanan MCV, MCH, MCHC değerlerindeki değişimler mikrositik ve makrositik anemi gibi anemi tiplerinin ayırıcı tanısında belirteç görevi görmektedir. Bu çalışmada elde edilen MCV, MCH, MCHC değerlerinde, yüksek doz anasonlu yem ile beslenen gruplarda (%3 ve %5) kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edilmiş ve bu gruplarda hipokromik makrositik anemi bulgularına rastlanılmıştır (Çizelge 4.13). Makrositik anemi belirlenen gruplarda eritrosit hücre çekirdeklerinin normalden daha büyük boyutlara sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14; Şekil 4.15).

Çizelge 4.13. Farklı oranlarda anason içeren yem ile beslenen grupların eritrosit hücre çekirdeği çapları

Doz	Günler	
	28. gün (μ)	56. gün (μ)
Kontrol	5,49±0,94	5,61±0,80
%0,1	5,82±0,81	6,53±0,85
%0,5	6,01±0,52	7,12±0,77
%1,5	5,98±0,90	7,36±0,89
%3	6,05±0,56	8,02±0,93
%5	6,11±0,66	8,68±0,80



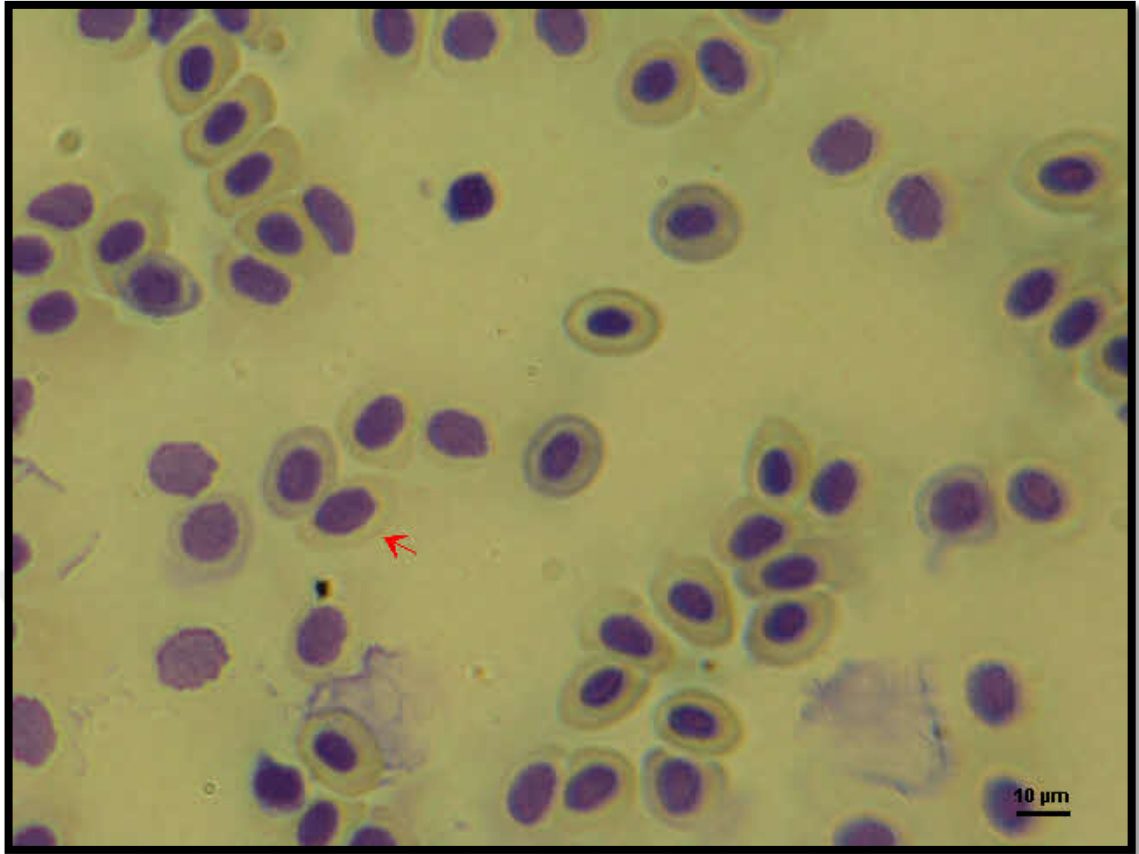
Şekil 4.12. Gruplara ve günlere göre eritrositlerin hücre çaplarında meydana gelen değişim



Şekil 4.13. Kontrol grubuna ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen normal eritrosit hücre çekirdekleri 60x (Orijinal)



Şekil 4.14. %3 anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen büyümüş eritrosit hücre çekirdekleri, makrositik anemi (Kırmızı ok) 60x (Orijinal)



Şekil 4.15. %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait eritrosit hücrelerinde gözlemlenen büyümüş eritrosit hücre çekirdekleri, makrositik anemi (Kırmızı ok) 60x (Orijinal)

Eritrosit hacmi dağılım genişliğini belirten RDW değeri, 28. gün örnekleri için en düşük kontrol grubunda $15,70 \pm 0,17$, en yüksek ise %5 anason içeren grupta $16,76 \pm 1,69$ olarak tespit edilmiştir. Diğer tüm gruplarda kontrol grubuna göre düşük oranda artış görülmüş olup bu artış istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). 56'ncı günde alınan örneklerde de benzer şekilde en düşük RDW değeri $14,73 \pm 1,65$ olarak kontrol grubunda tespit edilmiş ve diğer gruplarda kontrol grubuna kıyasla artış görülmesine rağmen önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Buna ek olarak günlere bağlı olarak RDW değerlerinde 56. gün sonunda 28. güne göre küçük bir artış görülmesine rağmen bu farklılık istatistiksel açıdan anlamsız olarak kaydedilmiştir ($p > 0,05$).

Total trombosit miktarı (PLT) 28. gün örneklerinde en düşük kontrol grubunda $32,33 \times 10^9 \pm 5,13/L$ en yüksek ise %1,5 anasonlu yem ile beslenen grupta $34,80 \times 10^9 \pm 5,10/L$ olarak tespit edilmiştir. Trombosit miktarları gruplar arasında birbirlerine yaklaşık değerlerde tespit edilmiş olup, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Aynı şekilde 56. gün alınan örneklerde de grupların trombosit değerleri birbirine yakın olup, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemsiz olarak tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

Ortalama trombosit hacmi (MPV) 28. gün sonunda en yüksek %5 anasonlu yem ile beslenen grupta $6,66 \pm 0,11$ fL olarak tespit edilmiştir. Ancak MPV değeri tüm

gruplarda hemen hemen aynı değerlerde tespit edilmiş olup, kontrol grubuna göre gruplar arasında önemli bir fark meydana gelmediği görülmüştür ($p>0,05$). 56. gün örneklerinde de benzer şekilde, kontrol grubu dahil tüm grupların MPV değerleri birbirine yakın tespit edilmiş olup aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Ortalama trombosit hacmi, gruplar arasında günlere bağlı olarak da anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p>0,05$).

Trombosit dağılım genişliği (PDW), 28. gün örneklerinde en yüksek %5 anason ilaveli yem ile beslenen grupta $19,86\pm0,32$ olarak tespit edilmiş olup, tüm gruplarda yaklaşık olarak aynı değerler kaydedilmiştir. 56'ncı günde alınan kan örneklerinin PDW değerleri ise aynı şekilde en yüksek %5 anason içeren grupta $19,70\pm0,70$ olarak tespit edilmiş ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık meydana gelmediği görülmüştür ($p>0,05$). Trombosit dağılım genişliği, 28 ve 56. gün örneklerinin her ikisinde de yaklaşık olarak aynı değerlerde tespit edilmiş olup (Çizelge 4.14) gruplar ve günler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Trombosit yüzdeleri (PCT), kontrol grubu dahil tüm gruplarda, hem 28. gün hem de 56. gün örneklerinde birbirine yaklaşık değerlerde tespit edilmiş olup, gruplar ve günler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.14. 28'inci günde alınan kan örneklerine ait hematolojik parametreler

28. Gün Hematolojik Kan Parametreleri								
DOZ	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	PLT ($\times 10^9/L$)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)
Kontrol	209,7 $\pm$ 0,78	122,93 $\pm$ 5,43	28,80 $\pm$ 1,76	15,70 $\pm$ 0,17	32,33 $\pm$ 5,13	6,63 $\pm$ 0,47	19,43 $\pm$ 0,15	0,02 $\pm$ 0,01
%0,1	208,16 $\pm$ 3,27	125,30 $\pm$ 4,03	32,71 $\pm$ 1,09	15,84 $\pm$ 0,70	34,21 $\pm$ 3,60	6,46 $\pm$ 0,66	19,63 $\pm$ 1,10	0,01 $\pm$ 0,01
%0,5	210,01 $\pm$ 2,55	128,56 $\pm$ 2,01	36,76 $\pm$ 2,92	16,05 $\pm$ 0,17	34,78 $\pm$ 4,35	6,46 $\pm$ 0,37	19,10 $\pm$ 0,17	0,01 $\pm$ 0,02
%1,5	212,93 $\pm$ 4,57	129,63 $\pm$ 2,87	36,83 $\pm$ 3,48	16,65 $\pm$ 1,73	34,80 $\pm$ 5,10	6,46 $\pm$ 0,49	19,60 $\pm$ 0,69	0,01 $\pm$ 0,02
%3	210,86 $\pm$ 0,56	145,50 $\pm$ 8,40 ^{ab}	35,71 $\pm$ 3,17	16,20 $\pm$ 0,31	36,00 $\pm$ 5,00	6,47 $\pm$ 0,15	19,70 $\pm$ 0,36	0,01 $\pm$ 0,03
%5	209,94 $\pm$ 2,70	150,46 $\pm$ 5,91 ^{ab}	41,15 $\pm$ 4,34 ^{ab}	16,76 $\pm$ 1,69	36,33 $\pm$ 9,01	6,66 $\pm$ 0,11	19,86 $\pm$ 0,32	0,02 $\pm$ 0,04

Çizelge 4.15. 56'ıncı günde alınan kan örneklerine ait hematolojik parametreler

DOZ	56. Gün Hematolojik Kan Parametreleri							
	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	PLT ($\times 10^9/L$)	MPV (fL)	PDW (%)	PCT (%)
Kontrol	191,06 $\pm$ 6,33	136,27 $\pm$ 4,83	27,79 $\pm$ 1,5	14,73 $\pm$ 1,65	29,00 $\pm$ 9,26	6,10 $\pm$ 0,87	19,01 $\pm$ 0,85	0,03 $\pm$ 0,01
%0,1	196,76 $\pm$ 5,67	135,92 $\pm$ 3,31	27,10 $\pm$ 3,09	15,61 $\pm$ 1,90	28,16 $\pm$ 11,62	6,56 $\pm$ 0,30	19,69 $\pm$ 0,44	0,01 $\pm$ 0,00
%0,5	199,10 $\pm$ 4,55	138,01 $\pm$ 4,47	33,85 $\pm$ 0,54	17,27 $\pm$ 0,67	30,25 $\pm$ 2,88	6,41 $\pm$ 0,28	19,43 $\pm$ 0,35	0,02 $\pm$ 0,01
%1,5	198,15 $\pm$ 1,22	153,19 $\pm$ 4,58 ^{ab}	39,44 $\pm$ 0,71 ^{ab}	18,23 $\pm$ 3,46	30,41 $\pm$ 5,81	6,66 $\pm$ 1,02	19,35 $\pm$ 1,02	0,01 $\pm$ 0,00
%3	199,66 $\pm$ 5,67	158,23 $\pm$ 4,70 ^{ab}	40,54 $\pm$ 4,56 ^{ab}	17,81 $\pm$ 1,56	25,33 $\pm$ 5,50	6,83 $\pm$ 0,25	19,68 $\pm$ 0,30	0,02 $\pm$ 0,01
%5	205,46 $\pm$ 11,06 ^{ab}	159,99 $\pm$ 3,98 ^{ab}	42,97 $\pm$ 3,53 ^{ab}	17,60 $\pm$ 0,28	30,83 $\pm$ 3,75	6,73 $\pm$ 0,20	19,70 $\pm$ 0,70	0,02 $\pm$ 0,00

4.8.6. Serolojik analiz sonuçları

Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen serum örneklerinin total protein (TP), albümin (ALB), alkalen fosfataz (ALP), glukoz (GLU), total bilirubin (TBIL), serum inorganik fosfor (IP), total kolesterol (TCHO), gama glutamil transferaz (GGT), alanine aminotransferaz (GPT), kalsiyum (Ca), kreatin (CRE) ve kan üre azotu (BUN) da çalışılmıştır. Bu parametrelere ait değerler Çizelge 4.16.'da verilmiştir.

Grupların total protein (TP) düzeyleri incelendiğinde 28. gün de en düşük total protein değeri $3,80 \pm 0,90$ g/dl ile kontrol grubunda tespit edilmiştir. En yüksek total protein düzeyi ise %1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grupta $4,36 \pm 0,49$ g/dl olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında oluşan bu fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

56 günde ise gruplar arası karşılaştırma yapıldığında en yüksek TP değeri $4,6 \pm 1,86$ g/dl olarak %0,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda gözlenmiştir. En düşük total protein düzeyi ise $3,7 \pm 0,71$ g/dl olarak kontrol grubunda en yüksek total protein değeri ise %0,5 oranında anasonlu yem ile beslenen grupta $4,6 \pm 1,86$ g/dl olarak tespit edilmiştir. 28. Gün örneklerinde olduğu gibi 56. gün sonunda da gruplar arasında oluşan fark anlamsız olarak tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Tüm grupların total protein düzeyleri günlere göre incelendiğinde 28. gün ve 56. gün arasında anlamlı bir fark oluşmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Kontrol ve deneme grubu balıklarına ait serum albümin (ALB) değerleri incelendiğinde 28'inci güne ait ALB değerleri kontrol ve deneme gruplarında yakın değerler şeklinde 56'ıncı güne ait serum ALB değerleri karşılaştırıldığında ise hem kontrol grubu hem de deneme gruplarına ait değerler yaklaşık olarak (Çizelge 4.17) bulunmuştur.

Albumin (ALB) değerleri hem 28 hem 56. günün sonunda kontrol grubu dahil tüm gruplarda yaklaşık aynı değerlerde kaydedilmiş olup (Çizelge 4.17) gruplar ve günler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark oluşmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Alkalen fosfataz (ALP) değerleri 28. gün sonunda en yüksek %1,5 anasonlu yem ile beslenen grupta $197,67 \pm 3,20$ U/l olarak belirlenmiş olup, kontrol grubu dahil diğer tüm gruplarda yaklaşık olarak aynı değerlerde kaydedilmiştir. 28. gün sonunda alkalen fosfataz değeri için gruplar arasında ve günlere bağlı olarak anlamlı bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). 56. gün sonunda, gruplar arasında en yüksek %1,5 oranında anason ile beslenen grupta $310,66 \pm 7,20$ U/l olarak tespit edilmiştir. En düşük değerler ise $183,00 \pm 3,43$ U/l olarak %5 anason içeren yem ile beslenen grupta belirlenmiştir. ALP değeri, anason dozundaki artışa bağlı olarak artış göstermekle birlikte, %1,5 oranından sonra keskin bir düşüş göstermiştir. %3 ve % 5 anasonlu yem ile beslenen grupların alkalen fosfataz değerleri kontrol grubuna yakın değerlerde belirlenmiştir (Çizelge 4.17). Bu iki gruptaki düşüş ve %0,1, %0,5 ve %1,5 oranında anason ile beslenen gruplardaki alkalen fosfataz artışı kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Glukoz (GLU) değerlerinin 28. ve 56. gün sonundaki değişimleri Çizelge 4.17.'de verilmiştir. 28. günde Gün sonunda en düşük glukoz değeri $60,66 \pm 9,07$ mg/dl olarak

kontrol grubunda tespit edilmiş olup, tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış meydana gelmiş ve GLU miktarlarında görülen bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). GLU değerleri %0,1 ve %0,5 anasonlu yem ile beslenen gruplarda sırasıyla $69,00\pm2,64$ mg/dl ve $77,33\pm4,04$ mg/dl olarak tespit edilmiş ve anason miktarı arttıkça serum glukozunda da artış meydana geldiği belirlenmiştir. En yüksek glukoz değeri ise $87,53\pm2,71$ mg/dl olarak %1,5 anasonla beslenen grupta tespit edilmiştir. Ancak %3 ve %5 anasonlu yem ile beslenen gruplar da sırası ile $87,33\pm4,04$ mg/dl ve $86,93\pm3,21$ mg/dl olarak belirlenmiş olup %1,5 anasonlu yem ile beslenen grubun değerlerine oldukça yakındır. 56. gün sonunda da benzer şekilde en düşük serum glukoz değeri kontrol grubunda $88,33\pm5,03$ mg/dl olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre diğer tüm grupların glukoz miktarları artış göstermekle beraber bu artış önemsiz olarak kaydedilmiştir ($p>0,05$). Glukoz değerleri günlere göre değerlendirildiğinde 56. gün sonunda 28. Güne göre artış meydana gelmiş olup bu artış anlamlı olarak kaydedilmiştir ($p<0,05$).

Total bilirubin (TBIL) değerleri 28. günde gün sonunda kontrol grubu ile yaklaşık aynı değerlerde bulunmuş olup gruplar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz olarak tespit edilmiştir ($p>0,05$). 56. günde gün sonunda elde edilen örnekler incelendiğinde %5 anason içeren yem ile beslenen grup dışındaki tüm gruplar kontrol grubu ile benzer değerlere sahip olduğu görülmüştür. %5 anasonlu yem ile beslenen grubun TBIL değeri kontrol grubu dahil tüm gruplar içerisinde en yüksek değer olarak tespit edilmiş olup, $2,33\pm0,49$ mg/dl olarak kaydedilmiş ve istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Total bilirubin değerleri arasındaki farklılıklar günlere bağlı olarak değerlendirildiğinde önemsiz olarak kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Serum inorganik fosfor değerleri (IP) 28. gün sonunda kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda artış görülmüş olup, en yüksek inorganik fosfor miktarı $15,00\pm0,01$ mg/dl olarak %5 anason içeren yem ile beslenen deneme grubunda grupta belirlenmiştir (Çizelge 4.16). Ancak kontrol grubuna göre meydana gelen bu artışın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). 56. gün sonunda ise IP miktarı kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda artış göstermiştir. Ancak bu artışlardan sadece %3 ve %5 oranında anasonlu yem ile beslenen deneme gruplarındaki artışlar, sırası ile $11,86\pm0,05$ mg/dl ve $11,80\pm0,26$ mg/dl anlamlı olarak bulunmuştur ($p<0,05$). Grupların IP değerleri günlere bağlı olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkların önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Serum örneklerinin total kolesterol değerleri (TCHO) çizelge 4.16.'da verilmiştir. 28. gün sonunda grupların total kolesterol değerleri arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). 56. gün sonunda da aynı şekilde grupların total kolesterol değerleri arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Gama glutamil transferaz (GGT) değerleri hem 28 hem 56. gün sonunda alınan serum örneklerinde, kontrol grubu dahil tüm deneme gruplarında gruplarda $10\pm0,00$ U/l olarak tespit edilmiştir. Gruplar ve günler arasında herhangi bir farklılık oluşmadığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$).

28'inci gün sonunda %0,1 ve %0,5 anason ilaveli yemle beslenen deneme gruplarının alanin aminotransferaz (GPT) değerleri sırası ile $24,31\pm4,16$ U/l, $20,33\pm1,52$ U/l olarak tespit edilmiştir. %1,5, %3 ve %5 oranında anason ile beslenen

gruplarda ise sırası ile $24,36 \pm 3,32$ U/I, $25,66 \pm 7,50$ U/I ve $23,33 \pm 1,52$ U/I olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna ait örneklerin GPT değeri ise $25,33 \pm 4,50$ U/I'dır. Deneme gruplarına ait GPT değerleri ile kontrol grubuna ait GPT değeri karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel yönden anlamsız olduğu bulunmuştur ($p > 0,05$).

56. güne ait deneme gruplarına ait değerlerde GPT en yüksek %3 ve %5 anason içeren yem ile beslenen gruplarda sırasıyla $32,00 \pm 1,10$ U/I ve $36,33 \pm 2,51$ U/I olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre bu artış anlamlı olarak kaydedilmiştir ($p < 0,05$). Diğer gruplarda görülen farklılıklar ise önemsiz olarak bulunmuştur ($p > 0,05$). Günlere bağlı olarak 28. gün sonunda alınan örneklerle göre, 56. gün sonunda %3 ve %5 anason içeren yem ile beslenen gruplardaki artış önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kontrol ve deneme gruplarına ait serum örneklerinin kalsiyum (Ca) değerlerinin günlere ve dozlara bağlı olarak değişimi Çizelge 4.16.'da verilmiştir. 28. günde grupların Ca değerleri arasında görülen farklılık istatistiksel açıdan anlamsız olarak bulunmuştur ($p > 0,05$). 56. gün sonunda da benzer şekilde grupların kalsiyum değerleri birbirine yakın değerlerde tespit edilmiş olup, istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşturmadığı anlaşılmıştır ($p > 0,05$).

Kreatinin (CRE) değerleri 28. gün ve 56. gün sonunda, tüm gruplarda kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik meydana gelmediği tespit edilmiştir ($p > 0,05$).

Kan üre azotu (BUN) değerleri karşılaştırıldığında 28'inci ve 56'ıncı günlerine ait kontrol ve deneme grupları BUN değerleri $5 \pm 0,00$ mg/dl olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17)

Çizelge 4.16. 28. gün örneklerinin serolojik parametreleri

DOZ	28. gün serolojik parametreler											
	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	ALP (U/l)	GLU (mg/dl)	TBIL (mg/dl)	IP (mg/dl)	TCHO (mg/dl)	GGT (U/l)	GPT (U/l)	Ca (mg/dl)	CRE (mg/dl)	BUN (mg/dl)
Kontrol	3,80±0,90	1,03±0,05	191,33±4,35	60,66±9,07 ^a	0,93±0,80	13,23±2,10	232,00±5,71	10±0,00	25,33±4,50	8,33±1,06	0,38±0,14	5±0,00
%0,1	3,90±0,43	1,00±0,00	189,66±4,10	69,00±2,64 ^{ab}	0,63±0,40	14,10±1,38	228,66±2,51	10±0,00	24,31±4,16	9,56±0,41	0,42±0,12	5±0,00
%0,5	3,83±0,11	1,00±0,00	193,33±4,38	77,33±4,04 ^{ab}	0,53±0,23	13,93±1,88	224,33±2,10	10±0,00	20,33±1,52	8,50±0,86	0,34±0,10	5±0,00
%1,5	4,36±0,49	1,16±0,15	197,67±3,20	87,53±2,71 ^{ab}	0,76±0,35	15,00±0,01	234,00±5,29	10±0,00	24,36±3,32	10,36±1,58	0,37±0,05	5±0,00
%3	3,73±0,40	1,00±0,00	193,33±4,55	87,33±4,04 ^{ab}	0,80±0,52	14,63±0,55	228,12±8,71	10±0,00	25,66±7,50	9,73±0,47	0,38±0,07	5±0,00
%5	3,83±0,15	1,00±0,00	195,00±5,03	86,93±3,21 ^{ab}	1,06±0,72 ^{ab}	14,26±0,64	235,66±4,72	10±0,00	23,33±1,52	9,56±0,70	0,39±0,04	5±0,00

Çizelge 4.17. 56. gün örneklerinin serolojik parametreleri

DOZ	56. gün serolojik parametreler											
	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	ALP (U/l)	GLU (mg/dl)	TBIL (mg/dl)	IP (mg/dl)	TCHO (mg/dl)	GGT (U/l)	GPT (U/l)	Ca (mg/dl)	CRE (mg/dl)	BUN (mg/dl)
Kontrol	3,7±0,71	1,01±0,05	262,33±4,35 ^a	88,33±5,03	0,80±0,10	10,36±0,23 ^a	244,64±8,50	10±0,00	21,33±2,51	9,50±0,17	0,22±0,02	5±0,00
%0,1	4,4±0,89	1,01±0,05	266,00±4,10 ^{ab}	91,66±4,04	0,73±0,05	10,43±0,66 ^a	255,66±5,02	10±0,00	22,66±2,17	10,70±1,77	0,33±0,06	5±0,00
%0,5	4,6±1,86	1,02±0,01	310,33±1,38 ^{ab}	93,33±6,42	0,43±0,20	10,43±0,35 ^a	250,00±2,64	10±0,00	20,66±2,97	9,26±0,15	0,26±0,04	5±0,00
%1,5	4,5±1,64	1,02±0,00	310,66±7,20 ^{ab}	94,00±6,08	0,66±0,15	10,93±0,90 ^a	257,66±7,02	10±0,00	26,33±2,91	9,06±0,68	0,26±0,05	5±0,00
%3	4,1±0,21	1,02±0,00	184,67±2,55 ^{ac}	96,66±5,56	0,76±0,15	11,80±0,26 ^{ab}	264,00±9,84	10±0,00	32,00±1,10 ^{ab}	9,90±0,95	0,26±0,02	5±0,00
%5	4,9±0,37	1,02±0,05	183,00±3,43 ^{ac}	96,00±11,2	2,33±0,49 ^{ab}	11,86±0,05 ^{ab}	251,00±9,16	10±0,00	36,33±2,51 ^{ab}	8,90±0,81	0,24±0,06	5±0,00

4.9. İmmünolojik Analiz Sonuçları

4.9.1. NBT (Nitrablu Tetrazolium) analizi sonuçları

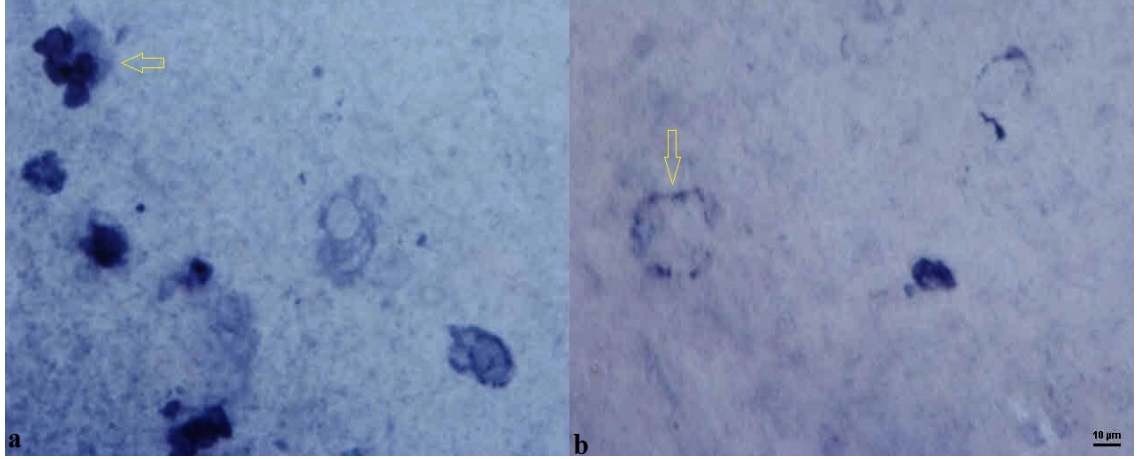
Denemenin 28. gününde alınan örneklerde kontrol ve deneme gruplarına ait NBT değerleri çizelge 4.18.'de verilmiştir. Anasonun yeme %1,5 oranında ilavesi, tüm gruplar içerisinde en yüksek nötrofil aktivasyonunu sağlayarak $35,72 \pm 3,83$ olarak saptanmıştır. Kontrol grubuna göre, % 0,1 ve %0,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruplarda nötrofil aktivasyonu artış göstermekle beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). %3 ve %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruplarda NBT değerleri, diğer tüm gruplara göre belirgin bir şekilde düşüş göstermiş olup bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.18. NBT sayılarının dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

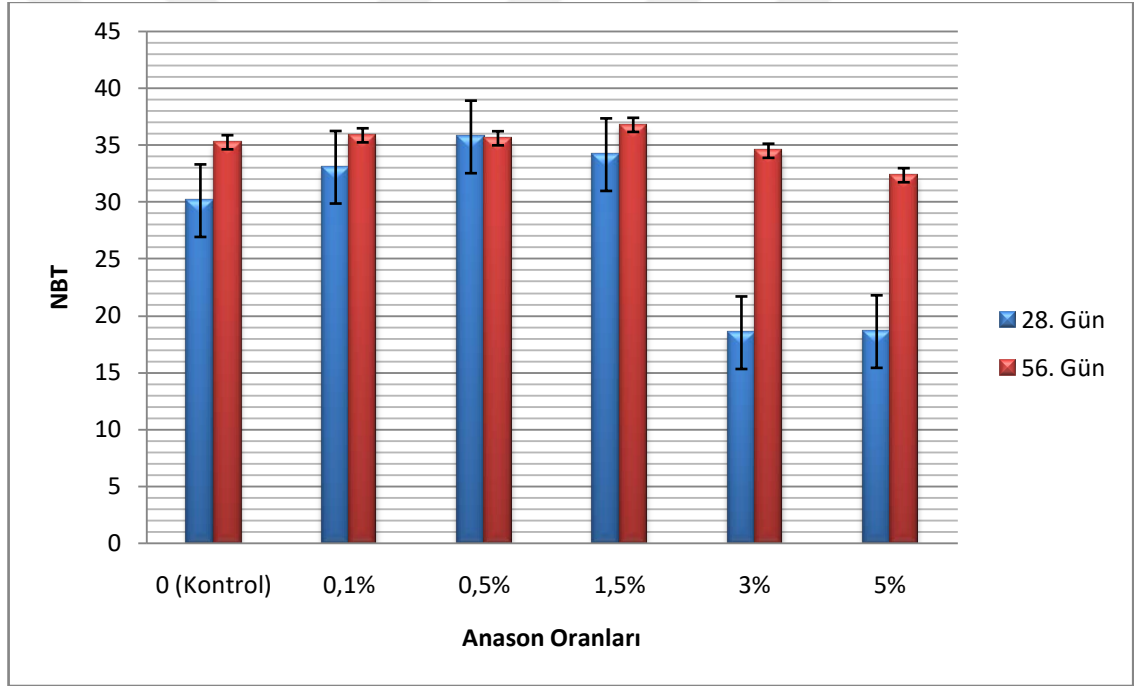
Doz	Günler	
	28. gün	56. gün
Kontrol	$30,11 \pm 1,98^a$	$35,25 \pm 3,05$
%0,1	$33,05 \pm 2,01^a$	$35,86 \pm 4,24$
%0,5	$34,16 \pm 2,35^a$	$35,60 \pm 1,52$
%1,5	$35,72 \pm 3,83^a$	$36,78 \pm 1,46$
%3	$18,49 \pm 1,20^{ab}$	$34,50 \pm 3,11$
%5	$18,59 \pm 2,21^{ab}$	$32,35 \pm 5,86$

56. gün sonunda alınan kan örneklerinde NBT seviyesi en yüksek %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen grupta $36,78 \pm 1,46$ olarak tespit edilirken, en düşük NBT seviyesi %5 anason içeren yem ile beslenen grupta $32,35 \pm 5,86$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile yaklaşık değerlere sahip olan diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Alabalıklar %1,5 anason ilaveli yem ile 28 gün boyunca beslendiğinde, maksimum nötrofil aktivasyonunun meydana geldiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.16). Ancak besleme süresi 56 güne çıkarıldığında ise grupların nötrofil aktivasyonları arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.16. 28. gün sonunda %1,5 oranında anason ilave edilmiş yem ile beslenen gruba ait nötrofil aktivasyonu **a)** NBT pozitif hücre (ok ile gösterilmiştir), **b)** NBT pozitif hücre aktivasyonu (Ok ile gösterilmiştir) 100x (Orijinal)



Şekil 4.17. NBT değerlerinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Günlere bağlı olarak NBT seviyeleri değerlendirildiğinde 28'inci ve 56'ıncı günde alınan örneklerin gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yaratmadığı kaydedilmiştir ($p>0,05$).

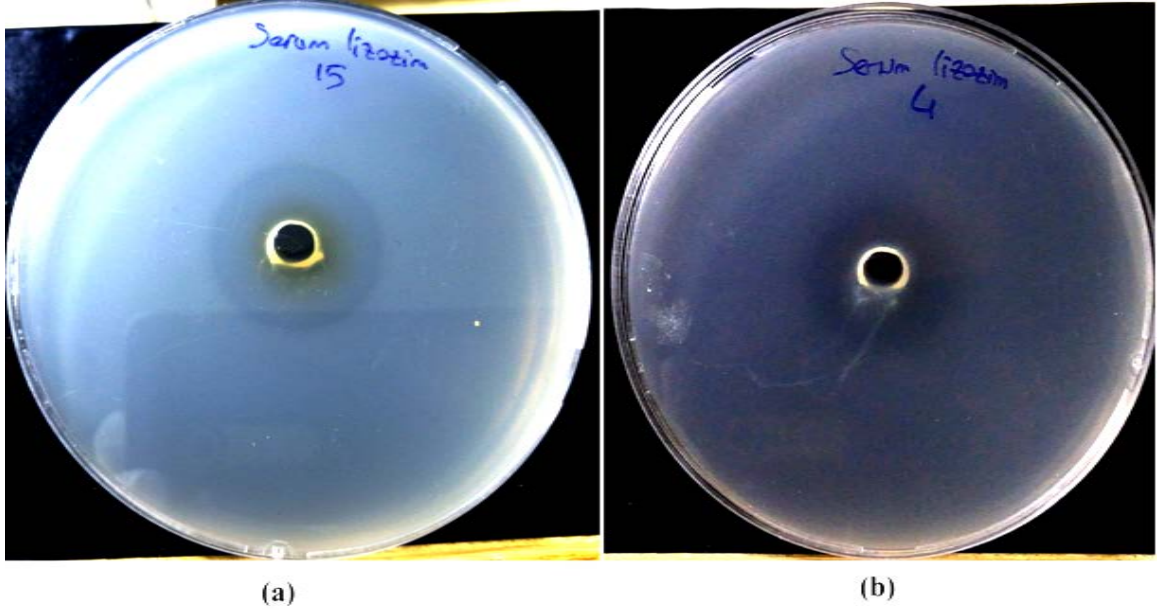
4.9.2. Serum lizozim aktivitesi sonuçları

Serum lizozim aktivitesini belirlemek amacıyla besiyerlerinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları gruplara göre çizelge 4.19.'da verilmiştir. 28. gün sonunda tüm gruplar içerisinde en düşük zon çapı kontrol grubu ve %0,1 anasonlu yem ile beslenen grupta tespit edilirken, en yüksek inhibisyon zon çapını oluşturan grup ise % 1,5 anason

ilaveli yem ile beslenen deneme grubu olmuştur. Bu gruba ait serum lizozim aktivite değerleri ortalama $2,60 \pm 0,17$ cm olarak grup içerisinde en yüksek zon çapı 2,80 cm şeklinde kaydedilmiştir. En düşük inhibisyon zon çapı ise kontrol grubu ve % 0,1 oranlı yem ile beslenmiş grupta ortalama $1,90 \pm 0,10$ cm olarak tespit edilmiştir. Yapılan anova tek yönlü varyans analizi sonucunda ise kontrol grubuna göre %1,5, %3 ve %5 (Şekil 4.18) oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruplarda serum lizozim aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı kaydedilmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.19. Serum lizozim aktivitesinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

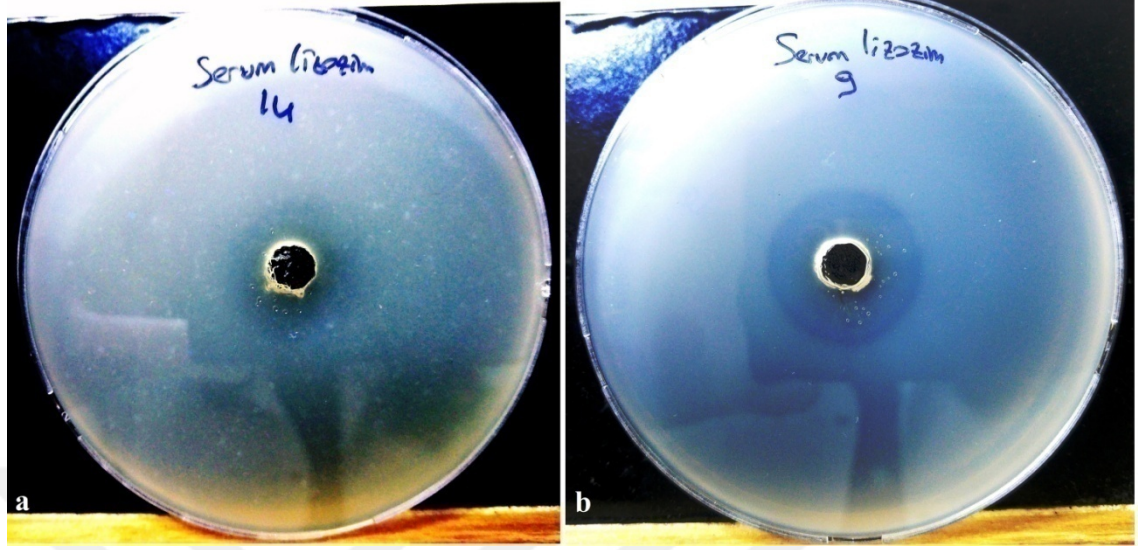
Doz	Günler	
	28. gün (cm)	56. gün (cm)
Kontrol	$1,90 \pm 0,10^a$	$2,50 \pm 0,20$
% 0,1	$1,90 \pm 0,10^a$	$2,63 \pm 0,20$
% 0,5	$1,96 \pm 0,05^a$	$2,66 \pm 0,05$
% 1,5	$2,60 \pm 0,17^{ab}$	$2,73 \pm 0,30$
% 3	$2,33 \pm 0,11^{ab}$	$2,56 \pm 0,05$
% 5	$2,30 \pm 0,10^{ab}$	$2,60 \pm 0,17$



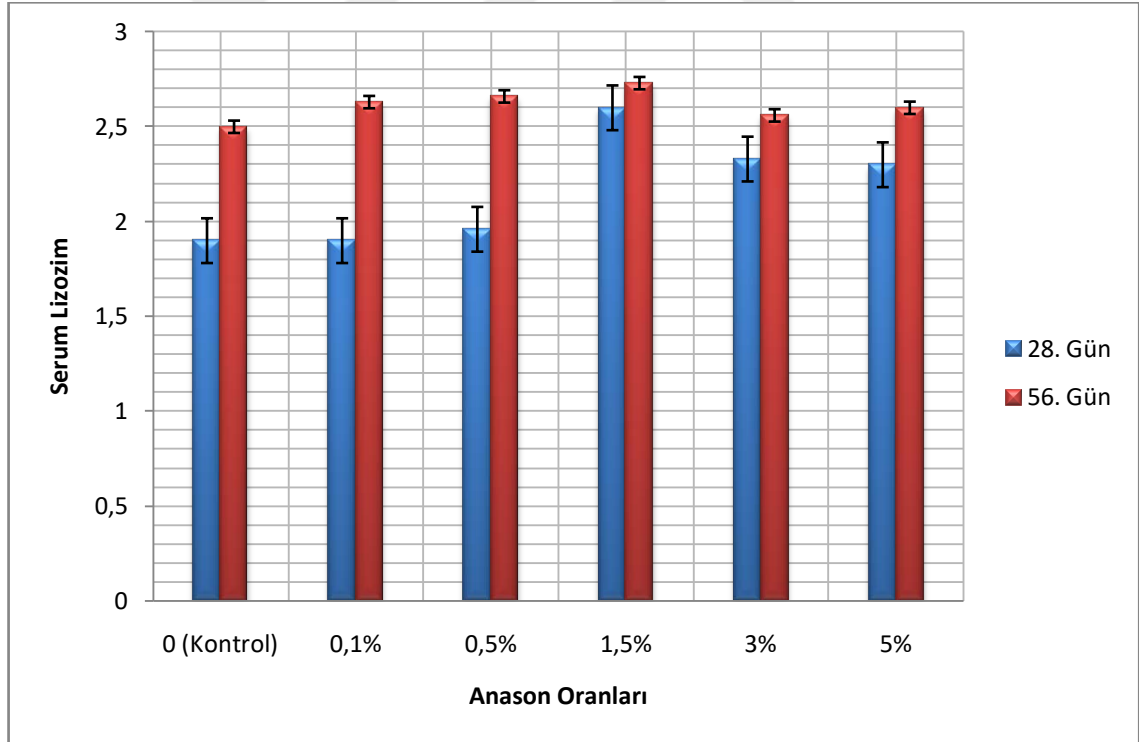
Şekil 4.18. a) 28. gün sonunda %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait serum lizozim aktivitesi; **(b)** kontrol grubuna ait serum lizozim aktivitesi

56. gün sonunda elde edilen serum örneklerinin lizozim aktiviteleri incelendiğinde, en düşük lizozim aktivitesi kontrol grubunda $2,50 \pm 0,20$ cm olarak tespit edilmiştir. En yüksek lizozim aktivitesi ise %1,5 anason içeren yem ile beslenen grupta $2,73 \pm 0,30$ cm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.19). Serum lizozim aktivitesi, 56. gün

sonunda tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermesine rağmen (Şekil 4.20) bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yaratmamaktadır ($p>0,05$).



Şekil 4.19. 56. gün sonunda a) kontrol grubunun serum lizozim aktivitesi; b) %1,5 anason ilaveli yem ile beslenen grubun serum lizozim aktivitesi



Şekil 4.20. Serum lizozim aktivitesinin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

4.9.3. Fagositik aktivite ve fagositik indeks sonuçları

Deneme gruplarının fagositik aktiviteleri arasındaki değişim çizelge 4.20.'de verilmiştir. Denemenin 28. gününde alınan örneklerde fagositik aktivite oranı tüm

gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiş olup, en yüksek fagositik aktivite % 0,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grupta $84,29 \pm 2,26$ olarak tespit edilmiştir. Bu grup içerisindeki örneklerde ise en yüksek fagositik aktivite değeri 86,88 olarak kaydedilmiştir. Tüm gruplar arasında en düşük fagositik aktivite $70,74 \pm 1,41$ değeri ile kontrol grubunda tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda anason ilaveli yem ile beslenen tüm grupların 28. gün sonunda fagositik aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

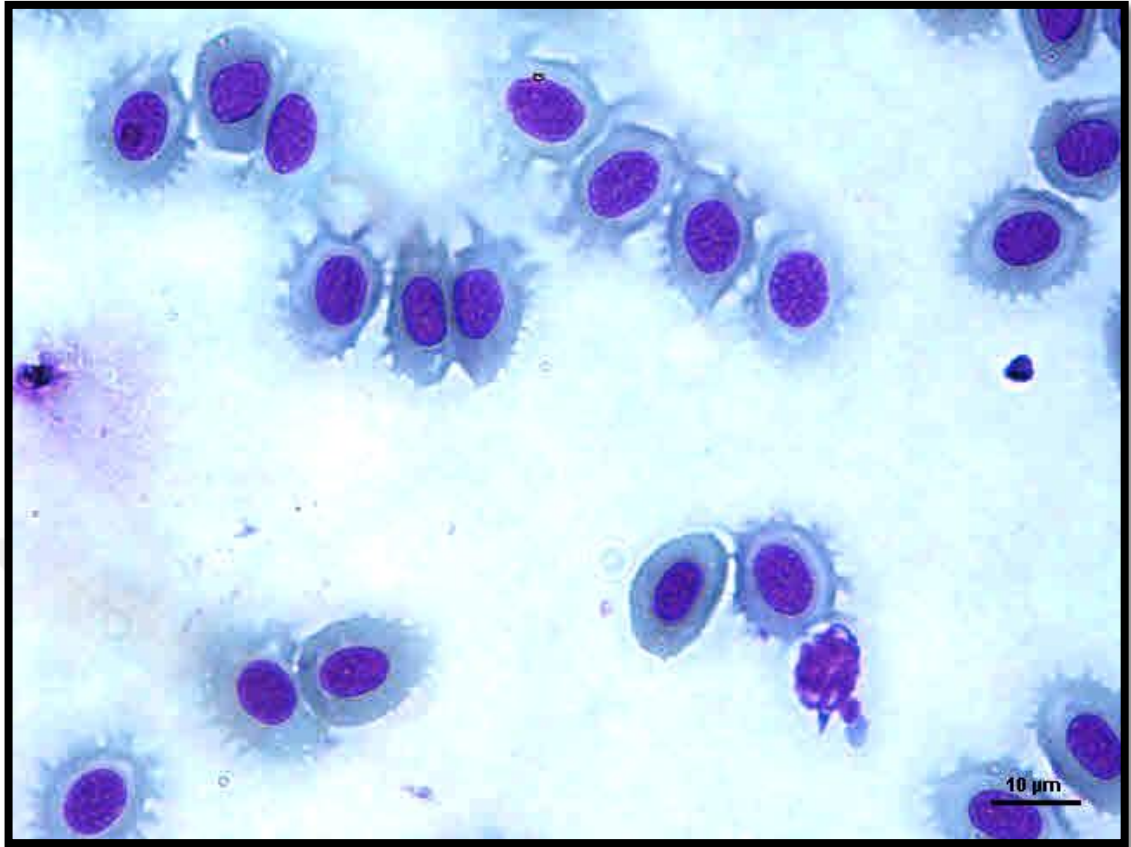
56. gün sonunda alınan kan örneklerinin fagositik aktiviteleri incelendiğinde en yüksek aktivite $87,64 \pm 1,73$ olarak %1,5 anason içeren yem ile beslenen grupta tespit edilmiştir. En düşük fagositik aktivite değeri ise kontrol grubunda $75,92 \pm 2,82$ olarak belirlenmiştir. Tüm grupların fagositik aktivite değerleri kontrol grubuna göre artış göstermiş olup bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.20. Fagositik aktivitenin dozlara ve günlere bağlı olarak değişimi

Fagositik Aktivite		Günler
Doz	28. gün	56. gün
Kontrol	$70,74 \pm 1,41^a$	$75,92 \pm 2,82^a$
% 0,1	$81,41 \pm 2,28^{ab}$	$86,06 \pm 1,04^{ab}$
% 0,5	$84,29 \pm 2,26^{ab}$	$87,32 \pm 7,42^{ab}$
% 1,5	$83,34 \pm 1,91^{ab}$	$87,64 \pm 1,73^{ab}$
% 3	$83,76 \pm 1,68^{ab}$	$85,37 \pm 3,29^{ab}$
% 5	$80,13 \pm 1,71^{ab}$	$78,61 \pm 3,93^{ab}$

Çizelge 4.21. Gruplara ve günlere bağlı olarak fagositik endeks değerlerindeki değişim

Fagositik İndeks		Günler
Doz	28. Gün	56. Gün
Kontrol	$6,32 \pm 1,21^a$	$7,53 \pm 0,23$
% 0,1	$7,59 \pm 0,44^{ab}$	$8,56 \pm 0,38$
% 0,5	$8,97 \pm 0,92^{ab}$	$8,57 \pm 0,12$
% 1,5	$9,21 \pm 0,61^{ab}$	$8,55 \pm 0,19$
% 3	$9,56 \pm 0,15^{ab}$	$8,06 \pm 0,68$
% 5	$9,29 \pm 0,30^{ab}$	$7,53 \pm 0,23$



Şekil 4.21. Denemenin 56. gününde %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen gruptan alınan kan örneklerinde tespit edilen, bakteri yutan fagositik hücreler 100x (Orijinal, Giemsa)

Deneme gruplarının fagositik aktiviteleri günlere bağlı olarak değerlendirildiğinde, sadece %5 anason içeren yem ile beslenen grupta bu değer düşüş göstermiş olup, 28. gün sonunda $80,13 \pm 1,71$, 56. gün sonunda ise $78,61 \pm 3,93$ olarak tespit edilmiştir. Fagositik aktivite değerindeki bu düşüş istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Diğer bütün gruplarda ise 28. gün örneklerine göre 56. gün sonunda fagositik aktivite değerleri artış göstermiş olup, %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen grupta tespit edilen artışın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

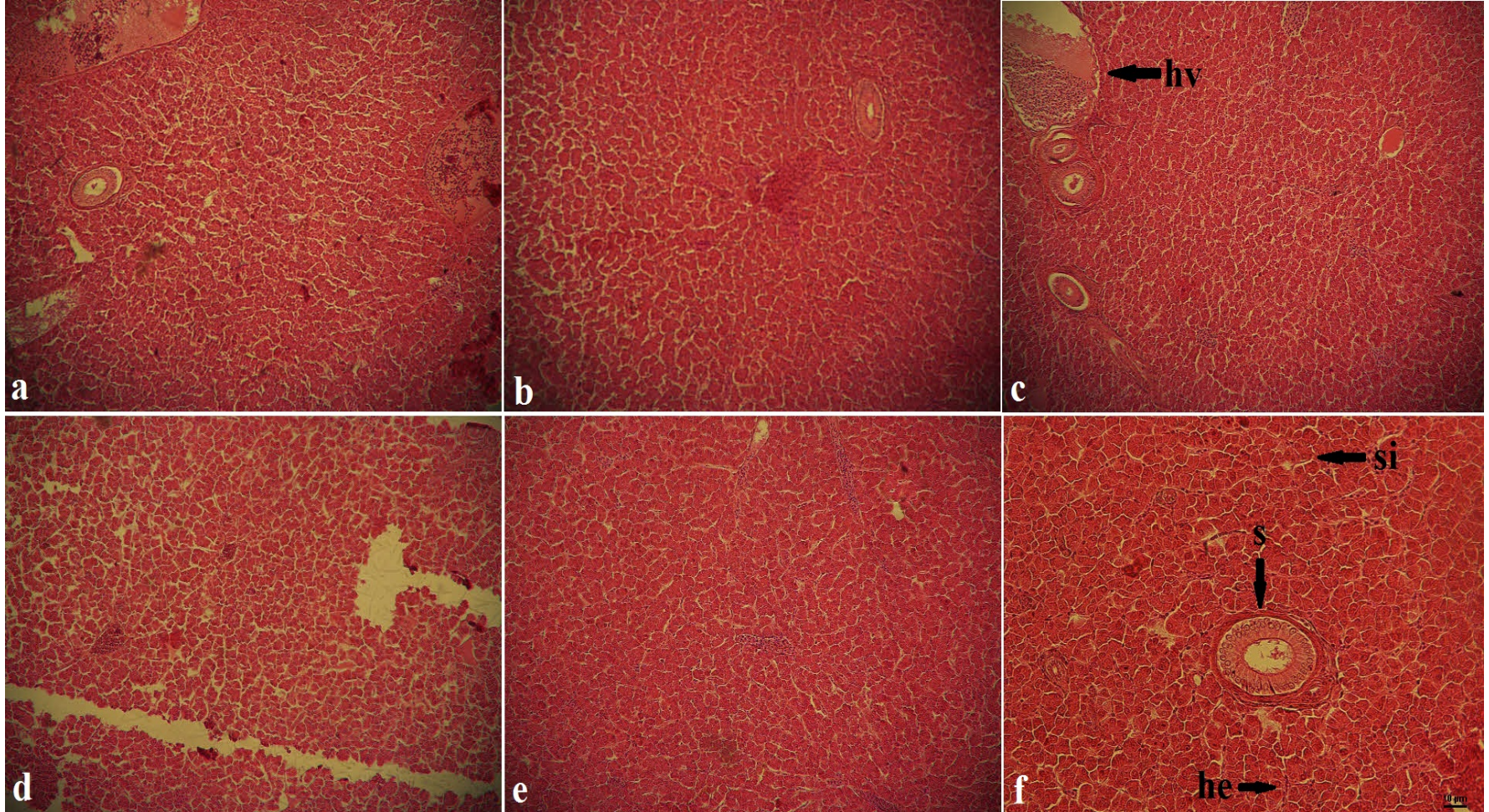
Deneme gruplarının fagositik indexleri çizelge 4.21.'de sunulmuştur. 28. gün sonunda alınan örneklerin fagositik indeksleri tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiş ve en yüksek değeri %3 anason ilaveli yem ile beslenen grupta $9,56 \pm 0,15$ olarak tespit edilmiştir. En düşük fagositik indeks oranı ise kontrol grubunda $6,32 \pm 1,21$ olarak kaydedilmiştir. Anasonun tüm gruplarda fagositik endeksi artırdığı ve bu artışın kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). 56. gün sonunda ise tüm grupların fagositik indeksleri, kontrol grubuna göre artış göstermiş olup en yüksek değeri $8,57 \pm 0,12$ olarak %0,5 anasonlu yem ile beslenen grupta tespit edilmiştir. Ancak kontrol grubuna göre oluşan bu artış istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Grupların fagositik endeksleriindeki değişim günlere göre değerlendirildiğinde ise aynı şekilde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.10. Histolojik Analiz Sonuçları

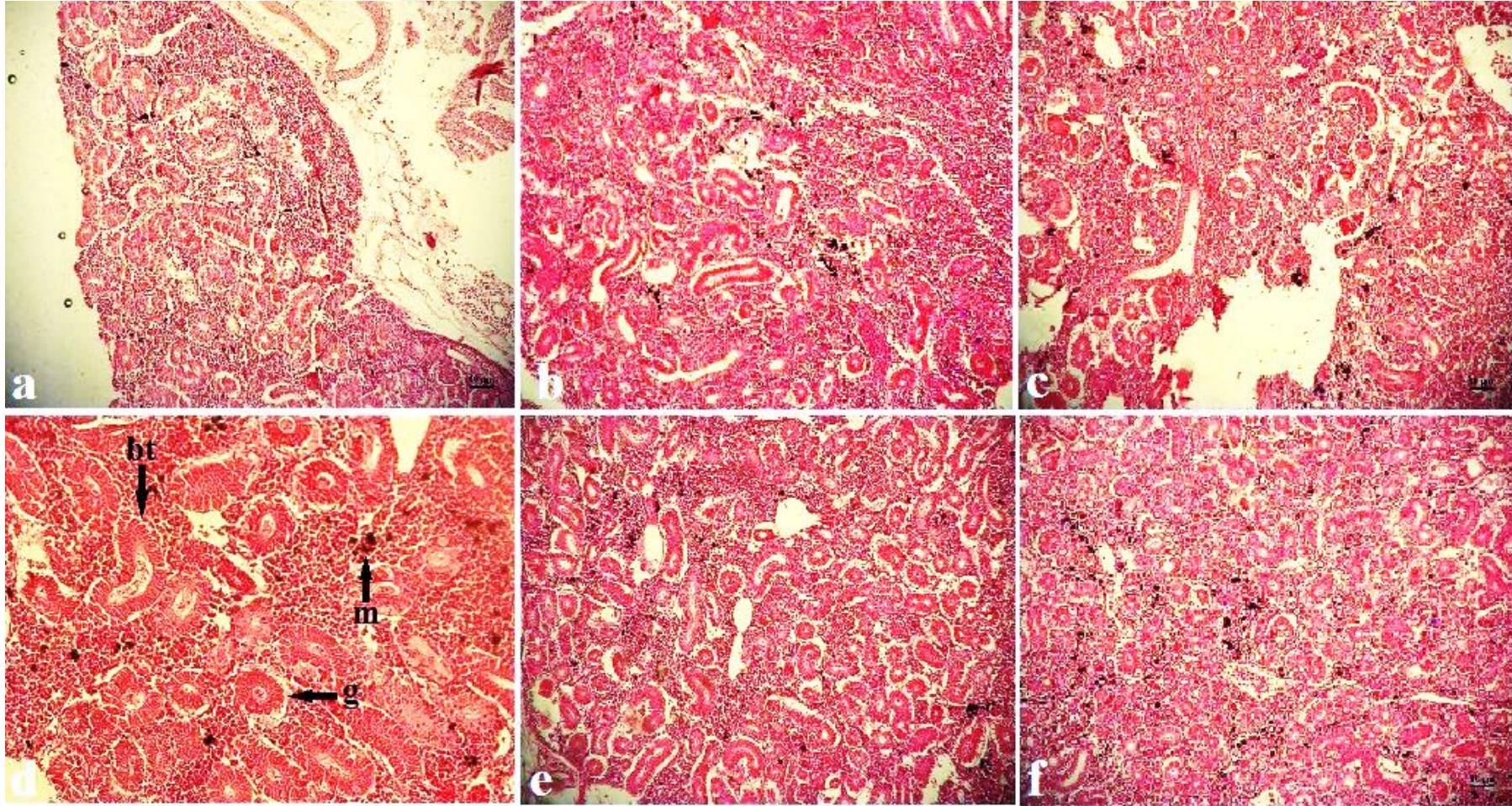
Deneme başında alınan 0. gün doku örnekleri incelendiğinde patolojik açıdan bir bulguya rastlanılmamış olup, tüm grupların doku kesitlerinde hücreler normal olarak gözlemlenmiştir.

28. gün örneklerinin karaciğer dokularının normal görünümüne sahip olduğu belirlenmiş ve dokularda patolojik bir bulguya rastlanılmamıştır (Şekil 4.22). Kontrol grubu dahil tüm grupların, Hematoksilen-Eozin ile boyanan kesitleri incelendiğinde hepatositler, sinuzoidal boşluklar, hepatik vena ve sentral venada herhangi bir anomali gözlenmemiştir. Tüm grupların karaciğer doku kesitlerinin görüntüleri Şekil 4.22.'de verilmiştir. Aynı dönemde alınan böbrek örneklerine ait doku kesitlerinde böbrek tübülleri, glomerulus, melanomakrofaj merkezleri normal yapıda gözlemlenmiştir. Tüm grupların böbrek kesitleri incelendiğinde herhangi bir histolojik bulguya rastlanılmamıştır.

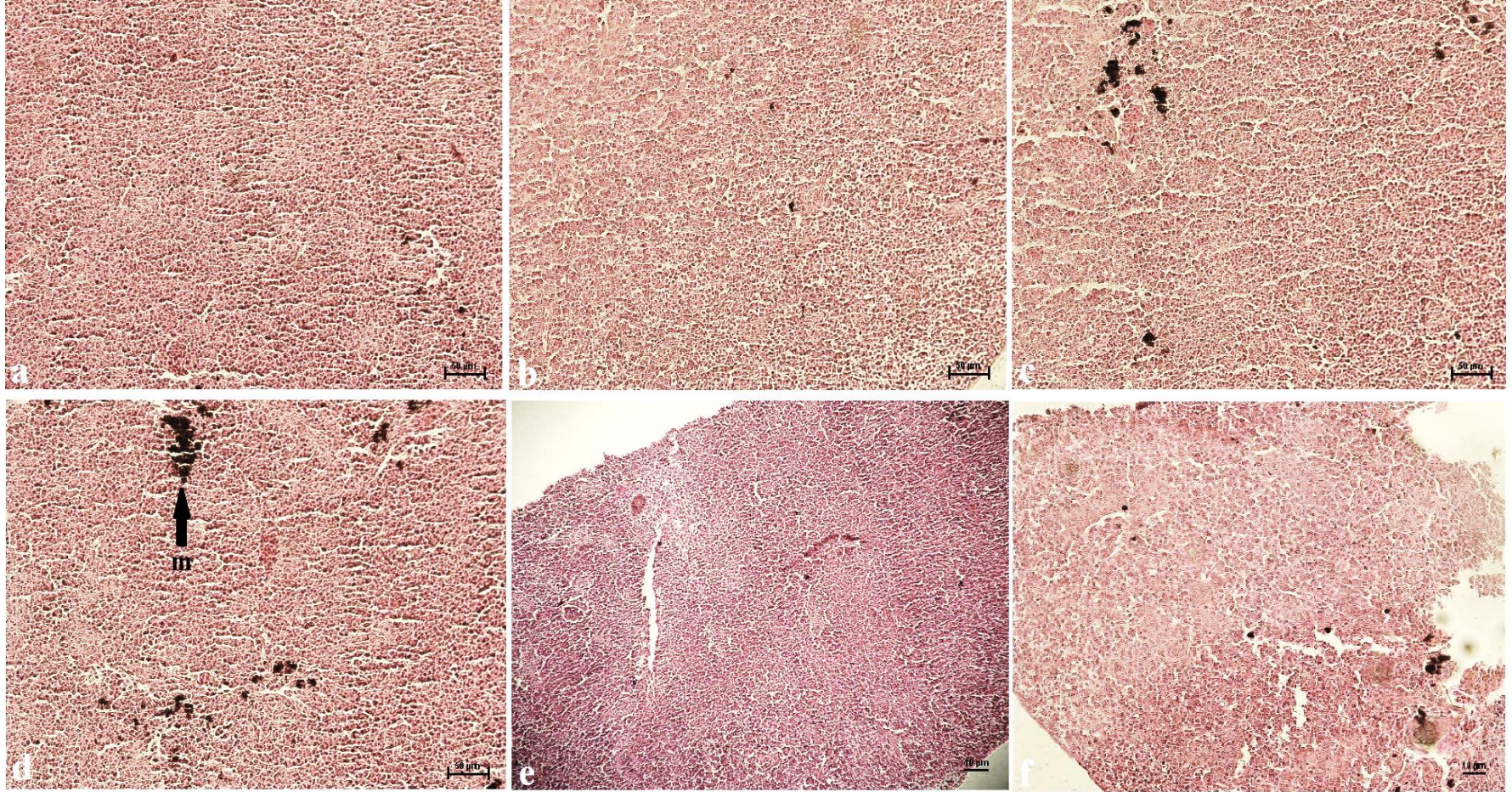




Şekil 4.22. Yirmisekizinci güne ait karaciğer dokularının histolojik kesitleri **a)** kontrol grubu, **b)** %0,1 anason, **c)** %0,5 anason, **d)** %1,5 anason, **e)** %3 anason ve **f)** %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler. **hv:** hepatik ven, **si:** sinizoid, **s:** safra kanalı, **he:** hepatosit (Hematoksilen&Eozin)



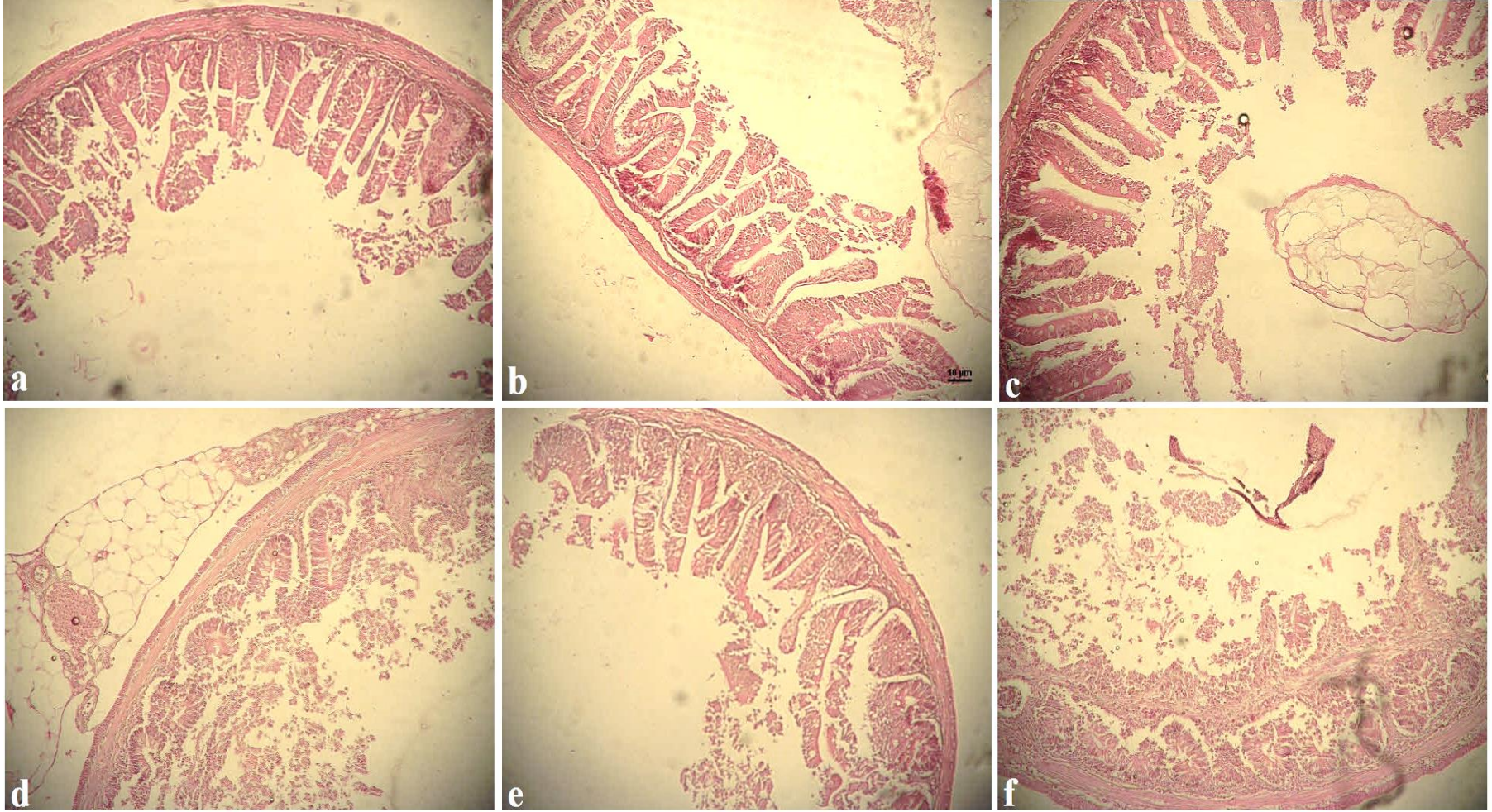
Şekil 4.23. Yirmisekizinci güne ait böbrek dokularının histolojik kesitleri **a)** kontrol grubu, **b)** %0,1 anason, **c)** %0,5 anason, **d)** %1,5 anason, **e)** %3 anason ve **f)** %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler. **bt:** proksimal tübül, **g:** distal tübül, **m:** melanomakrofaj merkezi (Hematoksilen&Eozin, 10x)



Şekil 4.24. 28. gün sonunda alınan dalak dokularına ait histolojik kesitler, **a)** kontrol grubu, **b)** %0,1 anason, **c)** %0,5 anason, **d)** %1,5 anason, **e)** %3 anason ve **f)** %5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait histolojik kesitler **m:** melanomakrofaj merkezi (Hematoksilen&Eozin, 10x)



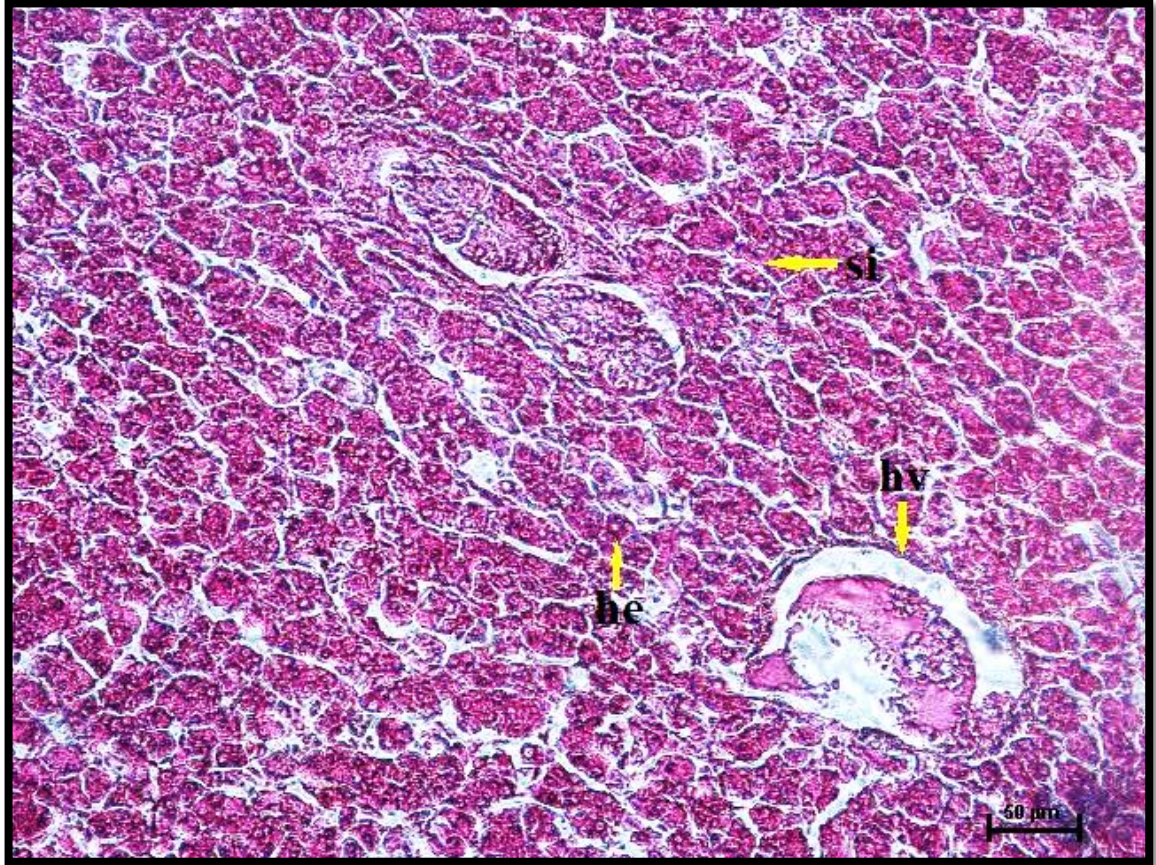
Şekil 4.25. 28. gün sonunda alınan solungaç dokularına ait histolojik kesitler, **a)** kontrol grubu, **b)** %0,1 anason, **c)** %0,5 anason, **d)** %1,5 anason, **e)** %3 anason ve **f)** %5 anason içeren yem ile beslenen grup (Hematoksilen&Eozin, 10x)



Şekil 4.26. Bağırsak dokularına ait histolojik kesitler, **a)** kontrol grubu, **b)** %0,1 anason, **c)** %0,5 anason, **d)** %1,5 anason, **e)** %3 anason ve **f)** %5 anason içeren yem ile beslenen grup (Hematoksilen&Eozin, 10x)

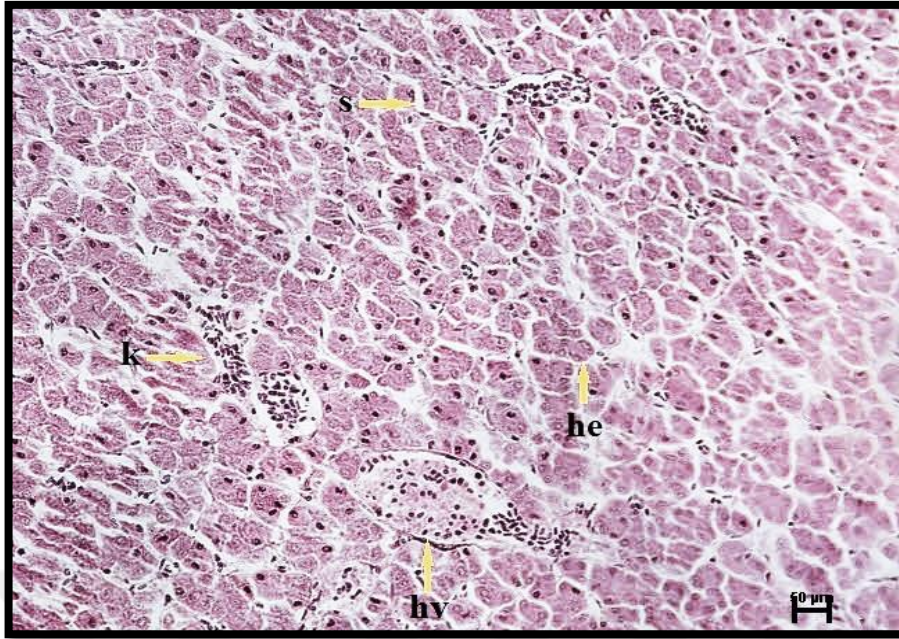
28. gün sonunda alınan dalak doku örnekleri incelendiğinde, tüm grupların histolojik kesitlerinde dalak hücrelerinin, kırmızı pulpanın, beyaz pulpanın ve melanomakrofaj merkezlerinin normal yapıda olduğu tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.24). Solungaçlardan elde edilen histolojik kesitler incelendiğinde, kontrol grubu dahil tüm gruplarda solungaç filamentlerin normal yapıda olduğu ve gruplar arasında önemli bir değişiklik meydana gelmediği kaydedilmiştir (Şekil 4.25). Aynı şekilde yirmisekizinci gün sonunda bağırsaklardan alınan örneklerin de tüm gruplarda benzer ve normal yapıda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.26)

56. gün sonunda kontrol grubuna ait karaciğer örneklerinden hematoksilin eozin ile hazırlanan histoloji kesitleri incelendiğinde, dokularda histopatolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Karaciğer dokularına ait hepatositler, sinüzoidal boşluklar, hepatik vena ve sentral vena normal yapıda olup herhangi bir anomali gözlenmemiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Kontrol grubuna ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, **hv**: hepatik vena, **si**: sinüzoid, **he**: hepatosit (Hematoksilin&Eozin, 20x)

56. gün sonunda %0,1 oranında anason içeren yem ile beslenen grubun karaciğer kesitlerinde de hepatositlerin, hepatik vena ve sentral venanın normal yapıya sahip oldukları belirlenmiştir. Ancak sinüzoidal boşluklarda kan hücrelerinin infiltrasyonu görülmüştür (Şekil 4.29).

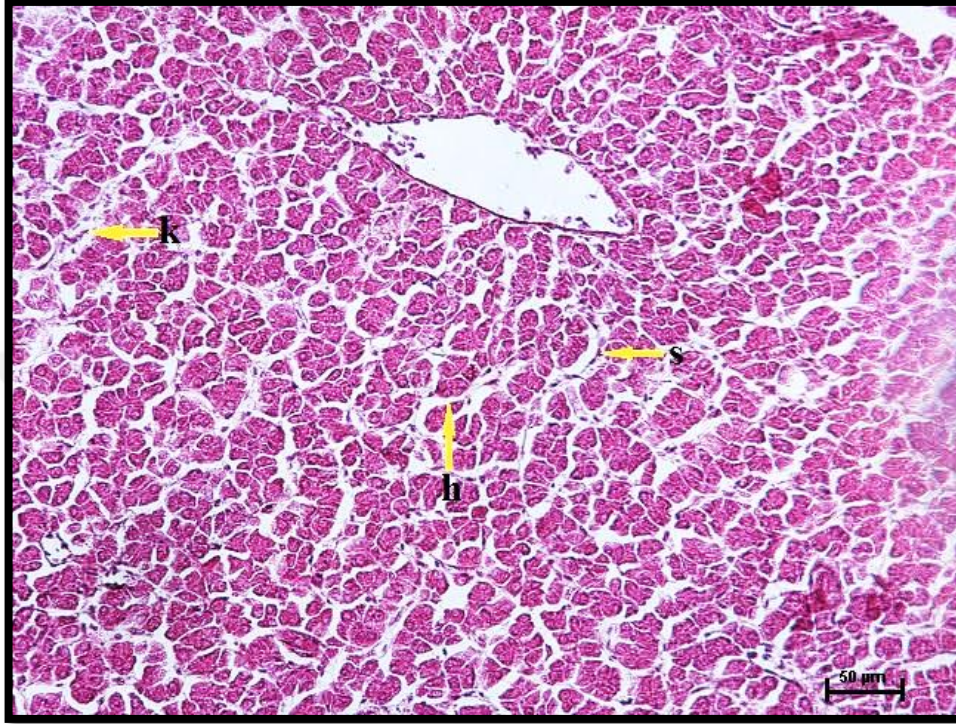


Şekil 4.28. %0,1 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, **hv**: hepatik vena, **si**: sinüzoid, **he**: hepatosit **k**:sinüzoidler arasına kan hücreleri infiltrasyonu (Hematoksilen&Eozin, 20x)

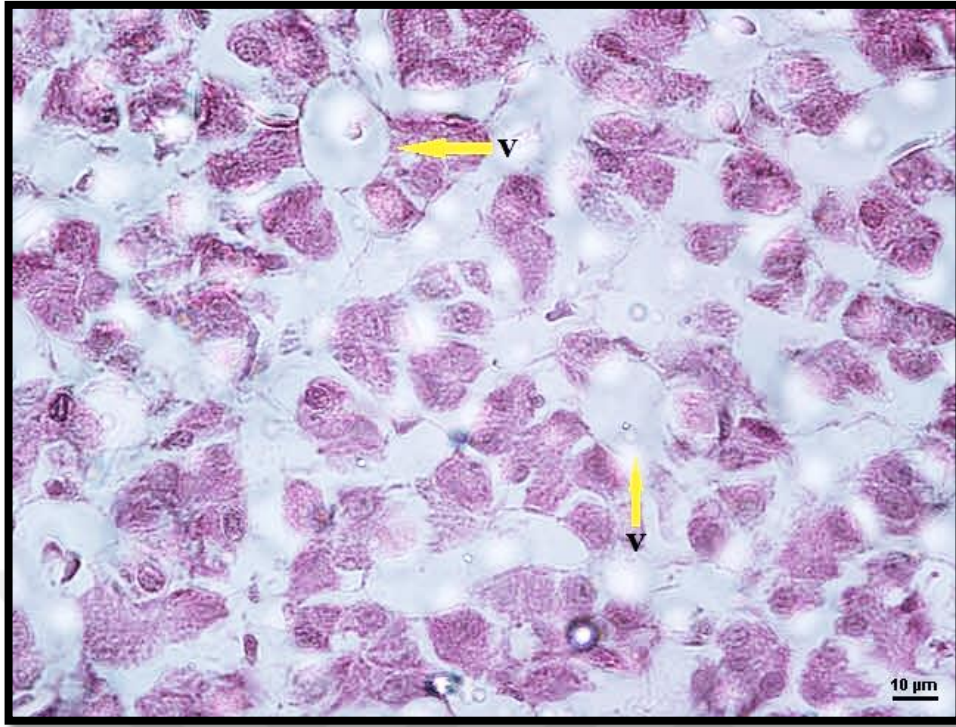


Şekil 4.29. %0,1 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, **k**: sinüzoidler içerisinde eritrosit infiltrasyonu (Hematoksilen&Eozin, 20x)

Aynı dönemde, %0,5 oranında anason içeren yem ile beslenen grupların karaciğer dokularına ait fotoğraflar Şekil 4.30.'da verilmiştir. Bu grubun karaciğer dokularında hepatik venanın normal yapıda olduğu ve histopatolojik bir bulgu göstermediği tespit edilmiştir. Ancak karaciğerde, sinüzoidler arasında kan hücreleri infiltrasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.31).

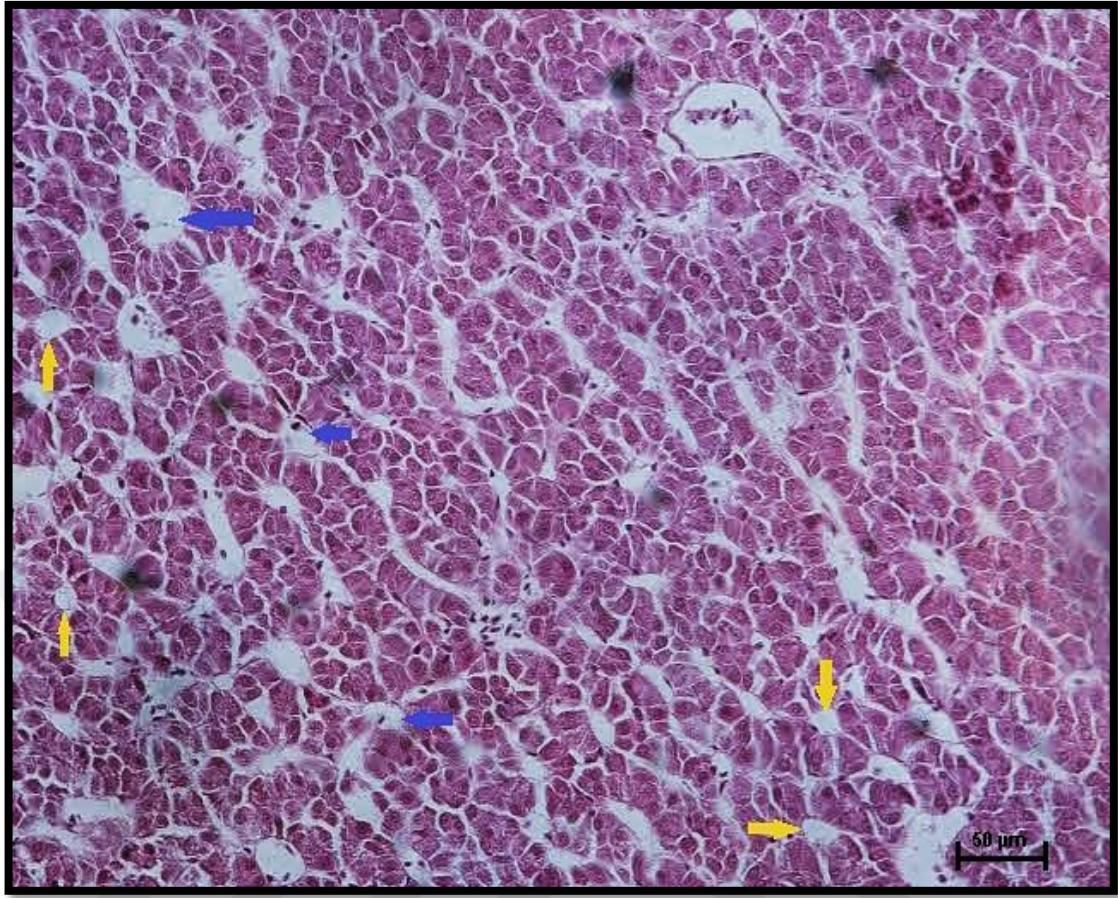


Şekil 4.30. %0,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, **h**: hepatositler, **s**: sinüzoidler, **k**: sinüzoidler içerisine kan hücrelerinin infiltrasyonu (Hematoksilen&Eozin, 20x)

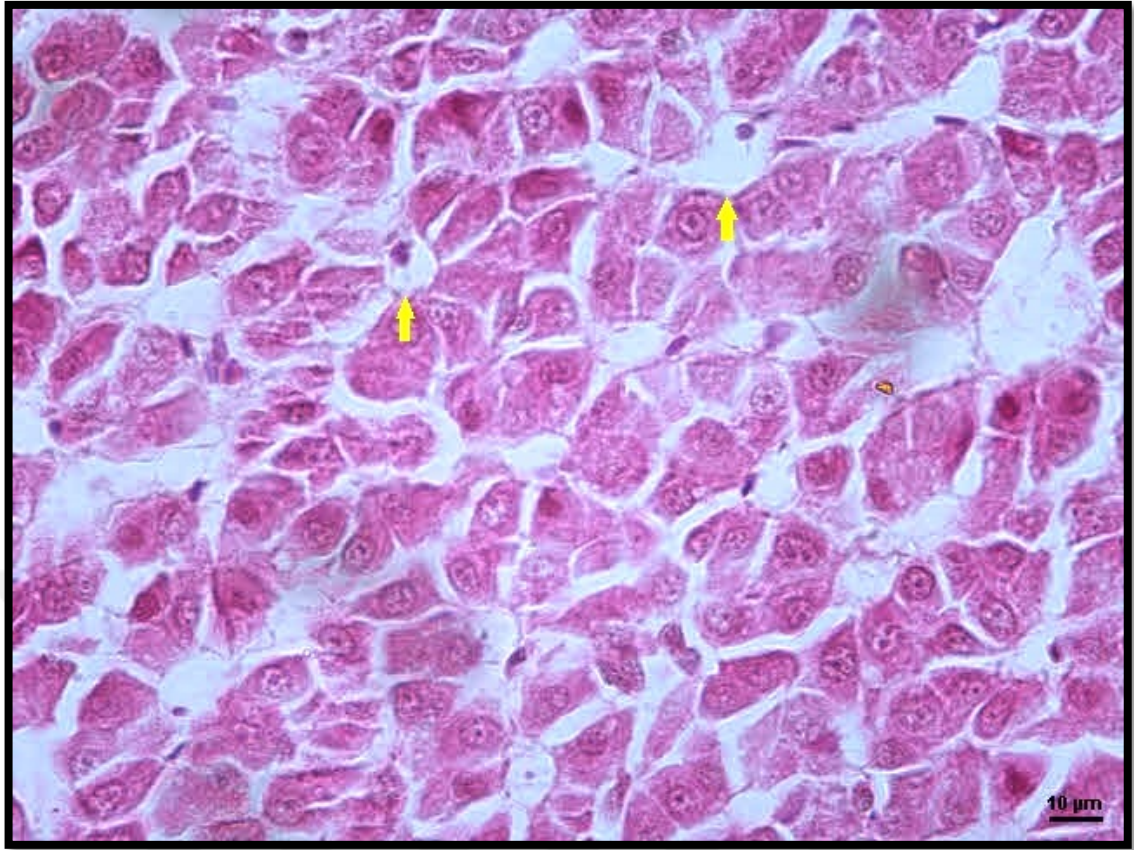


Şekil 4.31. %0,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer doku kesiti, v: hidropik dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 60x)

%1,5 anason içeren yem ile beslenen grubun 56. gün sonundaki karaciğer doku kesiti örneği Şekil 4.32.'de verilmiştir. Bu gruba ait karaciğer dokularında hidropik dejenerasyon ve vaküler dejenerasyon (Şekil 4.33) meydana geldiği tespit edilmiş olup, %0,5 oranında anason içeren yem ile beslenen gruba göre bu oranın daha fazla olduğu kaydedilmiştir.

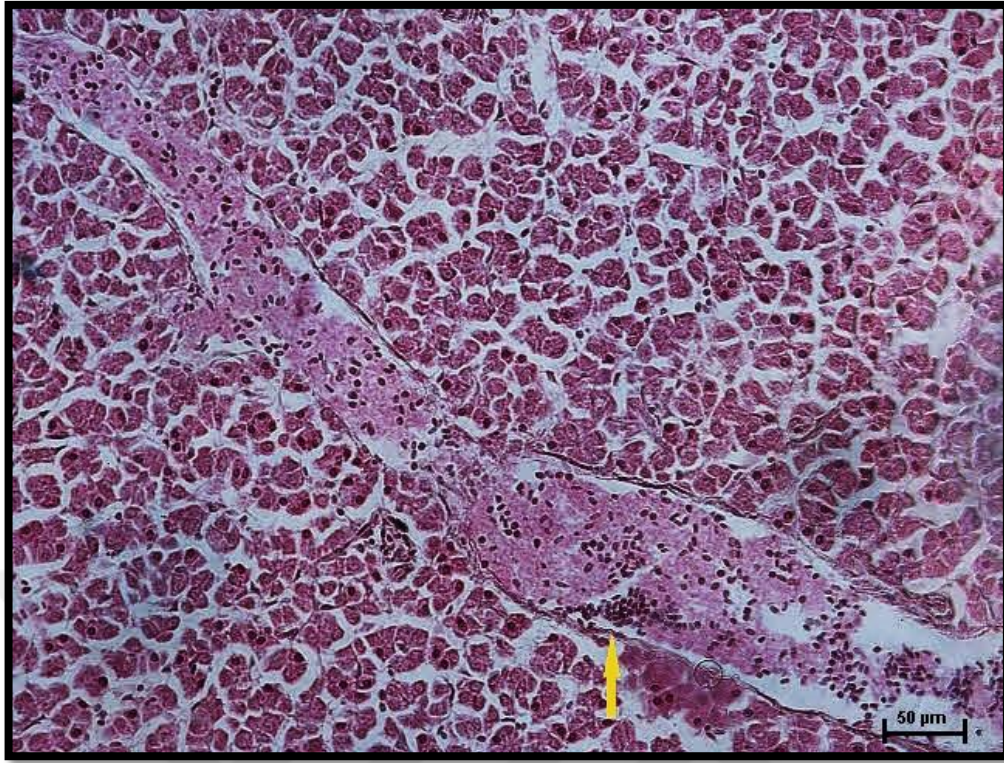


Şekil 4.32. %1,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (mavi ok) ve hidropik dejenerasyon (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

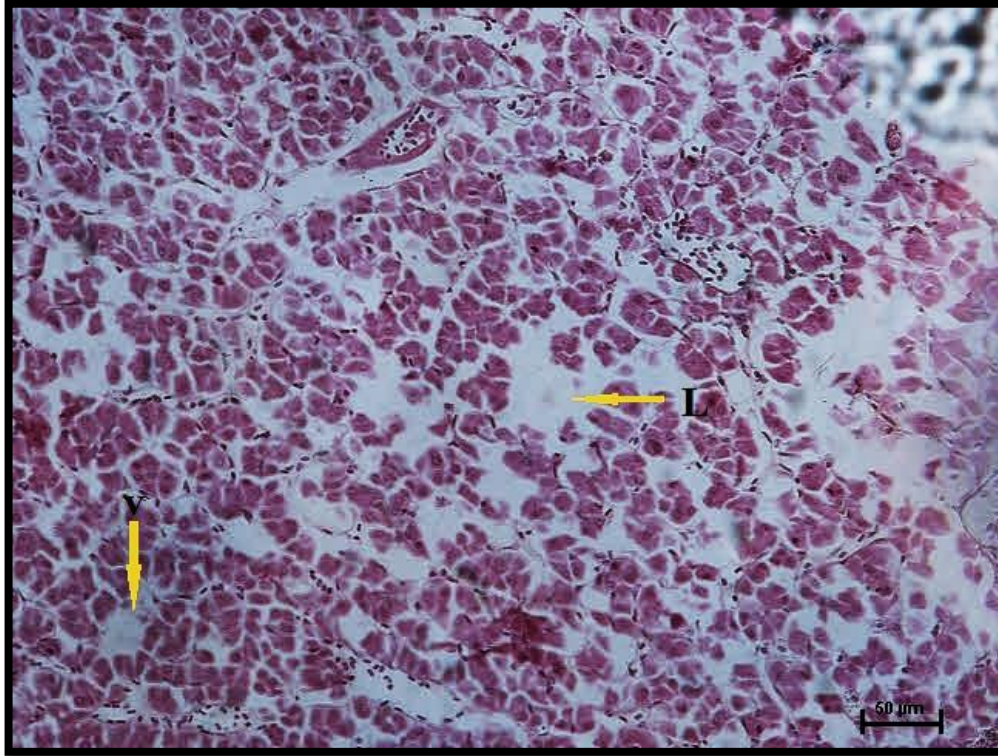


Şekil 4.33. %1,5 anason içeren yem ile beslenen gruba ait 56. gün sonunda alınan karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 60x)

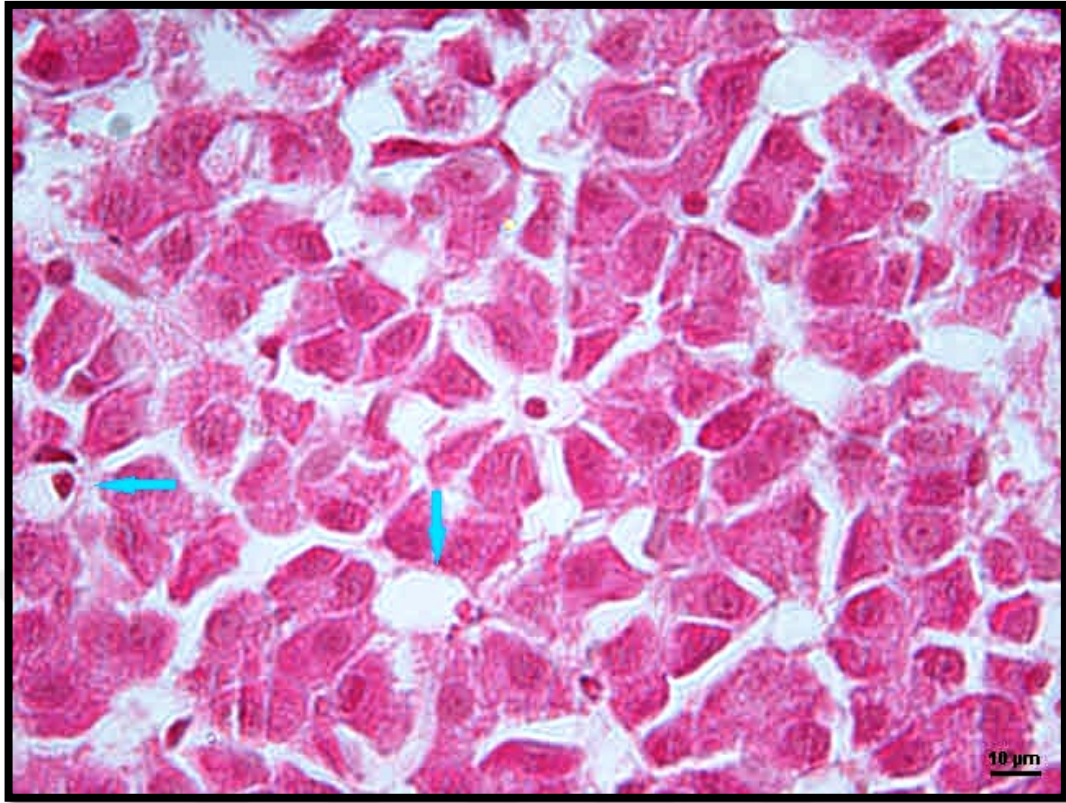
56 gün boyunca % 3 anason içeren yem ile beslenen gruba ait karaciğer dokusu damarlarında hiperemi, likefaktif nekroz odakları, vakuoler ve hidropik dejenerasyon meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.34; Şekil 4.35; Şekil 4.36). Bu gruba ait karaciğer dokularında kontrol grubu, % 0,1 % 0,5 ve % 1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen gruplara göre daha fazla hidropik dejenerasyon meydana geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca nekrozun, deneme grupları arasında ilk kez bu grupta olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.34. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda hiperemi (ok ile gösterilmiştir) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

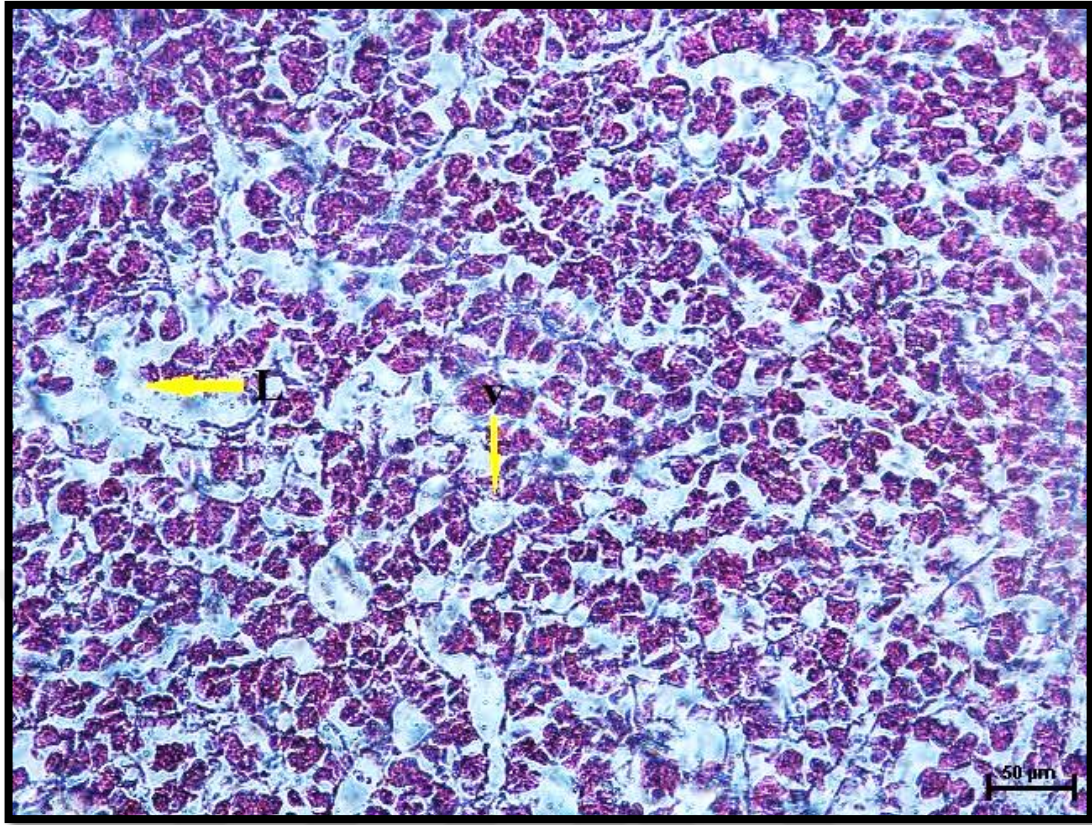


Şekil 4.35. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda L: likefaktif nekroz odakları, v: hidropik dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 20x)



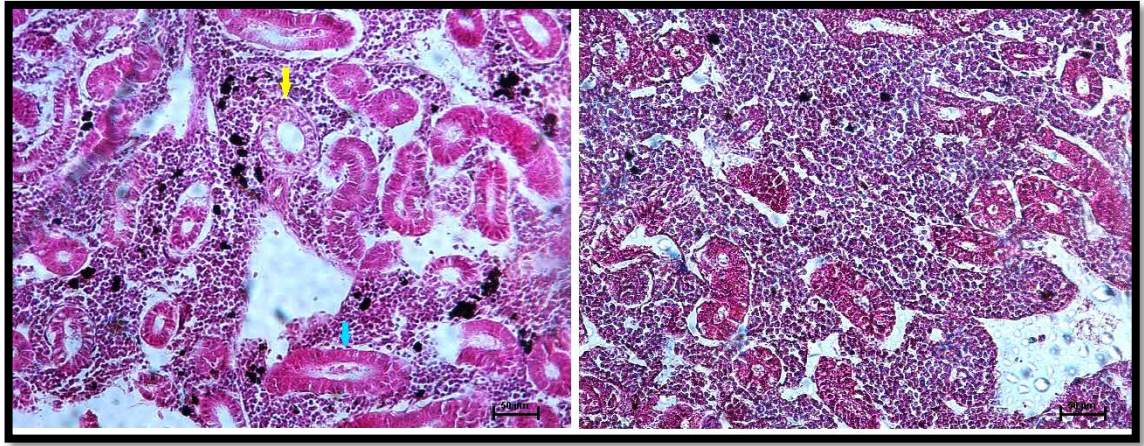
Şekil 4.36. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda vakuoler dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 20x)

56 gün sonunda %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait karaciğer dokularında da %3 oranında anasonlu yem ile beslenen grubunkine benzer olarak likefaktif nekroz odakları ve hidropik dejenerasyon (Şekil 4.37) meydana geldiği tespit edilmiştir. Hidropik dejenerasyon ve nekroz oranları tüm gruplar içerisinde en yüksek %5 anasonlu yem ile beslenen grupta tespit edilmiş olup, bu histopatolojik değişikliklerin, anason oranının artışıyla ilgili olarak arttığı belirlenmiştir.

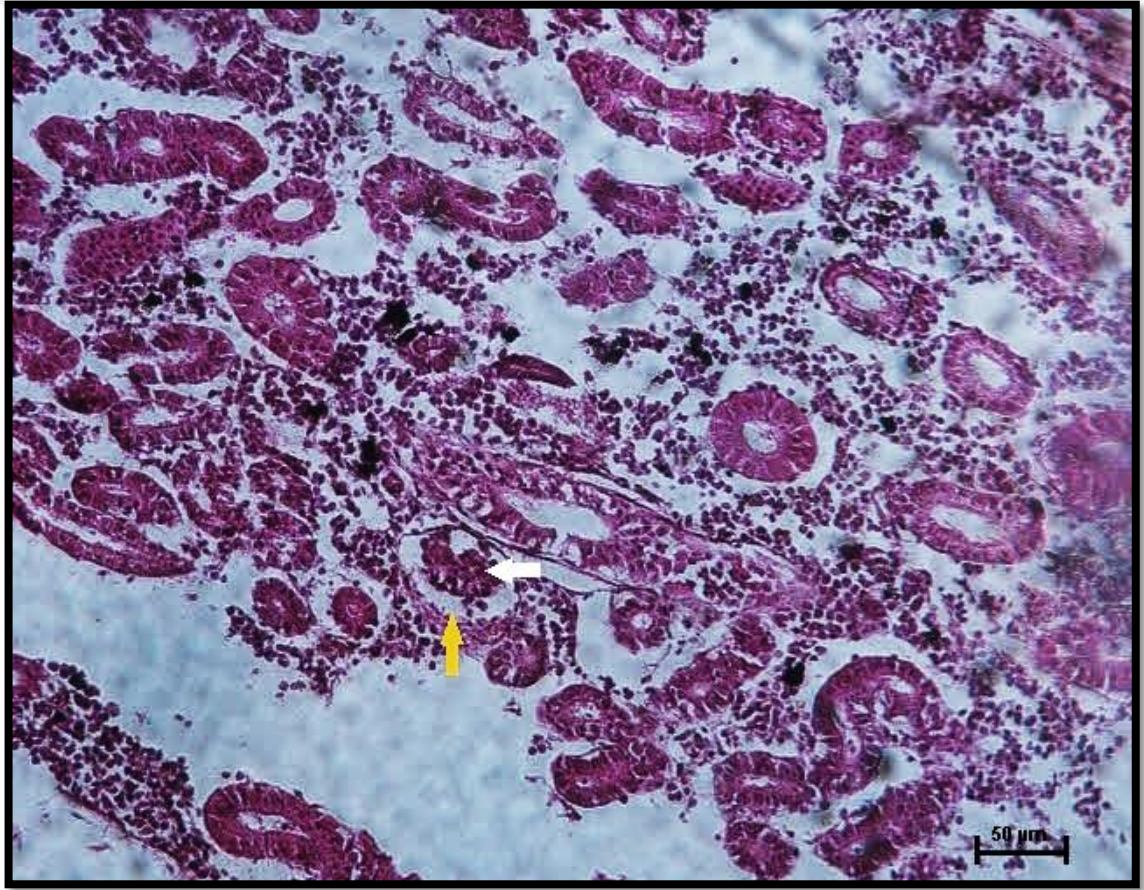


Şekil 4.37. 56. gün sonunda %5 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğer dokusunda L: likefaktif nekroz odakları, v: hidropik dejenerasyon (Hematoksilen&Eozin, 20x)

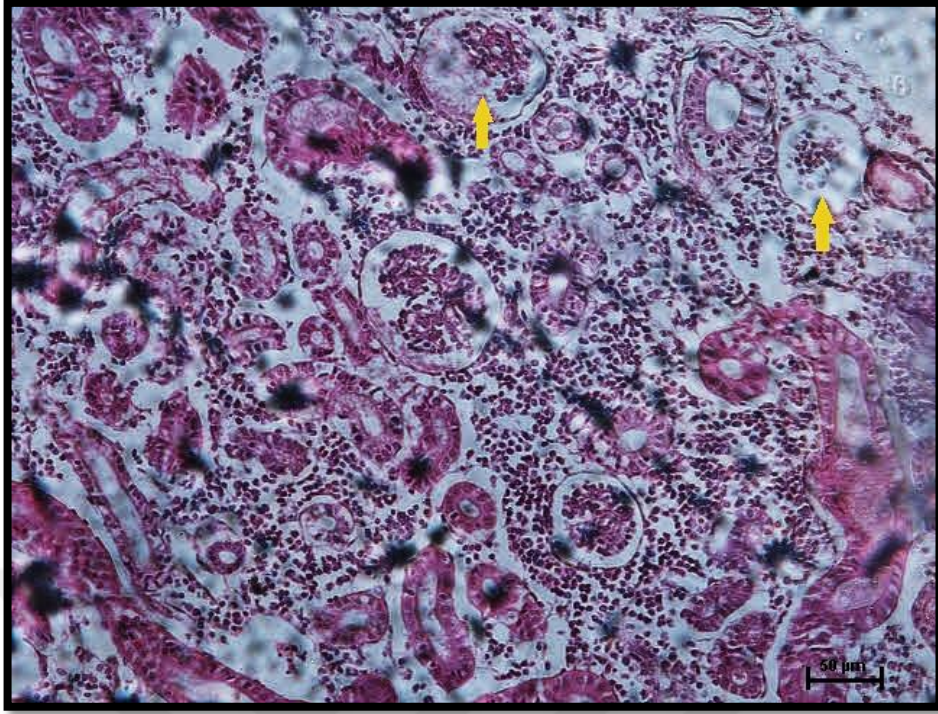
56. güne ait doku örneklerinden, kontrol grubuna ait böbrek dokusunun histolojik kesiti incelendiğinde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanılmamıştır (Şekil 4.38). Kontrol grubunun böbrek dokusuna ait böbrek tübüleri, glomeruluslar ve interrenal hematopoietik dokunun yapısının normal yapıda olduğu gözlemlenmiştir. %0,1 oranında anason içeren yem ile beslenen grubun böbrek dokusu incelendiğinde glomerular dejenerasyon ve kavum glomeruli de genişleme meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.39). 56. gün sonunda %0,5 anasonlu yem ile beslenen grubun böbrek kesitleri incelendiğinde kavum glomerulide genişleme meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.40). %1,5 anasonlu yem ile beslenen grubun böbrek doku kesitinde renal distal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon ve kavum glomerulide genişleme meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.41). %3 anasonlu yem ile beslenen grubun böbrek doku kesitinde renal distal ve proksimal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon ve kavum glomerulide genişleme meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.42). %5 anason içeren yem ile beslenen grubun böbrek kesitlerinde ise %1,5 ve %3 anasonlu yemle beslenen gruplarınkine benzer şekilde renal distal ve proksimal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon ve kavum glomerulide genişleme tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak bu grupta böbrek tübüleri içerisinde kan hücreleri infiltrasyonu görülmüştür (Şekil 4.43).



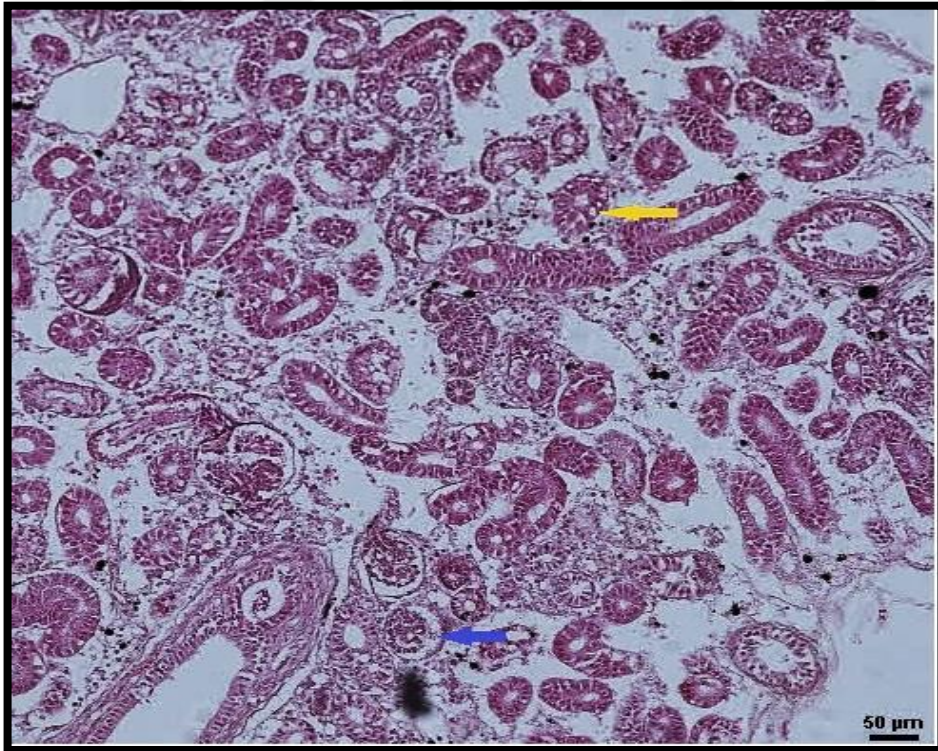
Şekil 4.38. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunun histolojik kesiti, distal tübül (sarı ok), proksimal tübül (mavi ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



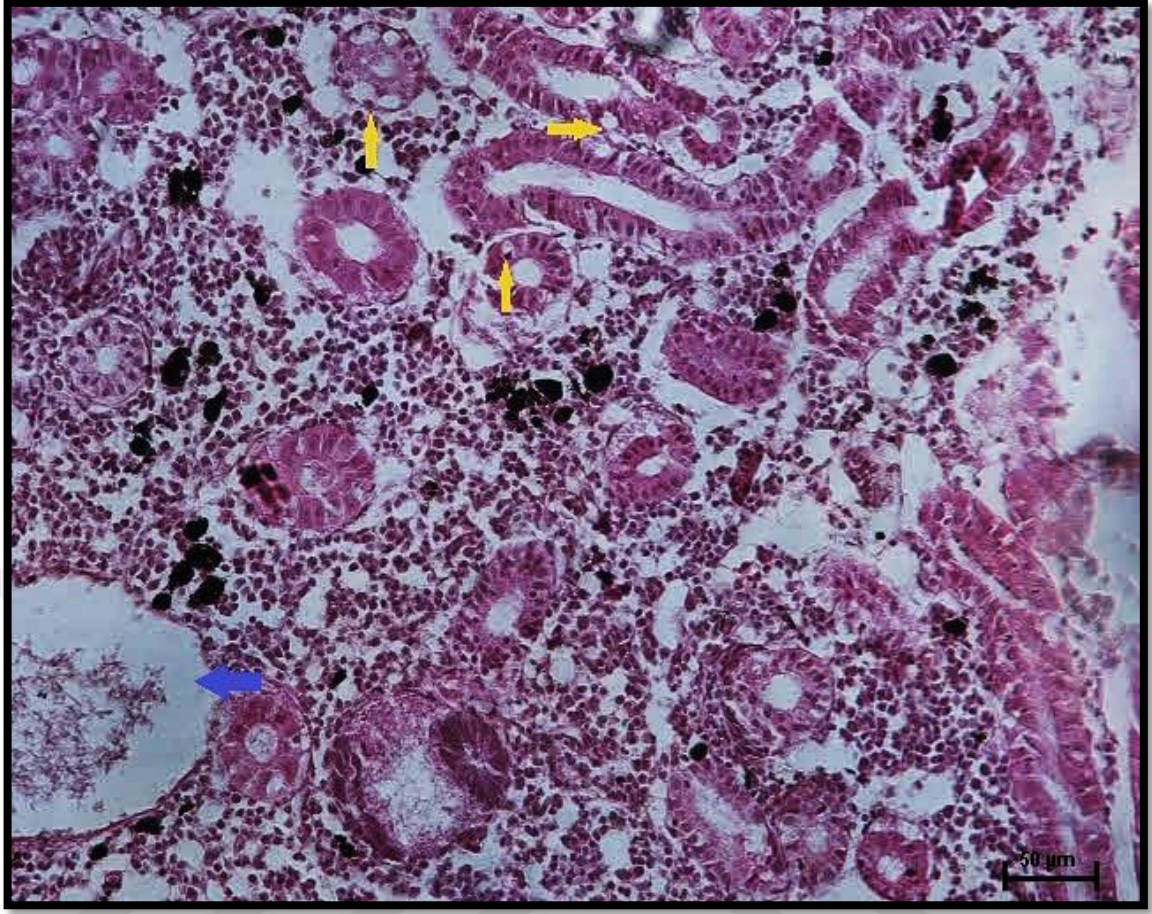
Şekil 4.39. %0,1 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek doku kesitinde saptanan glomerular dejenerasyon (beyaz ok) ve kavum glomeruli genişliğinde artış (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



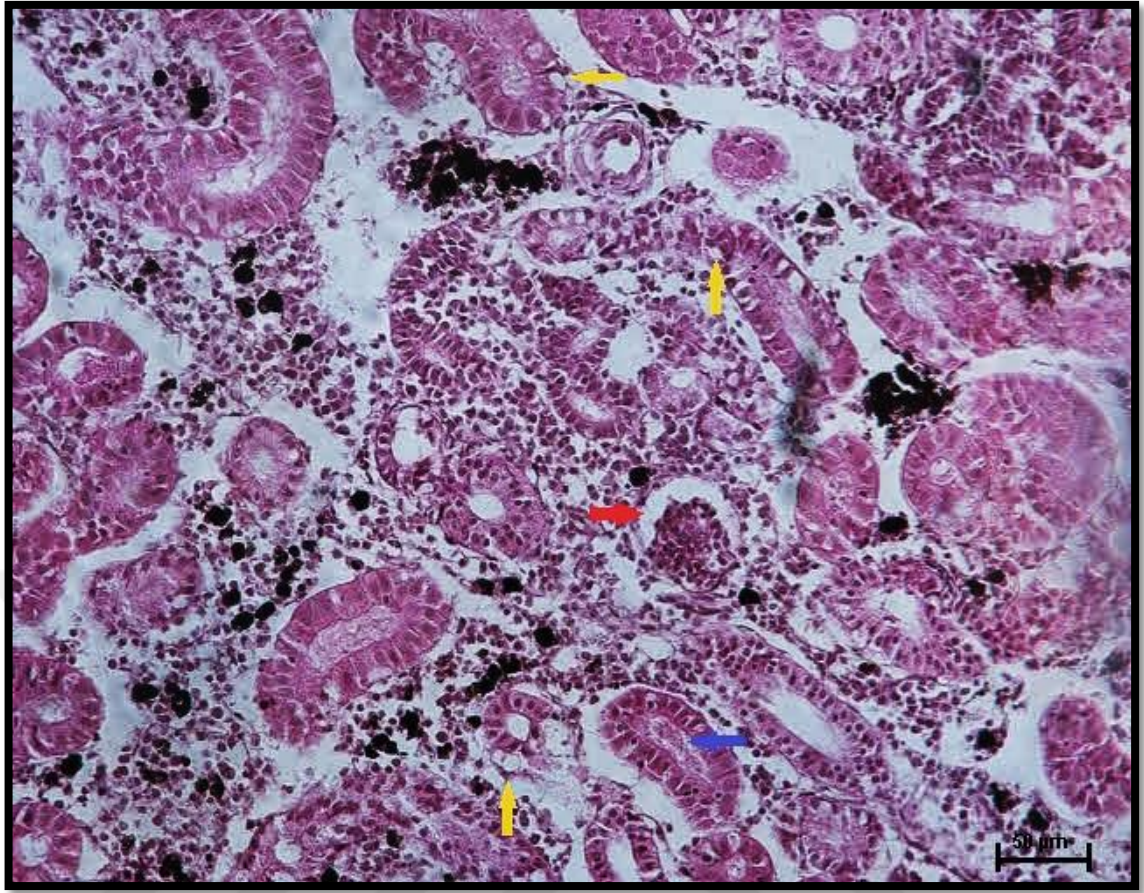
Şekil 4.40. %0,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek kesitlerinde belirlenen kavum glomerulide genişleme (ok ile gösterilmiştir) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



Şekil 4.41. %1,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (mavi ok) ve renal distal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



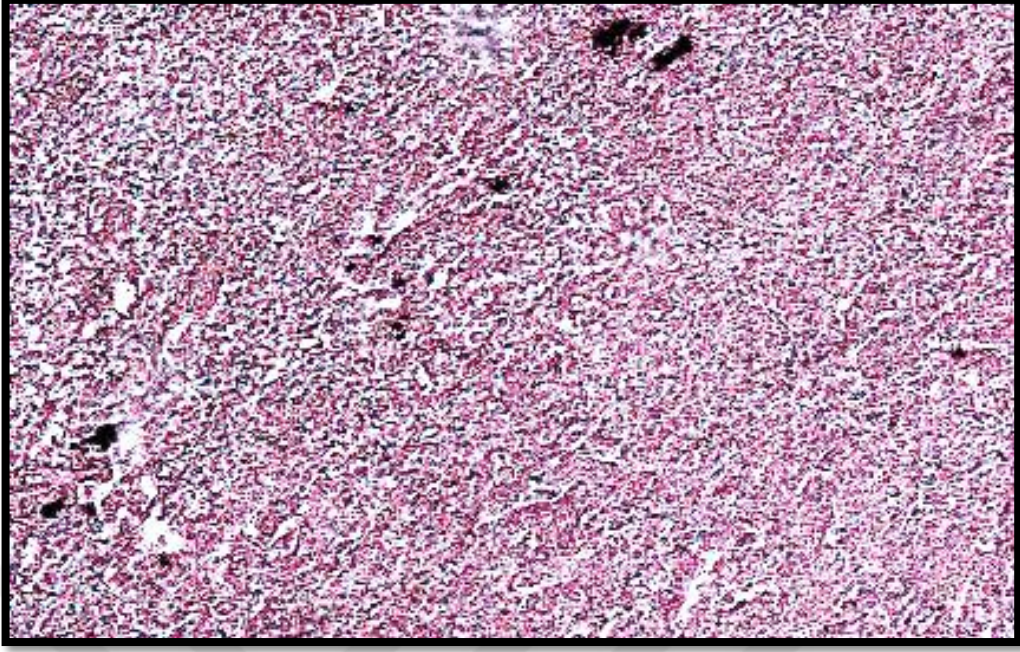
Şekil 4.42. %3 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (mavi ok) ve renal distal ve proksimal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



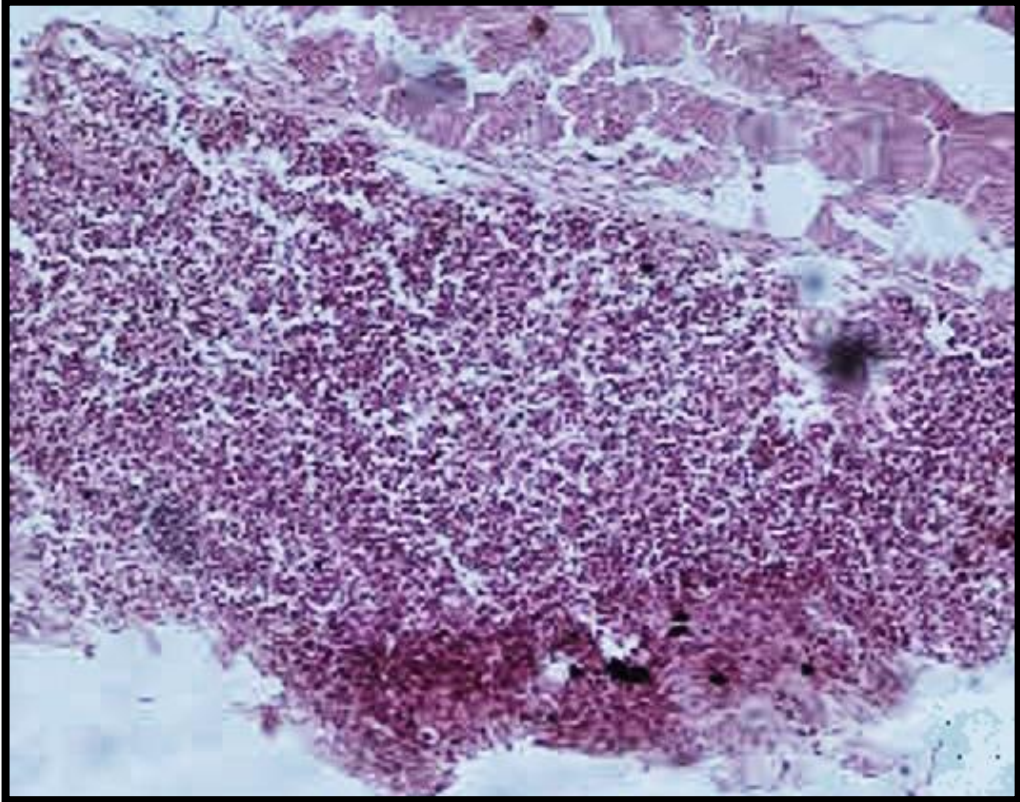
Şekil 4.43. %5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait böbrek eksitinde saptanan kavum glomerulide genişleme (kırmızı ok), renal proksimal ve distal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon (sarı ok) ve böbrek tübülleri içerisinde kan hücreleri infiltrasyonu (mavi ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

Anason miktarlarının daha az olduğu grupların böbrek dokularında (%0,1 ve %0,5) yüksek dozlara göre (%1,5, %3, %5) daha az histolojik değişiklik meydana geldiği tespit edilmiş olup anason miktarları arttıkça histolojik kesitlerdeki değişikliklerde de farklılaşma ve artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında sadece en yüksek doz olan %5 anasonlu yem ile beslenen grubun böbrek dokularında, tübüller içerisine kan hücreleri infiltrasyonu tespit edilmiştir.

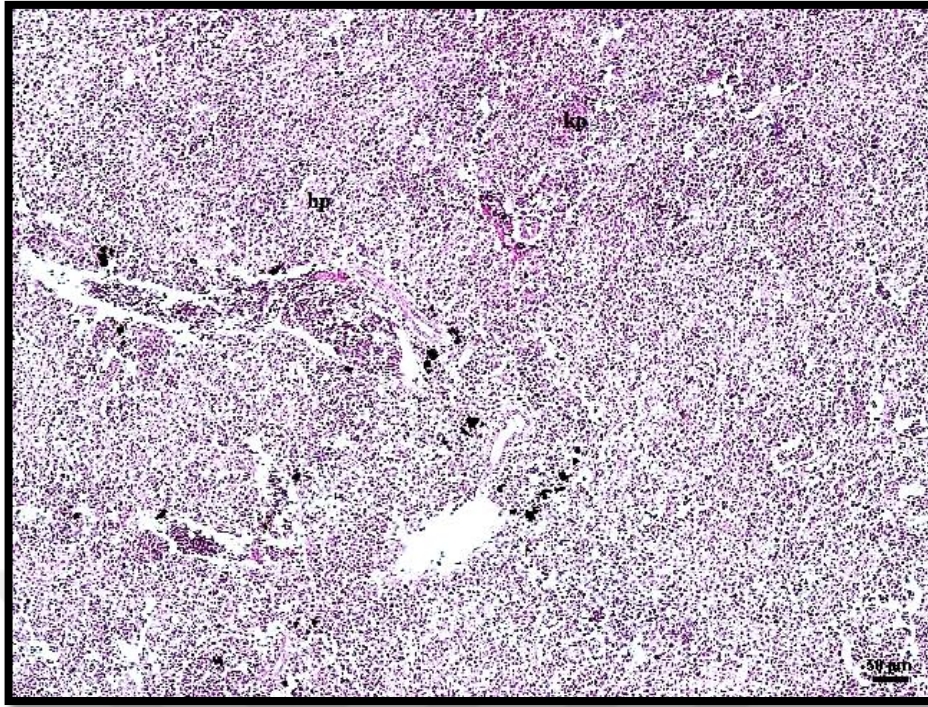
56. güne ait dalak dokularının histolojik kesitleri incelendiğinde kontrol grubuna ait herhangi bir histopatolojik değişiklik tespit edilmemiş olup, dokudaki beyaz ve kırmızı pulpaların normal yapıda olduğu gözlemlenmiştir. %0,1 anason içeren yem ile beslenen grubun dalak dokusunda da benzer şekilde herhangi bir değişiklik görülmemiş olup, dalak yapısı ve pulpalar normal olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.45). %0,5 ve %1,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait dalak dokularının beyaz pulpalarında boşalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.46; Şekil 4.47). % 3 ve % 5 anasonlu yem ile beslenen grupların dalak dokularındaise hem kırmızı hem beyaz pulpalarda boşalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.48; Şekil 4.49).



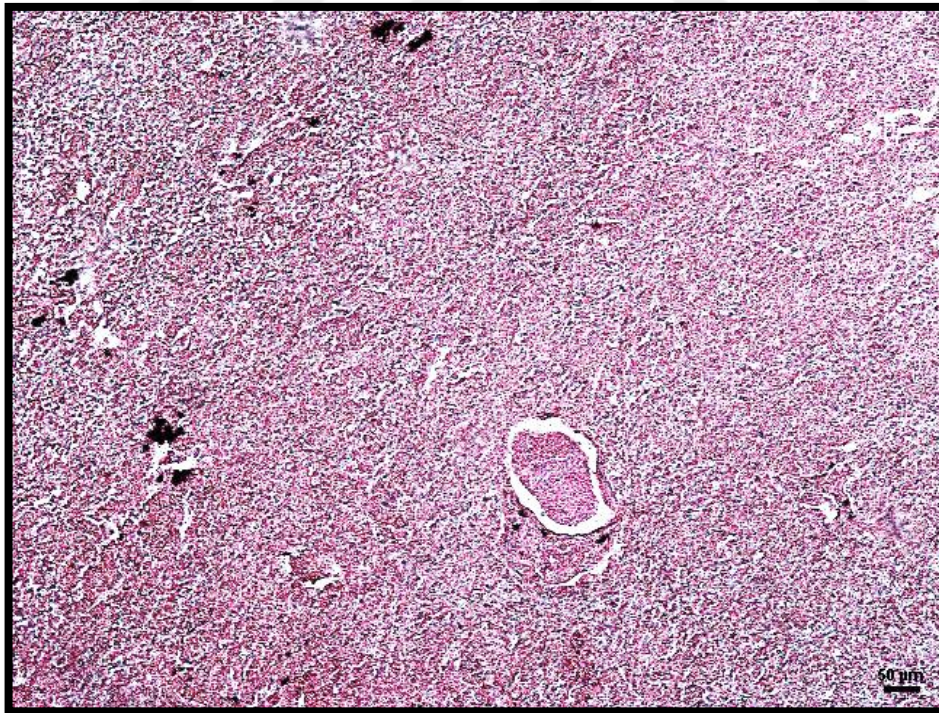
Şekil 4.44. Kontrol grubunun dalak dokusuna ait histolojik kesit (Hematoksilen&Eozin, 20x)



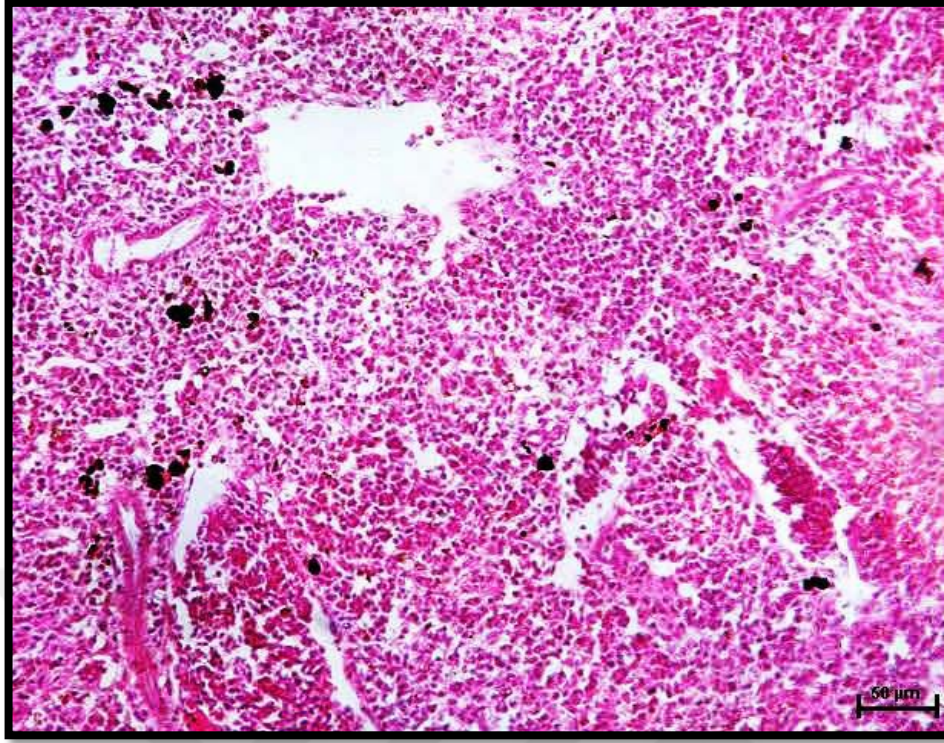
Şekil 4.45. %0,1 anason içeren yem ile beslenen grubun dalak dokusuna ait histolojik kesit (Hematoksilen&Eozin, 20x)



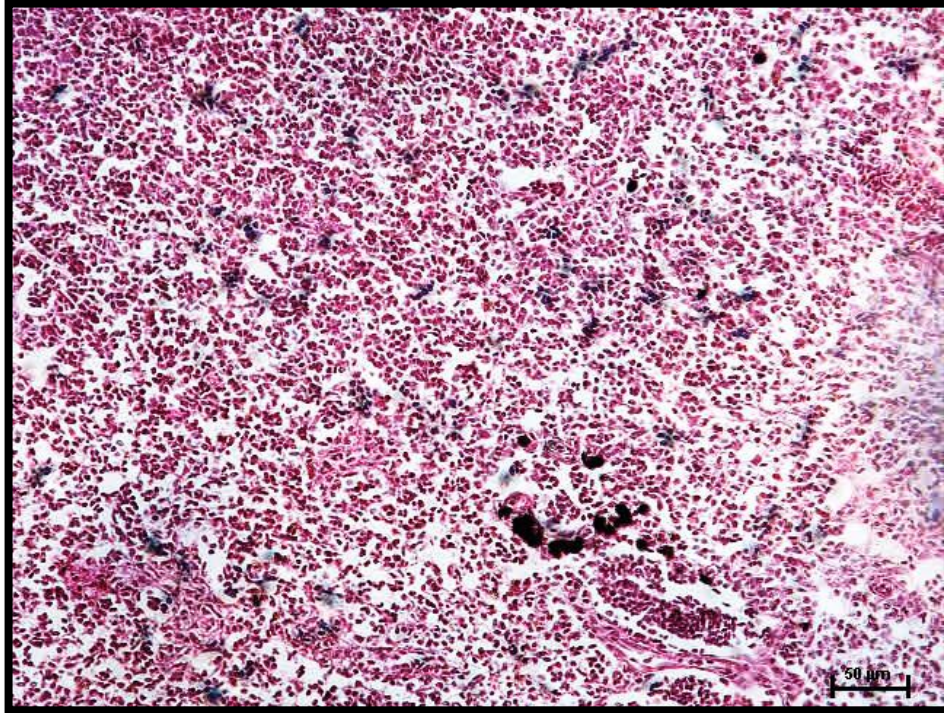
Şekil 4.46. %0,5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma, **bp:** beyaz pulpa, **kp:** kırmızı pulpa (Hematoksilen&Eozin, 20x)



Şekil 4.47. %1,5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma (Hematoksilen&Eozin, 20x)

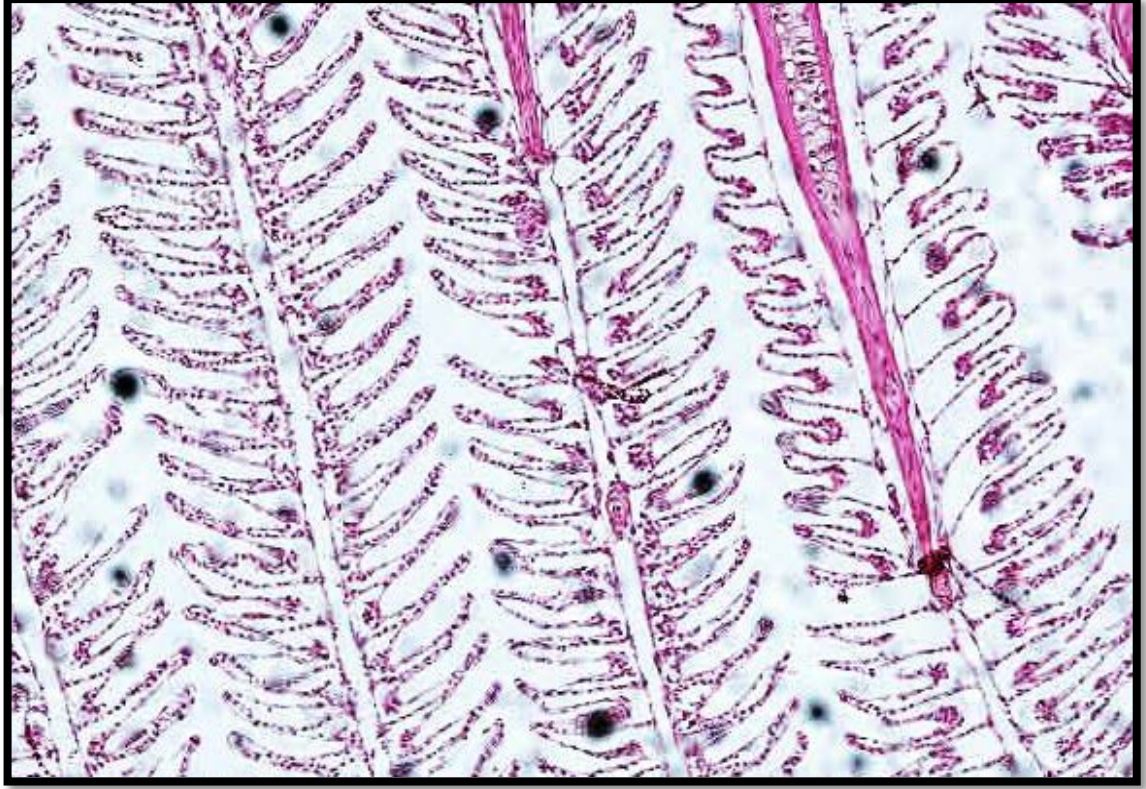


Şekil 4.48. %3 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen beyaz pulpalarda boşalma (Hematoksilen&Eozin, 20x)



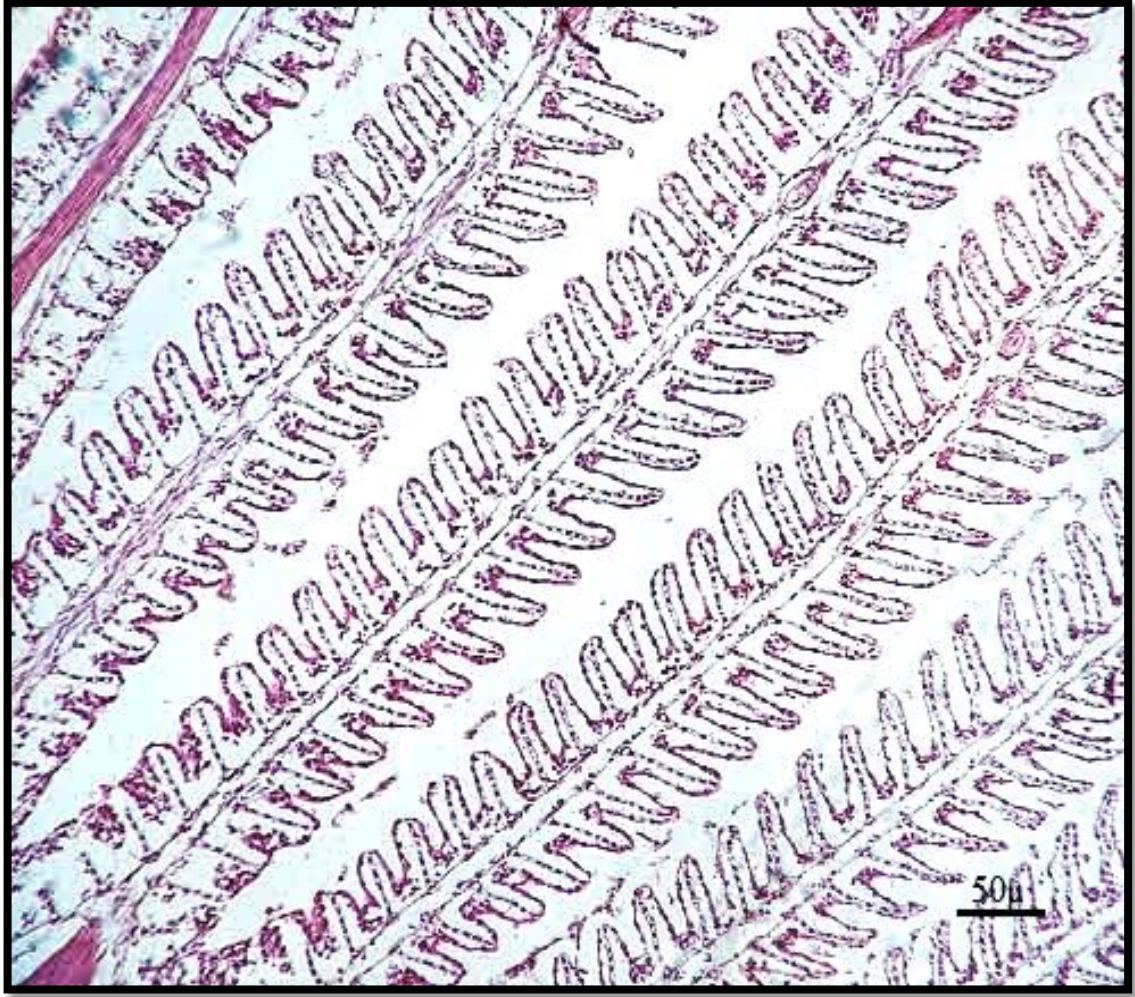
Şekil 4.49. % 5 anasonlu yem ile beslenen grubun dalak dokusunda tespit edilen kırmızı ve beyaz pulpalarda boşalma (Hematoksilen&Eozin, 20x)

56. güne ait solungaç dokularının histolojik kesitleri incelendiğinde kontrol grubuna ait herhangi bir histopatolojik değişiklik tespit edilmemiş olup, solungaç filamentleri, primer ve sekonder lameller ile hücrelerin normal yapılarına sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.50).



Şekil 4.50. Kontrol grubuna ait solungaç filamentleri (Hematoksilen&Eozin, 20x)

%0,1 anason içeren yem ile beslenen grubun solungaç dokusunda da benzer şekilde herhangi bir değişiklik görülmemiş olup, solungaç filamentleri ve lameller normal olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.51).



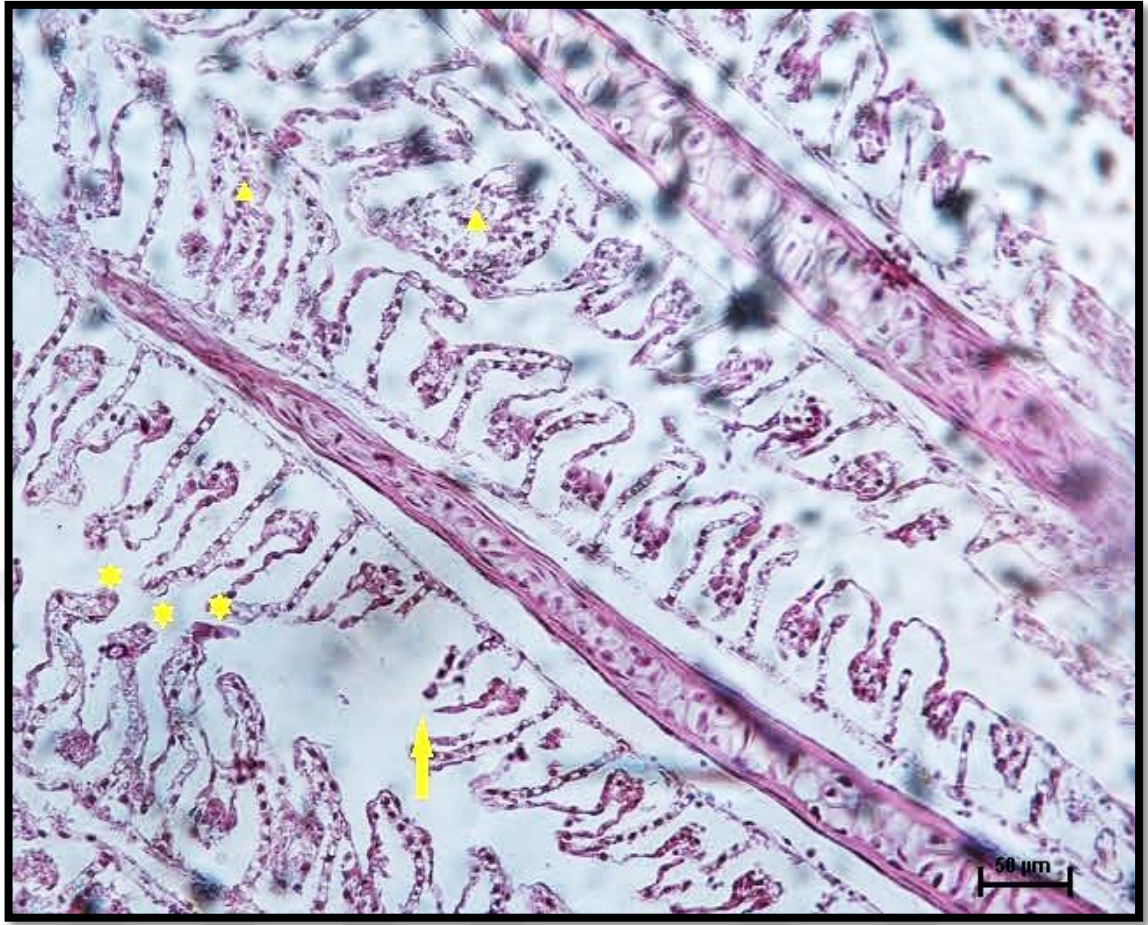
Şekil 4.51. %0,1 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentleri (Hematoksilen&Eozin, 10x)

%0,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç dokularının histolojik kesitleri incelendiğinde sekonder lamellerde dejenerasyon ve kayıpların meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.52).



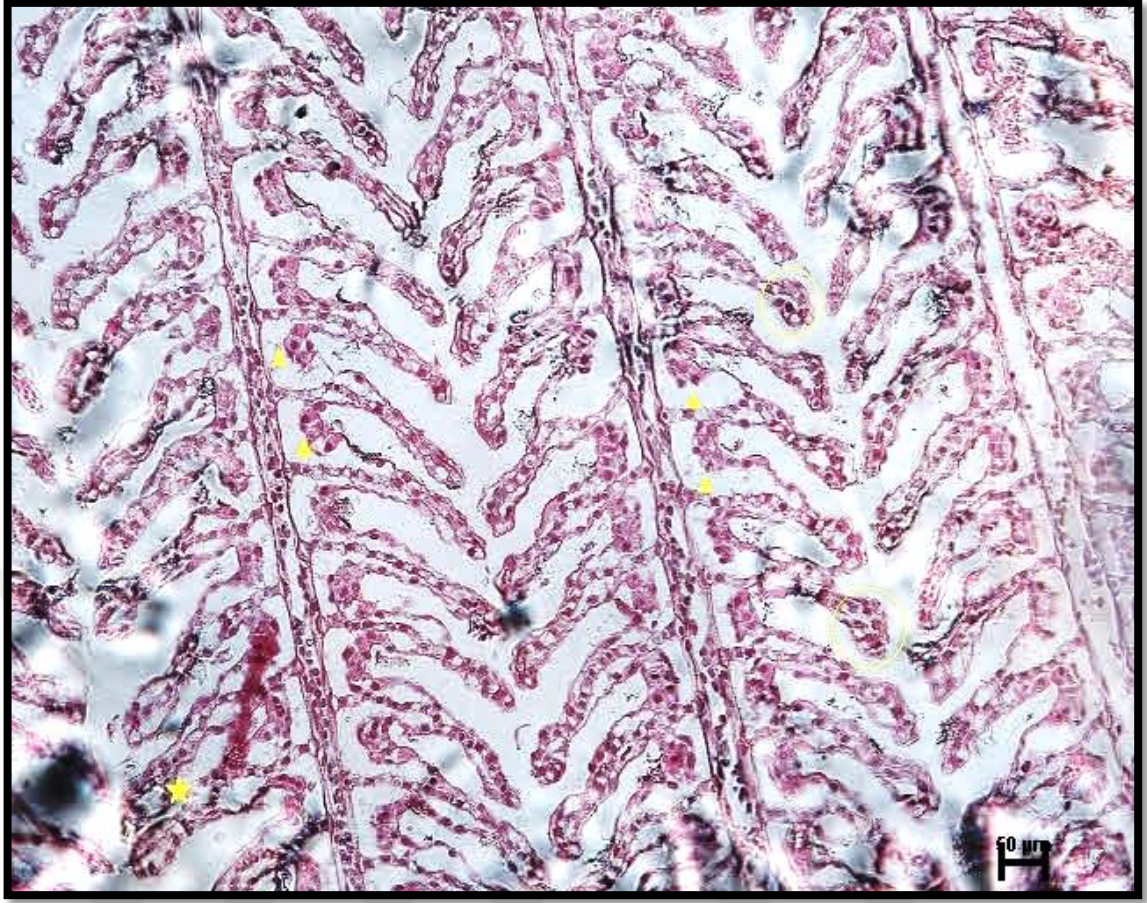
Şekil 4.52. %0,5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentleri, sekonder lamellerde dejenerasyon ve kayıp (sarı ok) **PL:** primer lamel, **SL:** sekonder lamel, **m:** mukus hücreleri (Hematoksilen&Eozin, 20x)

56. gün sonunda %1,5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentlerinin sekonder lamellerinde dejenerasyon ve dökülme, lamel uçlarında kıvrılma ve sekonder lamellerde füzyon meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.53).



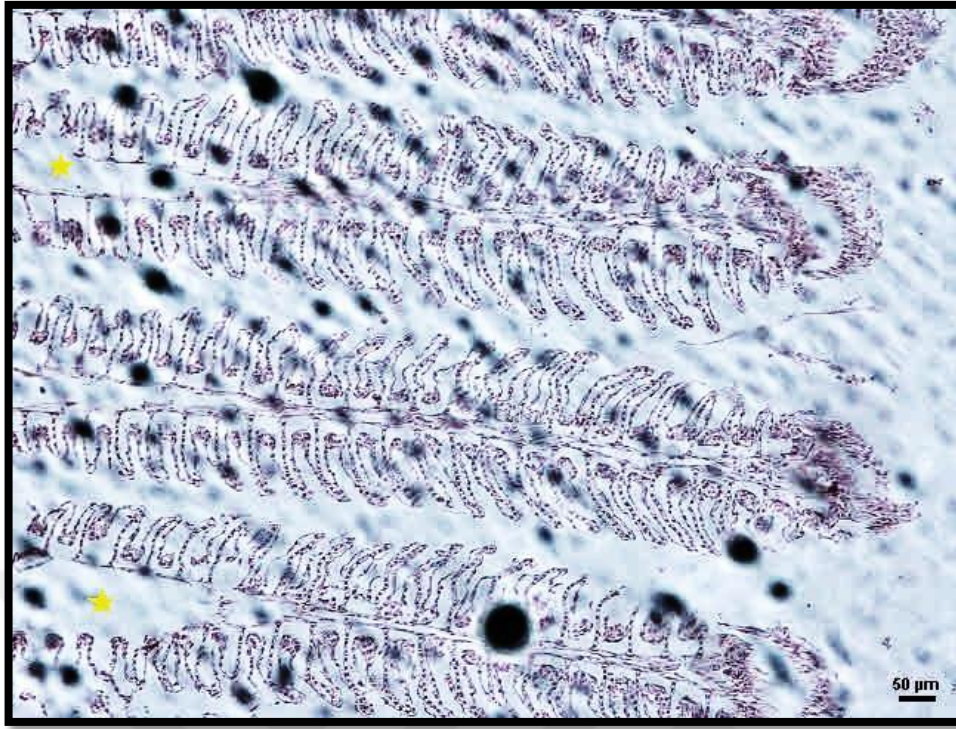
Şekil 4.53. %1,5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentlerinin sekonder lamellerinde dejenerasyon ve dökülme (ok), lamel uçlarında kıvrılma (yıldız) ve sekonder lamellerde füzyon (üçgen) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

%3 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç dokunun histolojik kesitlerinde sekonder lamellerde füzyon, sekonder lamel kaidelerinde ödem ve sekonder lamel uçlarında hafif telangiektazi tespit edilmiştir (Şekil 4.54).

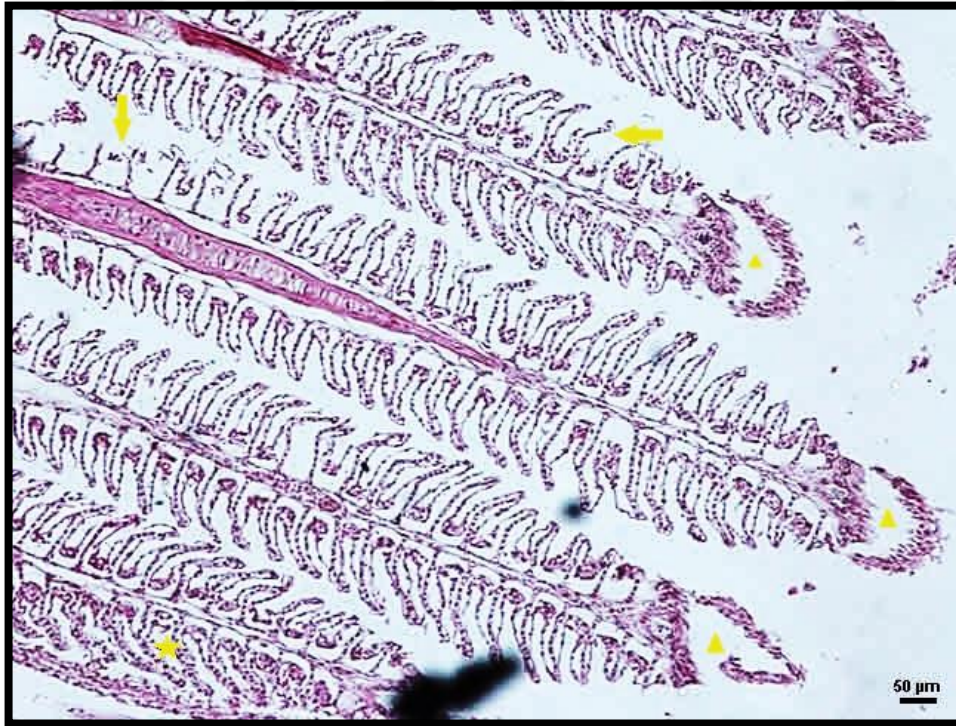


Şekil 4.54. %3 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç dokuda sekonder lamellerde füzyon (yıldız), sekonder lamel kaidelerinde ödem (üçgen) ve sekonder lamellerde hafif telangiektazi (daire) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

%5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filament uçlarında dejenerasyon (Şekil 4.55), sekonder lamellerin epitel hücrelerinde dökülme ve hiperplazi ile kıkırdak dokusunda dejenerasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.56).



Şekil 4.55. %5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filamentlerinin kıkırdak dokusunda dejenerasyon (yıldız) (Hematoksilen&Eozin, 10x)

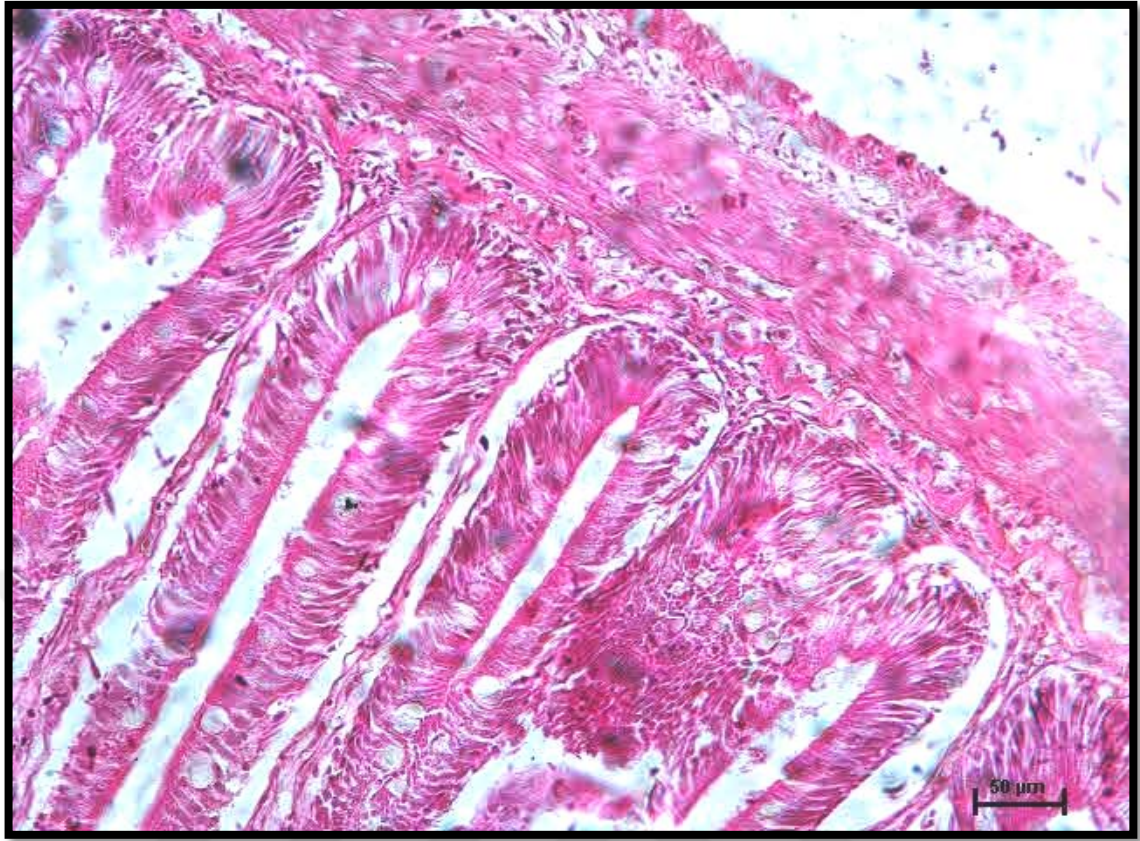


Şekil 4.56. %5 oranında anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç filament uçlarında dejenerasyon (üçgen), sekonder lamellerin epitel hücrelerinde dökülme (ok) ve hiperplazi (yıldız) (Hematoksilen&Eozin, 10x)

56. güne ait bağırsak dokuları incelendiğinde kontrol grubu ve %0,1 ilaveli anason ile beslenen grubun bağırsak dokusunun normal yapıda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.57 ve Şekil 4.58). %0,5, %1,5, %3 ve %5 anason içeren yem ile beslenen grupların intestinal mukoza epitelinde dökülmeler belirlenmiştir (Şekil 4.59; Şekil 4.60; Şekil 4.61; Şekil 4.62). Aynı zamanda %0,5 anason ilaveli yemle beslenen grubun lümeninde dökülmeler, 1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grubun bağırsak lümeninde dökülme ve nekroz tespit edilmiştir (Şekil 4.60). %3 ve %5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grubun propria mukozasında vakuolizasyon olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.61, Şekil 4.62).



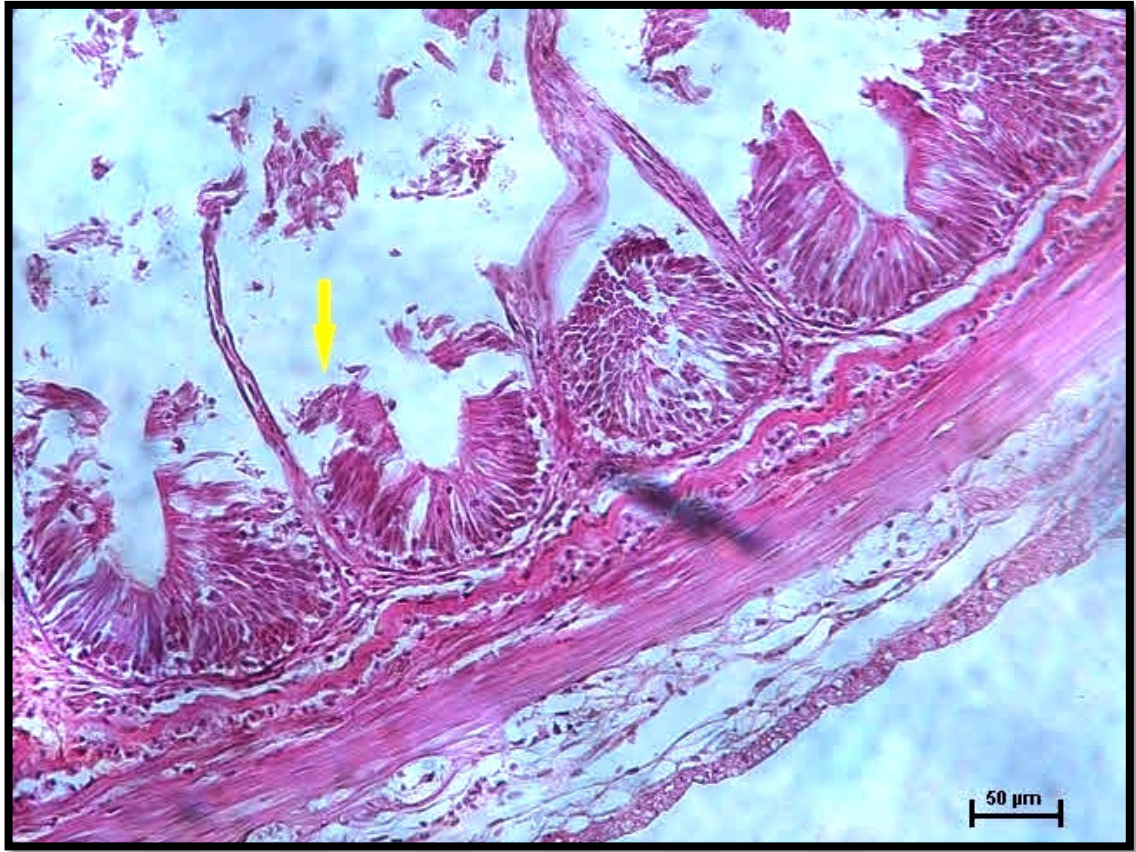
Şekil 4.57. Kontrol grubuna ait bağırsak dokusunun histolojik kesiti (Hematoksilen&Eozin, 10x)



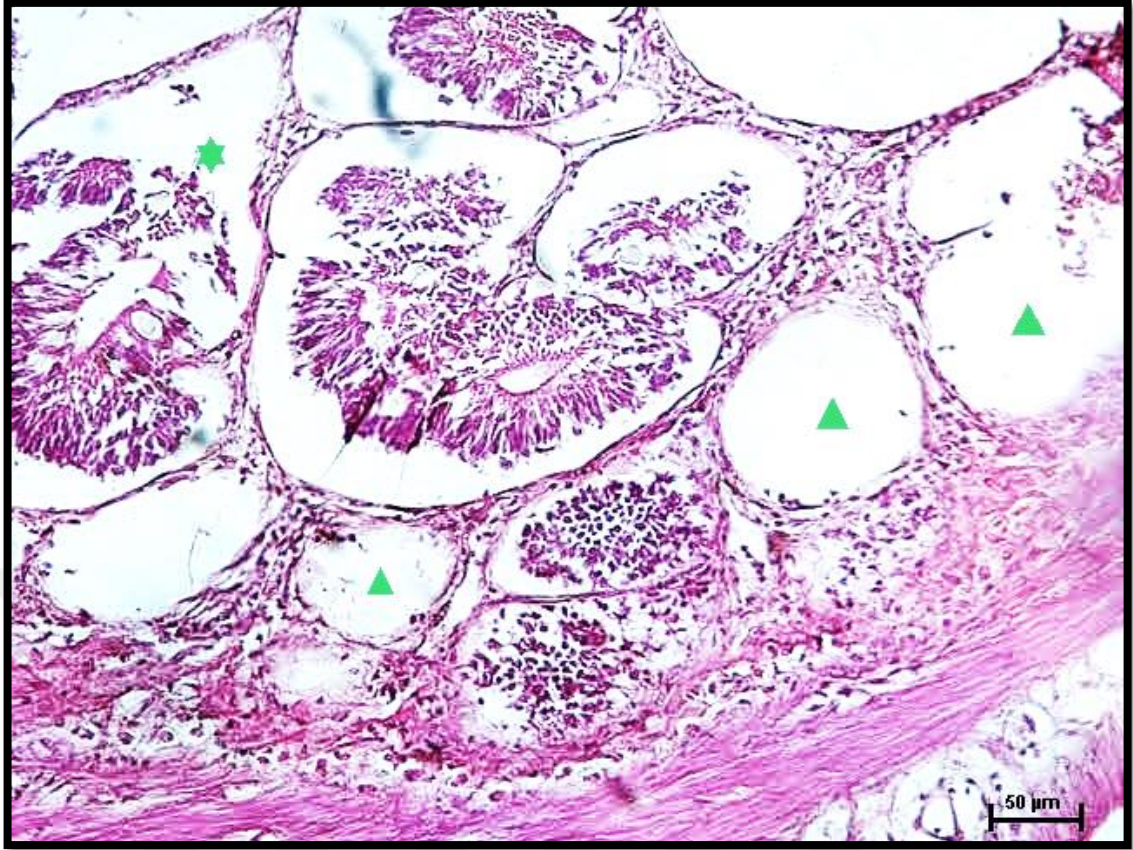
Şekil 4.58. %0,1 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak dokusu (Hematoksilen&Eozin, 20x)



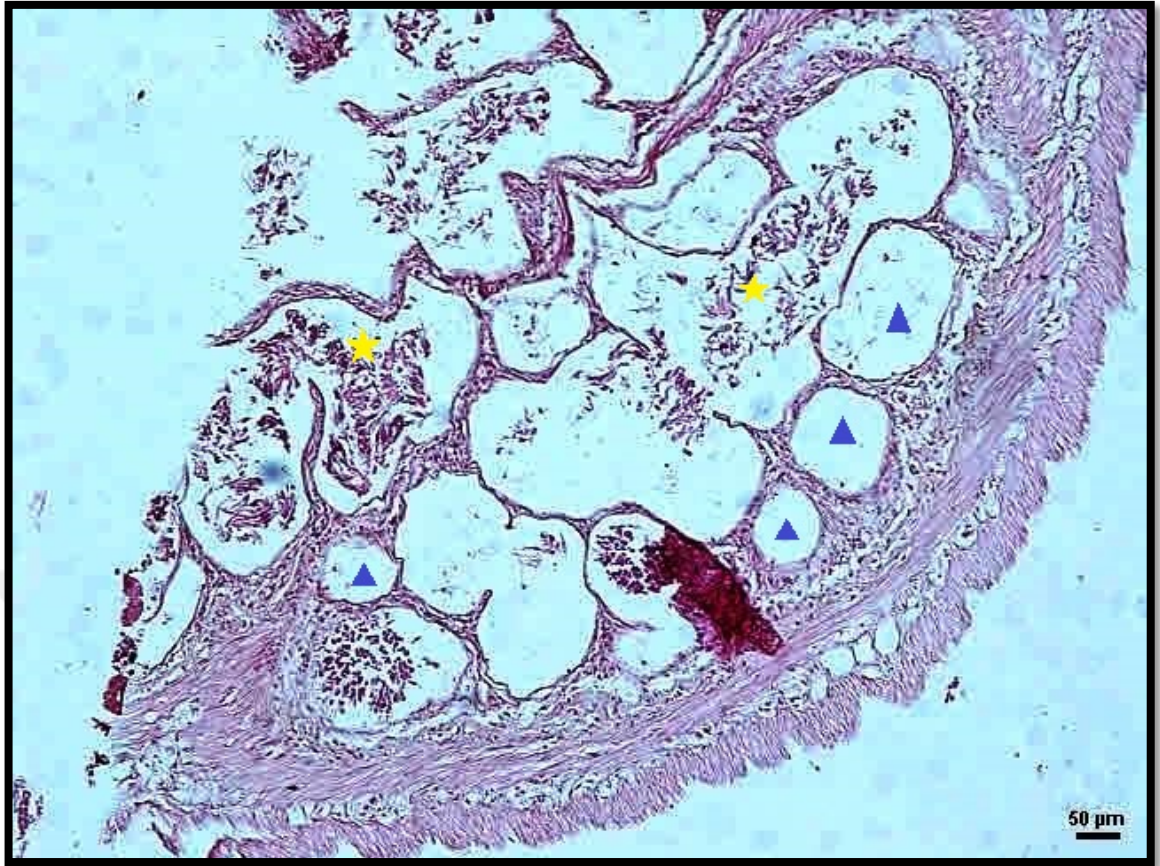
Şekil 4.59. %0,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde (ok) ve lümende (yıldız) dökülme (Hematoksilen&Eozin, 20x)



Şekil 4.60. %1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde dökülme (ok) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



Şekil 4.61. %3 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde nekroz (yıldız) ve propria mukozada vakuolizasyon (üçgen) (Hematoksilen&Eozin, 20x)



Şekil 4.62. %5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen gruba ait bağırsak mukoza epitel hücrelerinde dökülme (yıldız) ve vakuolizasyon (üçgen) (Hematoksilen&Eozin, 20x)

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması ile anason (*P. anisum*)’un gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine immunostimulan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla kontrol ve deneme grupları oluşturularak, deneme grubu balıkları 56 gün boyunca %0,1, %0,5, %1,5, %3 ve %5 oranlarında anason ilave edilmiş yemler ile beslenmiştir. Anasonun spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisini belirlemek amacı ile 28’inci ve 56’ıncı günlerde kan örnekleri alınarak lökosit, eritrosit, hematokrit değerleri, NBT (Nitrablue Tetrazolium), fagositoz aktivitesi ile serum lizozim aktivitesi de çalışılmıştır. Ayrıca, anason kontrol ve deneme grubu balıklarının büyüme parametreleri üzerine olan etkiside araştırılmıştır.

Anasonun, balıkların büyüme parametreleri üzerine etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmamasına karşın, piliçler ve domuzlar üzerine yapılmış birçok çalışma mevcuttur.

Charal vd. (2017) farklı oranlarda anason yağı eklenen yemler ile besledikleri piliçlerin, kontrol grubuna göre daha büyük ve daha ağır olma eğiliminde olduklarını bildirmişlerdir.

Sun vd. (2019) laktasyondaki dişi domuzların ve emziren domuzların büyüme performansına anason aromasının etkisini araştırmışlardır. Yemlere eklenen anason aromasının deneme sonunda laktasyondaki dişi domuzların yem alımını artırdığını, büyüme performansını iyileştirdiğini ve domuz yavrularının sütten kesme stresini azalttığını tespit etmişlerdir.

Eltazi (2014), civcivlerin yemlerine farklı oranlarda anason tohumu tozu ilave etmiş ve civcivlerin büyüme performansı ile karkas kalitesini incelemiştir. Deneme sonunda %1 anason tohumu tozu ilavesinin civcivlerde canlı ağırlık artışı, yem alımı, yem dönüşüm oranı ve ticari kesim yüzdesinde önemli oranda artış meydana getirdiğini bildirmiştir.

Ding vd. (2017), etlik piliçlerde yıldız anason ve anason esansiyel yağının büyüme performansı üzerine etkisini araştırmışlar, tüm gruplarda yem dönüşüm oranlarını benzer olarak kaydederken, her iki takviyenin de ortalama günlük kazanç ve ortalama günlük yem alımını artırdığını tespit etmişlerdir.

Ding vd. (2020), civciv yemlerine yıldız anason ve anasonun esansiyel yağın eklemişler ve deneme sonunda civcivlerin nihai vücut ağırlığında kontrol grubuna göre hem yıldız anasonun hem de esansiyel yağının artış meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise balıkların canlı ağırlık ortalamaları gruplara ve haftalara göre değerlendirildiğinde, 6. haftaya kadar farklı düzeylerde anason kullanımının istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Deneme sonunda ise kontrol grubuna göre %3 ve %5 anasonlu yem ile beslenen gruplar hariç diğer tüm grupların canlı ağırlığında artış meydana geldiği ancak istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). %3 anason içeren yem ile beslenen grubun canlı ağırlık ortalaması kontrol grubu ile benzer değerlerde tespit edilmiş ancak %5 anason ilaveli yem ile beslenen grupta kontrol grubu dahil tüm gruplara göre anlamlı bir düşüş olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Deneme gruplarının spesifik büyüme oranları arasında,

anason miktarına bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Deneme gruplarının yemden yararlanma oranları incelendiğinde, 6-8 hafta arası ve tüm deneme periyotlarında %5 anason içeren yemler ile beslenen balıklar %3 anason içerenler hariç diğerlerinden önemli derecede daha kötü yemden yararlanma göstermişlerdir ($p<0,05$). Tüm deneme periyodu göz önüne alındığında ise, yemden yararlanma oranlarının anason düzeyleri arttıkça kötüleştiği görülmüştür ($p<0,05$).

Çavuş (2018), farklı oranlarda ruşeym ilave edilen yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarının kondüsyonlarını belirlemek amacıyla viserosomatik indekslerini incelemiş ve diyetler ile viserosomatik indeksler arasında önemli bir farklılık meydana gelmediğini tespit etmiştir.

Sevgili ve Ertürk (2004), rasyona balık unu yerine tavuk mezbaha artıklarını ekleyerek hazırladıkları yemler ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarının viserosomatik indeks ve hepatosomatik indekslerinde önemli derecede bir değişim meydana gelmediğini bildirmişlerdir.

Dikel vd. (2012), alabalıkları farklı oranlarda borik asit ekledikleri yemler ile beslemişler ve hepatosomatik indeks ile viserosomatik indekslerine olan etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonunda, borik asit ilaveli yemle beslenen gökkuşağı alabalığında hepatosomatik indeksde artış belirlerken, viserosomatik indekste düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Mevcut çalışmada ise benzer şekilde %5 anason ilaveli yem ile beslenen grubun viserosomatik indeksi diğer tüm gruplara göre düşük değerde belirlenmiş olup bu düşüş istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Hepatosomatik indeksleri ise tüm gruplarda yakın değerlerde belirlenmiş ve gruplar arası farklılıkların istatistiksel açıdan önemsiz olduğu kaydedilmiştir ($p>0,05$).

Balıkların kan parametreleri incelendiğinde bu parametrelerden alyuvar sayısı, hematokrit ve hemoglobin miktarı balıkların oksijen gereksinimleri hakkında bilgi verirken, lökosit ve akyuvar sayısı ise balıkların bağışıklık sistemi hakkında bir fikir edinmek amacı ile kullanılmaktadır (Blaxhal ve Daisley 1973).

Altınterim ve Aksu (2019), masere sarımsak ve Tunceli sarımsağı yağlarını gökkuşağı alabalıklarının kan parametrelerine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışmaya göre MCH, PCT, PLT ve MPV parametrelerinde kontrol ve stres gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık bulurlarken ($p<0,05$), kontrol grubuna kıyasla eritrosit, lökosit, monosit, lenfosit, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCHC, RDW ve PDW değerleri arasındaki farkın önemsiz olduğunu rapor etmişlerdir ($p>0,05$). Bu çalışmada da benzer olarak eritrosit, hemoglobin, hematokrit, RDW, MPV, PLT değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Ancak 56. güne ait lökosit sayıları ile her iki örneklemeye dönemine ait MCV, MCH, MCHC değerlerinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmada 28'inci gün sonunda kontrol grubuna göre hemoglobin ve MCH değerlerinde bir değişiklik gözlenmezken, %3 ve %5 oranlarında anason ilaveli yemle beslenen deneme gruplarında MCH, %5 anason ilaveli yemle beslenen deneme grubunda ise MCHC değerinde artış meydana gelmiş ve bu durum istatistiksel açıdan

anlamli bulunmuştur ($p<0.05$). 56'ıncı gün sonunda ise hemoglobın miktarlarında kontrol grubuna göre diğ r gruplarda istatistiksel olarak anlamli bir değişiklik tespit edilememiştir ($p>0.05$). MCH değerleri ise %1,5, %3 ve %5; MCHC ise %5 oranında anason kullanılan grupta deneme grubuna göre istatistiksel olarak anlamli bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Bu bulgular yukarıda belirtilen araştırmacıların bulgularına benzerlik gösterdiği anlaşılmıştır.

Siwicki ve Anderson (1993) tarafından yapılan çalışmada, balıkların hematokrit değerlerinin sağlıkları hakkında bilgi verdiğini, ancak balıkların hematokrit seviyelerinde immünostimulan kullanımına bağlı olarak çok nadir değişiklik meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında da 28. gün sonunda alınan örneklerde kontrol grubu ile diğ r grupların hematokrit değerleri arasında anlamli bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Ancak 56. gün sonunda alınan örneklerde kontrol grubuna göre %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen grupta anlamli bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Areej vd. (2012), anason tohumu tozunun sazan balıklarının bazı kan parametreleri ve büyüme performansı üzerine etkisini incelemiştir. Balık yemine %0,6 ve %1 anason tohumu ilavesinin sazan balıklarının hemoglobin değeri ve kırmızı kan hücre sayısında anlamli bir artış meydana getirdiğini tespit etmiştir. Sazanların büyüme performansını incelediklerinde ise canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı ve spesifik büyüme oranında anlamli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir ($p<0,05$).

Çalışmada deneme ve kontrol gruplarına ait eritrosit sayım sonuçları karşılaştırıldığında 28. günde en yüksek eritrosit sayısı $0,43 \times 10^{12} \pm 0,02/L$ ile %1,5 oranında anason ilaveli yemle beslenen balık grubunda tespit edilmiştir. Yemdeki anason miktarı %0,1'den %1,5'a kadar arttırıldığında eritrosit değerleri artış gösterirken, yemdeki anason miktarları %1,5'dan %5'e kadar arttırıldığında ise eritrosit değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Benzer bulgular 56'ıncı güne kadar yapılan besleme deneme çalışmalarında da gözlenmiştir.

Eritrosit indeksleri olarak tanımlanan MCV, MCC, MCHC, hematokrit, eritrosit ve hemoglobin yoğunluğu ile ilişkili olmakla beraber eritrositlerin hücre çapı ile hemoglobin miktarı hakkında bilgi vermektedir. Eritrosit endekslerinin mikrositik ve makrositik anemi gibi anemi tiplerinin ayırıcı tanısında yardımcı olduğu bildirilmiştir (Konuk 1981).

Atamanalp vd. (2011) gökkuşağı alabalıklarında kobalt klorüre bağlı olarak mikrositik anemi tespit ettiklerini bildirmiştir. Araştırmacılar gökkuşağı alabalıklarını 28 gün boyunca, 180 $\mu g/l$ dozunda 8 saat aralıklı olarak kobalt kloride maruz bırakarak hematolojik parametreler üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda MCV ve MCH değerlerinde kontrol grubuna göre önemli bir düşüş tespit edilirken ($p<0,01$), hemoglobin düzeyi ve MCHC değerinde kontrol grubuna göre önemli bir artış kaydetmişlerdir ($p<0,05$). Eritrosit hacmi (MCV) deki düşüşün, kobalt klorürün eritrositlerin normal fizyolojisine müdahale edebileceğini bildirmişlerdir. Çalışma sonunda belirledikleri MCV değerindeki düşüş ve MCHC değerindeki artışın hipokronik mikrositik aneminin bir göstergesi olduğunu rapor etmişlerdir.

Yonar ve Silici (2010) 5 g/kg ve 10 g/kg propolis ekledikleri yemler ile besledikleri gökkuşığı alabalıklarının bazı kan parametrelerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, propolisin MCV, MCH ve MCHC gibi eritrosit indeksleri üzerinde istatistiksel açıdan etkili olmadığını ancak anemiye neden olduğunu bildirmişlerdir.

Talas ve Gülhan (2009) farklı propolis konsantrasyonlarının, gökkuşığı alabalıklarının biyokimyasal ve hematolojik parametreleri üzerindeki etkisini araştırmışlar, 0,02 ve 0,03 g/L propolis uygulanan gruplarda MCV, MCH ve MCHC değerlerinde artış tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra eritrosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin seviyelerinde de düşüş meydana geldiğini rapor etmişlerdir. MCV, MCH ve MCHC değerlerinde görülen artış ve buna ek olarak eritrosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin değerlerinde belirledikleri düşüşü makrositik aneminin bir göstergesi olarak rapor etmişlerdir. Yüksek dozlarda propolis kullanımının eritrosit, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde oluşturdukları düşüşün, organizmada eritropoezi inhibasyonuna neden olan bir aneminin göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir.

Anasonun su ürünleri yetiştiriciliğinde immunostimulan olarak kullanımına dair çalışmaya rastlanılmamakla birlikte, anasonun sazan balıklarında anestezi etkisini belirleme (Al-Niaem vd. 2019), balık patojeni mantar türlerinden olan *Saprolegnia parasitica* üzerine antifungal olarak (Adel vd. 2020) ve vakumlu paketlenmiş gökkuşığı alabalığı filetosu üzerine zein yenilebilir kaplamada uçucu yağ ve ekstraktının birlikte uygulanmasına yönelik (Esmaeli vd. 2019) çalışmalarda mevcuttur.

Bu çalışmada, 28. gün sonunda kontrol grubuna göre eritrosit, hematokrit, hemoglobin ve MCV değerlerinde bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$) %3 ve %5 anason kullanılan grupta MCH, %5 anason kullanılan grupta ise MCHC değerinde anlamlı bir artış meydana geldiği görülmüştür ($p<0,05$). 56. Gün sonunda ise aynı şekilde eritrosit ve hemoglobin miktarlarında kontrol grubuna diğer gruplarda göre anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Hematokrit %1,5, MCH değerleri ise %1,5, %3 ve %5, MCHC değeri ise %5 oranında anason kullanılan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Bu durumda anasonun yüksek dozlarda kullanımının (%3-%5) örneklemenin yapıldığı her iki dönemde de gökkuşığı alabalıklarında makrositik anemiye neden olabileceği belirlenmiştir. Buna ek olarak balıkların uzun süre anasonlu yem ile beslenmesi (56 gün boyunca) durumunda, anasonun daha düşük dozlarının bile (%1,5) bu tabloya da dahil olabileceği tespit edilmiştir. 28 ve 56. günler arasında MCV değerlerinde meydana gelen değişim anlamlı bulunurken ($p<0,05$), balıkların anason ilaveli yem ile 28 günden daha uzun süre beslemenin anemi oranını artırdığı tespit edilmiştir.

Mahmood vd. (2014) çalışmalarında broiler cinsi tavukların yemlerine %0,5, %1, %1,5 ve %2 g/kg oranlarında anason eklemişler ve %0,5 ile %1 oranlarında kullanımının tavukların humoral ve immun yanıtları üzerinde immunomodülatör olarak olumlu etki yaptığını bildirmişlerdir. Ancak %1,5 ile %2 oranlarında ise ters etki gözlenerek lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofil sayıları ile antikor titrelerinde düşüş meydana geldiğini bildirmiştir. Araştırmacılar yemlerde yüksek doz anason kullanımının anemiye neden olabileceğini bildirmiştir.

Mevcut tez çalışmasında da Mahmood vd. (2014)'e benzer olarak gerek 28'inci gerekse 56'ıncı günlerde alınan kan örneklerine ait eritrosit değerlerinde azalma ve anemi tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca 56'ıncı günde deneme gruplarına ait balıkların histolojik kesitler incelendiğinde %3 oranında anson ile beslenen balıklarda karaciğerde kanamada gözlenmiştir.

Balıkların spesifik olmayan bağışıklık sistemleri üzerine yapılan çalışmalarda, kan parametrelerinin yanı sıra NBT, serum lizozim aktivitesi ve fagositik aktivite değerleri de incelenmektedir (Terzioğlu ve Diler 2016).

Diler vd. (2018), Pelin otu (*Artemisia vulgaris*)' in tozu ve etanol ekstraktını oral yolla kullanarak, gökkuşağı alabalıklarında immünostimulan etkisi ve *V. anguillarum*' a karşı direnç gelişimini araştırmıştır. Çalışma sonunda kırmızı ve beyaz kan hücreleri, hematokrit değeri, NBT, serum lizozim aktivitesi, fagositik aktivite ve *V. anguillarum*' a karşı dirençte artış meydana geldiğini bildirmiştir.

Terzioğlu ve Diler (2016), adaçayı (*S. officinalis*), ekinezya (*Echinacea angustifolia*), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ve yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*) toz haline getirerek, gökkuşağı alabalıklarına oral yolla uygulayarak bitkilerin immünostimulan etkisi ve *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç gelişimini araştırmışlardır. Deneme sonunda her 4 bitkinin de beyaz kan hücreleri, serum lizozim aktivitesi ve NBT seviyelerinde artış meydana getirdiğini tespit etmiştir.

Altınterim ve Aksu (2019), masere ve soğuk sıkım buğday tohumu yağlarını alabalıkların diyetlerine %2 oranında ekleyerek, yem değerlendirme oranı, hematolojik parametreler ve NBT değerlerinin üzerine etkisi olan etkisini araştırmışlardır. Soğuk sıkım buğday yağı kullandıkları grupta, eritrosit miktarı, hemoglobin ve hematokrit oranlarının kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiğini bildirmişlerdir ($p<0,05$). Mesare tohumu yağını kullandıkları grupta ise lökosit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş gösterdiğini kaydetmişlerdir ($p<0,05$). Her iki grupta da kontrol grubuna kıyasla, Total trombosit miktarlarında anlamlı bir düşüş rapor etmişlerdir ($p<0,05$). NBT düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını tespit etmişlerdir ($p>0,05$).

Shawky vd. (2020), etlik tavuklarda yıldız anasonun immünite üzerine etkisini araştırmışlar ve tavukların beyaz kan hücreleri, fagositik aktivite ve fagositik indekslerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Mevcut çalışmada ise NBT testlerinde gruplar arasında anlamlı bir değişim görülmemiştir. Grupların serum lizozim aktivitelerinde ise 28. gün sonunda %1,5, %3 ve %5 anason kullanılan gruplarda anlamlı bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. 56. gün sonundaki serum lizozim aktivitelerinde ise değişiklik oluşmadığı belirlenmiştir. Fagositik aktivite sonuçları, hem 28 hem de 56. gün sonunda tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Fagositik indeks değerleri ise 28. gün sonunda kontrol grubuna göre tüm gruplarda artış gösterirken, 56. gün sonunda değişim görülmemiştir.

Mevcut çalışmada kontrol ve deneme gruplarına ait serum örneklerinin total protein, albümin, alkalin fosfataz, glukoz, total bilirubin, serum inorganik fosfor, total

kolesterol, gama glutamiltransferaz, alanine aminotransferaz, kalsiyum, kreatin ve kan üre azotu da çalışılmıştır.

Kesbiç (2019), gökkuşağı alabalığında tarçın yağının, immünostimulan, büyüme performansı ve yemden yararlanma oranını nasıl etkilediğini incelemiştir. Çalışma sonunda spesifik büyüme ve yem dönüşüm oranı, kırmızı kan hücreleri, hemoglobin, hematokrit ve albumin değerlerinde artış meydana geldiğini, trigliserit, glukoz, toplam protein ve kolestrol değerlerinde ise düşüş meydana geldiğini rapor etmiştir.

Küçükgül vd. (2013), tıbbi kekik (*Thymus vulgaris*) ve rezene (*Foeniculum vulgare*) nin bitkisel yağlarının gökkuşağı alabalıklarında immünostimulan etkisi ve *Y. ruckeri*' ye karşı direnç gelişimini araştırmıştır. Çalışma sonunda bakterisidal etki, toplam protein, albumin ve *Y. ruckeri*'ye karşı direnç gelişiminde artış tespit ederken, glukoz değerinde düşüş meydana geldiğini rapor etmiştir.

Kesbiç (2019) çalışmasında toplam protein değerlerinde düşüş bildirirken, Küçükgül vd (2013) ise artış bildirmiştir. Bu çalışma da ise kontrol ve deneme gruplarının serum total protein değerlerine ait 28'inci gün ve 56'ıncı gün bulguları karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Küçükgül vd. (2013) çalışmasında albümin değerlerinde artış bildirmiştir. Bu çalışmada ise albümin değerlerinin serum total protein değerleri gibi anlamlı bir fark oluşturmadağı belirlenmiştir.

Kesbiç (2019) çalışmasında tarçın yağının gökkuşağı alabalıklarının serum kolesterol değerlerinde düşüşe neden olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada anason ilaveli yemle beslenen kontrol ve deneme grupları arasında 28'inci ve 56'ıncı gün değerleri kıyaslandığında ise gruplar arasında bir fark tespit edilmemiştir.

Balıklarda kan glukoz seviyesindeki artış stres yanıtı olarak bilinir (Morgan and Iwama 1997). Demir vd. (2014), balık yağı ve rafine edilmemiş fıstık yağını kullanarak hazırladıkları yemlerle Mozambik tilapya (*Oreochromis mossambicus*) 60 gün boyunca beslemişler ve deneme sonunda hem balık yağı hem de fıstık yağının glukoz seviyesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Kesbiç (2019) ve Küçükgül vd. (2013) farklı bitkisel yağların immünostimulan etkilerini çalıştıkları araştırmalarında bu yağların gökkuşağı alabalıklarında glukoz değerlerinde düşüş meydana getirdiğini bildirmiştir.

Acar (2018) sazan balıklarında (*C. carpio*) sarı kantaron yağının immünostimulan etkisi ve büyüme performansını incelediği çalışmada sazanların serum glukozunda herhangi bir değişiklik meydana gelmediğini bildirmiştir.

Yılmaz (2019), altmış gün süreyle yüksek oranda nişasta diyeti ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının serum glukozunu deneme sonunda kayda değer bir şekilde yüksek olarak kaydetmiştir.

Polakof vd. (2011), gökkuşağı alabalığı gibi etçil balık türlerinin, karbonhidratça zengin bir beslemeden sonra uzun süreli hiperglisemiye sahip olduklarını belirlemiş ve

bu balık türlerinin glikoz intoleransına sahip olduklarını bildirmiştir. Mevcut çalışmada, %1,5, %3 ve %5 oranında anason içeren yemler ile beslenen grupların serum glukozlarında yirmisekiz gün sonunda anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,05$). 56. Gün sonunda ise grupların glukoz seviyeleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Yirmisekizinci günde glukoz seviyelerinin yüksek çıkıp, 56. günde önemsiz bulunmasının nedeninin balıkların anasona alıştıklarının bir göstergesi olarak görülebilir. Çünkü özellikle anason ilaveli yemlerin yüksek dozları ile beslenen gruplarda yemlemenin ilk haftalarında yemi alamama ve ağızdan geri bırakma şeklinde davranışlar gözlemlenmiştir. Bu durum anasonun yemde oluşturduğu koku ve tat nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak ilk 4 haftada anason kaynaklı stres nedeniyle kan glukozunda artış meydana gelmiş ve sonraki haftalarda balıkların yeme alışmasıyla stres faktörü ortadan kalmış ve serum glukozu normal seviyeye inmiştir.

Karagül vd. (2000) eritrosit yıkımlarının ve hemolitik hastalıkların varlığında total bilirubin değerlerinde artış meydana gelebileceğini bildirmişlerdir. Satriyo vd. (2016), totoaba balığının (*Totoaba macdonaldi*) diyetine taurinin farklı seviyelerini eklemiş ve plazma bilirubin seviyelerinin doğrusal olarak arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde mevcut çalışmada da 56. gün örneklerinde %5 anason içeren yem ile beslenen grubun serumundaki total bilirubin değerleri, diğer gruplara göre artış göstererek istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Özellikle eritrosit yıkımlarında total bilirubin değerlerinde artış meydana geldiği için (Karagül vd. 2000) 56. Gün sonunda %5 anason içeren yem ile beslenen gruba meydana gelen makrositik anemi de total bilirubin değerindeki artışı desteklemektedir.

Karaciğer orijinli bir enzim olan Alanin aminotransferazın (GPT), normal koşullarda kanda düşük derişimlerde bulunduğu ve serumda artış göstermesinin karaciğerde harabiyet ve yağlanmayı yansıttığı bildirilmiştir (Karataş vd. 2005). Bu çalışmada serum aminotransferaz düzeyi %3 ve %5 anason ilaveli yem ile beslenen gruplarda önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0,05$). Histolojik analizler sonucunda ise özellikle yüksek oranda anason kullanılan grupların (%3 ve %5) karaciğer doku kesitlerinde vakuoler dejenerasyon ve likefaktif nekroz odakları meydana geldiği, GPT değerindeki bu artışın karaciğer dokusundaki harabiyeti desteklediği tespit edilmiştir.

Alkalen fosfataz (ALP) balıkların bağırsak duvarı ve midesinde bulunmakla beraber bağırsakta daha fazla görev yaparak proteinlerin parçalanmasında görev almaktadır (Yüngül ve Özdemir, 2017).

Bu çalışmada tespit edilen ALP değeri, anason dozundaki artışa bağlı olarak artış göstermekle birlikte, %1,5 oranından sonra keskin bir düşüş göstermiş ve %3 ve %5 anasonlu yem ile beslenen grupların alkalen fosfataz değerleri kontrol grubuna yakın değerlerde belirlenmiştir. Bu iki gruptaki düşüş ve %0,1, %0,5 ve %1,5 oranında anason ile beslenen gruplardaki alkalen fosfataz artışı kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu bulgu, sindirilebilirlik testlerinde belirlenen, protein sindirilebilirliğinin anason düzeyinin %3 ve 5'e yükseltilmesi durumunda önemli derecede azalması durumu ile desteklenmektedir ($p<0,05$).

Bureau ve Cho (1999), plazmadaki inorganik fosfor konsantrasyonunun balıkla atılan çözünmüş fosfor düzeyini belirlemede ana faktör olduğunu ve fosfor yüksekliğinde böbrek fonksiyonlarının daha düşük çalıştığını bildirmişlerdir.

56. gün sonunda inorganik fosfor miktarı kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda artış göstermiştir. Ancak bu artışlardan sadece %3 ve %5 oranında anasonlu yem ile beslenen deneme gruplarındaki artışlar anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Histolojik çalışmalar ile elde edilen verilerde, %3 ve %5 anason kullanılan grupların böbreklerinde görülen tahribat serumda inorganik fosfor artışı ile de desteklenmektedir.

Çalışmanın histolojik analizleri için balıkların karaciğer, böbrek, dalak, bağırsak ve solungaçlarından doku örnekleri alınarak inceleme yapılmıştır.

Tan vd. (2017) hibrit orfoz balıklarını mabet ağacı yapraklarını ilave ettikleri yem ile beslemişler ve karaciğer histolojisini incelediklerinde herhangi bir anomali oluşmadığını bildirmişlerdir.

Yılmaz vd. (2006) yaptıkları çalışmada sazan balıklarını farklı oranlarda kansaotu ekledikleri yemlerle beslemişler ve balıkların karaciğer dokusunda herhangi bir hisyopatolojik bulguya rastlamadıklarını rapor etmişlerdir.

Couto vd. (2016) diyetlerine keçiboynuzu tohumu ekledikleri granyöz balıklarının karaciğer ve bağırsak histolojilerinin deneme sonunda normal olduğunu bildirmişlerdir.

Çiftçi (2014) çay bitkisi tohumunu farklı oranlarda yeme karıştırarak gökkuşağı alabalıklarına vermiş ve karaciğerde yağ damlacıklarının oluşumu, intrasellüler ödem ve hücre çekirdeklerinin dejenerasyonu gözlemlendiğini bildirmiştir. Ancak balıkların böbrek, dalak, bağırsak ve deriden alınan kesitlerde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadığını rapor etmiştir. Mevcut çalışmada ise 56. gün sonunda %0,1, %0,5 ve %1,5 oranında anason içeren yem ile beslenen grubun karaciğerinin sinüzoidal boşluklarında kan hücrelerinin infiltrasyonu görülmüştür. %0,5 ve %1,5 anasonlu yem ile beslenen grubun hepatositlerinde yağ dejenerasyonu ve vaküler dejenerasyon meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca %1,5 anason ilaveli yem ile beslenen grubun karaciğerinde sinüzoidler arasında kan hücreleri infiltrasyonu tespit edilmiştir. % 3 anason içeren yem ile beslenen gruba ait karaciğer dokusu damarlarında hiperemi, %3 ve %5 anasonlu yem ile beslenen grubun karaciğerinde likefaktif nekroz odakları ve diğer gruplara göre daha fazla vakuoler dejenerasyon meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca karaciğerde doku hasarının oluştuğunu gösteren GPT değerinde ki artış yapılan histolojik analizler ile de desteklenmiştir.

Mevcut çalışmanın böbrek dokularında %0,1 oranında anason içeren yem ile beslenen grupta glomerular dejenerasyon, %0,1 %0,5 %1,5 %3 ve % 5 anason kullanılan gruplarda ise kavum glomeruli de genişleme ve vakuoler dejenerasyon meydana geldiği görülmüştür. %1,5 %3 ve %5 anason kullanılan grupta renal tübüler epitelde vakuoler dejenerasyon tespit edilmiştir. Ayrıca %5 anason içeren yem ile beslenen grupta böbrek tübülleri içerisinde kan hücreleri infiltrasyonu görülmüştür.

56. güne ait dalak dokularının histolojik kesitleri incelendiğinde %0,5 ve %1,5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait dalak dokularının beyaz pulpalarında boşalma meydana geldiği tespit edilmiştir. % 3 ve % 5 anasonlu yem ile beslenen grupların dalak dokularında ise hem kırmızı hem beyaz pulpalarda boşalma oluştuğu belirlenmiştir.

Çiftçi (2014), solungaçlarda ise orta düzeyde hiperplazi ile epitel lifting gibi bazı patolojik bulgular gözlemlemiştir. Bu çalışmada 28. gün solungaç örneklerinde hiçbir dokuda anomali gözlenmezken 56. gün örneklerinde ise sadece kontrol grubu ile %0,1 anason ilaveli yem ile beslenen grubun solungaç filamentlerinde patolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Ancak 56.gün sonunda %0,5, %1,5, %3 ve %5 anasonlu yem ile beslenen gruba ait solungaç dokularının histolojik kesitleri incelendiğinde sekonder lamellerde dejenerasyon ve kayıplar, %1,5 oranında anasonlu yem ile beslenen grubun lamel uçlarında kıvrılma ve sekonder lamellerde füzyon meydana geldiği belirlenmiştir. %3 oranında anasonlu yem ile beslenen grubun sekonder lamellerinde füzyon, sekonder lamel kaidelerinde ödem ve sekonder lamel uçlarında hafif telengiektazi tespit edilmiştir. %5 oranında anasonlu yem ile beslenen grubun sekonder lamellerinde hiperplazi ile kıkırdak dokusunda dejenerasyon oluştuğu tespit edilmiştir.

Ündağ (2014), farklı oranlarda enginar yaprağı özü eklediği yemler ile beslediği çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*)'lerin sindirim sistemi histolojisini incelemiş, karaciğer dokularında enginar oranı arttıkça yağlanmanın azaldığını bildirmiştir. Bağırsak dokuya ait histolojik kesitlerde ise tüm grupların normal yapıda dokuya sahip olduğunu rapor etmiştir.

Ateş (2007), yemlerine mangan oligosakkarit ve vitamin b12 ekledikleri sazan (*C. carpio*) ve şabut (*Tor grypus*) balıklarının karaciğer ve bağırsak histolojilerini incelemiştir. Histolojik incelemede karaciğer hücrelerinde herhangi bir patolojik bozukluk bildirmezken, mangan oligosakkarit kullanılan tüm grupların bağırsak dokusunda sadece villuslerin uzunluk ve kalınlıklarında artış meydana geldiğini tespit etmiştir.

Bu çalışmada ise %0,1 %0,5, %1,5, %3 ve %5 anason içeren yem ile beslenen grupların intestinal mukoza epitelinde dökülmeler belirlenmiştir. Aynı zamanda %0,5 anason ilaveli yemle beslenen grubun bağırsak lümeninde dökülmeler, 1,5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grubun bağırsak lümeninde nekroz tespit edilmiştir. %3 ve %5 oranında anason ilaveli yem ile beslenen grubun propria mukozasında vakuolizasyon oluştuğu belirlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Su ürünleri üretim sektörü, dünyada ve ülkemizde mevcut olan gıda üretim sektörlerine göre daha çabuk büyüyen bir endüstri haline gelmiştir. Su ürünlerinin diğer protein kaynaklarına göre daha ekonomik olmaları onları avantajlı hale getirmektedir. Bununla birlikte besin değeri anlaşılan balığın kişi başına düşen tüketim miktarı Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Su Ürünleri İstatistik verilerine göre 2018 yılında 6,14 kilogram iken, 2019 yılında % 2 oranında artarak 6,26 kilograma yükselmiştir. Toplam su ürünleri üretimi de aynı şekilde bir önceki yıla göre % 33,1 artış göstermiştir. Toplam üretimin %44,6'sını ise yetiştiricilik ürünleri oluşturmakta ve bir önceki yıla göre bu üretimin %18,7 artış gösterdiği bildirilmektedir. Yetiştiricilikten elde edilen üretim miktarındaki bu artışın sürdürülebilmesi için yetiştiricilik ortamlarında su kalitesinin sağlanması, iyi yem ile besleme veya hastalıklarla mücadele gibi çeşitli faktörlerin başarılı bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Yetiştiricilik sistemlerinde verimliliği artırmak adına bağışıklık güçlendirici olarak immünoestimulan uygulamaları, çeşitli işlemler için anestezi uygulamaları veya tedavi amacıyla antibiyotik, antiparaziter ve antifungal ajanların kullanımı mevcuttur. Ancak bu ajanların çevreye, balığa veya insana verebileceği olumsuz etkiler nedeniyle artık daha çok bitkisel içerikli ürünlerin kullanımına ağırlık verilmiştir. Bu nedenle son yıllarda su ürünleri yetiştiricilik sektöründe, antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra, balıkların gelişimini kolaylaştıran ve yoğun üretim yapılan ortamlarda ortaya çıkabilecek stresi önleyebilen farklı tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır.

Tıbbi ve aromatik bitkiler içerisinde yer alan anasonun, su ürünleri sektöründe kullanımı üzerine yapılan birkaç çalışma dışında kapsamlı araştırmalara rastlanılmamıştır. Ancak dünyada özellikle piliçler üzerine yapılan ve büyüme ile bağışıklık sistemleri üzerine olumlu etkilerinin bildirildiği birçok araştırma mevcuttur.

Bu tez çalışması ile anasonun gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansı ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisi ile immünoestimulan olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Yapılan hematolojik çalışmalar ile balıkların eritrosit, lökosit, hematokrit ve hemoglobin değerlerinde pozitif açıdan önemli bir değişiklik meydana gelmediği, aksine yemlere yüksek doz anason ilavesinin (%3 ve %5) eritrosit hücrelerini negatif yönde etkileyerek makrositik anemiye neden olduğu tespit edilmiştir. Anasonun 28 gün boyunca %1,5 oranında kullanımı NBT, serum lizozim ve fagositik aktivite sonuçları üzerine olumlu etki ederken, uzun süreli (56 gün) ve yüksek dozlarda (%3-%5) kullanımında bu olumlu etkinin ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada başlangıç ağırlığı olarak 5 ± 2 gr balıklar kullanılmıştır ve balıklarda bağışıklık sisteminin tüm unsurları yavru dönemde tam olarak gelişmemiş halde olduğundan, anasonun daha büyük balıklarda denenmesi halinde, daha iyi sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, anasonun gökkuşağı alabalıklarında büyümeyi desteklemek amacıyla %0,1 ile %1,5 oranında kullanılabilir olduğu anlaşılmıştır. Alabalıkların bağışıklık sistemini desteklemek için ise %1,5 oranında ve 28 gün süre ile kullanılabilirliği, yüksek dozlarda kullanımının hematolojik, serolojik ve immünolojik parametreler üzerine negatif etki ettiği tespit edilmiş ve bu histolojik çalışmalar ile de doğrulanmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., 2007. Temel İmmünoloji, İstanbul Medikal Yayıncılık, Editörler: Prof. Dr. Yıldız Camcıoğlu, Prof. Dr. Günnur Deniz. 1–223 s.
- Acar, Ü., 2018. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*) Yağının Sazan Yavrularının (*Cyprinus carpio*) Büyüme Performansı Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(1): 21-27. DOI: [10.28955/alinterizbd.343202](https://doi.org/10.28955/alinterizbd.343202)
- Acıbuca, V., Bostan Budak, D., 2018. Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi, *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1): 37-44.
- Adel M., Dadar M., Zorriehzahra M. J., Elahi J., Stadtlander T., 2020. Antifungal activity and chemical composition of Iranian medicinal herbs against fish pathogenic fungus, *Saprolegnia parasitica*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(6), 3239-3254.
- Al-Beitawi N.A., El-Ghousein S.S., Athamneh M.Z., 2010. Effect of Adding Crushed *Pimpinella Anisum*, *Nigella Sativa* Seeds and *Thymus Vulgaris* Mixture to Antibiotics-Free Rations of Vaccinated and Non-Vaccinated Male Broilers on Growth Performance, Antibody Titer and Haematological Profile, *Italian Journal of Animal Science*, 9:2, e43
- Al-Niaeem K. S., Abdulrahman N. M.A., Attee R. S., 2019. Using of anise (*Pimpinella anisum*) and chamomile (*Matricaria chamomilla*) powders for common carp *Cyprinus carpio* L. anesthesia. *Biological and Applied Environmental Research*, 3(2), 111-117.
- AL-Zuhairi Z.A., AL-Tabari A.S. 2013. Effect the addition of Anis seed (*Pimpinella anisum* L.) powder on production performance and some blood and biochemical parameters in broiler chickens. *Kufa Journal for Veterinary Medical Science*, 4(2):12-20.
- Alberto, C., Alejandro, R., Angeles, E., Jose, M., 2005. İn vivo effects of propolis, a honey bee product, on gill head seabream innate immune responses *Fish & Shellfish Immunology* 18, 71–80pp.
- Altınterim, B., 2011. Balık İmmünolojisi, Bitkisel ve Kimyasal İmmünostimulantlar. *İğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Dergisi* 1(4): 69-76.
- Altınterim B., Aksu Ö., 2019. Masere sarımsak (*Allium sativum* Limne) ve Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman) yağlarının yoğun stoklanmış gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* W.) bazı kan parametrelerine ve NBT (Nitroblue Tetrazolium) seviyelerine etkileri. *BAUN Fen Bil. Enst. Dergisi*, 21(2), 716-723.
- Altınterim B., Aksu Ö., 2019. Influence of Macerated and Cold Press Wheat Germ (*Triticum vulgare*) Oils Added at Different Rates to Trout Feed on The Feed Rate (FCR), Haematology Parameters and NBT (Nitroblue tetrazolium) Values of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J. Pure Appl. Sci.* 5(2):72-77.
- Atamanalp M., Aksakal E., Kocaman E. M., Uçar A., Şişman T., Türkez H., 2011. The Alterations in the Hematological Parameters of Rainbow Trout, *Oncorhynchus*

- mykiss*, Exposed to Cobalt Chloride. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol.17:73 - 76.
- Altief, T.A.S. 2018. Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Bazı Tıbbi Bitkilerin Muhtemel İmmunostimulant ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 98 s.
- Alpbaz A., 2005. Su Ürünleri Yetiştiriciliği., Alp Yayınları Bornova-İzmir, 556s.
- Areej A.M., Al-Shawii S.A., Ahmet Ali, A.A., 2012. Role of anise seed powder (*Pimpinella anisum*) on some blood aspects and growth parameters of common carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.). *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(11):1081-1086.
- Ateş M., 2007. Ticari yeme manan oligosakkarit (mos) ve vitamin (B12) ilavesiyle sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) ve şabut (*Tor grypus* H.1843) balıklarında büyüme, vücut kompozisyonu, bağırsak ve karaciğer histolojisine etkisi ile şabut (*Tor grypus* H.1843) balığının kültüre alınma olanakları, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktra tezi, 125s.
- Aykan H., Sarıözkan S. 2018. Dişi Gökkuşluğu Alabalıklarında Farklı Yemleme Oranlarının Performans ve Üretim Maliyetlerine Etkisi, *LIMNOFISH-Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research* 4(3): 130-139.
- Aydın, S., Çiltaş, A., Bilgin, Ö.C., 2001. Investigations of *Serratia liquefaciens* Infection in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*, Walbaum), *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 643-650.
- Baba, E. 2017. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Bitkisel İmmunostimulant Kullanımı. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 7(3) , 249-256.
- Balcı, B.A., Aktop, Y., 2019. Yeme Çakşır Otu (*Ferula elaeochytris* K. 1947) İlavesinin Japon Balığının (*Carassius auratus* L. 1758) Büyüme ve Gonad Gelişimi Üzerine Etkisi, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 347-359.
- Barakat D.M., El-Far, A.H., Sadek K.M., Mahrous U.E., Ellakany H.F., Abdel-Latif M. A., 2016. Anise (*Pimpinella anisum*) Enhances the Growth Performance, Immunity and Antioxidant Activities in Broilers. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 37(2):134-140.
- Başer, K.H.C., Tabanca, N., Krimer, N., Khan, S., Bedir, E., Khan, S., Jacob, M., Khan, I., 2003. Antimicrobial Compounds from *Pimpinella* Species Growing in Turkey, *Planta Med*, 2003;69: 933–938.
- Başusta G.A., 2005, Fish Hematology and Hematological Techniques. In: Karatas, M., Ed. Research Techniques in Fish Biology (in Turkish). Nobel Publications, Ankara, 275–300.
- Berndt, WO, 1981. Use of renal function tests in the evaluation of nephrotoxic effects, Pges 1-29 in J. B. Hook, editor, Toxicology of the kidney, Raven Press, New York.
- Beyzi, S. B., Konca, Y. 2014. Hayvansal Ürünlerde Antibiyotik Alternatifi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, 23-25 Eylül 2014. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma İstasyonu, Yalova 2014

- Bisset, N.G. 1994. Herbal Drugs and phytopharmaceuticals. CRS Press, London, 704 p.
- Birinci Yıldırım A, Türker H. 2018. Antibacterial Activity of Some Aromatic Plant Essential Oils Against Fish Pathogenic Bacteria. *LimnoFish*. 4(2):67-74. doi: 10.17216/LimnoFish.379784
- Boshra H, Li J, Sunyer JO, 2006. Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol*, 20: 239-262.
- Bozkurt, M., Eren Ü., 2009. Balıklarda Lenfoid Organlar. *Vet Hekim Der Derg* 80(2): 13-18.
- Blaxhall PC, Daisley KW 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781.
- Bergdahl, I. A., Schütz, A., Gerhardson, L., Jensen, A., Skerfving, S., 1997. Lead Concentrations in Human Plasma, Urine and Whole Blood. *Scand. J. Work. Environ. Health*, 23:359–363.
- Bureau D.P., Cho C.Y., 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Estimation of dissolved phosphorus output. *Aquaculture*, 179:127-140.
- Bridges D.W., Cech J.J., Petro D.N., 1976, Seasonal Hematological Changes in Winter Flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 5:596-599.
- Channonachookhin C, Seiaki T, Tonaka M, 1991. Comparative study of the lymphoid organs in three species of marine fish. *Aquaculture*, 99: 143-155.
- Charal J.W., Bidner T.D., Southern L.L., Janes M.E., Gutierrez M.E., Lvargne T.A., 2017. Anise oil dosage and its effect on growth performance and jejunal lesions during a *Clostridium perfringens* challenge in battery trials, and growth performance in a floor pen trial. *J. Appl. Poult. Res.* 26:240–252.
- Cihangir, E., Diler, İ., 2016. Yavru ve Juvenil Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Kekik Yağının (*Origanum vulgare* L.) Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(2), 86-96. <https://doi.org/10.22392/egirdir.283071>
- Couto, A., Barroso, C., Guerreiro, I., Pousão-Ferreira, P., Matos, H., Oliva-Teles, A. ve Enes, P. 2016. Carob seed germ meal in diets for meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles: Growth, digestive enzymes, intermediary metabolism, liver and gut histology, *Aquaculture* 451:396–404.
- Çavuş, A., 2018. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda Ruşeym İlave Edilen Diyetlerin Viserosomatik İndeks Üzerine Etkileri, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2:364-368.
- Çelik E.Ş., 2006. Balıkların Kan Parametreleri Üzerine Ağır Metallerin Etkisi, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23(1/1):49-55.
- Çelik E.Ş., Bilgin S., 2007. Bazı Balık Türleri İçin Kan Protein ve Lipidlerinin Standardizasyonu, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2) 215–229.

- Çelik E.Ş., Aslan A., Alparslan M., 2008. Balıklarda Kan Glukozunu Etkileyen Başlıca Faktörler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(1-2) 364–379.
- Çelik S.Y., 2020. Tıbbi ve aromatik bitkilerin balık yetiştiriciliğinde kullanım potansiyelleri. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(2):86-94.
- Çiftçi C. 2014. Çay bitkisi (*Camellia sinensis*) tohumunun balık sağlığı alanında kullanımının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, 36 s.
- Demir E., Eseceli H., Azak H., 2014. Avrupa Birliği Yenilik Transferi Projesi “FISHFARM”, Eğitim ve Yayın Kitapçığı, Balıkesir, 148s.
- Demir O. Türker A., Acar Ü., Kesbiç O.S., 2014. Effects of Dietary Fish Oil Replacement by Unrefined Peanut Oil on the Growth, Serum Biochemical and Hematological Parameters of Mozambique Tilapia Juveniles (*Oreochromis mossambicus*), *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 14:887-892.
- Doğan H., 2020. Bazı Anason (*Pimpinella anisum* L.) ve Tatlı Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce*) Populasyonlarının Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(3):2235-2241
- Dikel S., İnanan BE, Kardeşahin T., Durmuş M., Uçar Y., 2017. Borik Asidin Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın Hepatosomatik ve Viserosomatik İndeks Değerleri Üzerine Etkileri, *JAVST*, 2(1):6-10.
- Diker K.S., 2005, İmmunoloji (2. Baskı), Medisan, Ankara. 304 p.
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Metin, S., İlhan, İ., Diler, İ. 2017. *Origanum vulgare* L. Uçucu yağının gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda büyüme, lizozim ve antioksidan aktivite ve *Vibrio anguillarum*'a karşı direnç üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 13(1):42-57.
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Terzioğlu, S., Atabay A., 2018. Pelin Otu (*Artemisia vulgaris* L.)'nın Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Hastalıklara Karşı Direnç ve Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 4(1):1-11. DOI: 10.3153/JAEFR18001
- Ding X., Yang C., Wang P., Yang Z., Ren X., 2020. Effects of star anise (*Illicium verum* Hook. f) and its extractions on carcass traits, relative organ weight, intestinal development, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 99:5673–5680.
- Duncan, R. J., Prasse, K. W., Mahaffey, E. A. 1994. Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology, 3rd Edition. Iowa State Press, Ames, IA
- European Pharmacopoeia 7th Edition 2011. Council of Europe, Strasbourg, France.
- Ellis A.E., 1999. Immunity to bacteria in fish. *Fish Shellfish immunol.* 9:291-308.

- Eltazi S.M.A. 2014. Effect of Using Anise Seeds Powder as Natural Feed Additive on Performance and Carcass Quality of Broiler Chicks. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 3(2):1-8.
- Esmaeli F., Tajik H., Mehdizadeh T., Mayeli M., 2019. Effect of combined application of *Pimpinella affinis* essential oil and extract in zein edible coating on vacuum packaged rainbow trout fillet quality. *Veterinary Research Forum*, 10(2):109-117.
- Evans H.D. 1998. The physiology of Fishes. Second Edition, CRC Press Boca Raton, New York, USA.
- FAO, 2014. *Fisheries and Aquaculture Statistics 2014*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Year Book, Roma, ISSN 2070-6057.
- FAO, 2020. *Fisheries and Aquaculture Statistics 2020*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Year Book, Roma.
- Findlay, V. L. and Munday, B. L., 2000, Immunomodulatory effects of levamisole on the nonspecific immune system of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*. 23, 369 – 378 pp.
- Geldiay R., Balık S., 2007. Türkiye Tatlısu Balıkları (Ders Kitabı) V. Baskı. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 46, Ders Kitabı Dizini No: 16, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova– İzmir, 644 s.
- Glomski C.A., Tamburlin J., Chainani M., 1992. The Phylogenetic Odyssey of The Erythrocyte. III. Fish, The Lower Vertebrate Experience. *Histol Histopathol*, 7: 501- 528.
- Goda A.M.A.S., 2008. Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization, and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus* (L.) Fingerlings. *Journal Of The World Aquaculture Society* 39, 205–214.
- Grinde B., Jolles J., Jolles P., 1988. Purification and Characterization of Two Lysozymes from Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Euro. J. Biochem.* 173: 269-273.
- Göktaş, Ö., Gıdık, B., 2019. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları, *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1): 136-142.
- Harikrishnan R., Kim M.C., Kim J.S., Kim D.H., Hong S.H., Heo M.S., 2011. Alnus Firma Supplementation Diet on Haematology and Innate Immune Response in Olive Flounder Against *Tenacibaculum Maritimum*. *Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy* 55, 649–655.
- Hashimoto, G.S.O., Neto, F.M., Ruiz, M.L., Achille, M., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Martins, M.L., 2016. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. *Aquaculture*, 450: 182–186. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2015.07.029](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.029)
- Haşimi, N., Tolan, V., Kızıl, S., Kılınç, E., 2014. Anasonun (*Pimpinella anisum* L.) ve Kimyon (*Cuminum cyminum* L.) Tohumlarının Uçucu Yağ Kompozisyonları ile

- Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. *Tar Bil Der*, 20: 19-26.
- Hickey C.R., 1976, Fish haematology, its uses and significance. N.Y. *Fish Game J.*, 23: 170-175
- Hoby S., Wenker C., Walkenhorst M., 2015. Phytotherapy in zoo animals. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 157(11):619-23. DOI: 10.17236/sat00042.
- Hoşsu B., A.Y. Korkut., A. Fırat. 2003. Balık Besleme ve Yem Teknolojisi I (Balık Besleme Fizyolojisi ve Biyokimyası, 3. Baskı, Ege Üni., Su Ürünleri Fak. Yay.
- Hrubec T.C., Smith S.A., 2000, Hematology of fish. In: B.F. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.) Schlam's Veterinary Hematology, pp. 1120-1125. Lippincott Williams and Wilkins. Int.
- Hrubec T.C., Smith S.A., 2010, Hematology of Fishes. In: Weiss, D.J., Wardrop, K.J.,Eds. Schalm's Veterinary Hematology. Blackwell Publishing, 994-1003.
- Iwama, GK, Vijayan, MM., Forsyth, RB, Ackerman, PA, 1999. Heat Shock Proteins and Physiological in Fish. *Am. Zool.*, 39: 901-909.
- Jha A.K., Pal A.K., Sahu N.P., Kumar S., Mukherjee S.C., 2007. Haematoimmunological Responses to Dietary Yest RNA, W-3 Fatty Acid And β -Carotene in *Catla Catla* Juveniles. *Fish Shellfish Immunol.* 23, 917-927.
- Johnson S., 2014. Living in Water. In "Texas Aquatic Science", Ed., RA Rosen, 1st ed., 162-208, Texas A & M University Press, Corpus Christi.
- Jolles, P, Jolles, J., 1984, What's new in lysozyme research? Always a model system, today as yesterday. *Molecular Cell Biochemistry*, 63, 165-89.
- Kakuta I, Nakai T., 1992, Blood changes in Japanese Anguilla, *Anguilla japonica*, experimentally infected with typical or atypical *Aeromonas salmonicida*. *Comp. Biochem. Phys. A*, 103:151-155.
- Kaplan, A, Szabo, LL, 1979. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Karagül, H., Altıntaş, A., Fidancı, U.R., Sel, T., 2000. Klinik Biyokimya, s. 430, Cilt 1, Medisan Yayın Evi, Yayın No: 45, Ankara,.
- Karataş Düğenci S., 2001. Gökkuşluğu Alabalıklarında Bazı İmmünostimulanların Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemine Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 79 s.
- Karataş M., 2010, Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, Nobel yayıncılık, 512
- Karataş B., 2015. Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve Kahverengi Alabalığın (*Salmo trutta* ssp) Farklı Oranlarda Birlikte Yetiştiriciliğinin Büyüme Performansı, Yem Değerlendirme ve Davranış Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 92 s.
- Kav, K., Erganis, O., 2008. Balıklarda bağışıklık sistemi. *Vet Bil Der*, 24(1): 97-106.
- Kesbiç, O.S., 2019. Effects of The Cinnamon Oil (*Cinnamomum verum*) on Growth Performance and Blood Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*).

- Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(2): 370-376. DOI: 10.24925/turjaf.v7i2.370-376.2360
- Küçükgül-Güleç, A., Danabaş, D., Ural, M., Seker, E., Arslan, A., Serdar, O., 2013. Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia ruckeri* infection. *Acta Veterinaria Brunensis*, 82:297–302; DOI:10.2754/avb201382030297
- Korkut, A.Y., Kop, A., Demirtaş N., Cihaner A., 2007. Balık Beslemede Gelişim Performansının İzlenme Yöntemleri, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 24(1-2): 201–205.
- Korun, J., 2016. Kültür Levrek (*Dicentrarchus labrax*, L.) Balıklarından İzole Edilen *Vibrio harveyi* Suşlarının Antimikrobiyal Duyarlılıkları Üzerine Bir Çalışma, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı* 411-421.
- Kodama H, Mukamoto M, Arimitsu H, Sugimoto C.,1999. Enhancement of phagocytic and chemotactic activities of rainbow trout head kidney cells by C-reactive protein. *Am J Vet Res* 60:240–244.
- Kumari, J., Sahoo, P. K., 2006. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture*. 255, 133-141 pp.
- Landini G.F., Schwantes A.R., Schwantes M.L., 2002. Astyanax Scabripinnis (Pisces: Characidae) Hemoglobins: Structure and Function. *Braz J Biol*, 62:595-599
- Lagler K.F, Bardach J.E., Miller R.R., 1962. Ichthyology. John Wiley & Sons. Pp. 545.
- Logambal, S.M., Venkatalakshmi, S., Dinakaran, M.R., 2000. Immunostimulatory effect of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia*, 430: 113–120. DOI: [10.1023/A:1004029332114](https://doi.org/10.1023/A:1004029332114)
- Lie O., Evensen P.I., Sorensen A., Froysadal E., 1989. Study on Lysozyme Activity In Some Fish Species. *Dis. Aquat. Org.* 6:1-5.
- Magnadottir, B., 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. 20, 37–151 pp.
- Mahmood M.S., Hussain I., Ahmad M.F., Khan A., Abbas R.Z., Rafiq A., 2014. Immunomodulatory effects of *Pimpinella anisum* L. (Aniseed) in Broiler Chicks against Newcastle Disease and Infectious Bursal Disease Viruses. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat*, 13(5): 458 – 465.
- Maruyama K., Yasumasu S., Naruse K., Mitani H., Shima A., Iuchi I., 2004. Genomic Organization and Developmental Expression of Globin Genes in The Teleost *Oryzias Latipes*. *Gene*, 335: 89-100.
- Mayer, S., A 1998. Review of the scientific justifications for Maintaining cetaceans in captivity, (edit. By Frances Clarke), A report for the whale and dolphin conservation society (WDCS), 35 p.
- McDonald, D.G. 1983. The interaction of environmental calcium and low pH on the physiology of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* I: branchial and renal net ion and H⁺ fluxes. *Journal of Experimental Biology*. 102:123–140.

- MEGEP, 2013. Tarım Teknolojileri, Meyvelerinden faydalanılan ilaç ve baharat bitkileri yetiştiriciliği. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, 59 s.
- Morgan, J.D. and Iwama, G.K. 1997. Measurements of stressed states in the field. In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schrech (Eds.), Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, Cambridge, UK: 247-270.
- Monteiro C.A. 2009. Nutrition and health. The issue is not food, nor nutrients, so much as processing. *Public Health Nutr* 12:729-731.
- Nazıroğlu, M., İspir, Ü., Yonar, M.E. 2003. Balıklarda E Vitamininin İmmun Sistem Üzerine Etkileri, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9 (1):101-106.
- Nikolsky C.V. 1963. The Ecology of Fishes. Academic Press, London, 352 Pp.
- Nielsen ME, Esteve-Gassent MD, 2006. The eel immune system: present knowledge and the need for research. *J Fish Dis*, 29: 65-78.
- Oikari, A, Soivio, A, 1977. Physiological condition of fish exposed to water containing pulp and paper industry wastes and sewage, In Biological Monitoring of Inland Fishes (Alabaster, J.S., ed.), pp. 89-96. London: Applied Science.
- Parasa L.S., Tumati S.R., Prasad C.S., Kumar L.C.A., 2012. *In vitro* antibacterial activity of culinary spices aniseed, star anise and cinnamon against bacterial pathogens of fish. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(3):667-670
- Pastoret PP, Griebel P, Bazin H, Govaerts A, 1998. Handbook of Vertebrate Immunology. Academic Press, London pp. 3-62.
- Pourgholami, M.H., S. Majzoob, M. Javadi, et al., 1999. The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 66(2): 211-215.
- Press C.McL, Evensen Ø. 1999. The morphology of the immun system in teleost fishes. *Fish Shellfish Immunol*, 9,309-318.
- Roberts R.J., 2001. Fish Pathology. W.B. Saunders, 472-Third
- Roch P. 1999. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. *Aquaculture*, 172:125-145.
- Sakai M., 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulant. *Aquaculture* 172: 63-92.
- Satriyo T.B., Galaviz M.A., Salze G., Lopez LM, 2017. Assessment of dietary taurine essentiality on the physiological state of juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Aquaculture Research* 48:5677-5689.
- Seeley W., VanDemark P. J., 1991. Microbes in Action, A Laboratory Manual of Microbiology” W. H. Freeman and Company, 450 s, New York.
- Sevgili H., Ertürk M.M., 2004. Effects of Replacement of Fish Meal with Poultry By-Product Meal on Growth Performance in Practical Diets for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(2):161-167.
- Shawky Sh M, Fathalla SI, Orabi SH, El-Mosalhi HH and Abu-Alya IS (2020). Effect of *Amphora coffeaeformis* and Star anise as Dietary Supplements on the

- Immunity and Growth Performance of Broiler Chickens. *J. World Poult. Res.*, 10 (4): 631-642.
- Sommerset I., Krossoy B., Biering E., Frost P., 2005. Vaccines for Fish in Aquaculture. *Expert Rev. Vaccines* 4(1):89–101.
- Sun HY, Lei Y, Kim I. 2019. Effect of anise flavor on the performance of sows and their litters with different weaning ages. *Korean Journal of Agricultural Science*. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20190013>
- Siwicki, A. K. and Anderson, D. P., 1993. Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Abstract Symposium on Fish Immunology, Lysekil, Sweden.
- Şahan A, Duman S., Çolak S.Ö., Çınar E., Bilgin R., 2017. Determination of Some Hematological and Non-Specific Immune Defences, Oxidative Stress and Histopathological Status in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Rosehip (*Rosa canina*) to *Yersinia ruckeri*, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 17: 91-100.
- Tan, X., Sun, Z., Liu, Q., Ye, H., Zou, C., Ye, C., Wang, A. ve Lin, H. 2018. Effects of dietary ginkgo biloba leaf extract on growth performance, plasma biochemical parameters, fish composition, immune responses, liver histology, and immune and apoptosis-related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) fed high lipid diets, *Fish and Shellfish Immunology* 72:399–409.
- Tabanca, N., Bedir E., Kirimer N., Baser KHC., Khan SI, Jacop MR, Khan IA, 2003. Antimicrobial Compounds from Pimpinella Species Growing in Turkey. *Planta Med*, 69: 933-938.
- Talas, Z.S. ve Gulhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72:1994–1998.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. 2004. Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Yayınları, 276-281.
- Terzioğlu, S., Diler, Ö. 2016. Effect of Dietary Sage (*Salvia officinalis* L.), Licorice Root (*Glycyrrhiza glabra* L.), Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Echinaceae (*Echinacea angustifolia* Hell) on Nonspecific Immunity and Resistance to *Vibrio anguillarum* Infection in Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(2): 110-118. DOI: [10.22392/egirdir.284921](https://doi.org/10.22392/egirdir.284921)
- Timur M., 2006. Balık Fizyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 192 s.
- Timur G., 2013. Balık Histolojisi ve Embriyolojisi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yayınları, İstanbul, 273 s.
- Tirapelli, C.R., Andrade, C.R., Cassano, A.O., De Souza, F.A., Ambrosio, S.R., Costa, F.B., Oliveria, A.M. 2007. Antispasmodic and relaxant effects of the hydroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeous smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology* ,110(1): 23-29.

- TUİK, 2019. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistikleri Haber Bülteni, 2019.
- Ülger T.G., Yabancı Ayhan, N., 2020. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Sağlık Üzerine Fonksiyonel Etkileri. *ACU Sağlık Bil Derg*, 11(3):384-390. DOI: <https://doi.org/10.31067/0.2020.288>
- Ündağ E., 2014. Farklı Oranlarda Enginar (*Cynara scolymus*) Yapağı Özünü Kullanılan Yemlerle Beslenen Çipura (*sparus aurata*) ve Levrek (*Dicentrarchus labrax*)’lerin, Sindirim Enzimleri Etkinliklerinin Belirlenmesi ve Sindirim Sistemi Histolojisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 56 s.
- Van Muiswinkel, W. B., 1997. The Piscine Immune System: Innate and Acquired Immunity. 32–749 pp. *Fish Vaccination Training Course*. 14–17 pp.
- Van Muiswinkel, W.B., Anderson, D.P., Lamers, C.H.J., Egberts, E., Van Loon, J.J.A. IJssel, J.P. 1985. Fish immunology and fish health. In *Fish Immunology* (M.J. Manning & M.F. Tatner, eds.) pp. 1- 8. London: Academic Press.
- Vervarcke, S., Ollevier, F., Kinget, R., Michoel, A., 2005. Mucosal response in African catfish after administration of *Vibrio anguillarum* O2 antigens via different routes. *Fish Shellfish Immunol*. 18:125–133.
- Watanabe, T., 1985. Importance of The Study of Broodstock Nutrition For Further Development of Aquaculture, p. 395-414. In Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G., [ed.] *Nutrition And Feeding in Fish*, Academic Press, London..
- Wedemeyer, GA, Mcleay, DJ, 1981. Methods for Determining the Tolerance of Fishes to Environmental Stressors. In *Stress and Fishes*. (Edited by PICKERING, A. D.), pp. 247–275. Academic Press, London.
- Wiegertjes G.F., Stet R.J.M., Parmentier H.K., Van Muiswinkel W.B., 1996. Immunogenetics of Disease Resistance In Fish; A Comparable Approach. *Dev Comp Immunol*, 20:365-381.
- Wood, C.M. 1989. The physiological problems of fish in acid waters. In: Morris R, Taylor EW, Brown DJA, Brown JA (eds.): *Acid Toxicity and Aquatic Animals*. 1st ed. Cambridge University Press. 125–152.
- Wood, CM, 1993. Ammonia and Urea Metabolism and Excretion, In “The Physiology of Fishes” (Evans, D.H., Ed.), CRC Marine Science Series, Boca Raton, 379-425.
- Yang, J.L., Chen, H. C., 2003. Effects of Gallium on Common Carp (*Cyprinus carpio*): Acute Test, Serum Biochemistry, and Erythrocyte Morphology. *Chemosphere*, 53:877–882
- Yano T., 1996. The non specific immune system: Humoral Defense. The fish immune system: Organism, pathogen and environment. Academic Press.
- Yılmaz E., Genc M.A., Çek Ş., Mazlum Y. ve Genc E. 2006. Effects of Orally Administered *Ferula coskunii* (Apiceae) on Growth, Body Composition and Histology of Common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(12):1236-1238.

- Yılmaz E., 2014. Alabalık Yemlerinde Bitki Ekstraktları Kullanımının Büyüme, Yemden Yararlanma ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 158 s.
- Yılmaz, S. 2019. Yüksek oranda nişasta diyetinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın büyüme performansı, bazı kan parametreleri ve bağırsak bakterileri üzerine etkileri. *Acta Aquatica Turcica*, 15(1), 1-9.
- Yiğitarıslan, K.D., Azdural, K., Yavuz, U., Turan, F., 2011. Alabalıklarda Fitoterapi Uygulamaları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 4:(1), 63-68.
- Yonar, M., Silici, S., 2010. Gökkuşağı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792)’nın bazı kan parametrelerine propolisin etkisinin araştırılması. *Ecological Life Sciences*, 5(3):231-240.
- Zapata A, Diez B, CejalvoT, Guiterrez-de Frias C, Cortes A, 2006. Ontogeny of the immune system of fish. *Fish and Shellfish Immunol*, 20: 126-136.

ÖZGEÇMİŞ

Saadet Yağmur ÇELİK

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2015-2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği ABD, Antalya
Yüksek Lisans 2012-2015	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği ABD, Antalya
Lisans 2005-2010	Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, İzmir

Uluslar arası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

Bulguroğlu, S.Y., Korun J., Gökoğlu, M., Özvarol, Y., (2014). The marine leech *Stibarobdella moorei* (Oka, 1910) (Hirudinea, Piscicolidae) parasitic on the thornback ray *Raja clavata* Linnaeus, 1758 and angelshark *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758) in Antalya Bay, Mediterranean Sea of Turkey, *Helminthologia*, 51(3):250-252.

Yılmaz M., Korun J., Gökoğlu M., **Çelik S.Y.**, (2019). Isolation of *Staphylococcus hominis* from Cultured Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Antalya Bay, Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*, 25 (2019) 123-128.

Çelik S.Y. Korun, J., Gökoğlu, M., (2020). First occurrences of *Nerocila bivittata* on Dusky Grouper (*Ephinephelus marginatus*) and Mottled Grouper (*Mycteroperca rubra*), *J HELLENIC VET MED SOC* 2020, 71(3): 2309-2314

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

Türkmen G.,**Bulguroğlu S. Y.**, Aydoğan, G., (2011). Türkiye Denizlerindeki Bazı Kemikli Balık Türlerinin Deniz Akvaryumlarına Kazandırılması. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Science, 28(3):95-98.

Bulguroğlu, S.Y., Korun J., Gökoğlu, M., (2015). New Information on Distribution of Marine Leech *Pontobdella muricata* (Linnaeus, 1758) from the Mediterranean Coast of Turkey. Check List: The Journal of Biodiversity Data, 11(2): 1-2 DOI: <http://dx.doi.org/10.15560/11.2.1588>

Çelik, S.Y. , Korun, J. (2018). Türkiye’ den Trichodinid Protozooan *Trichodina heterodontata* ve *T. pediculus* (Ciliophora: Trichodinidae) İçin Yeni Konak Kaydı. Kocatepe Veterinary Journal, 11 (3), 245-254. DOI: 10.30607/kvj.424351

Korun J.,**Çelik S.Y.**, Yılmaz M.,Gökoğlu M., (2019). Isolation of s *Shewanella* and *Aeromonas* species from Silver European Eel Fish (*Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758)", Journal of Advance in VetBio Science and Techniques, 4(1), 9-15.

Korun J., Okudan Aslan E.Ş., Yardımcı R.E. , Timur G., Ulutaş A., Gökoğlu M.,**Çelik S.Y.**, Balcı B.A., (2019). "Bazı deniz alg türlerinin etanol ve metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin *Yersinia ruckeri* üzerinde araştırılması", Kocatepe Veterinary Journal, 12:1-9.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

Bulguroğlu S. Y., J. Korun, M. Gökoğlu, Y. Özvarol, (2015). Mavi yüzgeçli (*Thunnus thynnus*)'ta Pennelid copepod *Pennella* sp.'nin tespiti. Ankara, Ağustos, 22. Ulusal Biyoloji Öğrencileri Kongresi, Ankara, Ağustos 2015.

Korun, J., R. E. Yardımcı, **S. Y. Bulguroğlu**, (2015). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'ndan izole edilen *Yersinia enterocolitica*'nın PZR tekniği ile tanımlanması, 22. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 10-14 Ağustos, Ankara, Ankara, Ağustos 2015.

Bulguroğlu S.Y., J. Korun, (2015). Akvaryumda yetiştirilen Cichlidae familyasına ait bazı türlerde rastlanılan yeni fırsatçı parazitler, *Euchlanis* sp. ve *Chaetonotus* sp. Eylül, İzmir, 18. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu., İzmir, Eylül 2015.

Korun, J., Avsever, M.L., **Bulguroğlu, S.Y.**, (2014). Tilapya Balıklarından İzole Edilen *Citrobacter freundii*' nin VİTEK 2 Kompakt Sistemi ile Tanımlanması Üzerine Bir Çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi 22. Ulusal Biyoloji Kongresi Özet Kitabı, Sayfa: 192.

Korun, J., Timur, G., Yardımcı, R.E., Balcı, B.A., **Bulguroğlu, S.Y.**, (2014). Molecular and phenotypic characterization of *Yersinia ruckeri* from naturally infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at a commercial farm at the west Mediterranean region, 5th Fisheries Symposium of Eastern Anatolia Region,. May 31-02 June, Elazığ, Abstract Book, 103 pp.

Korun J., Gökoğlu, M., **Bulguroğlu S.Y.**, (2013). Çil Karides (Oluklu Karides) *Penaeus kerathurus* (Forsskal, 1775)'te Bir Isopod Parazit Olan *Epipenaeon ingens*' in Tespiti. XVII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 3-6 Eylül, İstanbul, Özet Kitabı, Sayfa: 128.

Korun J.,**Bulguroğlu S.Y.**, Arafatoğlu M. E. (2013). Hasta Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Balıklarından İzole Edilen Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları Üzerine Bir Çalışma. XVII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 3-6 Eylül, İstanbul, Özet Kitabı, Sayfa:283.

Korun J.,**Bulguroğlu S .Y.**, Erdilal R., (2013). Hasta Akvaryum Balıklarından İzole Edilen Bakteri Türleri Üzerine Farklı Enzimlerle Hazırlanan Protein Hidrolizatlarının Antimikrobiyal Etkileri. XVII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 3-6 Eylül, İstanbul, Özet Kitabı, Sayfa:285.

Bulguroğlu S. Y., Korun J., (2013). Antalya Bölgesinde Yetiştiriciliği Yapılan Japon (*Carassius auratus*) Balıklarında Görülen Ektoparaziter Enfestasyonlar ve Tedavileri. XVII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 3-6 Eylül, İstanbul, Özet Kitabı, Sayfa:284.