



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YEMİNE ALTIN
OTU (*Helichrysum italicum*) İLAVESİNİN BÜYÜME PERFORMANSI,
SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK, SİNDİRİM VE ANTİOKSİDAN
ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşegül AYDIN

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Doğukan KAYA

TOKAT- 2024

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Doğukan KAYA danışmanlığında hazırlamış olduğum “Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemine Altın Otu (*Helichrysum Italicum*) İlavesinin Büyüme Performansı, Spesifik Olmayan Bağışıklık, Sindirim ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

14/10/2024

Ayşegül AYDIN

JÜRİ KABUL VE ONAY

Ayşegül AYDIN tarafından hazırlanan “Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemine Altın Otu (*Helichrysum italicum*) İlavesinin Büyüme Performansı, Spesifik Olmayan Bağışıklık, Sindirim ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 14.10.2024 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan) : Prof. Dr. Ercüment GENÇ

Üye : Prof. Dr. Nihat YEŞİLAYER

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Doğukan KAYA

ONAY

...../...../2024

Doç. Dr. Yusuf TEMÜR
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YEMİNE ALTIN OTU (*Helichrysum italicum*) İLAVESİNİN BÜYÜME PERFORMANSI, SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK, SİNDİRİM VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Aydın, Ayşegül

Yüksek Lisans, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Doğukan KAYA

Ekim 2024, vii + 41 sayfa

Bu çalışmada, gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yeminde altın otu bitkisi (*Helichrysum italicum*) ekstraktının büyüme performansı ve sindirim, antioksidan kapasitesi ve bağışıklık yanıtı ile ilgili gen ifadeleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla 60 günlük bir deneme gerçekleştirilmiştir. Denemede başlangıçta ortalama $15,84 \pm 0,05$ g canlı ağırlığa sahip balıklar kullanılmıştır. Bir bazal yem (Kontrol) ve bazal yeme farklı seviyelerde altın otu bitkisi ekstraktı ilave edilerek (AO05; 0,5 g/kg, AO1; 1 g/kg ve AO2; 2 g/kg) dört deneme yemi hazırlanmıştır. Final ağırlığı (FA), ağırlık kazancı (CAK), günlük canlı ağırlık kazancı (GCAK), spesifik büyüme oranı (SBO), protein etkinlik oranı (PER) ve yem değerlendirme oranı (YDO) parametreleri, altın otu ekstraktı ilave edilen tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı iyileşmeler göstermiştir ($p < 0,05$). Büyüme performansı göstergeleri olan FA, CAK, GCAK, SBO ve PER, yemle alınan altın otu ekstrakt seviyeleri arttıkça doğrusal olmayan, kuadratik bir artış sergilemiştir. Benzer şekilde, YDO değerleri de artan altın otu ekstrakt dozları ile kuadratik olarak iyileşmiştir. Ayrıca, kontrol grubuna kıyasla altın otu ekstraktı gruplarında daha yüksek sindirim enzimi gen ifadeleri izlenmiştir. Antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gen ifadelerinde altın otu ekstraktı ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Altın otu ekstraktının yeme dahil edilmesi ile bağışıklıkla ilişkili genler olan interlökin-1 β (IL-1 β), tümör nekroz faktörü (TNF- α) ve interlökin-8 (IL-8) gen ifade seviyeleri de önemli ölçüde farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Sonuç olarak, bu çalışma, gökkuşağı alabalıklarının yemine altın otu ekstraktı eklenmesinin sağlıklı büyüme parametreleri üzerinde olumlu etkiler yarattığını deneysel olarak ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Altın otu bitkisi, büyüme, ekstrakt, fenolik bileşik, antioksidan

ABSTRACT

Effect of Dietary Curry Plant (*Helichrysum italicum*) on Growth Performance, Non-Specific Immunity, Digestion and Antioxidant Enzyme Activities in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Aydın, Ayşegül

Master's Degree, Department of Aquaculture Engineering

Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Doğukan Kaya

October 2024, vii + 41 pages

In this study, a 60-day experiment was conducted to evaluate the effects of curry plant (*Helichrysum italicum*) extract on the growth performance and gene expressions related to digestion, antioxidant capacity, and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with an initial average live weight of 15.84 ± 0.05 g. Four experimental diets were designed: a basal diet (Control) and diets supplemented with different levels of curry plant extract (AO05; 0.5 g/kg, AO1; 1 g/kg, and AO2; 2 g/kg). The parameters for final body weight (FW), weight gain (WG), daily weight gain (DWG), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER), and feed conversion ratio (FCR) showed significant improvements in all groups supplemented with curry plant extract compared to the control group ($p < 0.05$). Growth performance indicators, including FW, WG, DWG, SGR, and PER, displayed a nonlinear, quadratic increase with higher dietary levels of curry plant extract. Similarly, FCR values improved quadratically with increasing CP extract doses. Additionally, elevated expressions of digestive enzymes were observed in the curry plant extract groups compared to the control group. Significant differences in gene expressions of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx), were also found between the curry plant extract and control groups ($p < 0.05$). Furthermore, the expression levels of immune-related genes, such as interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor (TNF- α), and interleukin-8 (IL-8), were significantly altered by the inclusion of curry plant extract in the diet ($p < 0.05$). In conclusion, this study provides experimental evidence that supplementing the diet of rainbow trout with curry plant extract can positively affect healthy growth parameters.

Keywords: Curry plant, growth, extract, phenolic compound, antioxidant

TEŞEKKÜR

Uzun süre sonra çok sevdiğim bölümümde yüksek lisans eğitimimi yapmaya başladım. Öğrendiklerimle bilgimin arttığı çok verimli bir süreç yaşadım. Bugün ise özveriyle hazırladığım yüksek lisans tezimi tamamlamanın heyecanını yaşıyorum.

Bu süreçte desteğini esirgemeyen, emeğini üzerimde hissettiğim danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Doğukan KAYA'ya, Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve tez çalışmasının tüm aşamalarında katkıları için Prof. Dr. Derya GÜROY (Yalova Üniversitesi) ve Dr. Öğr. Üyesi Boran KARATAŞ'a (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi) teşekkürlerimi sunuyorum. Lisans üstü eğitim döneminde verdiği güç ile değerli eşim Muharrem AYDIN'a ve bana destekleyici duruşlarıyla iyi hissettiren oğullarım Emir ve Bartu'ya teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması, “Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum, 1792)'nın Büyümesi ve Sağlık Parametreleri Üzerine Altın Otu (*Helichrysum Italicum*) ve Aynısefa Çiçeği (*Calendula Officinalis*) Bitkilerinin Etkileri” adlı ve 123O194 numaralı proje kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Ayşegül AYDIN
14/10/2024

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ÇİZELGE LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	7
3.1. Materyal.....	7
3.1.1. Canlı materyal	7
3.1.2. Araştırma yeri.....	7
3.2. Yöntem	8
3.2.1. Bitki ekstraktının hazırlanması ve içerik analizleri.....	8
3.2.2. Deneme yemlerinin hazırlanması.....	9
3.2.3. Deneme planı	13
3.2.4. Sindirim enzim aktivitesi, non-spesifik bağışıklık parametreleri ve antioksidan enzim aktivite analizleri	14
3.2.5. İstatistiki analizler	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	18
4.1. Büyüme performansı	18
4.2. Gen ifadeleri	23
4.2.1. Sindirim enzimleri ilişkili gen ifadeleri	23
4.2.2. Antioksidan enzimleri ilişkili gen ifadeleri.....	25
4.2.3. Bağışıklık gen ifadeleri	27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
6. KAYNAKLAR	32
7. ÖZGEÇMİŞ	41

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 Altın otu bitki ekstraktının fenolik bileşik konsantrasyonu	9
Çizelge 3.2 Farklı oranlarda altın otu ekstraktı katkılı yem formülasyonu	10
Çizelge 3.3 Gökkuşığı alabalığında sindirim, antioksidan ve bağışıklık ile ilişkili genlerinin ifadesini belirlemek için kullanılan primer dizileri	16
Çizelge 4.1 Farklı düzeylerde altın otu ekstraktı ilave edilmiş diyetlerle beslenen gökkuşığı alabalığının büyüme performansı	19

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 Deneme tankları	7
Şekil 4.1 Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşığı alabalığında son ağırlığı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi	20
Şekil 4.2 Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşığı alabalığında spesifik büyüme oranı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi	20
Şekil 4.3 Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşığı alabalığında protein etkinlik oranı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi	21
Şekil 4.4 Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşığı alabalığının bağırsağında sindirim enzimleriyle ilişkili gen ifade seviyeleri	24
Şekil 4.5 Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşığı alabalığının karaciğerindeki antioksidanla ilişkili gen ifade seviyeleri	26
Şekil 4.6 Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşığı alabalığının karaciğerindeki bağışıklıkla ilişkili gen ifade seviyeleri	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde konsantrasyon
°C	Santigrat
g	Gram
kg	Kilogram

Kısaltmalar

WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya genelinde en hızlı büyüyen gıda üretim sistemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (FAO, 2022). Bu hızlı büyümenin, artan gıda talebinin karşılanması ve küresel beslenme sorunlarının çözülmesi açısından önemli bir potansiyel taşıdığı düşünülmektedir (Ahmad ve ark., 2021). Bu bağlamda, birçok ülke su ürünleri tüketimini artırmaya yönelik stratejiler geliştirmektedir (Garlock ve ark., 2022). Ayrıca, gıda tedarik zincirinde yaşanabilecek olası aksaklıklara karşı geliştirilen önlemler de son yıllarda yaygınlaşmıştır. Pandemi koşulları, gıda tedarikinde dışa bağımlılığı zorlaştırmış ve gıda güvenliği konusunu daha da ön plana çıkarmıştır (Genç ve ark., 2020; Rizou ve ark., 2020). Bu durumda, yerel üretim olanaklarının değerlendirilmesi, gıda güvenliği açısından kritik bir rol oynamakta ve mevcut su ürünleri yetiştiriciliği türlerinin verimliliğinin artırılmasına yönelik çalışmalar, gelecekteki projeksiyonlarda önemli bir yer tutmaktadır.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde yerel kaynaklarla elde edilen fonksiyonel yem katkı maddelerinin, insan beslenmesi için gerekli gıdanın üretiminde anahtar bir rol oynayabileceği öngörülmektedir (Dawood ve ark., 2018). Özellikle balık yemi sektöründe kullanılan katkı maddelerinin büyük bir kısmı ithal edilmekte olup, maliyetleri oldukça yüksektir. Türkiye florasında bulunan ve ekonomik açıdan daha uygun bitkilerin ekstrakte edilerek besleyici ve katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi, bu sorunun aşılmasında önemli bir adım olarak görülmektedir. Türkiye'nin 11. Kalkınma Planı çerçevesinde, su ürünleri yetiştiriciliğinde üretim ve ihracatın artırılması hedeflenmiştir. Bu kapsamda, yeni yetiştiricilik alanlarının belirlenmesi, devlet desteği ile üretimin teşvik edilmesi, ürün çeşitliliği ve uluslararası rekabet gücünün artırılmasına yönelik çalışmaların yapılması planlanmıştır.

Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üretimi, dünya genelinde önemli bir yer tutmaktadır. 2022 yılında küresel üretim 1.004.299 ton olarak kaydedilmiştir (FAO, 2024). Türkiye, gökkuşığı alabalığı üretiminde dünyada üst sıralarda yer almakta olup, 2023 yılında toplamda 221.046 ton üretim gerçekleştirilmiştir (TUIK, 2024). Bununla birlikte, ülkemizde gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde yem hammaddesi kaynaklarının sınırlılığı

dikkat çeken konular arasındadır. Bu nedenle, yemden yararlanmayı artırabilecek fonksiyonel yem katkı maddeleri son yıllarda odak noktası haline gelmiştir (Goda ve ark., 2018). Çevre dostu, toksik olmayan ve biyoaktif özelliklere sahip bu katkı maddeleri, su ürünleri yetiştiriciliğinde verimliliği artırmada önemli bir rol oynamaktadır (Vijayaram ve ark., 2022). Bu katkı maddeleri arasında tıbbi aromatik bitkiler, yemden yararlanmayı iyileştirmenin yanı sıra sağlıklı büyümeyi destekleyerek, bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler sunmaktadır (Awad & Awaad, 2017).

Altın otu (*Helichrysum italicum*), Asteraceae familyasına ait bir bitki olup, dünya genelinde süs bitkisi olarak yetiştirilmekte ve çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle alternatif tıp ve gıda sanayisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Viegas ve ark., 2014; Kramberger ve ark., 2021). Altın otunun, antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiinflamatuvar ve antiproliferatif aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Maksimovic ve ark., 2017; Ninčević ve ark., 2019). Ayrıca, bu bitkinin karaciğer ve safra problemleri, sindirim bozuklukları ve yara iyileşmesi üzerine pozitif etkilerini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Redžić, 2007; Benítez ve ark., 2010). Altın otunun tüm bu faydalı etkileri dikkate alındığında, balık yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmasının, sağlıklı büyümeyi teşvik edebileceği öngörülmüştür. Bu tez çalışmasında, altın otu bitki ekstraktının gökkuşağı alabalığında fonksiyonel yem katkısı olarak kullanım potansiyeli incelenmiştir.

Tıbbi aromatik bitki ekstraktlarının yem katkısı olarak kullanılması, su ürünleri yetiştiriciliğinde hem bilimsel hem de ekonomik açıdan yararlı kabul edilmektedir. Gökkuşağı alabalığının sağlıklı büyüme performansını ve üretim verimliliğini artırmaya yönelik çalışmalar, sürdürülebilirlik açısından büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışması ile Türkiye’de uzun yıllardır yetiştirilen gökkuşağı alabalığında, altın otu ekstraktının yem katkısı olarak kullanılmasıyla üretim veriminin artırılması amaçlanmıştır. Hipotez olarak, altın otu ekstraktının yem katkısı olarak kullanımının, gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde pozitif etki yaratacağı öne sürülmüş ve bu çalışma ile ilk kez test edilmiştir.

Tez çalışmasının temel araştırma sorusu, gökkuşağı alabalığının yetiştiricilik veriminin nasıl artırılacağı üzerinedir. Bu sorunun dayandığı temel nokta, bu türün su ürünleri

sektöründe sürdürülebilirliğini sağlamak ve uluslararası rekabet gücünü artırmaktır. Tez çalışmasında, altın otu bitkisi ekstrakte edilerek fonksiyonel yem katkısı olarak kullanılmış ve bu bağlamda gökkuşağı alabalığında büyüme performansı, sindirim enzim aktivitesi, antioksidan aktivite ve bağışıklıkla ilişkili gen ifade düzeyleri incelenmiştir.



2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Türkiye’de iç sularda yetiştiriciliği en fazla yapılan tür gökkuşağı alabalığıdır. Yıllar içerisinde artan pazar talepleri ve elde edilen deneyimler sayesinde Türkiye, gökkuşağı alabalığı üretiminde Avrupa’da lider konuma gelmiştir (FAO, 2024). Ancak yoğun üretim koşulları, bulaşıcı hastalıklar ve buna bağlı verim kayıpları gibi riskleri de artırmıştır. Balık sağlığını korumak amacıyla sürdürülebilir stratejiler kapsamında ek önlemler almak oldukça önemlidir. Son dönemde, yemlerde kimyasal ilaçlar yerine tıbbi aromatik bitkilerin tercih edilmesine yönelik bilinçlenme kayda değer bir şekilde yükselmiştir. Bu bitkilerin ekstraktları, antiviral, antibakteriyel ve antifungal gibi özellikler taşıdıkları için yem katkı maddesi olarak kullanıldıklarında sağlıklı büyümeyi desteklemeleri nedeniyle öne çıkmaktadır (Reverter ve ark., 2017). Nitekim, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), balık yetiştiriciliğinde hastalıkların önlenmesi veya kontrol altına alınması amacıyla doğal immün uyarıcıların kullanılmasını teşvik etmektedir (Beltrán & Esteban, 2022). Bu çerçevede antibiyotik kullanımının azaltılması gerektiği vurgulanmaktadır. Türkiye’de gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliğinde, çevresel koşullar ve hastalıklardan kaynaklanan kayıpların yaşandığı ve bu kayıpları azaltmak amacıyla antibiyotik kullanımının sürdürüldüğü bilinmektedir. Ancak, yıllardır kullanılan antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç gelişmiş ve bu durum hastalık kontrolünde sorunlara yol açmaktadır.

Yetiştiricilikte kullanılan yem, balıkların sağlıklı gelişimini doğrudan etkiler (Craig ve ark., 2017). Son yıllarda, su ürünleri yetiştiriciliğinde tıbbi aromatik bitki ekstraktlarının yemlerde kullanımına yönelik ilgi artmış ve bu alandaki bilimsel çalışmalar hız kazanmıştır (Hernández-Contreras & Hernández, 2020; Slimestad ve ark., 2022; Yılmaz ve ark., 2024). Bu bitki ekstraktlarında bulunan bileşikler, yetiştiricilik ortamındaki patojenler ve bağırsak mikrobiyotası üzerinde doğrudan etkiler göstermenin yanı sıra, metabolizma, oksidatif durum ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu tepkiler uyandırmaktadır (Anastasiou ve ark., 2019; Pastorino ve ark., 2022). Bununla birlikte, son yirmi yılda küresel çapta büyüyen yetiştiricilik sektörü için bulaşıcı hastalıklara karşı riskleri azaltmak zorunlu hale gelmiştir.

Balıklarda doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olan lökositler tarafından üretilen ilk sitokin grubu interlökinlerdir (Secombes ve ark., 2011). Bu interlökinler, hücrelerin aktivasyonuna bağlı olarak antiinflamatuvar özellikler gösterirler. Antiinflamatuvar interlökinler, hücre içi patojenlerle mücadele etmek için sinerjistik olarak çalışmaktadır (Baba ve ark., 2018). İnterlökinler arasında IL-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi proteinler, balık bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynar, hematopoezi düzenler, immün hücre farklılaşmasını ve bulaşıcı hastalıklara karşı direnci modüle eder (Secombes ve ark., 2011). Çeşitli çalışmalar, farklı tıbbi aromatik bitkilerin ve türevlerinin, biyoaktif bileşikleri sayesinde bu interlökinlerin salgılanmasını artırmak amacıyla balık yetiştiriciliğinde potansiyel kullanımını rapor etmiştir (Awad ve ark., 2019; Mehrabi ve ark., 2019; Shekarabi ve ark., 2021). Bu tür fonksiyonel yem katkı maddelerinin kullanımı, patojen mikroorganizmaların kontrol altına alınması, yemden yararlanmanın iyileştirilmesi ve hastalıklara bağlı ilaç kullanımının azaltılması bakımından pek çok araştırmanın odağında yer almıştır (Adel ve ark., 2015; Nhu ve ark., 2019; Mansour ve ark., 2023).

Gökkuşığı alabalığı üzerinde yapılan araştırmalarda, Asteraceae familyasına ait karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitkisinin ekstraktının, balıklarda humoral ve deri mukozal bağışıklık parametrelerini artırdığı ve bağışıklıkla ilgili genlerin ifade düzeylerini yükselttiği belirlenmiştir (Shekarabi ve ark., 2021). Mostafavi ve ark., (2022), karahindiba (*Taraxacum officinale*) ekstraktının yemde kullanılması durumunda gökkuşığı alabalıklarında büyüme performansının, hematolojik parametrelerin ve sindirim enzimi aktivitesinin arttığını, büyüme genlerinin ifade düzeylerinin iyileştiğini bildirmiştir. Salem ve ark., (2021) ise, karahindiba (*Taraxacum officinale*) ekstraktının yem katkısı olarak kullanılmasının oksidatif stresi azaltarak balıkların yem dönüşümünü iyileştirebileceğini kaydetmişlerdir. Karahindiba (*Taraxacum officinale*) ekstraktının diyetle takviyesinin, yaladerma balıklarında (*Trachinotus ovatus*) büyüme performansını ve bağışıklık parametrelerini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Tan ve ark., 2017). Araştırmacılar, aynı balık türünde yapılan diğer bir çalışmada, bu ekstraktın bağırsak morfolojisini iyileştirdiğini, sindirim ve emilim süreçlerini artırdığını ve antioksidan enzim aktivitelerini yükselterek bağırsak antioksidan yeteneklerini geliştirdiğini bildirmişlerdir (Tan ve ark., 2018). Asteraceae familyasından akpelin (*Artemisia arborescens*) bitkisinin yem katkısı

olarak kullanılmasının, ipura (*Sparus aurata*) balığında büyüme performansı, bağışıklık yanıtı ve kan parametreleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı rapor edilmiştir (Tzortzatos ve ark., 2024). Gholamhosseini ve ark., (2021) tarafından yapılan çalışmada ise, tarhun (*Artemisia durunculus*) katkılı diyetle beslenen gökkuşağı alabalıklarında çeşitli fizyolojik parametrelerin pozitif yönde etkilendiği, büyüme performansının, kan biyokimyasal parametrelerinin ve bağışıklık tepkilerinin iyileştiği belirlenmiştir. Farklı bitkisel ekstraktların gökkuşağı alabalığı (Shaluei ve ark., 2017; Moghanlou ve ark., 2018; Bilen ve ark., 2020; Zeilab Sendijani ve ark., 2020; Mirghaed ve ark., 2020; Yousefi ve ark., 2021; Trout, 2023), lagos (Sun ve ark., 2019), tilapya (Sadek, 2020) ve sazan (Chelemal Dezfoulnejad & Molayemraftar, 2022) gibi balıklarda sağlıklı büyümeyi desteklediği ve fonksiyonel özellikler taşıdığı da önceki araştırmalarda gösterilmiştir. Ancak, altın otu bitki ekstraktının balıklar üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yukarıda belirtilen çalışmalar, bitkisel ekstraktların balık yetiştiriciliğinde sağlıklı büyümeyi destekleyici etkilerini ortaya koymaktadır. Mevcut tez çalışmasında ise, Türkiye florasında yer alan Asteraceae familyasından bir tıbbi aromatik bitkinin ekstraktı kullanılmıştır. Bu tez çalışması, içerik ve kapsam açısından önceki araştırmalardan farklı ve özgün bir özellik taşımaktadır. Sonuç olarak, altın otu bitkisinin içeriğindeki biyoaktif bileşenler nedeniyle balık yetiştiriciliğinde fonksiyonel özellikler gösterebileceği değerlendirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Canlı materyal

Araştırmada başlangıç ortalama canlı ağırlığı $15,84 \pm 0,05$ g olan toplam 240 adet gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır.

3.1.2. Araştırma yeri

Araştırma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (TOGÜ) Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi (GUTAM) bünyesindeki balıkçılık biriminde gerçekleştirilmiştir. Bu birime, üniversite yerleşkesi içinde bulunan üç ayrı doğal kaynak suyu sürekli olarak sağlanmaktadır. Deneme için, birimde bulunan 200 litre hacmindeki 12 silindirik tank kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneme tankları

Denemede kullanılan diğer materyaller:

-Oksijenmetre: Denemede günlük olarak suda çözünmüş oksijen konsantrasyonu ve su sıcaklık değerlerinin ölçülmesi için kullanılmıştır (YSI® 556, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA).

-pH metre: Denemede suyun günlük olarak pH konsantrasyonunun ölçülmesi için kullanılmıştır (YSI®, YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA).

-Terazi: Canlı ağırlık ölçümlerinin yapılması amacıyla kullanılmıştır (Radwag marka PS 360.R2 model 0,01 g hassasiyete sahip).

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki ekstraktının hazırlanması ve içerik analizleri

Altın otu bitkisi Van YYÜ Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi'nden sağlanmıştır. Bitkinin ekstraksiyonu Karataş ve ark., (2020) ve Ghafarifarsani ve ark., (2022)'nin metotlarına bazı değişiklikler ile gerçekleştirilmiştir. Taze bitkiler, öncelikle damıtılmış suyla iyice yıkanmış ve ardından oda sıcaklığında, gölgede 10 gün boyunca kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra bitkiler öğütülerek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen 100 gram bitki örneği, %96'lık 300 ml etanol ile karıştırılarak, oda sıcaklığında 24 saat boyunca orbital çalkalayıcıda 200 devir (rpm) hızında bekletilmiştir. Elde edilen karışım, katı maddelerden ayrıştırılmak amacıyla steril tülbent bezinden süzülmuş, ardından 3000 devir (rpm) hızında 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Son aşamada, süzüntü Whatman filtre kâğıdından (Whatman Paper, No. 1) geçirilmiş ve organik çözücü, bir evaporatör yardımıyla uzaklaştırılarak saf ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, kullanıma kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Yemlere eklenmeden önce, ekstrakt dondurularak kurutulmuştur. Dondurularak kurutma işlemi, standart bir laboratuvar ölçekli liyofilizatörde (Christ Alpha 2-4 LD Plus) -60°C'de ve 10 Pa basınçta, nem içeriği %8-10 seviyelerine ulaşana kadar gerçekleştirilmiştir. Sonrasında kurutulan örnekler, yemlere ilave edilene kadar -20°C'de saklanmıştır.

Altın otu bitkisinin fenolik bileşik konsantrasyonlarının analizi, Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM, Erzurum,

Türkiye) tarafından gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım, LC-MS/MS cihazı (Agilent 6460 Triple Quad LC-MS/MS with 1290 Infinity UPLC system) ve C18 kolonu (Reversed Phase C18 Column) kullanılarak yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 30°C olarak sabitlenmiştir. Mobil faz olarak, formik asit içeren ultra saf su (Mobil faz-A) ve formik asit içeren asetonitril (Mobil faz-B) kullanılmıştır. Çözücü akış hızı 0.4 mL/dakika olarak ayarlanmış ve enjeksiyon hacmi 5 µL olarak belirlenmiştir.

Altın otu bitki ekstraktının fenolik bileşik konsantrasyonları Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Altın otu bitki ekstraktının fenolik bileşik konsantrasyonu

Bileşik	Konsantrasyon (ng/mL)
Chlorogenic Acid	49331.11
Quinic Acid	12392.32
Quercetin	9039.10
Fumaric Acid	2496.05
Caffeic Acid	1062.88
Vanillic Acid	732.04
4-OH-Benzoic Acid	628.18
Syringic Acid	537.90
Gallic Acid	224.59
Ferulic Acid	75.04
Isorhamnetin	72.28
p-Coumaric Acid	39.60
Rosmarinic Acid	20.52
Peonidin-3-o-glucoside	18.19
Cyanidin-3-o-glucoside	8.18

3.2.2. Deneme yemlerinin hazırlanması

Gökkuşığı alabalığı için uygun besin içeriklerine sahip yemler, Yalova Üniversitesi Yem Üretim Laboratuvarı'nda hazırlanmıştır (Hardy, 2002; NRC, 2011). Deneme sürecinde kullanılan tüm yemler, %48 protein ve %18 lipid içeriğine sahip olacak şekilde formüle

edilmiştir. Yemlerin yapımında balık unu, soya protein konsantresi, soya küspesi unu, kolajen, mısır glütenu, pirinç protein konsantresi ve buğday unu hammaddeler olarak kullanılmıştır. Hazırlanan yemlere, altın otu bitki ekstraktı farklı oranlarda (0.5, 1 ve 2 g/kg) ilave edilmiştir. Deneme yemlerinde kullanılan hammaddeler, ince un haline getirilmek üzere bir değirmenden geçirilmiş (<100-150 µm) ve ardından laboratuvar tipi mikserde karıştırılarak hamur kıvamına getirilmiştir. Elde edilen karışım, soğuk ekstrüde pelet makinesi kullanılarak 2 ve 3 mm çapında peletler haline getirilmiştir. Peletleme işleminden sonra, peletler jelatinleştirilmek amacıyla basınçlı bir buhar pişiricisinde 1 atmosfer basınç altında 20 dakika süreyle pişirilmiştir. Bu işlem sonrasında, yemler 40°C’de sabit bir nem oranı sağlamak amacıyla kurutulmuştur. Denemede kullanılan yem formülasyonları Çizelge 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Farklı oranlarda altın otu ekstraktı katkılı yem formülasyonu (% kuru madde)

Hammaddeler (%)	Kontrol	AO05	AO01	AO02
Balık unu	30	30	30	30
Soya protein konsantresi	11	11	11	11
Soya küspesi unu	23	23	23	23
Kolajen	1.5	1.5	1.5	1.5
Mısır glüten	4	4	4	4
Pirinç protein konsantresi	5	5	5	5
Buğday unu	10	9.95	9.9	9.8
Balık Yağı	14.4	14.4	14.4	14.4
Vitamin-Mineral premiks	1	1	1	1
Vitamin C	0.1	0.1	0.1	0.1
Altın otu ekstraktı	0	0.05	0.1	0.2
Toplam	100	100	100	100
Nem	8.12	8.56	8.42	8.68
Protein	48.06	48.13	48.04	48.21
Lipit	18.08	18.16	18.06	18.12
Kül	7.71	7.75	7.85	7.81
Selüloz	2.05	2.11	2.09	2.18
Azotsuz öz madde ^a	24.01	23.85	23.96	23.68

^aAzotsuz öz madde: 100-(Protein+Lipit+Kül+Selüloz)

Besin madde bileşen analizleri (hammadde ve yem): Deneme için kullanılan hammaddeler ve yemlerin kuru madde, protein, yağ, kül ve selüloz düzeyleri AOAC (2000)'e göre analiz edilmiştir.

Analizler için aşağıda yer alan metotlar uygulanmıştır.

Nem: Örnekler, tartıldıktan sonra fan destekli bir etüvde 105 °C'de sabit ağırlığa ulaşana kadar kurutulmuştur. Örneklerin nem yüzdesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

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

Ham Protein İçeriğinin Saptanması: Örneklerin protein içeriği, Kjeldahl metodu ile tespit edilmiştir. Kjeldahl azot tayini, aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

Örnekten 0,5 gram alınarak Kjeldahl sindirim tüplerine yerleştirilmiş, ardından tüplere 1 adet Kjeldahl katalizör tableti ve 15 mL sülfürik asit (H₂SO₄) eklenmiştir. Sindirim işlemi Behr sindirim bloğunda gerçekleştirilmiştir. Tüpler, önce 250°C'de 30 dakika, ardından 380°C'de 75 dakika süreyle ısıtılarak yakılmıştır. Sindirim sonrası soğutulan örnekler, Behr S3 distilasyon ünitesinde distile su ve nötrale edilmiş %40'lık sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile seyreltilmiştir.

Elde edilen inorganik amonyum, 25 mL doymuş orthoborik asit çözeltisine metilen kırmızısı ve yeşili içeren bir indikatör eklenerek toplanmıştır. Daha sonra örnekler, 0,1 molar hidroklorik asit (HCl) ile titrasyon edilmiştir.

Kuru örneklerdeki protein yüzdesi ise şu şekilde hesaplanmıştır:

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

$$0,1 = \text{HCl mol olarak değeri}$$

$$14.007 = \text{Nitrojenin molekül kütlesi}$$

6.25 = Örneğin nitrojen ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi belirleyen sabit katsayı

Ham Yağ İçeriğinin Saptanması: Örneklerin yağ içeriği, otomatik yağ tayin cihazında soksalet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. İşlem adımları aşağıda verilmiştir:

-Örnek Hazırlığı: 3 gram kuru madde tartılmış ve soksalet kartuşuna yerleştirilmiştir.

-Ekstraksiyon: Örnek, 50 mL petrol eteri ile 40 dakika süreyle sifonlama işlemine tabi tutulmuştur. Petrol eteri, örnekteki yağları çözerek bir yağ baloncuğunda toplanmıştır.

-Sirkülasyon: Sifonlama işleminin ardından, yaklaşık 70 dakika süresince petrol eterinin sirkülasyonu devam etmiştir.

-Son Ekstraksiyon: Bu periyodun sonunda, örnek tekrar sifonlanmış ve yağ baloncuğunda geriye kalan çözelti buharlaşma yoluyla uzaklaştırılmıştır.

-Ağırlık Ölçümü: Yağ baloncuğundaki ağırlık değişimi, örneğin yağ içeriğini belirlemek için kullanılmıştır.

Kuru maddedeki yağ oranı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Ham Yağ} = \text{Yağ Balonunda Biriken Yağ Miktarı (g)} / \text{Örnek Ağırlığı (g)} \times 100$$

Ham kül içeriğinin saptanması: 500 mg kuru örnek tartılmış ve bir porselen kaba konarak kül fırınında 525°C'de 8 saat yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Porselen kapların ağırlık değişimi üzerinden örneğin kül içeriği aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ham Kül İçeriği} = \text{Porselen Kaptaki Ağırlık Değişimi, gr} / \text{Örnek Ağırlığı, gr} \times 100$$

Ham selüloz tayini: 1 g kuru örnek 250 mL'lik bir beherde tartılarak üzerine 100 mL %1,25'lik Sülfürik asit (H₂SO₄) ilave edilmiş ve ısıtıcı üzerinde kaynatılmıştır. Kaynama sonrası, karışıma 10 mL %28'lik Potasyum Hidroksit (KOH) çözeltisi eklenerek 30 dakika süreyle kaynatmaya devam edilmiştir. Kaynatılan örnekler sıcak olarak süzölmüş ve üzerlerine 10 mL %1'lik Sülfürik asit (H₂SO₄), sıcak saf su, 10 mL %1'lik Sodyum

Hidroksit (NaOH), sıcak saf su, sonra tekrar %1'lik H₂SO₄, 2 defa sıcak su ve son olarak saf su eklenerek yıkanmıştır. Süzgeçte kalanların 105°C'lik etüvde 1,5 saat kurutulması ve daha sonra desikatörde soğutularak tartımı yapılmıştır. Bu ilk tartım sonrası, kalıntılar 550°C'lik kül fırınında 30 dakika yakılarak, desikatörde soğutmaya alınmış ve sonrasında tartılmıştır. Bu ikinci tartım sonrası ise aşağıda verilen formülden yararlanılarak ham selüloz miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Selüloz (\%)} = \frac{\text{Birinci Tartım} - \text{İkinci Tartım}}{\text{Örnek Ağırlığı}} \times 100$$

3.2.3. Deneme planı

Deneme planına göre, yemde 0.5, 1 ve 2 g kg⁻¹ seviyelerinde altın otu ekstraktı katkılı yemler ile katkı maddesi içermeyen kontrol grubuna ait yemlerle beslenen balıkların yetiştiricilik performansları karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Deneme tanklarına sürekli su girişi sağlanmıştır. Her tankta 20 adet balık kullanılarak, tesadüf parselleri deneme düzeninde üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen bu deneme, doyana kadar (ad libitum) yemleme yöntemiyle yürütülmüştür. Deneme süresince 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık fotoperiyot uygulanmış, yemleme günlük olarak 08:00, 13:00 ve 18:00 saatlerinde üç kez yapılmıştır. Deneme, toplam 60 gün sürmüştür. Deneme boyunca, su sıcaklığı, pH (YSI EcoSense) ve çözünmüş oksijen (YSI Pro 20) düzeyleri, optimum aralıkların sağlanması için günlük olarak ölçülmüş ve bu değerler sırasıyla 15.4±0.3°C, 7.3±0.2, ve 7.4±0.3 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir. Denemenin başlangıcında ve sonunda, tüm balıklar bireysel olarak tartılarak büyüme parametreleri belirlenmiştir. Denemenin sonunda, sindirim enzim aktivitesi, non-spesifik bağışıklık parametreleri ve antioksidan enzim aktivite analizleri için her tanktan 3'er adet balık (100 mg/L Eugenol karanfil yağı ile derin anestezi uygulanarak) örnek olarak alınmıştır.

Yetiştiricilik parametreleri: Aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

$$\text{Yaşama oranı} = \left[\frac{(\text{deneme başı balık sayısı} - \text{deneme sonu balık sayısı})}{\text{deneme başı balık sayısı}} \right] \times 100$$

Canlı ağırlık kazancı = [(deneme sonu ağırlık – deneme başı ağırlık) / deneme başı ağırlık] x 100

Günlük canlı ağırlık kazancı = (Deneme sonu vücut ağırlık – Deneme başı ağırlık) / gün

Spesifik büyüme oranı = [100 x (ln deneme sonu vücut ağırlığı – ln deneme başı vücut ağırlığı)] / deneme süresi (gün)

Yem değerlendirme oranı = yem tüketimi / ağırlık kazancı

Protein verimlilik oranı = canlı ağırlık kazancı / yemden alınan toplam protein

3.2.4. Sindirim enzim aktivitesi, non-spesifik bağışıklık parametreleri ve antioksidan enzim aktivite analizleri

Sindirim enzim aktiviteleri, non-spesifik bağışıklık parametreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri gen düzeyinde moleküler testlerle belirlenmiştir. Bu amaçla, örneklenen balıklardan alınan karaciğer ve bağırsak doku örneklerinde gen ifadeleri üzerine analizler Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi laboratuvarında yapılmıştır.

RNA İzolasyonu: Denemenin sonunda, her gruptan 9 balık (her tanktan 3 balık) seçilerek, karanfil yağı (200 mg/l) ile ötenazi uygulanmıştır. Seçilen balıklardan, RNA izolasyonu için 25-50 mg karaciğer ve bağırsak doku örnekleri alınmış ve RNAlater solüsyonunda saklanmıştır. Alınan doku örneklerinden toplam RNA, DiaRex® Total RNA Extraction Kit (TR-0877-100, Diagen, Ankara, Türkiye) kullanılarak, üretici firmanın protokolüne uygun olarak ekstrakte edilmiştir. Özetle, 25 mg dokuya 600 µL LBD solüsyonu eklenmiş ve Tissuelyser LT (Qiagen) ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında, karışım 3000 rpm’de 30 saniye süreyle iki kez santrifüj edilmiş ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Supernatant, 2 mL’lik bir ependorf tüpüne alınmış ve üzerine 600 µL %99,8 etanol eklenmiştir. Bu karışım 1 dakika süreyle 8000 g (10000 rpm) hızda santrifüj edilmiş ve süpernatant, spin kolona aktarılmıştır. Daha sonra tekrar 8000 g’de (10000 rpm) 1 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından, sırasıyla 500 µL WBD-1 ve WBD-2 solüsyonları eklenmiş ve her biri 8000 g’de (10000 rpm) 1 dakika santrifüj edilerek yıkama işlemi

tamamlanmıştır. Son yıkama işleminden sonra 30 µL EBD solüsyonu eklenmiş ve 8000 g'de 2 dakika santrifüj edilerek RNA elüsyonları elde edilmiştir. İzole edilen RNA'ların miktar tayini ve saflık derecesinin belirlenmesi için nanospektrofotometre (QIAxpert) kullanılmıştır. RNA saflık derecesi, 260 nm ve 280 nm'de yapılan ölçümlerle ve (260/280) oranı ile belirlenmiştir.

cDNA Sentezi: cDNA sentezinin tüm aşamaları buz üzerinde, SuScript cDNA Synthesis Kit (RT01A026, Sugenomics, Ankara, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, elde edilen RNA örnekleri 100 nanogram/µl konsantrasyona ayarlanmıştır. Daha sonra, 6 µl RNA, 4 µl 5X RT Mix ve 10 µl DNase/RNase free su kullanılarak toplam hacim 20 µl'ye tamamlanmıştır. Bu karışım, 42 °C'de 60 dakika ve ardından 80 °C'de 10 dakika süreyle Thermal Cycler (Rotor Gene Q 9000) cihazında inkübe edilmiştir.

Gen İfadesi Analizi: cDNA ürünlerinin gen ifadesi analizi, RotorGene Q 9000 (Qiagen) cihazı ile ve 2X SuYBRGreen qPCR Master Mix (PCR01C0253, Sugenomics, Ankara, Türkiye) kullanılarak Real-Time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde β-aktin, standart gen olarak seçilmiştir. Hedef genler olarak ise SOD, CAT, GPX, IL-8, IL-1β, TNF-α, TRP, LPZ ve AML kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ve özellikleri Çizelge 3.3'te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Gökkuşuğu alabalığında sindirim, antioksidan ve bağışıklık ile ilişkili genlerinin ifadesini belirlemek için kullanılan primer dizileri

Genler	Sıra (5' to 3')	Annealing Tm (°C)	Kaynak/ Genbankası erişim numarası
β-aktin (Beta-aktin)	F:GGAGGCTCCATCTTGGCTTC R:GAAGTGGTAGTCGGGTGTGG	61	(Vazirzadeh ve ark., 2020)
TRP (Tripsin)	F: TATGTGAAGCCCATCCCGTT R: TCTGCCTCCGTCCATGTATC	59	XM_021591477
LPZ (Lipaz)	F: ATGGCAGCTTTCTCCTTCCT R: ATGGTCAGGGTGAGGTTTCAG	58	NM_001197210
AML (Amilaz)	F: ACAAGGAGCATGTGAGGGAA R: CAGGTGGTGTGAGGTTGTG	58	XM_036935172
CAT (Katalaz)	F: TGATGTGCACACAGGTGCGTA R: GTGGGCTCAGTGTGTTGAG	58	(Mousavi ve ark., 2020),
GPx (Glutasyon peroksidaz)	F: CGAGCTCCATGAACGGTACG R: TGCTTCCCGTTACATCCAC	60	(Mousavi ve ark., 2020),
SOD (Süperoksit dismutaz)	F: TGGTCCTGTGAAGCTGATTG R: TTGTCAGTCTCTGCAGTCAC	58	(Teimouri ve ark., 2019)
IL-1β (İnterlökin-1 Beta)	F: AGCAGGACTACACCAAACCG R: TCCTGATCGTAGAGGCCCAA	59	(Vazirzadeh ve ark., 2020)
TNF-α (Tümör Nekroz Faktör Alfa)	F: GGCTGTGTGGCGTTCTCTTA R: AAATGGATGGCTGCTTTCGC	58	(Vazirzadeh ve ark., 2020)
IL-8 (interlökin-8)	F: CACAGACAGAGAAGGAAGAAAG R: TGCTCATCTTGGGGTTACAGA	60	(Salem ve ark., 2022)

PCR Karışımı ve Protokolü: PCR karışımı, 12 µl toplam hacme sahip olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu karışımında 2X SuYBRGreen qPCR Master Mix (PCR01C0253, Sugenumics, Ankara, Türkiye) 12 µl, 2.5 µl Forward ve Reverse Primer, ve 4 µl H₂O eklenmiştir, toplam hacim 21 µl'ye tamamlanmıştır. Üzerine 4 µl cDNA eklenerek toplam hacim 25 µl'ye ulaşmıştır. PCR amplifikasyonu için kullanılan döngü parametreleri şu şekildedir: Önce 10 dakika boyunca 95 °C'de öndenatürasyon yapılmış, ardından 45 döngü boyunca annealing işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu döngülerde, 95 °C'de 45 saniye ve 60 °C'de 45 saniye süreyle Real-Time protokolü tamamlanmıştır. Tüm örneklerde deneysel hatayı minimize etmek amacıyla PCR reaksiyonları iki kopya halinde yapılmıştır. Gerçek Zamanlı PCR sonrasında elde edilen Ct değerlerinin normalleştirilmesi için beta-aktin referans geni kullanılmıştır. Hedef gen transkriptlerinin göreceli ifadesi, karşılaştırmalı döngü eşiği (Ct) yöntemine (2-ΔΔCt) göre hesaplanmıştır (Livak & Schmittgen, 2001).

3.2.5. İstatistiki analizler

Deneme sonunda, toplanan veriler tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki anlamlı farkları belirlemek için post hoc analiz olarak Tukey testi uygulanmıştır. Testler, anlamlılık eşiği $\alpha = 0,05$ ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. Testler öncesinde normalite ve varyans homojenliği gibi varsayımlar doğrulanmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 12 yazılım paketi kullanılarak yapılmıştır (Colman & Pulford, 2006). Yemde altın otu ekstraktının büyüme parametreleri üzerindeki doğrusal ve ikinci dereceden etkilerini değerlendirmek için doğrusal ve ikinci dereceden polinom kontrastları uygulanmış ve anlamlılık düzeyi $p < 0,10$ olarak belirlenmiştir. Bu değerlendirme, GLM prosedürü kullanılarak JMP yazılımında (versiyon 8, SAS Institute Inc., Cary, NC) gerçekleştirilmiştir. Final ağırlık, spesifik büyüme oranı ve protein etkinlik oranı parametreleri bazında balıklarda altın otu ekstraktının optimum seviyesini tahmin etmek için bir kesikli regresyon modeli kullanılmıştır (Oosterbaan, 1994).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde tıbbi ve aromatik bitkilerden biri olan altın otunun ekstrakte edilerek fonksiyonel bir yem katkı maddesine dönüştürülme olanakları incelenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, yemlere 0,5, 1 ve 2 g/kg dozlarında altın otu ekstraktı eklenmiş ve bu yemler, gökkuşığı alabalıklarına 60 gün süreyle uygulanmıştır. Deneme sonucunda, büyüme parametrelerinin yanı sıra sindirim enzimleri, antioksidan enzimler ve bağışıklık sistemi ile ilişkili gen ifadeleri belirlenmiş, elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak değerlendirilerek yetiştiricilik için kapsamlı sonuçlar ortaya konulmuştur.

4.1. Büyüme performansı

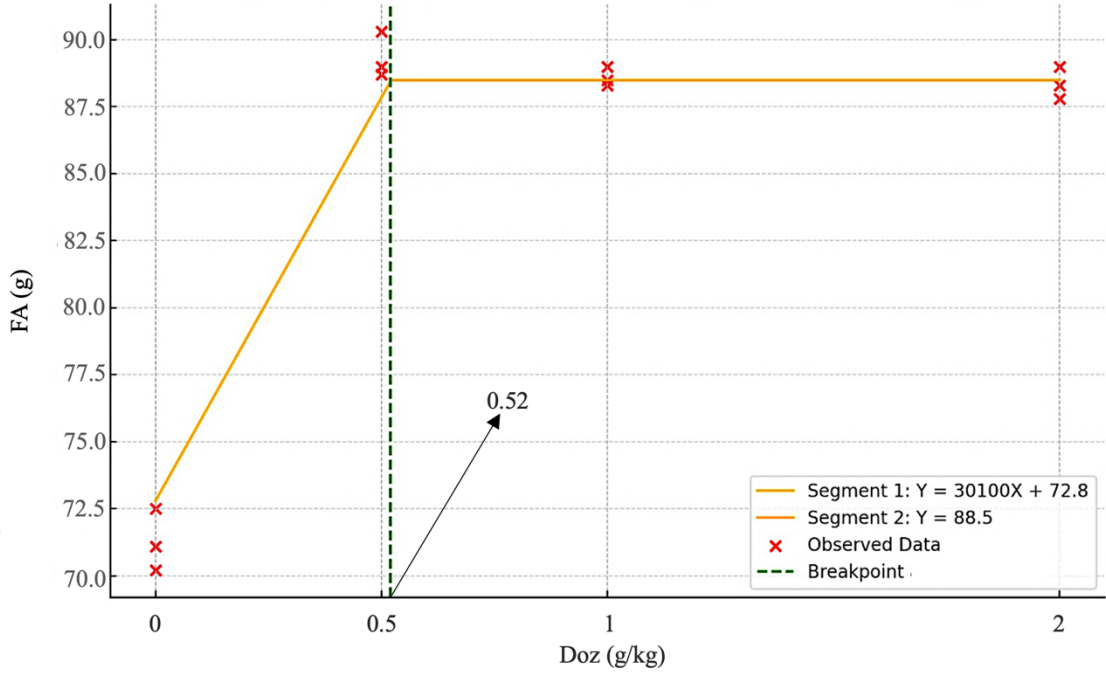
Farklı düzeylerde altın otu ekstraktı ile beslenen gökkuşığı alabalığının 60 günlük deneme sonunda belirlenen büyüme parametreleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Büyüme performansı ölçütleri, final ağırlık (FA), canlı ağırlık kazancı (CAK), günlük canlı ağırlık kazancı (GCAK), spesifik büyüme oranı (SBO) ve protein etkinlik oranı (PER), altın otu ekstraktı dozlarıyla birlikte kuadratik bir artış göstermiştir. Ayrıca, altın otu ekstraktlarıyla birlikte yem değerlendirme oranında da (YDO) kuadratik iyileşme belirlenmiştir. Altın otu ekstrakt gruplarında elde edilen FA değerleri, kontrol grubuna kıyasla daha üstün ve istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplarda elde edilen FA sonuçları, CAK ve GCAK açısından da benzerlik göstermiştir ($p<0,05$). En düşük SBO seviyeleri kontrol grubunda bulunmuş olup ($p<0,05$), altın otu ekstrakt grupları kendi aralarında benzerlik göstermiştir. PER değerleri, altın otu ekstrakt gruplarında en yüksek seviyelere ulaşmış ve kontrol grubundan farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Altın otu ekstrakt gruplarındaki YDO değerleri en düşük seviyelerde olup, en iyi sonuçları vermiş ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Deneme boyunca tanklarda ölüm gerçekleşmemiş ve tüm gruplarda hayatta kalma oranı %100 olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı düzeylerde altın otu ekstraktı ilave edilmiş diyetlerle beslenen gökkuşaağı alabalığının büyüme performansı

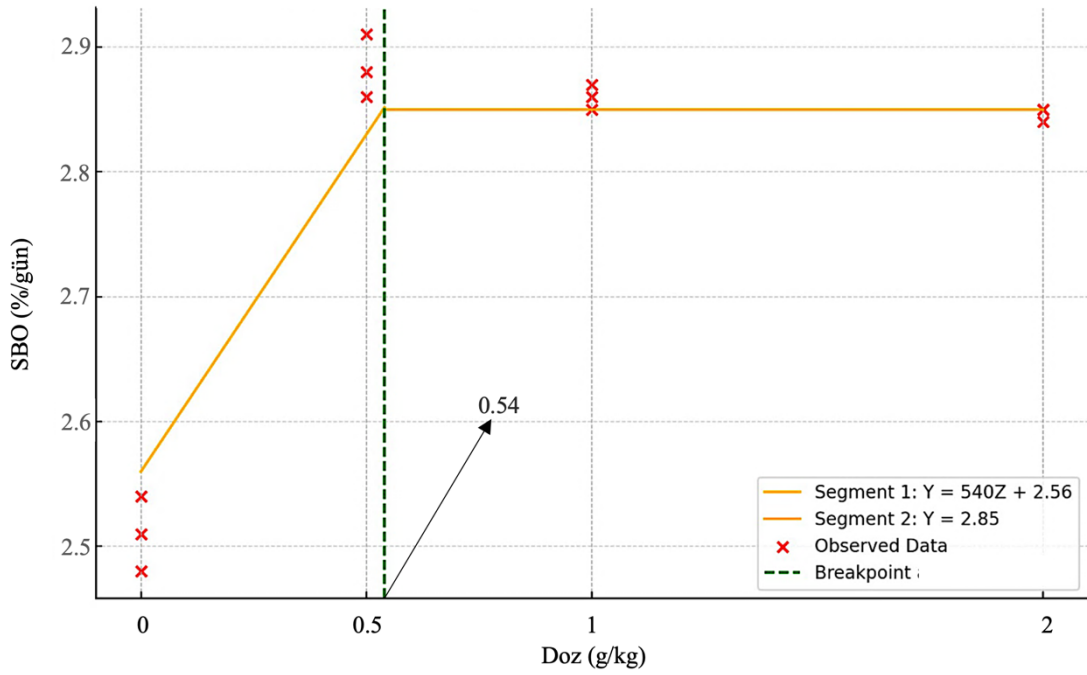
Parametre	Kontrol	AO05	AO1	AO2	P değeri	
					Lineer	Kuadratik
BA	15,82±0,02	15,83±0,04	15,90±0,02	15,84±0,03	-	-
FA	71,27±0,70 ^b	89,37±0,50 ^a	88,58±0,20 ^a	87,30±0,27 ^a	0,0001	0,0001
CAK	55,46±0,71 ^b	73,54±0,53 ^a	72,69±0,22 ^a	71,47±0,23 ^a	0,0001	0,0001
GCAK	0,93±0,01 ^b	1,22±0,01 ^a	1,21±0,00 ^a	1,19±0,01 ^a	0,0001	0,0001
SBO	2,51±0,02 ^b	2,88±0,02 ^a	2,86±0,01 ^a	2,85±0,00 ^a	0,0001	0,0001
PER	2,32±0,03 ^c	2,72±0,02 ^a	2,70±0,01 ^{ab}	2,63±0,01 ^b	0,0001	0,0001
YDO	0,90±0,01 ^a	0,76±0,01 ^b	0,77±0,00 ^b	0,79±0,00 ^b	0,0001	0,0002
YO	100	100	100	100	-	-

Veriler ortalama ± standart hata olarak sunulmuştur. Her satırdaki farklı küçük harfler, anlamlı farkları göstermektedir ($P < 0.05$). Kontrol: Bazal diyet, AO05: %0.05 altın otu bitkisi ekstraktı ilave edilmiş diyet, AO1: %0.1 altın otu bitkisi ekstraktı ilave edilmiş diyet, AO2: %0.2 altın otu ekstraktı ilave edilmiş diyet, BA: başlangıç ağırlığı (g), FA: final ağırlık (g), CAK: canlı ağırlık kazancı (g), GCAK: günlük canlı ağırlık kazancı (g), SBO: spesifik büyüme oranı (%/gün), PER: protein etkinlik oranı (%), YDO: yem değerlendirme oranı, YO: yaşama oranı (%).

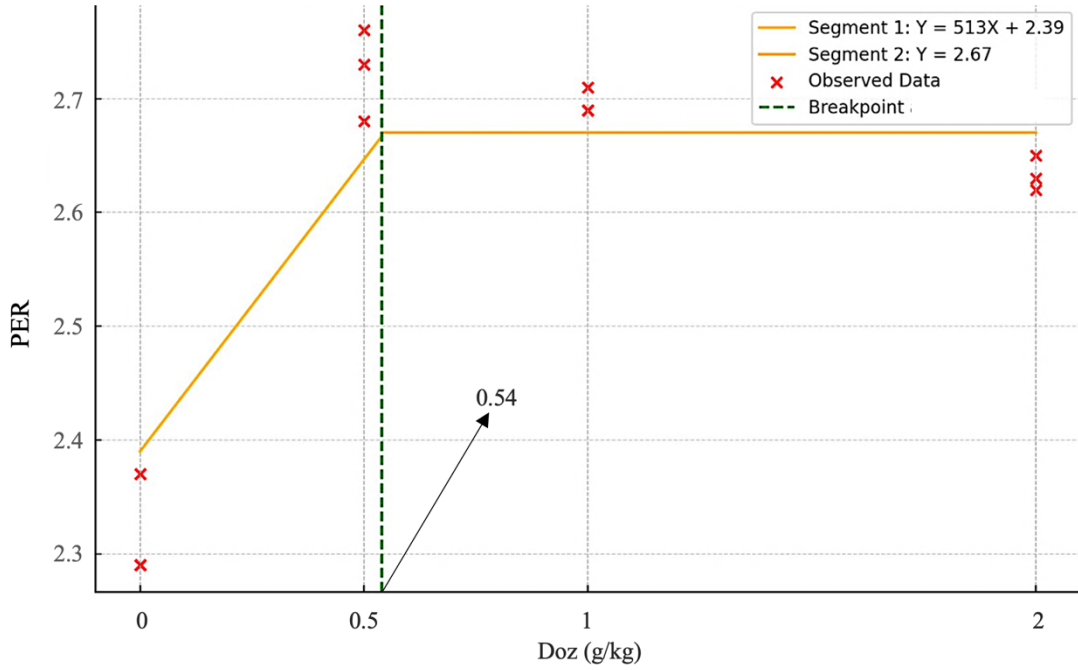
Kırık çizgi (broken-line) analizi (Şekil 4.1), yemde altın otu ekstraktının 0,52 g/kg seviyesinde balıkların son ağırlığı üzerinde optimal etkiye sahip olduğunu tahmin etmiştir. Ayrıca, SBO (Şekil 4.2) ve PER (Şekil 4.3) analizleri, yemde 0.54 g/kg altın otu ekstraktının balıkların spesifik büyüme oranı ve protein etkinlik oranı açısından en iyi sonuçları sağladığını göstermiştir. Bu eşiklerin ötesinde, verimlerde azalma gözlemlenmiştir (kırılma noktası, düğüm).



Şekil 4.1. Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşağı alabalığında son ağırlığı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi



Şekil 4.2. Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşağı alabalığında spesifik büyüme oranı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi



Şekil 4.3. Yemde altın otu bitki ekstraktı kullanımının gökkuşaağı alabalığında protein etkinlik oranı için kırılma noktalı bölümlenmiş regresyon analizi

Bu tez çalışmasında, gökkuşaağı alabalığının yeminde kullanılan altın otu ekstraktının büyüme performansını belirgin şekilde artırdığı gözlemlenmiştir. Altın otu ekstraktı ile beslenen balıklar, kontrol grubundaki balıklara kıyasla daha yüksek final ağırlığı (FA), canlı ağırlık kazancı (CAK) ve günlük canlı ağırlık kazancı (GCAK) değerleri göstermiştir. Ayrıca, bu gruplar, spesifik büyüme oranı (SBO), protein verimliliği oranı (PER) ve yem dönüşüm oranı (YDO) gibi parametrelerde kontrol grubundan üstün bulunmuştur.

Fonksiyonel yem katkı maddeleri olarak kullanılan tıbbi aromatik bitkiler, balık yetiştiriciliğinde ana rasyon bileşenleri arasında yer almamaktadır. Ancak, önceki çalışmalar, bu bitkilerle zenginleştirilmiş yemlerin balıkların büyüme performansında önemli iyileşmelere yol açtığını rapor etmiştir (Shalvei ve ark., 2017; Salomón ve ark., 2020; Gholamhosseini ve ark., 2021). Tıbbi aromatik bitki ekstraktlarının sindirim enzimlerinin salgısını artırdığı ve iştahı olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Immanuel ve ark., 2009; Rashidian ve ark., 2020). Ayrıca, bu bitki ekstraktları, balıkların büyümesini

teşvik eden ve metabolizmasını düzenleyen fenolik bileşenler açısından zengindir (Ghafarifarsani ve ark., 2022; Wangkahart ve ark., 2022).

Bu tez çalışmasında, altın otu ekstraktının fenolik bileşen analizi sonucunda 15 farklı bileşen tespit edilmiştir ve klorojenik asit, kinik asit ve kuersetin gibi önemli fenoliklerin yüksek seviyelerde bulunduğu belirlenmiştir. Klorojenik asidin bağışıklık, antibakteriyel, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler gibi çeşitli biyolojik özellikleri bulunmaktadır (Xu ve ark., 2012; Kabir ve ark., 2014; Naveed ve ark., 2018). Klorojenik asidin yem katkı maddesi olarak kullanımının, çeşitli hayvanlarda, özellikle balıklarda büyüme performansını artırdığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2022; Jin ve ark., 2023). Gökkuşığı alabalıklarında 600-800 mg/kg klorojenik asit diyet takviyesinin final ağırlık, canlı ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranı parametrelerini iyileştirdiği rapor edilmiştir (Ghafarifarsani ve ark., 2023). Kinik asidin antioksidan, antimikrobiyal ve antiviral özellikleri, çeşitli farmakolojik çalışmalarla gösterilmiştir (Pero ve ark., 2009; Zanello ve ark., 2015; Bai ve ark., 2022). Kuersetin ise bitki ekstraktlarında yaygın olarak bulunan önemli bir fenoliktir ve antioksidan, serbest radikal temizleme, antikanser ve antiviral aktiviteler gibi çeşitli biyolojik etkileri bulunmaktadır (Ross & Kasum, 2002). Kuersetin katkılı diyetler, tilapia (Zhai & Liu, 2013) ve sazan (Xu ve ark., 2019) gibi balıklarda büyüme performansını iyileştirmiştir.

Önceki çalışmalarda, bilinen biyoaktif özelliklere sahip çeşitli tıbbi aromatik bitki ekstraktlarının yem katkı maddesi olarak test edilmesiyle olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Gökkuşığı alabalığında %0.1, %0.5 ve %1 oranlarında civanperçemi (*Achillea millefolium* L.) ekstraktlarının kullanıldığı bir çalışmada, canlı ağırlık kazancı ve spesifik büyüme oranı değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, 30 günlük denemenin sonunda, %1 civanperçemi ekstraktı ile beslenen balıklarda yem değerlendirme oranı değerlerinde iyileşme sağlanmıştır (Bahabadi ve ark., 2014). *Artemisia dracuncululus* ekstraktlarının %0 (kontrol), %1, %2 ve %3 dozlarında yemlere eklenerek gökkuşığı alabalıklarına 8 hafta boyunca uygulandığı bir çalışmada, tüm katkı gruplarında ve özellikle %2 seviyesinde, büyüme parametrelerinin ve yaşama oranlarının arttığı bildirilmiştir (Gholamhosseini ve ark., 2021). Ayrıca, limon otu (*Melissa officinalis*) ekstraktı ile %0 (kontrol), %0.1, %0.5

ve %1 dozlarında yem takviyesi yapılan gökkuşığı alabalıklarında, final ağırlık, canlı ağırlık kazancı ve spesifik büyüme oranı değerlerinin, kontrol grubuna kıyasla %0.5 ve %1 katkılı gruplarda arttığı belirlenmiştir (Bilen ve ark., 2020).

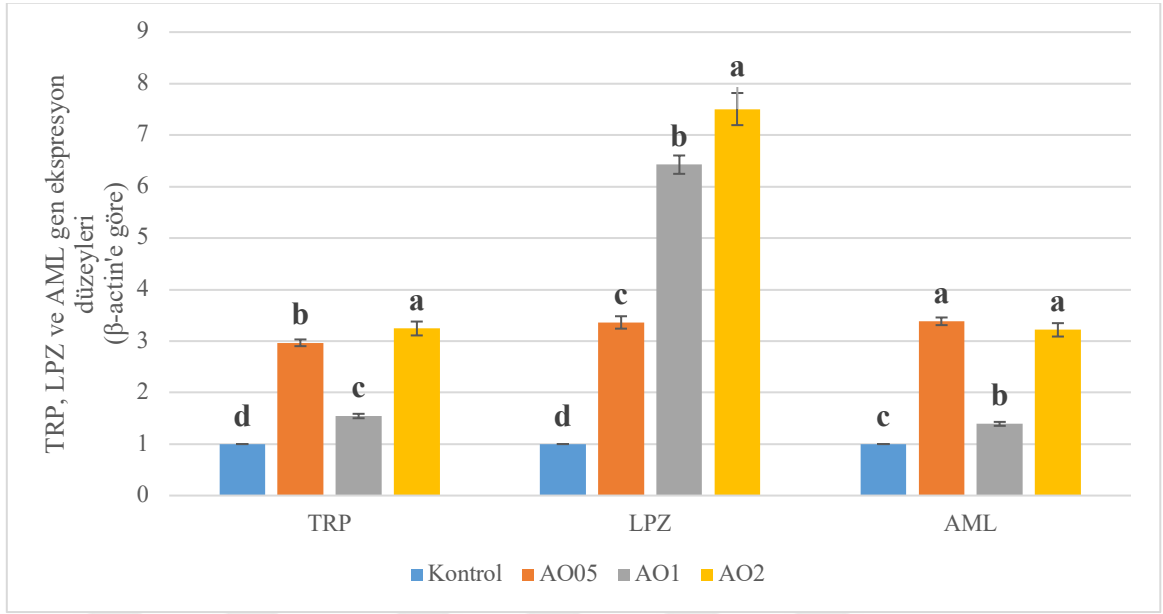
Bitkisel ekstraktlar ve fenolik bileşenlerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, altın otu ekstraktı ile takviye edilmiş diyetlerin gökkuşığı alabalığında büyümeyi destekleyici etkileri sindirim, yem kullanımı, metabolizma, antioksidan kapasite ve bağışıklık yanıtı gibi önemli fizyolojik fonksiyonlarla ilişkilendirilebilir. Bu fizyolojik fonksiyonlar balıklar için dengelendiğinde, büyüme üzerinde olumlu etkiler elde edilebileceği sonucuna varılabilir.

4.2. Gen ifadeleri

Farklı düzeylerde altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarının gen ifade seviyeleri, gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1. Sindirim enzimleri ilişkili gen ifadeleri

Gökkuşığı alabalığının bağırsağında sindirim enzimlerine ilişkin gen ifade seviyeleri Şekil 4.4'te sunulmuştur. Kontrol grubuna kıyasla, AO05 ve AO2 gruplarında TRP için ekspresyon seviyesi yüksek bulunurken, AO1 grubunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). LPZ gen ifadesi açısından, tüm gruplarda kontrol grubuna göre overekspresyon kaydedilmiştir. Bu değerler AO05 grubunda 3.5 kat, AO1 grubunda 6.5 kat ve AO2 grubunda 7.5 kat olarak ölçülmüştür ($p<0.05$). AML gen ifade seviyeleri karşılaştırıldığında, AO05 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna göre overekspresyon gerçekleşmiştir ($p<0.05$). AO1 grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0.05$).



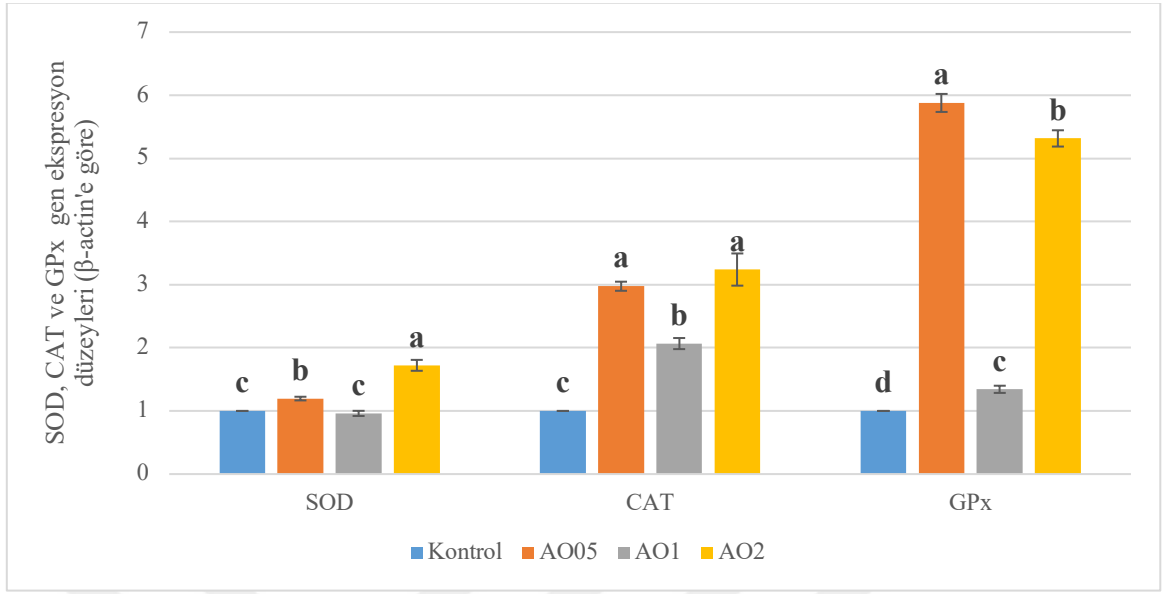
Şekil 4.4. Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşaağı alabalığının bağırsağında sindirim enzimleriyle ilişkili gen ifade seviyeleri

Bu tez çalışmasında elde edilen sindirim enzimi aktivitesi sonuçları, yemde altın otu ekstraktının, tüm gruplarda daha yüksek seviyelerde TRP, LPZ ve AML sağladığını ortaya koymuştur. Büyüme parametreleri arasında, FA, CAK, GCAK, SBO ve YDO değerleri, altın otu ekstraktı grupları arasında benzerlik göstermiştir. Sindirim enzimi aktiviteleri açısından ise en yüksek TRP değerleri sırasıyla AO2, AO05 ve AO1 gruplarında; en yüksek lipaz değerleri AO2, AO1 ve AO05 gruplarında; en yüksek amilaz değerleri ise AO05, AO2 ve AO1 gruplarında kaydedilmiştir. Bu durum, altın otu ekstraktı gruplarında artan sindirim enzimi aktivitelerinin büyüme performansını iyileştirdiğini destekleme, ancak her bir sindirim enzimi aktivitesindeki doza bağlı farklılığın büyüme üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığını da düşündürmektedir. Farklı bitki (*Quercus brantii*, *Coriandrum sativum* ve *Malva sylvestris*) ekstraktlarının sazan (*Cyprinus carpio*) yetiştiriciliğinde yem katkısı olarak incelendiği bir çalışmada, sindirim enzimi aktivitelerinin yem katkı gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, ancak büyüme parametreleri açısından yem katkı grupları arasında farklılıklar olduğu rapor edilmiştir (Raissy ve ark., 2022). Bu farklılığın, yemde farklı dozlarda uygulanan ekstraktlara karşı sindirim salgılarının değişkenlik göstermesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Bununla birlikte, tez

çalışmasında altın otu ekstraktı gruplarında gözlemlenen anlamlı şekilde iyileşmiş YDO seviyeleri, artan sindirim enzimi aktivitelerinin, kontrol grubuna kıyasla balıkların yemden yararlanmasını olumlu yönde etkilediğini de göstermektedir. Bitkisel ekstraktlar, yemin sindirimi ve emiliminde önemli işlevleri olan safra salgısını düzenleyerek sindirim enzimi aktivitesini artırabilmektedir (Bilen ve ark., 2020; Adel ve ark., 2021; Wangkahart ve ark., 2022). Bu şekilde balıklarda artan sindirim enzimi aktiviteleri, bitki ekstraktlarında bulunan fenolik bileşenler ve doğal antioksidanlarla ilişkilidir. Yemde bitkisel ekstraktların gökkuşağı alabalığında benzer mekanizmalarla sindirim enzimi aktivitelerini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Bilen ve ark., 2020; Karataş ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Adel ve ark., 2021). Benzer şekilde, bu çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda, gökkuşağı alabalığının sindirim yeteneğinin, yemde altın otu ekstraktı ile iyileştirilebileceği değerlendirilmiştir.

4.2.2. Antioksidan enzimleri ilişkili gen ifadeleri

Gökkuşağı alabalığının karaciğerindeki SOD, CAT ve GPx ile ilişkili genlerin ifade seviyeleri gruplar arasında karşılaştırılmış ve farklılıklar Şekil 4.5'te verilmiştir. SOD ifade seviyeleri, AO05 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir ($p<0.05$), ancak AO1 grubu kontrol grubuna benzer sonuçlar vermiştir ($p>0.05$). CAT seviyeleri ise tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla overekspresyon göstermiştir ($p<0.05$). GPx ile ilişkili gen ifade seviyelerinde, AO05 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış gözlenmiş olup, bu değerler sırasıyla AO05 grubunda 5.9 kat, AO2 grubunda ise 5.3 kat daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$). AO1 grubunda ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0.05$).



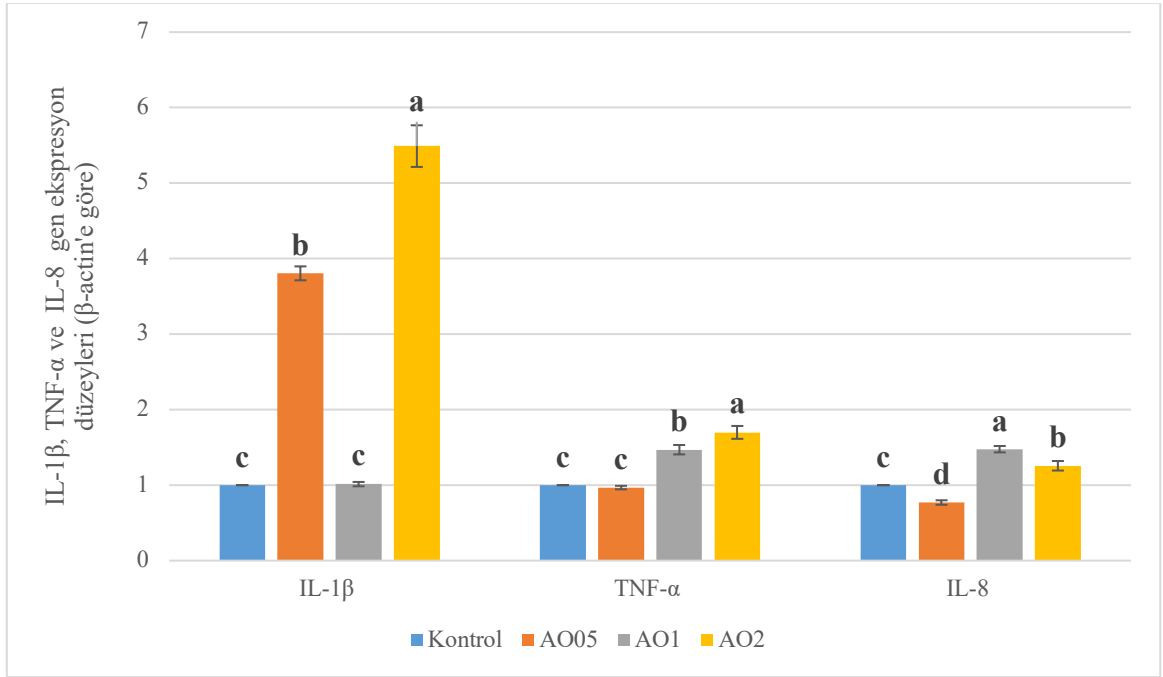
Şekil 4.5. Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğerindeki antioksidanla ilişkili gen ifade seviyeleri

Bu tez çalışması, altın otu ekstraktının yem katkısı olarak kullanılmasının gökkuşacağı alabalığında, AO1 grubu hariç olmak üzere, SOD seviyeleri dışında CAT ve GPx parametrelerinde belirgin bir artış sağladığını ortaya koymuştur. SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimler, organizmanın oksidatif stres sonucu oluşabilecek doku hasarlarına karşı korunmasında kritik bir rol oynar (Ghafariarsani ve ark., 2022). Tıbbi aromatik bitkiler, içerdikleri fenolik bileşikler sayesinde yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Węglarz ve ark., (2022), altın otu ekstraktının antioksidan etkinliğinin, özellikle güçlü antioksidanlar olan rutosid ve klorojenik asit gibi fenolik bileşiklerle ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Sato ve ark., (2011) ise klorojenik asidi, yüksek antioksidan özelliğe sahip bir polifenol olarak tanımlamıştır. Ayrıca, altın otu ekstraktının antioksidan potansiyeliyle ilgili olarak, gıda endüstrisinde oksidasyon süreçlerini önlemek amacıyla referans bileşik olarak kullanılan kuersetin bileşiğinin de önemli olduğu belirtilmiştir (Kladar ve ark., 2015). Bu çalışma kapsamında yapılan analizlerde, altın otu ekstraktında bu fenolik bileşiklerin yüksek oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bulgunun, yem katkısı yapılan gruplarda gözlemlenen antioksidan parametrelerindeki artışı açıklayabileceği düşünülmüştür. Benzer bir sonuç, Elbesthi ve ark., (2020) tarafından, klorojenik asit içeriği yüksek olan *Plantago lanceolata* ekstraktının gökkuşacağı alabalığında

antioksidan enzim seviyelerini artırabileceği şeklinde rapor edilmiştir. Yüksek fenolik içeriklere sahip bitki ekstraktlarının yem katkısı olarak kullanıldığı diğer çalışmalarda da gökkuşığı alabalığında antioksidan enzim seviyelerinin olumlu etkilendiği bildirilmiştir (Bilen ve ark., 2020; Karataş ve ark., 2020; Elbesthi ve ark., 2020; Salem ve ark., 2021; Yousefi ve ark., 2021).

4.2.3. Bağışıklık gen ifadeleri

Gökkuşığı alabalığının karaciğerindeki IL-1 β , TNF- α ve IL-8 genlerinin ifade seviyeleri Şekil 4.6'da verilmiştir. IL-1 β gen ifade seviyeleri, AO05 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla overekspresyon göstermiş ve bu seviyeler AO05 grubunda 3.8 kat, AO2 grubunda ise 5.5 kat daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). AO1 grubunda ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0.05$). TNF- α gen ifade düzeyleri incelendiğinde, AO1 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış gözlenmiştir ($p<0.05$), ancak AO05 grubu kontrol grubuna benzer sonuçlar vermiştir ($p>0.05$). IL-8 gen ifadesi, AO1 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$). AO05 grubunda ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.6. Altın otu ekstraktı katkılı yemlerle beslenen gökkuşağı alabalığının karaciğerindeki bağışıklıkla ilişkili gen ifade seviyeleri

Denemenin sonuçlarına göre, gen ifadesi düzeylerinin IL-1 β parametresi açısından AO05 ve AO2 gruplarında, TNF- α ve IL-8 parametrelerinde ise AO1 ve AO2 gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Balıkların büyümesi ve hastalıklara karşı dirençlerinin bağışıklık fonksiyonlarıyla yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Hastalıkların önlenmesi, bağışıklık yanıtlarının artırılmasıyla mümkün hale gelmektedir. Balıklarda bağışıklık tepkisi, inflamasyonla sıkı bir ilişki içindedir ve bu süreç inflamatuvar sitokinler tarafından düzenlenir (Shekarabi ve ark., 2021). İnflamasyon, doğal bağışıklık yanıtının temel bir bileşenidir ve bu nedenle inflamatuvar sitokinler, bağışıklık durumunun önemli biyobelirteçleri olarak kabul edilir (Secombes ve ark., 2011). IL-1 β , monositler ve makrofajlar tarafından üretilen ve lökositlerin çoğalmasını teşvik eden, diğer sitokinlerin salgılanmasında görev alan proinflamatuvar bir sitokindir (Low ve ark., 2003). IL-8 ise, oksidatif stres ve enfeksiyonlara karşı üretilen güçlü bir proinflamatuvar sitokindir (Seppola ve ark., 2008). TNF- α , çeşitli hücrelerden sentezlenen ve apoptoz, fagositik aktivite ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda rol oynayan çok işlevli bir sitokindir (Krakauer ve ark., 1999). IL-1 β ve IL-8 gibi interlökinler, TNF- α gibi diğer sitokinlerin

salınımını teşvik ederek bağışıklık yanıtının düzenlenmesine ve balıklarda fagositoz ve lenfosit proliferasyonunun artırılmasına katkı sağlarlar (Baba ve ark., 2018). Bitkisel ekstraktlar, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α , IL-8) ekspresyonlarını artırarak bağışıklık sistemini uyarıcı bir etki gösterebilmektedir. Yemde bitkisel ekstraktların balıklarda başlıca proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-8 genlerinin ifade seviyelerini yükseltebileceğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Ahmadifar ve ark., 2021). Örneğin, 56 gün boyunca farklı dozlarda (1, 2, 3 ve 4 g/kg) karahindiba (*Taraxacum officinale*) çiçeği ekstraktı ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında IL-1 β ve IL-8 gen ifade seviyelerinin, kontrol grubuna kıyasla tüm deneme gruplarında arttığı rapor edilmiştir (Shekarabi ve ark., 2021). Benzer şekilde, yeşil çay (*Camellia sinensis*) katkılı yemle beslenen gökkuşağı alabalıklarının IL-1 β ve IL-8 gen ifade seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir (Nootash ve ark., 2013). Bitkisel ekstraktların bu etkisi, sahip oldukları biyoaktif bileşenler aracılığıyla gerçekleşmektedir (Reverter ve ark., 2017). Bununla birlikte, bitkisel ekstraktların yemle farklı dozlarda uygulanmasının gen ifade düzeyleri üzerinde farklı etkiler yaratabileceği önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Gökkuşağı alabalığının 30 gün boyunca 0,1 g/kg *Spinosa capparis* ekstraktı ile beslenmesinin, IL-1 β ve IL-8 gen ifadelerinde anlamlı artışlar sağlarken, TNF- α gen ifadesinde fark yaratmadığı rapor edilmiştir (Bilen ve ark., 2016). Mirghaed ve ark., (2020) ise, gökkuşağı alabalığının farklı oranlarda (1, 2 ve 3 g/kg) kekik (*Zataria multiflora*) ekstraktı ile beslenmesinin ardından, artan dozlarda TNF- α ifade seviyesinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Nane (*Mentha longifolia*) ekstraktının farklı dozlarda (1, 2 ve 3 g/kg) uygulandığı başka bir çalışmada ise, artan dozların TNF- α ifadesini pozitif yönde etkilediği görülmüştür (Heydari ve ark., 2020). Bu çalışmalar, AO05 grubundaki gökkuşağı alabalıklarında TNF- α gen ifadesi düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla bir fark olmadığını, ancak AO1 ve AO2 gruplarında daha yüksek ifade seviyelerine ulaşıldığını gösteren tez çalışması sonuçlarını desteklemektedir. Önceki çalışmalar, bitki ekstraktlarının yemdeki dozajlarına bağlı olarak bağışıklık gen ifadeleri üzerinde değişen etkiler oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Mevcut tez çalışması sonuçları, altın otu ekstraktı ve kontrol grupları arasında uygulanan doza bağlı olarak farklı yanıtlar alındığını göstermektedir. Bununla birlikte, yem katkısı yapılan gruplarda proinflamatuvar sitokinlerin genel olarak yükselen ifadeleri, altın otu

ekstraktının bağışıklık tepkisini güçlendirdiğine işaret edebilir. Bu sonuçlar, altın otundaki fenolik bileşiklerin bağışıklık hücrelerinde proinflamatuvar sitokin gen ekspresyonunu uyarıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, altın otu ekstraktı katkılı yemlerin, gökkuşağı alabalığında bağışıklık sistemini güçlendirebilen bir proinflamatuvar aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, gökkuşuğı alabalığı yetiştiriciliğinde altın otu ekstraktlı yemlerin kullanım potansiyelini araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmada, farklı dozlarda ekstrakt ilaveli yemlerin alabalığın büyüme parametreleri, antioksidan ve sindirim enzim aktiviteleri ile bağışıklıkla ilişkili gen ifadeleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgular, gökkuşuğı alabalığı yetiştiriciliğinde fonksiyonel yem katkıları ile üretim verimliliğini artırma ve sürdürülebilirliği sağlama konusunda önemli bir perspektif sunmaktadır. Sektörün, yemden daha fazla faydalanma, hastalık sorunlarını profilaktik uygulamalarla azaltma ve ekonomik yetiştiriciliği mümkün kılacak yaklaşımlara ihtiyaç duyduğu açıktır. Bu bağlamda, altın otu ekstraktının sektörde kullanımı için uygun bir alternatif olabileceği öngörülmektedir.

Bu tez çalışmasında;

- Türkiye’de doğal olarak yayılım gösteren altın otu bitkisinin gökkuşuğı alabalığı yemlerinde kullanılma potansiyeli ilk kez ortaya konmuştur.
- Altın otu bitkisinin ekstrakt formunda yem katkısı olarak uygulanması sonucunda, alabalık yetiştiriciliğinde birim alandan daha fazla ürün elde edilmiştir.
- Deneme sonunda, gökkuşuğı alabalığında büyüme performansının iyileştiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında elde edilen bulguların, gökkuşuğı alabalığı yetiştiricilik sektörüne değerli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adel, M., Amiri, A. A., Zorriehzahra, J., Nematollahi, A., Esteban, M. Á. 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*), *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 841-847. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.010>
- Adel, M., Dawood, M.A., Gholamhosseini, A., Sakhaie, F., Banaee, M. 2021. Effect of the extract of lemon verbena (*Aloysia citrodora*) on the growth performance, digestive enzyme activities, and immune-related genes in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Aquaculture*, 541, 736797. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736797>.
- Ahmad, A., Abdullah, S.R.S., Hasan, H.A., Othman, A.R., Ismail, N.I. 2021. Aquaculture industry: Supply and demand, best practices, effluent and its current issues and treatment technology. *Journal of Environmental Management*, 287, 112271. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112271>.
- Ahmadifar, E., Pourmohammadi Fallah, H., Yousefi, M., Dawood, M.A., Hoseinifar, S.H., Adineh, H., Yılmaz, S., Paolucci, M., Doan, H.V. 2021. The gene regulatory roles of herbal extracts on the growth, immune system, and reproduction of fish. *Animals*, 11(8), 2167. <https://doi.org/10.3390/ani11082167>.
- Anastasiou, T. I., Mandalakis, M., Krigas, N., Vézignol, T., Lazari, D., Katharios, P., Dailianis, T., Antonopoulou, E. 2019. Comparative evaluation of essential oils from medicinal-aromatic plants of Greece: Chemical composition, antioxidant capacity and antimicrobial activity against bacterial fish pathogens, *Molecules*, 25(1), 148. <https://doi.org/10.3390/molecules25010148>
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, Assoc. Off. Anal. Chem. Int.
- Awad, E., Awaad, A. 2017. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 40-54. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.05.034>.
- Awad, E., Austin, D., Lyndon, A., Awaad, A. 2019. Possible effect of hala extract (*Pandanus tectorius*) on immune status, anti-tumour and resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Fish & Shellfish Immunology*, 87, 620-626. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.012>
- Baba, E., Acar, Ü., Yılmaz, S., Zemheri, F., Ergün, S. 2018. Dietary olive leaf (*Olea europea* L.) extract alters some immune gene expression levels and disease resistance to *Yersinia ruckeri* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology*, 79, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.063>.
- Bahabadi, M.N., Banaee, M., Taghiyan, M., Haghi, B.N. 2014. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Aquatic Biology*, 2(5), 275-285. <https://doi.org/10.22034/ijab.v2i5.138>.
- Bai, J., Wu, Y., Bu, Q., Zhong, K., Gao, H. 2022. Comparative study on antibacterial mechanism of shikimic acid and quinic acid against *Staphylococcus aureus* through

- transcriptomic and metabolomic approaches. *Lwt*, 153, 112441. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112441>.
- Beltrán, J. M. G., Esteban, M. Á. 2022. Nature-identical compounds as feed additives in aquaculture, *Fish & Shellfish Immunology*, 123, 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.03.010>
- Benítez, G., González-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J. 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 129(1), 87-105. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.016>.
- Bilen, S., Altief, T.A.S., Özdemir, K.Y., Salem, M.O.A., Terzi, E., Güney, K. 2020. Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 46, 471-481. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00737-z>.
- Bilen, S., Altunoglu, Y.C., Ulu, F., Biswas, G. 2016. Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 57, 206-212. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.040>.
- Chelema Dezfoulnejad, M., Molayemraftar, T. 2022. Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract as a growth promotor and immunostimulant in common carp, *Aquaculture Research*, 53(4), 1553-1562. <https://doi.org/10.1111/are.15690>
- Colman, A.M., Pulford, B.D. 2006. A crash course in SPSS for Windows: updated for versions 10, 11, 12 and 13, Wiley-Blackwell.
- Craig, S. R., Helfrich, L. A., Kuhn, D., Schwarz, M. H. 2017. Understanding fish nutrition, feeds, and feeding, Virginia Cooperative Extension, Yorktown, VA, USA.
- Dawood, M. A., Koshio, S., Esteban, M. Á. 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review, *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 950-974. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>
- Elbesthi, R.T.A., Özdemir, K.Y., Taştan, Y., Bilen, S., Sönmez, A.Y. 2020. Effects of ribwort plantain (*Plantago lanceolata*) extract on blood parameters, immune response, antioxidant enzyme activities, and growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 46, 1295-1307. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00790-z>.
- FAO, 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation, FAO Rome.
- Garlock, T., Asche, F., Anderson, J., Ceballos-Concha, A., Love, D.C., Osmundsen, T.C., Pincinato, R.B.M. 2022. Aquaculture: The missing contributor in the food security agenda. *Global Food Security*, 32, 100620. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2022.100620>.
- Genç, E., Kaya, D., Atalay, M. A., Kanyılmaz, M. 2020. Covid-19 Pandemisinin Su Ürünleri Sektörüne Etkileri: Kısa Değerlendirme, *Türkiye Biyoetik Dergisi*, 7(3), 162-167.
- Ghafarifarsani, H., Nedaei, S., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H. 2023. Effect of Different Levels of Chlorogenic Acid on Growth Performance, Immunological Responses,

- Antioxidant Defense, and Disease Resistance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/3679002>.
- Ghafarifarsani, H., Yousefi, M., Hoseinifar, S.H., Paolucci, M., Lumsangkul, C., Jaturasitha, S., Van Doan, H. 2022. Beneficial effects of Persian shallot (*Allium hirtifolium*) extract on growth performance, biochemical, immunological and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture*, 555, 738162. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738162>.
- Gholamhosseini, A., Hosseinzadeh, S., Soltanian, S., Banaee, M., Sureda, A., Rakhshaninejad, M., Heidari, A.A., Anbazzpour, H. 2021. Effect of dietary supplements of *Artemisia dracunculus* extract on the haemato-immunological and biochemical response, and growth performance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 52(5), 2097-2109. <https://doi.org/10.1111/are.15062>.
- Goda, A.M., Omar, E.A., Srour, T.M., Kotiet, A.M., El-Haroun, E., Davies, S.J. 2018. Effect of diets supplemented with feed additives on growth, feed utilization, survival, body composition and intestinal bacterial load of early weaning European seabass, *Dicentrarchus labrax* post-larvae. *Aquaculture International*, 26, 169-183. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0200-8>.
- Hardy, R. W. 2002. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture* (pp. 184-202), Wallingford UK: CABI Publishing.
- Heydari, M., Firouzbakhsh, F., Paknejad, H. 2020. Effects of *Mentha longifolia* extract on some blood and immune parameters, and disease resistance against yersiniosis in rainbow trout. *Aquaculture*, 515, 734586. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734586>.
- Hernández-Contreras, Á., Hernández, M. D. 2020. Application of aromatic plants and their extracts in aquaculture, In *Feed additives* (pp. 239-259). Academic Press.
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha Peter, S.M., Michael Babu, M., Palavesam, A. 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 74(7), 1462-1475. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x>.
- Jin, X., Su, M., Liang, Y., Li, Y. 2023. Effects of chlorogenic acid on growth, metabolism, antioxidation, immunity, and intestinal flora of crucian carp (*Carassius auratus*). *Frontiers in Microbiology*, 13, 1084500. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1084500>.
- Kabir, F., Katayama, S., Tanji, N., Nakamura, S. 2014. Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57, 359-365. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4056-6>.
- Karataş, T., Korkmaz, F., Karataş, A., Yildirim, S. 2020. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 26(5), 1533-1541. <https://doi.org/10.1111/anu.13100>.
- Kladar, N.V., Anačkov, G.T., Rat, M.M., Srđenović, B.U., Grujić, N.N., Šefer, E.I., Božin, B.N. 2015. Biochemical characterization of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don

- subsp. *italicum* (Asteraceae) from Montenegro: Phytochemical screening, chemotaxonomy, and antioxidant properties. *Chemistry & Biodiversity*, 12(3), 419-431. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201400174>.
- Krakauer, T., Vilcek, J., Oppenheim, J.J. 1999. Proinflammatory cytokines: TNF and IL-1 families, chemokines, TGF β and others. *Fundamental Immunology*, 775-811.
- Kramberger, K., Kenig, S., Jenko Pražnikar, Z., Kočevar Glavač, N., Barlič-Maganja, D. 2021. A review and evaluation of the data supporting internal use of *Helichrysum italicum*. *Plants*, 10(8), 1738. <https://doi.org/10.3390/plants10081738>.
- Liu, H., Chen, P., Lv, X., Zhou, Y., Li, X., Ma, S., Zhao, J. 2022. Effects of chlorogenic acid on performance, anticoccidial indicators, immunity, antioxidant status, and intestinal barrier function in coccidia-infected broilers. *Animals*, 12(8), 963. <https://doi.org/10.3390/ani12080963>.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
- Low, C., Wadsworth, S., Burrells, C., Secombes, C. J. 2003. Expression of immune genes in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed a nucleotide-supplemented diet. *Aquaculture*, 221(1-4), 23-40. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00022-X).
- Maksimovic, S., Tadic, V., Skala, D., Zizovic, I. 2017. Separation of phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An analysis of different isolation techniques and biological activity of prepared extracts. *Phytochemistry*, 138, 9-28. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.01.001>.
- Mansour, A. T., Diab, A. M., Khalil, R. H., Eldessouki, E. A., El-Sabbagh, N., Elsamannoudy, S., Younis, N. A. 2023. Physiological and immunological responses of Nile tilapia fed dietary supplementation of sweet basil ethanolic and aqueous extracts, *Frontiers in Marine Science*, 9, 2881. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1064455>
- Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Rahimi-Mianji, G., Paknejad, H. 2019. Immunostimulatory effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, 503, 330-338. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.025>
- Mirghaed, A.T., Hoseini, S.M., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H. 2020. Effects of dietary thyme (*Zataria multiflora*) extract on antioxidant and immunological responses and immune-related gene expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 502-509. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.08.002>.
- Moghanlou, K. S., Isfahani, E. N., Dorafshan, S., Tukmechi, A., Aramli, M. S. 2018. Effects of dietary supplementation with *Stachys lavandulifolia* Vahl extract on growth performance, hemato-biochemical and innate immunity parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Animal Feed Science and Technology*, 237, 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.016>
- Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Khani Oushani, A., Firouzamandi, M., Mardani, K. 2020. Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth

- performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression, *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(3), 777-786. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00716-4>
- Mostafavi, Z. S., Shekarabi, S. P. H., Mehrgan, M. S., Islami, H. R. 2022. Amelioration of growth performance, physio-metabolic responses, and antioxidant defense system in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using dietary dandelion, *Taraxacum officinale*, flower extract, *Aquaculture*, 546, 737296. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737296>
- National Research Council NRC. 2011. Nutrient requirements of Fish & shrimp, National academies press.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A.A., Khan, G.J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., XiaoHui, Z. 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10>
- Nhu, T. Q., Hang, B. T. B., Hue, B. T. B., Quetin-Leclercq, J., Scippo, M. L., Phuong, N. T., Kestemont, P. 2019. Plant extract-based diets differently modulate immune responses and resistance to bacterial infection in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*), *Fish & Shellfish Immunology*, 92, 913-924. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.025>
- Ninčević, T., Grdiša, M., Šatović, Z., Jug-Dujaković, M. 2019. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, biological activity, biochemical and genetic diversity. *Industrial Crops and Products*, 138, 111487. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111487>
- Nootash, S., Sheikhzadeh, N., Baradaran, B., Oushani, A.K., Moghadam, M.R.M., Nofouzi, K., Monfaredan, A., Aghebati, L., Zare, F., Shabanzadeh, S. 2013. Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 35(6), 1916-1923. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.030>
- Oosterbaan, R.J., 1994. Frequency and regression analysis. In: Ritzema, H.P. (Ed.), *Drainage Principles and Applications*, 16. ILRI Publication, Wageningen, pp. 175–223.
- Pastorino, P., Bergagna, S., Vercelli, C., Pagliasso, G., Dellepiane, L., Renzi, M., Barbero, R., Re, G., Elia, A. C., Dondo, A., Barcelo, D., Prearo, M. 2022. Changes in serum blood parameters in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with diets supplemented with waste derived from supercritical fluid extraction of sweet basil (*Ocimum basilicum*), *Fishes*, 7(2), 89. <https://doi.org/10.3390/fishes7020089>
- Pero, R.W., Lund, H., Leanderson, T. 2009. Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(3), 335-346. <https://doi.org/10.1002/ptr.2628>
- Raissy, M., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S.H., El-Haroun, E.R., Naserabad, S.S., Van Doan, H. 2022. The effect of dietary combined herbs extracts (oak acorn, coriander,

- and common mallow) on growth, digestive enzymes, antioxidant and immune response, and resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 546, 737287. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737287>.
- Rashidian, G., Kajbaf, K., Prokić, M.D., Faggio, C. 2020. Extract of common mallow (*Malvae sylvestris*) enhances growth, immunity, and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings against *Yersinia ruckeri* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 96, 254-261. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.018>.
- Redžić, S.S. 2007. The ecological aspect of ethnobotany and ethnopharmacology of population in Bosnia and Herzegovina. *Collegium Antropologicum*. 31(3), 869-890.
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Sasal, P., Saulnier, D. 2017. Use of medicinal plants in aquaculture. *Diagnosis and Control of Diseases of Fish & Shellfish*, 223-261. <https://doi.org/10.1002/9781119152125.ch9>.
- Rizou, M., Galanakis, I. M., Aldawoud, T. M., Galanakis, C. M. 2020. Safety of foods, food supply chain and environment within the COVID-19 pandemic, *Trends in Food Science & Technology*, 102, 293-299. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.008>
- Ross, J.A., Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 19-34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>
- Sadek, M. F. A. 2020. The effect of some dietary medicinal herbal extracts on growth performance and economic efficiency of Nile Tilapia, *Journal of Animal, Poultry & Fish Production*, 9(1), 47-54. <https://doi.org/10.21608/japfp.2020.130634>
- Salem, M.O.A., Salem, T.A., Yürüten Özdemir, K., Sönmez, A.Y., Bilen, S., Güney, K. 2021. Antioxidant enzyme activities and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with dandelion (*Taraxacum officinalis*) and lichen (*Usnea barbata*) extracts. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47(4), 1053-1062. <https://doi.org/10.1007/s10695-021-00962-5>.
- Salem, M. O. A., Taştan, Y., Bilen, S., Terzi, E., Sönmez, A. Y. 2022. Effects of white mustard (*Sinapis alba*) oil on growth performance, immune response, blood parameters, digestive and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Fish & Shellfish Immunology*, 131, 283-299. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.10.006>
- Salomón, R., Firmino, J.P., Reyes-López, F.E., Andree, K.B., González-Silvera, D., Esteban, M.A., Tort, L., Quintela, J.C., Pinilla-Rosas, J.M., Vallejos-Vidal, E., Gisbert, E. 2020. The growth promoting and immunomodulatory effects of a medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524, 735291. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735291>.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K. 2011. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403(1-2), 136-138. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035>.

- Secombes, C.J., Wang, T., Bird, S. 2011. The interleukins of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1336-1345. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.05.001>.
- Seppola, M., Larsen, A. N., Steiro, K., Robertsen, B., Jensen, I. 2008. Characterisation and expression analysis of the interleukin genes, IL-1 β , IL-8 and IL-10, in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Molecular Immunology*, 45(4), 887-897. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.08.003>.
- Shaluei, F., Nematollahi, A., Naderi-Farsani, H.R., Rahimi, R., Kaboutari Katadj, J. 2017. Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on growth performance and mucosal immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), 814-821. <https://doi.org/10.1111/anu.12448>.
- Shekarabi, S.P.H., Mostafavi, Z.S., Mehrgan, M.S., Islami, H.R. 2021. Dietary supplementation with dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract provides immunostimulation and resistance against *Streptococcus iniae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 118, 180-187. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.004>.
- Slimestad, R., Johny, A., Thomsen, M. G., Karlsen, C. R., Rosnes, J. T. 2022. Chemical Profiling and Biological Activity of Extracts from Nine Norwegian Medicinal and Aromatic Plants, *Molecules*, 27(21), 7335. <https://doi.org/10.3390/molecules27217335>
- Sun, Z., Tan, X., Xu, M., Liu, Q., Ye, H., Zou, C., Su, N., Chen, L., Wang, A., Ye, C. 2019. Effects of dietary dandelion extracts on growth performance, liver histology, immune-related gene expression and CCl₄ resistance of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀). *Fish & Shellfish Immunology*, 88, 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.031>.
- Tan, X., Sun, Z., Chen, S., Chen, S., Huang, Z., Zhou, C., Zou, C., Liu, Q., Ye, H., Lin, H., Ye, C., Wang, A. 2017. Effects of dietary dandelion extracts on growth performance, body composition, plasma biochemical parameters, immune responses and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*, *Fish & Shellfish Immunology*, 66, 198-206. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.05.028>
- Tan, X., Sun, Z., Zhou, C., Huang, Z., Tan, L., Xun, P., Huang, Q., Lin, H., Ye, C., Wang, A. 2018. Effects of dietary dandelion extract on intestinal morphology, antioxidant status, immune function and physical barrier function of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*, *Fish & Shellfish Immunology*, 73, 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.020>
- Teimouri, M., Yeganeh, S., Mianji, G. R., Najafi, M., Mahjoub, S. 2019. The effect of *Spirulina platensis* meal on antioxidant gene expression, total antioxidant capacity, and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 45(3), 977-986. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-0608-3>
- Trout, R. 2023. Effects of Dietary Medlar (*Mespilus germanica* L.) Extract on Growth Performance, Innate Immune Characteristics, Antioxidant Status, and Responses to Crowding Stress in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Nutrition*, 7613330, 13. <https://doi.org/10.1155/2023/7613330>

- TUİK, 2024. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2023-53702>. (Erişim tarihi 16 Ekim 2024).
- Tzortzatos, O. P., Toubanaki, D. K., Kolygas, M. N., Kotzamanis, Y., Roussos, E., Bakopoulos, V., Chatzopoulos, A., Athanassopoulou, F., Karagouni, E. 2024. Dietary *Artemisia arborescens* Supplementation Effects on Growth, Oxidative Status, and Immunity of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.), *Animals*, 14(8), 1161. <https://doi.org/10.3390/ani14081161>
- Vazirzadeh, A., Marhamati, A., Rabiee, R., Faggio, C. 2020. Immunomodulation, antioxidant enhancement and immune genes up-regulation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on seaweeds included diets, *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 852-858.
- Viegas, D.A., Palmeira-de-Oliveira, A., Salgueiro, L., Martinez-de-Oliveira, J., Palmeira-de-Oliveira, R. 2014. *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 54-65. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.005>.
- Vijayaram, S., Sun, Y.Z., Zuurro, A., Ghafarifarsani, H., Van Doan, H., Hoseinifar, S. H. 2022. Bioactive immunostimulants as health-promoting feed additives in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 130, 294-308. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.09.011>.
- Zeilab Sendijani, R., Abedian Kenari, A., Smiley, A. H., Esmaeili, N. 2020. The effect of extract from dill *Anethum graveolens* on the growth performance, body composition, immune system, and antioxidant system of rainbow trout, *North American Journal of Aquaculture*, 82(2), 119-131. <https://doi.org/10.1002/naaq.10123>
- Wang, F., Liu, H., Liu, F., Chen, W. 2020. Effects of Chinese yam (*Dioscorea oppositifolia* L.) dietary supplementation on intestinal microflora, digestive enzyme activity and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 51(11), 4698-4712. <https://doi.org/10.1111/are.14815>
- Wangkahart, E., Wachiraamonloed, S., Lee, P.T., Subramani, P.A., Qi, Z., Wang, B. 2022. Impacts of *Aegle marmelos* fruit extract as a medicinal herb on growth performance, antioxidant and immune responses, digestive enzymes, and disease resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 402-410. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.11.015>.
- Węglarz, Z., Kosakowska, O., Pióro-Jabrucka, E., Przybył, J.L., Gniewosz, M., Krasniewska, K., Bączek, K. B. 2022. Antioxidant and antibacterial activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. from central Europe. *Pharmaceuticals*, 15(6), 735. <https://doi.org/10.3390/ph15060735>.
- Xu, J. G., Hu, Q. P., Liu, Y. 2012. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(46), 11625-11630. <https://doi.org/10.1021/jf303771s>.
- Xu, Z., Li, X., Yang, H., Liang, G., Gao, B., Leng, X. 2019. Dietary quercetin improved the growth, antioxidation, and flesh quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(6), 1182-1195. <https://doi.org/10.1111/jwas.12663>.

- Yilmaz, S., Ergün, S., Yilmaz, E., Ahmadifar, E., Yousefi, M., Abdel-Latif, H. M. 2024. Effects of a phytogenic diet on growth, haemato-immunological parameters, expression of immune-and stress-related genes, and resistance of *Oncorhynchus mykiss* to *Lactococcus garvieae* infection. *Aquaculture*, 587, 740845. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.740845>
- Yousefi, M., Farsani, M.N., Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S.H., Van Doan, H. 2021. The effects of dietary supplementation of mistletoe (*Viscum album*) extract on the growth performance, antioxidant, and innate, immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 536, 736385. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736385>.
- Zanello, P.R., Koishi, A.C., Rezende Júnior, C.D.O., Oliveira, L.A., Pereira, A.A., de Almeida, M.V., dos Santos, C.N.D., Bordignon, J. 2015. Quinic acid derivatives inhibit dengue virus replication in vitro. *Virology Journal*, 12, 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0443-9>.
- Zhai, S. W., Liu, S. L. 2013. Effects of dietary quercetin on growth performance, serum lipids level and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Italian Journal of Animal Science*, 12(4), e85. <https://doi.org/10.4081/ijas.2013.e85>.