

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI



**NİL TİLAPİYA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) YEMLERİNE
MORİNGA OLEİFERA SULU ETHANOLİK EKSTRAKTI
EKLENMESİNİN BÜYÜME PERFORMANSINA, SİNDİRİM
ENZİMİ AKTİVİTELERİNE VE ANTİOKSİDAN ENZİM
AKTİVİTELERİNE ETKİLERİ**

ENRAIDA IMBUK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DR. ÖĞR. ÜYESİ KERİMAN YÜRÜTEN ÖZDEMİR

KASIM - 2023

KASTAMONU

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.



Enraida IMBUK

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİL TİLAPİYA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) YEMLERİNE *MORINGA OLEIFERA* SULU ETHANOLİK EKSTRAKTI EKLENMESİNİN BÜYÜME PERFORMANSINA, SİNDİRİM ENZİMİ AKTİVİTELERİNE VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİLERİ

ENRAIDA IMBUK

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:DR. ÖĞR. ÜYESİ KERİMAN YÜRÜTEN ÖZDEMİR

Bu çalışmada, *Moringa oleifera* %30'luk sulu etanolik ekstraktının Nil tilapiyasında (*Oreochromis niloticus*) büyüme parametreleri, sindirim enzimleri ve antioksidan enzim aktivitelerin üzerine etkileri araştırılmıştır. Ortalama $10,05 \pm 0,87$ g ağırlığındaki toplam 240 yavru tilapiya, üç tekerrürlü olarak akvaryumlara rastgele dağıtılmıştır. Balıklar 75 günlük deneme periyodu boyunca farklı seviyelerde (%0 (kontrol), %1 (MO1), %2 (MO2) ve %3 (MO3)) *M. oleifera* sulu etanolik ekstraktı içeren yemlerle beslenmiştir. Çalışma sonunda, %1 oranında *M. oleifera* sulu etanolik ekstraktının kullanılmasının, kontrol ve diğer deney gruplarına kıyasla son ağırlık, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yemden yararlanma ve kondüsyon faktörü gibi balık büyüme parametrelerini önemli ölçüde artırdığını tespit edilmiştir ($P < 0,5$). Visserosomatik indeksi (VSI) ve hepatosomatik indeksi (HSI) %2 *M. oleifera* ekstraktı içeren yemle beslenen grupta diğer deneme ve kontrol grubuna nispeten artmıştır ($P < 0,5$). Ayrıca, SOD, CAT, GPx ve G6PDH gibi antioksidan enzim aktiviteleri, *M. oleifera* ekstraktı içeren gruplarda kontrole göre önemli ölçüde artmıştır ($P < 0,5$). MO2 deneme grubunda MDA aktivitesi kontrol ve diğer deneme gruplarına kıyasla azalmıştır ($P < 0,5$). Ayrıca, sindirim enzimi aktivitelerinin sonuçları incelendiğinde, çalışmanın ilk aşamasında MO3 balık grubunda tripsin aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir ($P < 0,5$). Aynı zamanda, lipaz aktivitesi seviyeleri MO1 grubunda kontrol grubuna kıyasla farklı örnekleme zamanlarında artmıştır ($P < 0,5$). Çalışmanın sonunda amilaz aktivitesi MO2 grubunda kayda değer ölçüde artmıştır ($P < 0,5$). Pepsin aktivite seviyesi ise MO3 grubunda çalışmanın 60. gününde önemli ölçüde artmıştır ($P < 0,5$). Tüm bu sonuçlar, %30 oranında sulu etanolik ekstraktı olarak *M. oleifera* takviyesinin büyüme performansını, yem kullanımını ve sindirim enzimi aktivitelerini artırabileceğini göstermiştir. Ayrıca, *M. oleifera* etanolik ekstraktının diyetle dahil edilmesi Nil tilapiyasında antioksidan enzim aktivitelerini uyarabildiği tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER:Tilapiya, *Moringa oleifera*, Büyüme Performansı, Sindirim Enzimleri Aktivitesi, Antioksidan Enzim Aktiviteleri, Hepatosomatik İndeks, Viserosomatik İndeks

Kasım 2023, 59 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

EFFECTS OF *MORINGA OLEIFERA* AQUEOUS ETHANOLIC ETHANOLIC EXTRACT ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE ENZYME ACTIVITIES AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITIES IN NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

ENRAIDA IMBUK

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF AQUACULTURE

SUPERVISOR:ASSIST. PROF. DR. KERİMAN YÜRÜTEN ÖZDEMİR

In the present study, it is aimed to investigate the effects of 30% aqueous ethanolic extract of *Moringa oleifera* on growth parameters, digestive enzymes, and antioxidant enzyme activities in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). A total of 240 juvenile Nile tilapia, with an average weight of 10.05 ± 0.87 g, were randomly distributed to the aquariums in three replicates. Fish were fed with feeds containing *M. oleifera* aqueous ethanolic extract at different levels (0% (control), 1% (MO1), 2% (MO2), and 3% (MO3)) during the 75-day trial period. At the end of the study, it was determined that the use of 1% *M. oleifera* aqueous ethanolic extract significantly increased fish growth parameters such as final weight, weight gain, specific growth rate, feed efficiency ratio, and condition factor compared to the control and other experimental groups ($P < 0.5$). Viscerosomatic index (VSI) and hepatosomatic index (HSI) increased in the group fed with 2% *M. oleifera* extract compared to the other experimental and control groups ($P < 0.5$). Moreover, antioxidant enzyme activities such as SOD, CAT, GPx, and G6PDH were significantly increased ($P < 0.5$) when supplemented with *M. oleifera* extract. MDA activity in MO2 group decreased compared to the control and other experimental groups ($P < 0.5$). Additionally, when the results of digestive enzyme activities were examined, it was determined that trypsin activity increased in the MO3 group in the first stage of the study ($P < 0.5$). At the same time, lipase activity levels increased in the MO1 group compared to the control group at different sampling times ($P < 0.5$). At the end of the study, amylase activity increased significantly in the MO2 group ($P < 0.5$). Pepsin activity level increased significantly in the MO3 group on the 60th day of the study ($P < 0.5$). All these results showed that *M. oleifera* supplementation as 30% aqueous ethanolic extract could increase growth performance, feed utilization, and digestive enzyme activities. Additionally, it has been determined that including *M. oleifera* ethanolic extract in the diet can stimulate antioxidant enzyme activities in Nile tilapia.

KEYWORDS: Tilapia, *Moringa oleifera*, Growth performance, Digestive enzymes, Antioxidant Enzymes, Hepatosomatic index, Viscerosomatic index.

November 2023, 59 Page

TEŞEKKÜR

Bu yolculuğun tamamlanmasında ve tezin başarıya ulaşmasında paha biçilmez bilgisi, desteği ve rehberliği için değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Keriman Yürüten Özdemir'e teşekkür ederim. Ayrıca, ön araştırmam sırasındaki geniş bilgisi ve tavsiyeleri için Dr. Rahmi Can Özdemir'e de teşekkür etmek isterim. Onların rehberliğine sahip olmak büyük bir onurdur.

Burs kazananlardan biri olduğum için, yüksek lisans yolculuğum boyunca bana destek ve konaklama sağlayan Yükseköğretim Kurulu ve hayatımı değiştiren fırsatı başlatan kişi Prof. Dr. Renato Pacaldo'ya minnetlerimi sunuyorum.

Mindanao State Üniversitesi-Sulu'dan Şansölye Nagder J. Abdurahman'a bu fırsata yönelik sarsılmaz desteği ve sınırsız teşviki için şükranlarımı sunuyorum. Meslektaşına verdiği destek ve motivasyondan dolayı Su Ürünleri Fakültesi Dekanı Prof. Ronaldo A. Ancheta'ya da teşekkür ediyorum.

Eğitimim için sonsuz destekleri, sevgileri, duaları ve fedakarlıklarından dolayı anne ve babama en derin şükranlarımı sunuyorum. Paylaştıkları sevgi ve manevi destek için kardeşlerime, kuzenlerime, meslektaşlarıma ve dostlarıma en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

ENRAİDA IMBUK

Kastamonu, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Nil Tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Biyolojik ve Yetiştiricilik Özellikleri.....	6
2.2 <i>Moringa oleifera</i> Bitkisinin Özellikleri	8
2.3 Literatür Özeti	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Materyal	18
3.1.1 Çalışma Alanı ve Deneme Balıkları	18
3.1.2 <i>Moringa oleifera</i> Sulu Etanolik Ekstraktının Hazırlanması ve Deneme Yemleri	19
3.1.3 Balıkların Beslenmesi	20
3.1.4 Örneklerin Alınması	21
3.2 Yöntem.....	21
3.2.1 Büyüme Performansı	21
3.2.2 Balıkların Viserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSİ) Değerlerinin Hesaplanması.....	22
3.2.3 Sindirim Enzimi Analizleri	22
3.2.3.1 Dokuların alınması ve mg protein analizi	22
3.2.3.2 Amilaz aktivitesi	23
3.2.3.3 Lipaz aktivitesi	24
3.2.3.4 Pepsin aktivitesi	24
3.2.3.5 Tripsin aktivitesi	25
3.2.4 Antioksidan Enzim Aktiviteleri	25
3.2.4.1 Katalaz (CAT) aktivitesi	26
3.2.4.2 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	26
3.2.4.3 Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi	27
3.2.4.4 Lipid peroksidaz (LPO) aktivitesi	27
3.2.4.5 Glukoz-6-fosfataz dehidrogenaz (G6PDH).....	28
3.3 İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR	29
4.1 <i>M. oleifera</i> Sulu Etanolik Ekstraktının Büyüme Performansına Etkisinin Sonuçları.....	29
4.2 Viserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSİ) Sonuçları	30

4.3	<i>Moringa oleifera</i> 'nın Nil Tilapiya'sında Sindirim Enzim Aktiviteleri Sonuçları	31
4.4	<i>Moringa oleifera</i> 'nın Nil Tilapiya'sında Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçları	34
5.	TARTIŞMA	37
5.1	<i>M. oleifera</i> 'nın Nil Tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Büyüme Performansı, Yem Kullanımı, Visserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI) Üzerine Etkisi	37
5.2	<i>M. oleifera</i> 'nın Nil Tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Sindirim Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	39
5.3	<i>M. oleifera</i> 'nın Nil Tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	41
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	45
	KAYNAKLAR	46
	ÖZGEÇMİŞ	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Dünyadaki su ürünleri üretim miktarı.....	1
Şekil 1.2 Türkiye’de 2013-2022 yılları arasında su ürünleri üretimi.....	2
Şekil 1.3 Türkiye’de tilapiya balığı üretim miktarı.....	3
Şekil 2.1 Nil tilapiya'nın (<i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758) doğal dağılımı ve yaşam alanı. <i>O. niloticus</i> 'un küresel olarak doğal (yeşil) ve tanıtılmış (kırmızı) yayılım alanları	6
Şekil 2.2 Nil tilapiyası (<i>Oreochromis niloticus</i> , Linnaeus, 1758).....	6
Şekil 2.3 <i>Moringa oleifera</i> bitkisi	8
Şekil 3.1 Deneme ünitesi.....	18
Şekil 3.2 Deneme balığı (<i>O. niloticus</i>).....	18
Şekil 3.3 <i>Moringa oleifera</i> ekstraksiyon işlemi	20
Şekil 3.4 Balıkların ağırlık ve boy ölçümlerinin alınması	21
Şekil 3.5 Sindirim enzimlerin analizi ve mg protein analizi	23
Şekil 3.6 Antioksidan enzimlerin analizi	26

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1 Denemede kullanılan ticari yemin bileşimi	20
Tablo 4.1 <i>M. oliefera</i> etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen <i>O. niloticus</i> 'un büyüme performansı ve yem kullanımı.....	29
Tablo 4.2 <i>M. oliefera</i> etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen <i>O. niloticus</i> 'un Visserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI).....	30
Tablo 4.3 <i>M. oliefera</i> etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen <i>O. niloticus</i> 'un sindirim enzim aktiviteleri	32
Tablo 4.4 <i>M. oliefera</i> etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen <i>O. niloticus</i> 'un antioksidan enzim aktiviteleri	35

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1 Farklı seviyelerde <i>M. oleifera</i> etanolik ekstraktının ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Viscerosomatic indeksi	30
Grafik 4.2 Farklı seviyelerde <i>M. oleifera</i> etanolik ekstraktının ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının (<i>O. niloticus</i>) Hepatosomatik indeksi	31
Grafik 4.3 Farklı seviyelerde <i>M. oleifera</i> etanolik ekstraktı ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının sindirim enzimi aktiviteleri.	33
Grafik 4.4 Farklı seviyelerde <i>M. oleifera</i> etanolik ekstresi ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının antioksidan enzim aktiviteleri.	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

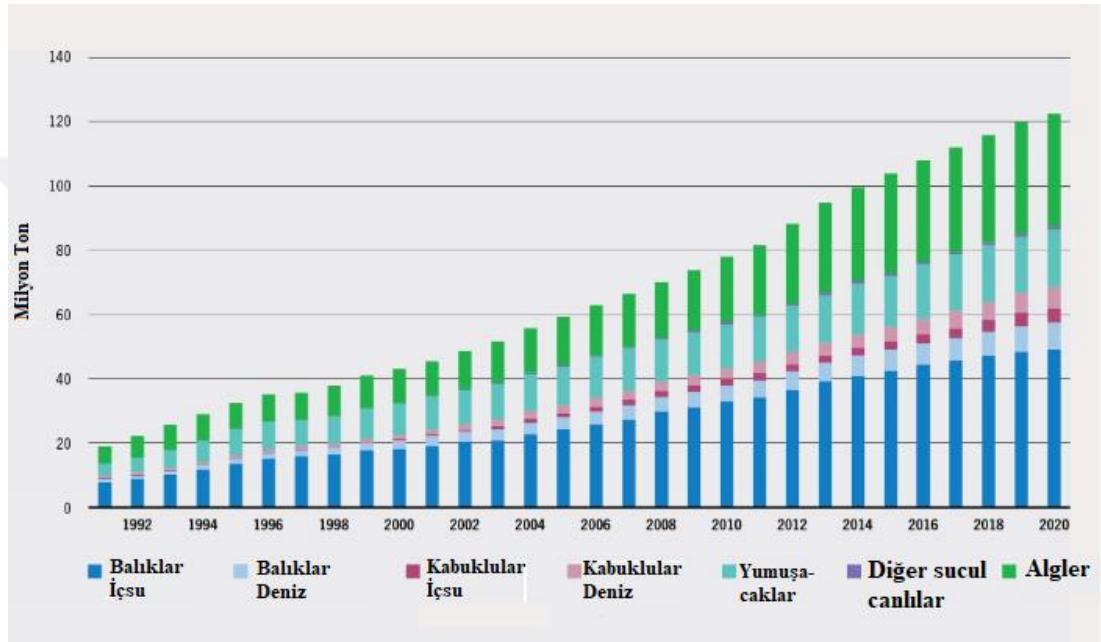
%	: Yüzde değer
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µl	: Unit litre
C	: Santigrat
CuCl ₂	: Bakır klorür
DMSO	: Dimetil sülfoksit
gr	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCL	: Hidroklorik asit
kg	: Kilogram
KOH	: Potasyum hidroksit
l	: Litre
mg	: Miligram
MgCl	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
Na ₂ PO ₄	: Sodyum fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaH ₂ PO ₄	: Sodyum dihidrojen fosfat
NaOH	: Sodyum hidrosit
NBT	: Süperoksit nitroblue tetrazolium
°	: Derece
O ₂	: Oksijen
OH	: Hidroksil
OH-	: Hidroksit
TCA	: Trikloro asitik asit

Kısaltmalar

CAT	: Katalaz
G6PDH	: Glukoz-6-fosfataz dehidrojenaz
GPx	: Glutatyon peroksidaz
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
MO1	: %1 <i>M. oleifera</i> ekstraktlı deneme grubu
MO2	: %2 <i>M. oleifera</i> ekstraktlı deneme grubu
MO3	: %3 <i>M. oleifera</i> ekstraktlı deneme grubu
SOD	: Süperoksidaz dismutaz

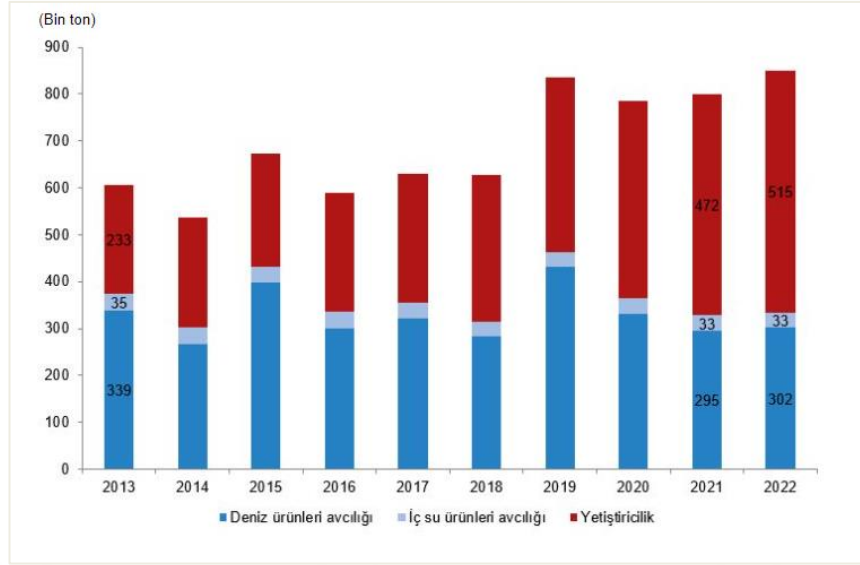
1. GİRİŞ

Dünyada su ürünleri yetiştiriciliği nüfus artışı, teknolojik gelişmeler ve insanların kaliteli beslenme bilincinin artmasıyla birlikte hızla büyümektedir. Dünyadaki su ürünleri üretimi 2020 yılında 122,6 milyon tona ulaşmış ve bu üretim %49,2'sini su ürünleri yetiştiriciliği oluşturmaktadır (FAO, 2022).



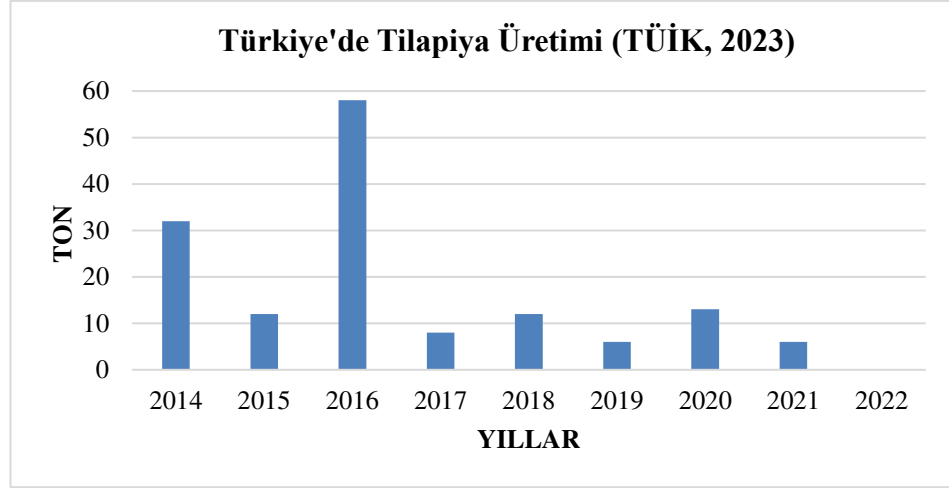
Şekil 1.1 Dünyadaki su ürünleri üretim miktarı (FAO, 2022)

Ülkemizde 1970'li yıllarda başlayan su ürünleri yetiştiriciliği her geçen yıl artan bir ivmeyle ilerlemektedir. TUİK (2023) verilerine göre, Türkiye'de su ürünleri üretimi 2022 yılında bir önceki yıla göre %6,2 artarak 849.808 ton olarak gerçekleştirilmiştir. Üretimin %30,4 avcılık yoluyla olurken %60,6'sı yetiştiricilik ürünleri oluşturduğu rapor edilmiştir. Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliğiyle yapılan üretimin 2022 yılında 368.742 tonu denizlerde, 146.63 tonu iç sularda meydana gelmiştir. Yetiştirilen en önemli balık türü iç sularda 145.649 ton ile alabalık, denizlerde ise 156.602 ton ile levrek ve 152.469 ton ile çipura olduğu rapor edilmiştir (TUİK, 2023).



Şekil 1.2 Türkiye’de 2013-2022 yılları arasında su ürünleri üretimi (TÜİK, 2023)

Cichlidae familyasına ait olan Nil tilapiyası (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758), dünyada yetiştirilen en önemli balık türlerinden biri olarak ekonomik değeri nedeniyle açık ara kültürü en yaygın yapılan tilapiya türüdür (El-Sayed vd., 2023; FAO, 2021). Çiftlikte yetiştirilen tilapiyanın küresel hasadı 6 milyon tonu aşarak tilapiya'yı dünyada en yaygın şekilde yetiştirilen tatlı su balığı olarak sazandan sonra ikinci sırada yer almaktadır (FAO, 2020). Genellikle Afrika'nın tatlı sularında endemik tür olarak kabul edilmesine rağmen 20. yüzyılın ikinci yarısında birçok tropikal, subtropikal ve ılıman bölgede de tanıtılmıştır (Pillay, 1990; Shelton, 2002). Tilapiya, hızlı büyümesi, çeşitli çevresel koşullara uyum sağlayabilmesi, in-vitro döllenme kapasitesi, düşük trofik seviyelerde beslenebilmesi ve hastalıklara karşı direnci nedeniyle yetiştiricilik için mükemmel bir tür olarak kabul görmektedir (El-Sayed, 2019). Her ne kadar tüm dünya genelinde en çok yetiştiriciliği yapılan türlerden biri olarak kabul görse de Türkiye’de üretimi oldukça sınırlıdır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 Türkiye’de tilapiya balığı üretim miktarı (TÜİK, 2023)

Su ürünleri yetiştiriciliğinde işletme giderlerinin yaklaşık olarak %50-60’ını kullarılan yem maliyetleri oluşturmaktadır. Dünyadaki su ürünleri yetiştiriciliğinin artışıyla birlikte yemlerde kullarılan hammaddeler de farklılıklar aranmaya başlanmıştır. Bilindiğı gibi balık yemlerinde enerji kaynağı olarak balık yağı, protein kaynağı olarak da balık unu kullarılmaktadır. Bunlara ek olarak yemlerde büyüme arttırıcı ya da hastalıklarla mücadele gibi konularda antibiyotik ve hayvansal protein kaynaklarının uygulanması giderek daha da pahalı hale gelmektedir (Shourbela vd., 2021). Bu nedenle, pahalı büyüme uyarıcılarını ikame etmek ve potansiyel sağlık ve çevresel riskleri önlemek için alternatif tıbbi bitkiler daha fazla ilgi görmüştür (Enayat Gholampour vd., 2020; Kumar vd., 2022). Yetiştiricilikte kullarılan fonksiyonel yem katkı maddeleri, immün sistemi uyarıcılar, tıbbi bitkiler, probiyotikler, prebiyotikler, mikro elementler ve vitaminler gibi su ürünleri yemlerinde yararlı etkilere sahiptir (Dawood ve Koshio, 2018; Yao vd., 2020). Tıbbi bitkilerin yağlarının ve ekstraktı larının sucul hayvanların büyüme performansını, antioksidatif ve bağışıklık tepkilerini artırdığı kanıtlayan farklı çalışmalar mevcuttur (Ahmadifar vd., 2020; Bilen vd., 2020). Ayrıca, çok sayıda çalışma, bitkisel ilaçların ve özlerinin kullarılmasının bağışıklık sisteminin zararlı çevresel faktörlere karşı duyarlılığını ve direncini artırdığını göstermiştir (Adel, 2021; Dawood vd., 2020; Ghafarifarsani vd., 2021; Magouz vd., 2021).

Moringa oleifera, Moringaceae familyasına ait ve özellikle Asya ve Afrika ülkelerinde olmak üzere dünya çapında yaygın olan bir bitki türüdür (Fakurazi vd., 2012; Moyo

vd., 2011). Bu bitki dünyanın en değerli ağaçlarından biri olarak kabul edilmektedir. Çünkü bu bitkinin neredeyse her bölümü gıda, endüstriyel amaçlar ve ilaç olarak kullanılabilir (Khalafalla vd., 2010). Bu nedenle, yaprakları, kökleri, kabukları ve meyveleri oldukça besleyici ve anti-enflamatuar, antioksidan, antitümör, antiülser, antihipertansif, antidiyabetik, antifungal ve antibakteriyel aktiviteler gibi sağlık etkilere sahiptir (Anwar vd., 2007; Coppin vd., 2013). Ayrıca bitkinin yaprak kısımları sebze olarak, diğer kısımları ise hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Anjorin vd., 2010). *M. oleifera* ağaçları, yüksek besin kalitesi nedeniyle hayvan ve balık yemi bileşenleri olma konusunda önemli bir potansiyele sahiptir (Afuang vd., 2003). Yaprığın ham protein (CP) içeriği yaklaşık 260 g kg⁻¹ olup, bunun yaklaşık %87'si gerçek proteindir (Makkar ve Becker, 1996). *M. oleifera* yapraklarının solvent ekstraksiyonundan sonra, kalıntılar da çiftlik hayvanları için iyi bir protein kaynağı olarak değerlendirilebilmektedir (Afuang vd., 2003; Makkar ve Becker, 1996). *M. oleifera*'nın antioksidan özellikleri, bitkinin yapraklarından ekstrakte edilen yağın oksidatif stabilitesinin değerlendirilmesiyle yüksek bulunmuştur (Anwar vd., 2007; Park vd., 2011). *M. oleifera* yaprakları amino asitler, yağ asitleri, vitaminler ve mineraller dahil olmak üzere mükemmel bir besin dengesi içerir (Moyo vd., 2011; Teixeira vd., 2014). Ayrıca, yapraklar yüksek ham protein seviyeleri, mikro elementler ve antioksidan polifenoller içermektedir (Gopalakrishnan vd., 2016). Antioksidan özelliklere sahip bitkilerle beslenen hayvanlar, çeşitli hastalıkları önlemeye yardımcı olmak için antioksidan enzimleri artırıcı yönde desteklediği bilinmektedir (Abm vd., 2017; Saleh vd., 2017).

Hızlı büyüyen ve taze yeşil madde üretme potansiyeline sahip tropik bir ağaç olan *M. oleifera*'nın agronomik özellikleri üzerine son birkaç on yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır (Foidl vd., 2001). Memelilerde, *M. oleifera*'nın bağışıklık tepkileri (Mahajan vd., 2007) ve anti-enflamasyon (Rao vd., 1999) üzerindeki etkilerini değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde, çeşitli çalışmalar *M. oleifera* yaprak ununun büyümeyi olumlu etkilediği (Afuang vd., 2003; Elabd vd., 2019; Richter vd., 2003) ve Nil tilapiyası *O. niloticus* (Bole vd., 2016) ve Rohu *Labeo rohita*'nın (Hussain vd., 2018) bağışıklığını geliştirdiği belirtilmiştir. Ayrıca yayın balığı türü olan *Pangasius bocourti* ile yapılan bir çalışmada yem kullanımını da artırdığı bildirilmiştir (Puycha vd., 2017). Tek cinsiyetli tilapiyanın

bağırsak histomorfometrisini (El-Kassas vd., 2020) ve *Macrobrachium amazonicum*'un antibakteriyel özelliklerini geliştirdiği de tespit edilmiştir (Brilhante vd., 2015). *M. oleifera* yaprak ekstresinin kullanımının çipura (*Sparus aurata*) balığının immünolojik tepkilerini artırdığı tespit edilmiştir (García-Beltrán vd., 2020; Mansour vd., 2020). Ayrıca lepesteslerde (*Poecilia reticulata*) yapılan bir başka çalışma da balığın deri mukozal bağışıklık indekslerini etkilediği tespit edilmiştir (Bisht vd., 2020).

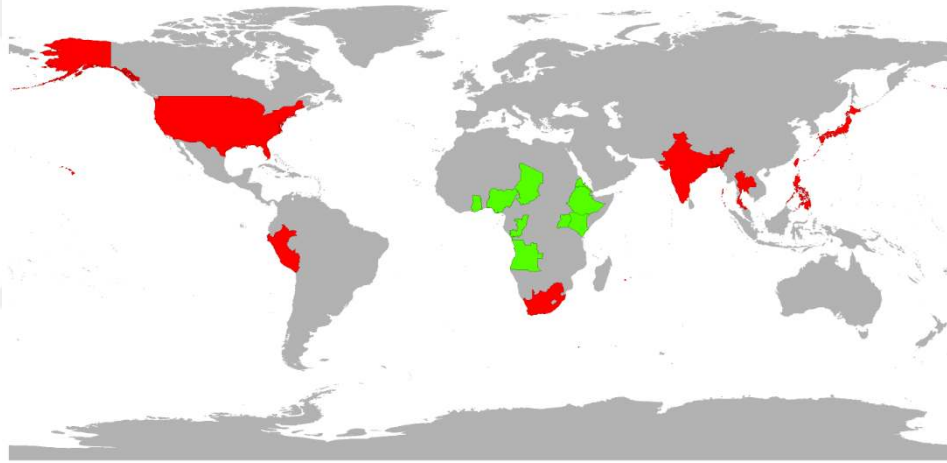
M. oleifera bazlı yemlerin balıklara uygulanması antioksidan durumunu uyarabildiği (Ahmed vd., 2020; Monir vd., 2020) ve fiziksel stres faktörlerinin balıklar üzerindeki etkilerini azaltabildiği bilinmektedir (Elabd vd., 2019). Buna ek olarak, *M. oleifera*'nın besleyici ve tıbbi özelliklerinin tilapiya diyetinde balık unu için uygun bir ikame olduğu öne sürülmüştür (Puycha vd., 2017). Bununla birlikte, çoğu durumda, yüksek düzeyde bitkisel protein içeren balık diyetleri büyümeyi olumsuz etkilemiş ve zayıf yem verimliliği ile sonuçlanmıştır. Bunun nedeni toksik maddeler veya antinutrisyonel elementler olabildiği düşünülmektedir (Francis vd., 2001; Lim ve Dominy, 1989; Siddhuraju vd., 2000). Zhang vd., (2020) da *M. oleifera*'nın tilapiya diyetinde balık ununun yerini alabileceğini belirtmiştir. Fakat Richter vd., (2003), %10'un üzerinde *M. oleifera* kullanımının, antinutrisyonel maddelere atfedilebilerek büyümeyi olumsuz yönde etkileyeceği ve balıkların yemden yararlanma oranlarında düşüş olacağını bildirmişlerdir.

M. Oleifera bitkisinin artan ticari değeri, mükemmel bir bitkisel besin kaynağı olduğunu ve suda yaşayan hayvanlar için beslenme ve tıbbi uygulamalara sahip olduğunu kanıtlamıştır. Uygun maliyetli, kolay temin edilebilir ve zengin bir multivitamin kaynağıdır. Bu nedenle, bu çalışmada farklı oranlarda *M. oleifera* sulu etanolik ekstraktının Nil tilapiyasında (*O. niloticus*) büyüme performansına, sindirim enzimlerine ve antioksidan enzim aktivitelerine üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Nil Tilapiyasının (*O. niloticus*) Biyolojik ve Yetiştiricilik Özellikleri

Orta ve Kuzey Afrika ile Orta Doğu'da doğal olarak bulunan, tropikal bir tatlı su balığı türü olan Nil tilapiyası (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli türlerinden biridir ve şu anda yetiştiricilikte en çok yetiştirilen üçüncü balıktır (Boyd, 2004; FAO, 2020). Yeterli bitki örtüsüne sahip göllerin ve geniş nehirlerin kenarındaki sığ, durgun suları tercih ettiği bilinmektedir (Picker ve Griffiths, 2011) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Nil tilapiya'nın (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) doğal dağılımı ve yaşam alanı. *O. niloticus*'un küresel olarak doğal (yeşil) ve tanıtılmış (kırmızı) yayılış alanları (Veri kaynağı: GISD, 2012).



Şekil 2.2 Nil tilapiyası (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) (orjinal)

Nil tilapiyası (*O. niloticus*), sikloid pullara sahip derin gövdeli bir balıktır. Gümüş renginde, zeytin/gri/siyah vücut çubuklarına sahip olan Nil tilapiyası, üreme mevsiminde genellikle kırmızıya çalan bir renge bürünmektedir (Picker ve Griffiths, 2011). Maksimum 62 cm uzunluğa ve 3,65 kg ağırlığa ulaşmaktadır (tahmini 9 yaşında) (FAO, 2012). *O. niloticus*'un ortalama boyu (toplam uzunluğu) 20 cm'dir (Bwanika vd., 2004).

Nil tilapiyasının; fitoplankton, perifiton, su bitkileri, omurgasızlar, bentik fauna, detritus, bakteriyel filmler (FAO, 2012) ve hatta diğer balıklar ve balık yumurtaları ile beslendiği bilinmektedir. Besin kaynağına bağlı olarak, ya süspansiyon filtreleme ya da yüzey otlatma yoluyla (GISD, 2012), solungaçlarından salgılanan mukusu kullanarak planktonları yakalayarak beslenmektedirler (Fryer ve Iles, 1972).

O. niloticus için büyümeyi sınırlayan faktörlerin en başında besin mevcudiyeti ve su sıcaklığı gelmektedir (Kapetsky ve Nath, 1997). Optimum büyüme sıcaklığı 28-36°C arasında gerçekleşmekte ve sıcaklık düştükçe büyüme hızı azalmaktadır (FAO, 2012; Teichert-Coddington vd., 1997). Beslenme özelliklerini değiştirebilme kabiliyetleri de büyümede değişkenliğe neden olabilmektedir (Bwanika vd., 2007). Su ürünleri yetiştiriciliği için kullanılan havuzlarında *O. niloticus* 5-6 aylıkken cinsel olgunluğa ulaşabilmektedir (FAO, 2012).

Erkek Nil tilapiyaları şiddetle korudukları bir yumurtlama yuvası oluşturarak üremeyi başlatmaktadırlar. Su sıcaklığı 24°C'nin üzerine çıktığında, dişi yumurtalarını yuvaya bırakır ve yumurtalar erkekler tarafından döllenir. Sonrasında döllenmiş yumurtaları dişi ağzında toplar ve bu durum ağız kuluçkası olarak bilinmektedir. Yumurtalar ve yumurtadan çıkan yavrular, iki hafta sonra yumurta sarısı kesesi tamamen emilene kadar bu şekilde kuluçkaya yatırılır ve büyütülür (FAO, 2012). Bir dişinin üreteceği yumurta sayısı vücut büyüklüğüne bağlı olarak 100-1.500 yumurtaya kadar değişebilmektedir. Dişiler kuluçkaya yatarken yumurtlamazlar. Öte yandan erkekler, en uygun çevresel koşullar sağlandığında birden fazla dişinin yumurtalarını sürekli olarak dölleyebilirler (FAO, 2012).

Nil tilapiyaları; diğer balık türlerinin kullanmadığı çok çeşitli besin maddelerini değerlendirebilmeleri, kısa bir besin zincirine sahip olmaları, çözünmüş oksijene karşı toleransları, yetiştiricilikte stok yoğunluğuna karşı adapte olabilmeleri, kolay döl verebilmeleri ve genel olarak hastalıklara karşı dayanıklı olmaları nedeniyle de yetiştiricilikte en çok tercih edilen türler arasında yer almaktadır.

2.2 *Moringa oleifera* Bitkisinin Özellikleri

Moringa oleifera, Moringaceae familyasına ait tıbbi açıdan önemli bir bitkidir. Genellikle "harika bitki" veya "hayat ağacı" olarak bilinir (Mishra vd., 2020). Bu isim, bitkinin özellikle tıp ve beslenme ile ilgili sayısız kullanımından türetilmiştir. Halihazırda Hindistan, Etiyopya, Filipinler, Sudan, Batı, Doğu, Güney Afrika ve Asya gibi yerlerde ticari amaçlarla yetiştirilen önemli bir üründür (Mbikay, 2012). Olgunlaşmamış tohum kabukları bazı bölgelerde tüketilir, ancak taze yapraklar yüksek besin içeriği nedeniyle genellikle temel gıda olarak kullanılır (Thurber ve Fahey, 2009).



Şekil 2.3 *Moringa oleifera* bitkisi (orijinal)

M. oleifera, gövde çapı 20-60 cm ve yüksekliği 7-12 m olan, hızla büyüyen otsu bir ağaçtır. Yayılan, narin dalları, üç çenekli tüylü yaprakları ve beyazımsı gri kabuğu vardır (Bashir vd., 2016). Başlıca bitki kısımları yaprakları, gövdeyi, çiçekleri,

meyveleri, tohumları, kökleri ve kabuğu kapsar. Alkaloidler, tanenler, terpenoidler, steroidal aglikonlar ve indirgen şekerler gibi fitokimyasallar yapraklarda, çiçeklerde, tohumlarda, kabukta, köklerde ve olgunlaşmamış baklalarda bol miktarda bulunur (Paikra ve Gidwani, 2017).

M. oleifera'nın besin değeri, tıbbi ve terapötik özelliklerinde hayati bir rol oynamaktadır. *M. oleifera*'nın vitaminler, mineraller, amino asitler, beta-karoten, lif, antioksidanlar, omega 3 ve 6 yağ asitleri dahil olmak üzere birçok temel besin maddesi içerdiği bulunmuştur (Fahey, 2005; Kasolo vd., 2010). Ayrıca, *M. oleifera* antimikrobiyal, anti-enflamatuar, antikanser ve antitümör, antidiyabetik, antifertilite, antioksidan, anti-astmatik, hepatoprotektif, kardiyovasküler ve immünomodülatör aktiviteler dahil olmak üzere birçok farmakolojik etkiye sahiptir (Adusei vd., 2022).

2.3 Literatür Özeti

Su ürünleri yetiştiriciliği sektörünün gelişmesiyle birlikte artan maliyetlerin baskısıyla balık yemlerinde kullanılan katkı maddelerinde hızlı büyümeyi sağlamak, hastalıklara karşı balıkların bağışıklığını artırmak, sentetik kimyasallar yerine doğal ürünlerin tercih edilmesi için birçok bitki ve türevlerinin (yağlar, ekstraktlar, fitokimyasallar, vb.) kullanımına ilişkin çalışmalar günümüzün odak noktası haline gelmiştir. Özellikle balık hastalıkları yetiştiricilikte önemli sorun teşkil etmekte ve yüksek oranda ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle antibiyotik gibi sentetik kimyasallara alternatif olarak kullanılan tıbbi bitkiler içerdiği biyoaktif bileşenler antibakteriyel etki göstererek ya da balığın bağışıklık sistemini uyararak hastalıklara karşı direnç sağlayabilmektedirler. Ayrıca tıbbi bitkisel besin takviyeleri balıklarda iştah arttırıcı, sindirim enzimi uyarıcı ve sindirime yardımcı etkileri sayesinde büyümeyi teşvik edebilir ve dolayısıyla bu amaca ulaşmaya yardımcı olabilir niteliktedir. Bu amaç doğrultusunda birazdan bahsedilecek çalışmalar bunun mümkün olduğunu ortaya koymuştur. Bu amaç doğrultusunda aşağıda *Moringa oleifera* bitkisinin balık beslenmesinde kullanıldığı çalışmalardan bazıları özetlenmiştir.

Ahmed vd., (2014) çalışmasında, *M. oleifera* yaprak ununu Nil tilapiyası (*O. niloticus*) yemlerinde protein kaynağı olarak kullanılmasının büyüme ve bağışıklık parametreleri

üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Farklı oranlarda (%0, %5, %10, %15, %20 ve %25) *M. oleifera* yaprak unu içeren altı izokalorik 4320 Kcal kg⁻¹ ve %30 ham proteinli izonitrojinik yem oluşturulmuş ve 6 hafta boyunca balıklar beslenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, en iyi büyüme parametrelerinin ve yem dönüşüm oranının %20 ve %25 oranında *M. oleifera* kullanılan deney gruplarında olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca yemde *M. oleifera* yaprak unu seviyesi arttıkça kan parametrelerinde özellikle kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin değerlerinin kontrole oranla düştüğünü ve bu durumun bağışıklık üzerinde olumsuz etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, *M. oleifera* yaprak unu ilave seviyesinin %15'i geçmemesi tavsiye edilmiştir.

Yuangsoi vd., (2014), yayın balığının soya fasulyesi küspesindeki proteinin yerine (0, 250, 500, 750 ve 1000 g kg⁻¹ oranlarında) *M. oleifera* tohumu küspesi ile formüle edilen yemlerle beslenildiği çalışmada, yemin sindirilebilirliğini, balıkların büyüme performansını, kan parametrelerini ve histopatolojisini 8 hafta boyunca incelemişlerdir. Çalışma sonunda yemlerde *M. oleifera* tohumu ilavesi arttıkça, büyüme performansı, yem kullanımı ve pepsin sindirilebilirliğinin kontrole göre düşük olduğu rapor edilmiştir. Deneme grupları ve kontrol grubunun kan parametrelerinde ve hepatosomatik indeksinde herhangi bir fark olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, distal bağırsaklarda ve karaciğerde histopatolojik değişikliklere rastlanmadığı belirtilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen verilere göre, 500 g kg⁻¹ oranında *M. oleifera* tohumu küspesinin soya proteini yerine yayın balığı yemlerinde kullanımının balıkların büyüme, sindirilebilirlik ve histoloji üzerinde olumsuz etkisi olmadığı ve kullanılabilir oran olduğu rapor edilmiştir.

Karina vd., (2015), tilapiya (*O. niloticus*) balığı yemlerinde soya küspesinin kısmi ikamesi için *Moringa oleifera* yaprak küspesinin farklı oranlarda (%0, %8, %16, %24 ve %32) kullanımının balıkların büyüme performansı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonuçları, *M. oleifera* unu bileşiminin büyüme performansı, hayatta kalma oranı, yem dönüşüm oranı veya yem verimliliği üzerinde önemli bir etkisi olmadığını ve bu nedenle de soya küspesi yerine *M. oleifera* küspesi kullanımının %16 ile %32 değerleri arasında olabileceğini göstermiştir.

Salama vd., (2016) yaptığı çalışmada, *M. oleifera* yaprağı (ML) küspesinin Nil tilapiyası (*O. niloticus* L.) yavrularının büyümesi, yem kullanımı, tüm vücut kompozisyonu ve fizyolojik profili üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Deneme yemleri %0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 oranında (ML 0, ML 0,5, ML 1,0, ML 1,5 ve ML 2,0) *M. oleifera* içerecek şekilde hazırlamışlardır. 12 hafta süren çalışma sonunda, %0,5 - 1,5 ML içeren diyetlerle beslenen balıkların diğer gruplara göre daha yüksek büyüme parametrelerine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, 0,5; 1,0 ve 1,5 ML ile beslenen balıkların protein verimlilik oranı ve protein üretkenlik değeri, diğer balık gruplarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Deneme sonunda balıkların tüm vücut kompozisyonunda (nem, ham protein ve kül) önemli farklılıklar bulunmuş ve en iyi değerler ML 1,0 grubunda elde edildiği bildirilmiştir. Aynı zamanda, serumda test edilen tüm karaciğer ve böbrek fonksiyon enzimlerinin aktiviteleri, tüm ML seviyelerinde önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilerle yemlere %1 ML oranında ilave edilmesinin Nil tilapiyası yavrularının büyüme performansını ve fizyolojik tepkilerini iyileştirebileceği belirtilmiştir.

Puycha vd., (2017), ortalama ağırlıkları $3,72 \pm 0,06$ g olan Bocourti yayın balığının yeminde 0 g kg⁻¹, 100 g kg⁻¹, 150 g kg⁻¹ ve 200 g kg⁻¹ oranlarında *M. oleifera* yaprağı kullanımının balıkların büyüme performansına, yem kullanımına, sindirilebilirliğine ve serum biyokimyası üzerine etkilerini araştırmışlardır. 60 gün süren araştırma sonunda, *M. oleifera* yaprağının yemlere eklenme oranı arttıkça balıkların büyüme performansında ve yem kullanımında önemli oranda düşüş olduğu görülmüştür. 100 g kg⁻¹ oranında *M. oleifera* yaprağını içeren yemlerle beslenen balıkların kontrol grubuyla benzer büyüme parametrelerine sahip olduğu bildirilmiştir. Sindirilebilirlik katsayısı ve protein sindirilebilirliği, diyetlere daha yüksek *M. oleifera* yaprağı ilavesi ile beslenen balıklarda daha düşük olduğu belirtilmiştir. Pepsin sindirilebilirliği ve serum biyokimyasal parametreleri tüm araştırma gruplarında benzer olarak bildirilmiştir. Araştırma sonuçlarının, *M. oleifera* yaprağının Bocourti yayın balığı yemlerinde büyüme, yem kullanımı, sindirilebilirlik ve serum biyokimyası üzerinde olumsuz bir etkisi olmadan muhtemelen 100 g kg⁻¹ oranından fazla olmayacak şekilde dahil edilebileceğini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Mansour vd., (2018) 4 hafta süren çalışmalarında, *M. oleifera* yaprak unu (MOL; %0, 5, 10 ve 15) içeren yemlerin çipura (*Sparus aurata*) balıklarında büyüme, yem kullanımı, bazı deri mukusu ve sistemik bağışıklık parametreleri ile bağırsak bağışıklığı ile ilgili gen ekspresyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. 2 haftalık beslemeden sonra %15 MOL kullanılmasının balıkların tüm parametrelerinde önemli bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Farklı seviyelerde MOL ile beslenen balıkların sistemik bağışıklık durumu, baş böbrek lökosit fagositozu, solunum patlaması ve peroksidaz aktivitelerinde bir iyileşme gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, proteaz, ACH50 ve lizozim aktiviteleri ve IgM seviyesi dahil olmak üzere serum humoral bileşenleri, özellikle %5 seviyesinde MOL ilavesinin arttırdığını rapor etmişlerdir. 5 seviyesindeki MOL, proteaz, antiproteaz, peroksidaz ve lizozim aktiviteleri gibi deri-mukozal bağışıklığı geliştirdiği de bildirilmiştir. Tüm bu nedenlerden dolayı, %10 oranında MOL'un büyüme ve yem kullanımı üzerinde önemli bir olumsuz etkisi olmaksızın *S. aurata* yemlerine dahil edilebileceğini belirtmişlerdir.

Elabd vd., (2019) %1,5 oranında *M. oleifera* yaprağı küspesi kullanımının Nil tilapiyasının (*O. niloticus*) büyüme ve stres indeksleri üzerindeki etkilerini 3 ay süresince incelemişlerdir. Çalışma sonunda, Nil tilapiyası diyetinde *M. oleifera* yaprağı küspesi kullanımının büyüme performansını (spesifik büyüme oranı, toplam vücut ağırlığı ve boy kazanım oranı yem dönüşüm oranı) ve somatik indeksleri (hepatosomatik indeks, bağırsak somatik indeksi ve dalak somatik indeksi) modüle ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, antioksidan enzimlerini (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH), katalaz (CAT) ve lipid peroksidaz (LPO)) ve Aspartat Aminotransferaz ve Alanin Transaminaz enzim aktivitelerinin yanı sıra glikoz ve kortizol konsantrasyonları dahil olmak üzere biyokimyasal indeksler de dahil olmak üzere stres indeksleri önemli ölçüde iyileştirdiğini de rapor etmişlerdir. Çalışma sonuçları, *M. oleifera* küspesi yaprağının %1,5 oranında kullanımının balıkların büyüme performansını arttırdığını ve stres indekslerini koruyarak açlık stresini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Çalışmada, *M. oleifera*'nın Nil tilapiyası yemlerine ilave edilmesinin doğal anti-stres fitoterapisi ve büyüme destekleyici olarak olumlu bir etkiye sahip olduğu sonucuna da varılmıştır.

Zang vd., (2020) balık ununa alternatif ikame ürün olarak fermente *M. oleifera* yapraklarının (FML) kullanılmasının yavru gibel sazanlarında (*Carassius auratus gibelio*, CAS III) büyüme performansına, serum biyokimyasına, antioksidan enzim aktivitelerine, spesifik olmayan bağışıklık sistemine ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı direnci üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Balıklar 50 gün boyunca sırasıyla balık ununun %20, %40 ve %60'ını FML içeren yemlerle ve kontrol yemiyle (sadece balık unu içeren diyet) ile beslenmiştir. Besleme sonunda balıklar *A. hydrophila* ile enjekte edilerek yaşam oranları değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonunda, büyüme performansında (nihai ortalama vücut ağırlığı (FBW), ağırlık kazanma oranı (WGR), spesifik büyüme oranı (SGR), yem verimliliği (FE) ve hayatta kalma oranında (SR) tüm deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış olduğunu ortaya konmuştur. Kontrol ve F20 gruplarına kıyasla F40 ve F60 gruplarında hepatosomatik indeks (HSI), ham vücut lipidi, AST ve ALT aktivitelerinde azalma ve AKP ve GPx aktivitelerinde artış gözlemlendiği rapor edilmiştir. Tüm FML takviyeli gruplarda SOD, CAT ve lizozim aktivitelerini, kompleman bileşen 3 (C3) ve serum immünoglobulin M (IgM) konsantrasyonunu arttırdığı fakat, serum malondialdehit (MDA) ve protein karbonil (PCC) içeriklerinin azaldığı bildirilmiştir. Elde edilen verilere göre, yavru gibel sazanlarının yemlerinde balık unu ikamesi olarak %40 oranına kadar FML kullanımının balıkların büyüme parametrelerine, antioksidan enzim aktivitelerini ve bağışıklık tepkisini ve *A. hydrophila*'ya karşı hastalık direncini artırdığını görülmüştür.

Abd El-Gawad vd., (2020), Nil tilapiyasının (*O. niloticus*) yemlerine *M. oleifera* yaprak tozunun %1,5 ve %5 oranlarında eklenmesinin *Aeromonas hydrophila*'ya karşı bağışıklık tepkisi, antioksidan durumu ve hastalık direnci üzerindeki potansiyel etkilerini araştırmışlardır. 60 gün süren çalışma sonunda, *M. oleifera* yaprak tozunun *O. niloticus* yavrularının diyetine dahil edilmesinin bağışıklık tepkilerini (solunum patlaması aktivitesi, fagositik ve lizozim aktiviteleri, IgM seviyesi) ve karaciğer, böbrekler ve dalaktaki antioksidan enzim aktiviteleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH) seviyelerini önemli ölçüde uyardığı ortaya konmuştur. *M. oleifera* yaprak tozunun kullanıldığı tüm balık grupları *A. hydrophila* ile enjekte edildikten sonra hayatta kalırken, kontrol grubunun sadece %20'si hayatta kalmıştır. Elde edilen sonuçlarına göre, *M. oleifera* yaprak tozu katkılı

diyetlerin *O. niloticus* yavrularının bağışıklık tepkisini artırabileceğini ve *A. hydrophila*'nın neden olduğu hastalığı önleyebileceği rapor edilmiştir.

El-Kassas vd., (2020) *M. oleifera* yaprak tozunun diyetle dahil edilmesinin tek cinsiyetli Nil tilapiya yavru balıklarının antioksidan ve doğuştan gelen bağışıklık tepkileri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Balıklar, sırasıyla %5 ve %10 oranında *M. oleifera* yaprak tozu içeren diyetlerle 6 hafta sürence beslenmiş ve beslemeden sonra, *A. hydrophila* ile enjekte edilmişlerdir. *M. oleifera* yaprak tozuyla beslenen balıkların, fagositik ve lizozim aktivitelerinde önemli artış olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, dalak gibi dokularda artan infiltrasyon ile dolaşımdaki lenfositik ve heterofilik popülasyonda önemli değişiklikler fark edildiği de rapor edilmiştir. *M. oleifera* ile beslenen grupların antioksidan aktivitelerinden CAT ve GPx, proinflamatuvar sitokinler, *IL1-β*, *IL-8* ve *IFN-γ* göreceli mRNA seviyelerini önemli ölçüde arttırdığı; fakat, *A. hydrophila* ile enjekte edildikten sonra, *M. oleifera* *IL1-β*, *IL-8* ve *IFN-γ* transkripsiyon seviyelerinin aşağı regülasyonuna neden olduğunu ve CAT ve GPx mRNA seviyelerini de düşürdüğü bildirilmiştir. Elde edilen verilere göre, *M. oleifera* yaprak tozunun normal sağlık koşullardaki balıkların bağışıklık tepkisini arttırmak ve enfeksiyonla ilişkili enflamatuvar tepkiyi azaltmak için yemlere dahil edilebileceği vurgulanmıştır.

Chen vd., (2020) tarafından yapılan çalışmada, farklı seviyelerde (0; 0,1; 0,5; 2; 5; 10 ve %20) içeren *M. oleifera* yaprak ununun (MOLM) Nil tilapiyasında (*O. niloticus*) büyüme performansı, antioksidan durum ve morfolojik indeksler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Besleme denemesinin ardından 192 saatlik *Streptococcus agalactiae*'ye karşı direnç çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda balıkların büyüme parametrelerinde önemli bir fark gözlenmezken, tüm vücut lipid içeriği, visserosomatik indeks ve intraperitoneal yağ oranı diyetteki MOLM seviyeleri arttıkça azaldığı belirtilmiştir. Balıkların toplam süperoksit dismutaz (T-SOD) ve indirgenmiş glutatyon içeriği (GSH) MOLM tarafından önemli ölçüde etkilendiği ve bakteriyel enjeksiyondan sonra en düşük kümülatif ölüm oranının (CMR) %10'luk grupta kaydedildiği bildirilmiştir. Elde edilen sonuçların, mevcut çalışmanın koşulları altında maksimum MOLM katkı miktarının %20'ye kadar ulaşabileceğini desteklediğini belirtmişlerdir.

Billah vd., (2020), Nil tilapiyası (*O. niloticus*) yemlerine *M. oleifera* bitki yaprağının ilave edilmesinin büyüme performansına, hematolojik parametrelere ve bakteriyel enjeksiyon sonrası yaşama oranları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışma yemleri 0g kg⁻¹, 1000g kg⁻¹ ve 2000g kg⁻¹ işlenmiş *M. oleifera* yaprakları içerecek şekilde hazırlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, 1000g kg⁻¹ işlenmiş *M. oleifera* yaprağı içeren yemlerle beslenen balıkların ağırlık artışının, spesifik büyüme oranının, kondisyon faktörünü ve hayatta kalma oranının artarken yemde işlenmiş *M. oleifera* yaprağı değeri artışına bağlı olarak kan parametrelerinden özellikle RBC ve WBC değerlerinde önemli düşüşlerin olduğu rapor edilmiştir.

Emam vd., (2021) 90 gün süresince farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200 ve 400 mg kg⁻¹) *M. oleifera* ekstraktının (MOAE) Nil tilapiyası (*O. niloticus*) yemlerine eklenmesinin büyüme performansı, hematolojik ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonunda, sonuçlar 200 mg kg⁻¹ konsantrasyon seviyesinde MOAE ile beslenen balıkların büyüme performansında (son ağırlık, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı), hematolojik parametrelerde (RBC, hemoglobin, dolu hücre hacmi, WBC ve toplam serum proteininde) önemli gelişmeler olduğunu bildirmişlerdir. Tüm parametrelerin 400 mg kg⁻¹ MOAE içeren yemlerle beslenen balıklarda bozulduğunu ve solungaçlar ve karaciğer dokularında ciddi histolojik dejeneratif değişiklikler gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, 200 mg kg⁻¹ diyetle beslenen *M. oleifera* sulu ekstraktı (MOAE) Nil tilapiyasında büyüme performansını, hematolojik parametreleri, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirebildiğini ve yemlerde 200 mg kg⁻¹ üzerindeki bir konsantrasyonda dikkatli olunması gerektiğini belirtmişlerdir.

Badawi vd., (2021) farklı konsantrasyonlarda (sırasıyla %0,5; %1 ve %1,5) *M. oleifera* eklemenin kırmızı tilapiyaların yem kullanımı, üreme performansını ve bağışıklık parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 14 hafta süren çalışma sonunda %1,5 *M. oleifera* eklenen yemlerle beslenen balıkların büyüme parametrelerinin ve yem kullanımında kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. %0,5 oranında *M. oleifera* eklenen grubun ise en yüksek kondisyon faktörü değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, *M. oleifera* büyüme oranlarını, yem kullanımını ve

bağışıklık tepkisini iyileştirmek için kırmızı Tilapiya parmak balıklarının diyetlerine eklenebileceğini rapor etmişlerdir.

Veronica vd., (2021), *M. oleifera* yaprağı ekstraktı, *L. acidophilus* probiyotiği tek tek ve birlikte ticari yeme eklenmesinin etkileşiminin Tambaqui balıklarının spesifik büyüme oranı ve yem dönüşüm oranı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sonuçlara göre, *M. oleifera* yaprağı ekstraktının ve *L. acidophilus* probiyotiklerinin ticari yeme farklı dozlarda uygulanmasının önemli bir etkiye sahip olmadığını, ancak *M. oleifera* yaprağı ekstraktı ve *L. acidophilus* probiyotiklerinin kombinasyonunun etkileşiminin önemli bir etki yarattığını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Parveen vd., (2021) tarafından yapılan çalışmada, Nil tilapiyalarının (*O. niloticus*) yemlerine protein hammaddesi olarak farklı oranlarda *M. oleifera* yaprağının eklenmesinin balıkların büyüme parametreleri ve bağırsak sağlığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. 10 hafta süren çalışmanın sonunda, yüksek düzeyde *M. oleifera* yaprağı içeren yemlerin, kontrol grubuna kıyasla büyüme parametrelerinin, yaşama oranını, spesifik büyüme oranını ve yemden yararlanma oranının önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Boyama yöntemiyle, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi farklı bakteriler kontrol yemiyle beslenen balıklarının bağırsaklarında bol miktarda tespit edilirken, *M. oleifera* gruplarında daha az sayıda mevcut olduğu tespit edilmiştir.

El-Son vd., (2022), 60 gün boyunca Nil tilapiya yemlerine %5, %7 ve %9 g kg⁻¹ oranlarında *M. oleifera* yaprak ekstraktı (MOL) eklenmesinin büyüme parametrelerine, bağırsak histomorfometrisine, bağışıklık parametrelerine, antioksidan enzim aktivitelerine ve bağışıklık ile ilgili genlere etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda, %5 *M. oleifera* eklenmiş yemlerle beslenen grubun son ağırlık, ağırlık artışı, ağırlık artışı ve spesifik büyüme oranı gibi büyüme parametrelerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla MOL takviyesi yapılan tüm gruplarda MDA seviyelerinde önemli bir düşüş görülürken, hepatik CAT, SOD ve GPx enzimlerinde önemli bir artış görüldüğünü belirtmişlerdir. MOL ile bağışıklık parametrelerinin (serum lizozim aktiviteleri, IgM seviyeleri ve kompleman C3) kontrol grubuna göre arttığını bildirmişlerdir. MOL gruplarının dalak

dokusunda *Inf- γ* , *Il-10* ve *Tnf- α* genlerinin mRNA ifadelerinde önemli bir artış ve *Il-1 β* 'nin mRNA ekspresyon seviyelerinde de önemli ölçüde azalış olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma sonunda elde edilen verilerle, *M. oleifera* yaprak ekstraktı Nil tilapiyasının büyümesine, bağırsak sağlığını, antioksidan kapasitesini ve bağışıklığını artırmak için pratik bir yem takviyesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

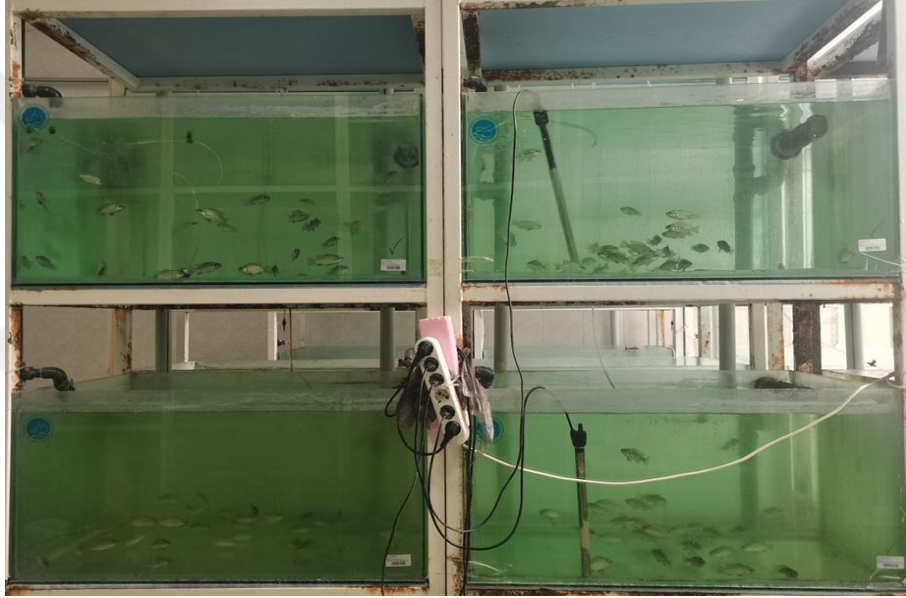
Amer vd., (2023) on hafta süren çalışmalarında, Nil tilapiyası (*O. niloticus*) yemlerinde balık unu yerine kısmen *M. oleifera* protein hidrolizatı kullanarak balıkların büyüme parametrelerine, sindirim enzimi aktivitesine, bağışıklık yanıtına ve bağışıklık genlerine ve insülin büyüme faktörü-1 (*IGF-1*) ekspresyonu üzerindeki sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Çalışmanın yemleri; 0, 15, 30, 45 ve %60 (MPH0, MPH15, MPH30, MPH45 ve MPH60) oranında *M.oleifera* protein hidrolizatı içerecek şekilde hazırlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, balık ununun MPH ile değiştirilmesiyle büyüme parametrelerinde doğrusal bir artış olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, MPH seviyesinin artmasıyla serum büyüme hormonu seviyesinde artış, leptin hormonu ve glikoz seviyelerinde azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. MPH ilavesi arttıkça balıkların amilaz aktivitesinde de artış olduğu ve en yüksek aktivite MPH45 grubunda görüldüğü tespit edilmiş. Bağışıklık indeksleri (serum nitrik oksit seviyesi, lizozim aktivitesi ve fagositik aktivite) ve bağışıklık ile ilgili gen ekspresyonu, %45 MPH seviyesine kadar doğrusal olarak arttığı, fakat MPH60 grubunda azaldığı, ancak yine de kontrol grubundan daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak balık unu yerine yemlerde MPH kullanılmasının Nil tilapiyasının *Aeromonas sobria*'ya karşı direncini de arttığı belirtilmiştir. Sonuç olarak, MPH, balıkların büyüme parametrelerini arttırıcı ve bağışıklığı güçlendirici olarak %60 oranına kadar balık ununa ikame olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışma Alanı ve Deneme Balıkları

Bu çalışmanın tüm aşamaları, Kastamonu Üniversitesi, İç Su ve Deniz Balıkları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Akvaryum Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1)



Şekil 3.1 Deneme ünitesi (orijinal)



Şekil 3.2 Deneme balığı (*O. niloticus*) (orijinal)

Deneme, 75 günlük kültür periyodu için sırasıyla %1, %2 ve %3 oranlarında *Moringa oleifera* etanolik ekstraktı ilave edilmiş yemlerle ve bir kontrol grubu (%0 (Kontrol) olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak tasarlanmıştır. Ortalama vücut ağırlığı $10,05 \pm 0,87$ g olan Nil tilapiya yavruları Adana Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su Araştırma İstasyonu'ndan temin edilmiştir. Toplam 240 adet tilapiya yavrusu Akvaryum Ünitesindeki 12 adet akvaryuma 3 tekerrürlü olacak şekilde 20'ser adet olarak yerleştirilmiş ve 2 hafta boyunca adaptasyon süreci sağlanmıştır. Ayrıca, tüm akvaryumlar havalandırılmış ve 27°C su sıcaklığı sağlanmıştır. Besleme denemesinden önce, tüm gruplar çalışma süresince günde iki kez ticari diyetlerle ad-libitum olarak elle beslenmiştir.

3.1.2 *Moringa oleifera* Sulu Etanolik Ekstraktının Hazırlanması ve Deneme Yemleri

Moringa oleifera yaprakları Endonezya'dan yaş olarak toplanmış ve Kastamonu'ya getirilmiştir. Yapraklar oda sıcaklığında kurutulmuş ve yüksek devirli bir değirmen kullanılarak öğütülmüştür. 500 g bitki için 1 L %30'luk etil alkol çözeltisi hazırlanmış ve Bilen vd. 2016 tarafından belirlenen metoda göre 72 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra, elde edilen karışım süzölmüş ve ardından etanolü uzaklaştırmak için 80°C'de evaporatörde alkol ve su uzaklaştırılmıştır (Bilen vd., 2021). Ekstraktı çözeltisinin tam miktarı, verilen dozlara uygun olarak deneysel diyetlere karıştırılmıştır. Hazırlanan deneysel diyetler besleme süresinden önce oda sıcaklığında bekletilmiştir. *M. oleifera* etanolik ekstraktı, ticari yemin içine spreyleme yoluyla %0 (Kontrol), %1 (MO1), %2 (MO2) ve %3 (MO3) oranında eklenmiştir.



Şekil 3.3 *Moringa oleifera* ekstraksiyon işlemi (orijinal)

3.1.3 Balıkların Beslenmesi

Balıklar, besleme çalışmasına başlamadan önce 2 hafta süreyle ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Adaptasyon süresinin sonunda balıklar 75 gün boyunca günde iki kez (saat 09:00 ve 17:00'de) elle doyana kadar beslenmiştir. Kontrol grubu katkısız ticari yem ile beslenirken diğer gruplar yukarıda bahsedilen oranlarda *M. oleifera* sulu etanolik ekstraktı ilavesi içeren yemlerle beslenmişlerdir.

Tablo 3.1 Denemede kullanılan ticari yemin bileşimi

Temel besin değerleri	Değer
Ham protein	%45,0
Ham yağ	%15,0
Ham selüloz	%1,66
Kül	%10,5
Kalsiyum	%2,4
Fosfor	%1,6
Sodyum	%0,35
Diğer bileşenler	%23,49

3.1.4 Örneklerin Alınması

Balıklar 24 saat boyunca aç bırakılmış ve ardından fenoksietanol ile anestezi uygulanmıştır. Büyüme performansı parametrelerini belirlemek için balıkların ağırlık ve boyları ayrı ayrı alınmıştır. Toplu balık canlı ağırlık artışları çalışma boyunca her 2 haftada bir ölçülmüştür. Ayrıca, sindirim enzimleri ve antioksidan enzim aktiviteleri gibi kimyasal analizler için tank başına 3 balık toplanmıştır. Daha sonra, her örneklemede seçilen her balıktan karaciğer, mide ve bağırsak alınmış ve hemen buz dolu bir kutuya yerleştirilmiştir. Örnekler antioksidan ve sindirim enzimleri analizine kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4 Balıkların ağırlık ve boy ölçümlerinin alınması (orijinal)

3.2 Yöntem

3.2.1 Büyüme Performansı

Nil tilapiya'nın büyüme performansı parametrelerinin hesaplanması için; balıkların canlı ağırlıkları, deneme başlangıcında ve 15 günlük periyotlarla akvaryumlardaki bütün balıklara anestezi (fenoksiethanol) uygulanarak 0,1 g'a duyarlı hassas terazi ile bireysel ağırlıkları tartılmış ve balık ölçüm tahtası kullanılarak boyları ölçülmüştür (Lindsay ve Barbara, 1984). Tartımlarda her grup için üç paralel olan akvaryumların

ağırlıklarının ortalaması esas alınmıştır. Balıkların canlı ağırlık artışı (CAA; %), spesifik büyüme oranı (SBO), Yemden yararlanma oranı (YYO) ve kondüsyon faktörü (KF) aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmıştır (3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4) (Ricker, 1979).

$$\text{Canlı ağırlık artışı (CAA)} = \text{Son ağırlığı} - \text{Başlangıç ağırlığı} \quad (3.1)$$

$$\text{Spesifik büyüme oranı (SBO)} = \frac{\ln \text{Son ağırlığı} - \ln \text{Başlangıç ağırlığı}}{\text{Gün}} \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{Yemden yararlanma oranı (YYO)} = \frac{\text{Toplam Tüketilen yem miktarı (g)}}{\text{Canlı ağırlık artışı (g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{Kondüsyon faktörü (KF)} = (\text{Balığın ağırlığı} / \text{Balığın boyu}^3) \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.2 Balıkların Viserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI) Değerlerinin Hesaplanması

Deney sonunda her deneme grubundan rastgele alınan 15 adet balığın toplam ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve iç organlarının ağırlığı kaydedilerek balıkların viserosomatik ve hepatosomatik indeks değerleri Ricker (1979)'a göre hesaplanmıştır (3.5).

$$\text{HSI (\%)} = [\text{Balığın karaciğer ağırlığı (g)} / \text{Balığın canlı ağırlığı (g)}] \times 100$$

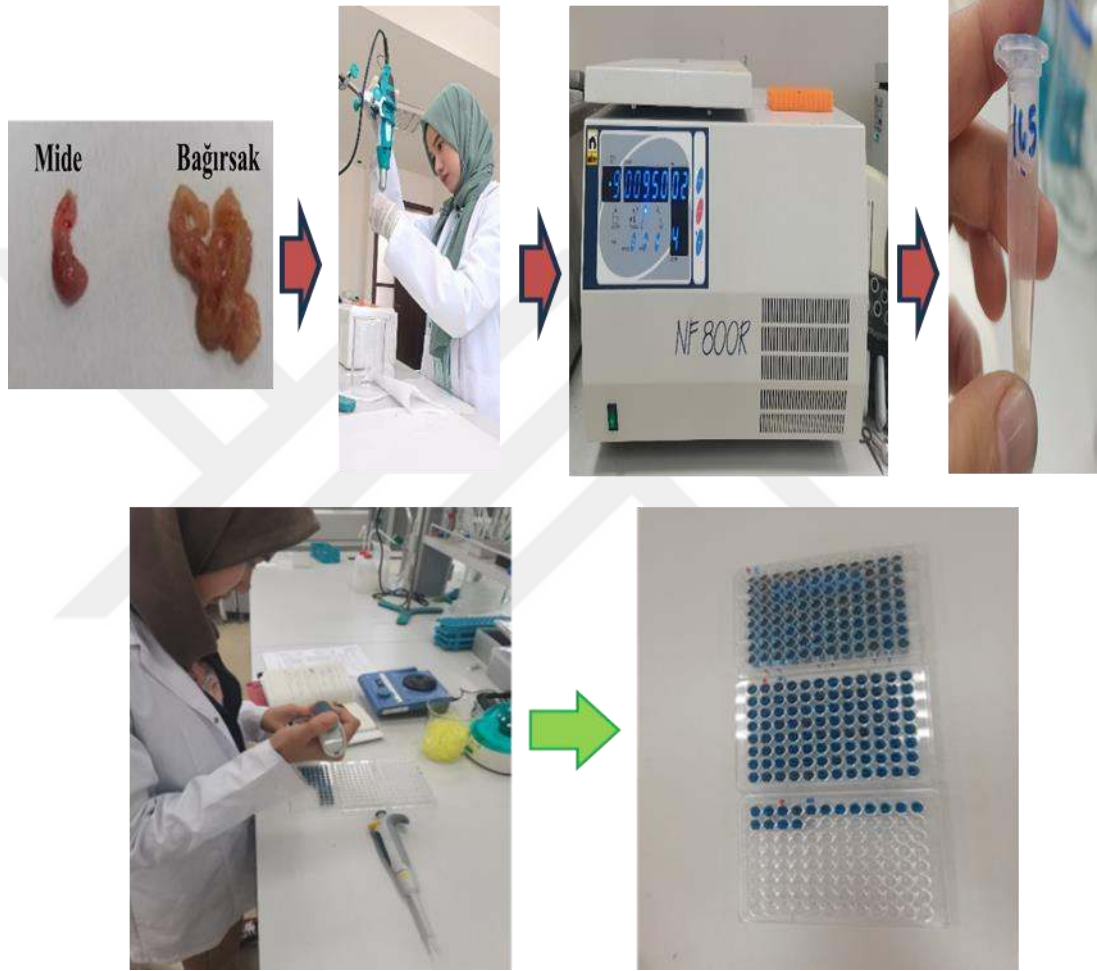
$$\text{VSI (\%)} = [\text{Balığın iç organlarının ağırlığı (g)} / \text{Balığın canlı ağırlığı (g)}] \times 100 \quad (3.5)$$

3.2.3 Sindirim Enzimi Analizleri

3.2.3.1 Dokuların alınması ve mg protein analizi

Balıklar 24 saat aç bırakılmış ve anestezi uygulaması ile 15 dakika buz üzerinde bekletilerek mide ve ön bağırsak dokuları çıkarılmış, dokular yağ ve yem artıklarından arındırılmıştır. Alınan dokular 0,1 g tartıldıktan sonra Eppendorf tüplerine on katı kadar distile su (1000 µl) ile birlikte +4°C'de yerleştirilmiş ve Potter Elvenhjem homojenizatör yardımıyla dokular parçalanmıştır. Eppendorf tüplerindeki doku + saf su karışımı 10000 g, 25 dk, +4°C'de santrifüj edildi ve süpernatantlar toplandı. Daha

sonra analiz için -80°C'de saklanmıştır. Tüm analizlerin taraması Thermo Scientific Multiskan Go cihazında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sindirim enzimlerinin hesaplanmasında dokuların mg protein değerlerinin bilinmesi gerektiğinden, hazırlanan süpernatantlardan Bradford (1976) yöntemi ile dokuların protein konsantrasyonları belirlenmiştir.



Şekil 3.5 Sindirim enzimlerin analizi ve mg protein analizi (orijinal)

3.2.3.2 Amilaz aktivitesi

Substrat olarak öncelikle %2'lik nişasta taze olarak hazırlanmıştır. Bu analiz için tampon çözelti olarak 0,312 g NaH_2PO_4 + 0,356 g Na_2PO_4 ve 0,039 g NaCl tartılarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve 0,2 g nişasta 10 ml tampon çözelti ile birleştirilmiştir. Karışımın pH değeri 6,8'e ayarlanmıştır. Renk çözeltisi (6 g Potasyum sodyum tetrahidrat 4 ml 2M NaOH içinde çözüldü (çözelti a) ve 0,44 g dinitrosalisilik asit 20 ml distile su içinde çözüldü (çözelti b). Daha sonra 4 ml a çözeltisi ve 10 ml b

çözeltisi 6 ml distile su üzerinde 60°C'de karıştırılmıştır. Okumalar için 50 µl bağırsak dokusu süpernatantı ve 50 µl nişasta 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Körlüme için sadece 50 µl nişasta kullanılmıştır. İnkübasyondan sonra, hem numuneye hem de körlüğe 50 µl renk çözeltisi eklenmiş ve ardından körlüğe 50 µl süpernatant eklenmiştir. Min kaynar suda, hem numuneler hem de blankler ağzı açık olarak inkübasyondan hemen sonra buz üzerinde soğutulmuştur. Daha sonra her ikisinin üzerine 450 µl distile su konuldu. Absorbans okuması 540 nm'de yapıldı ve hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapıldı (3.6) (Bernfeld, 1955; Worthington, 1991).

$$\text{Amilaz} = \frac{[(\text{Örnek} - \text{Kör})^2 \times 7,712] - [1,082 \times (\text{Örnek} - \text{Kör})] + 0,082}{\text{mg protein}} \quad (3.6)$$

3.2.3.3 Lipaz aktivitesi

Lipaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için 0,25 M Tris (pH=9), 10 mM p-nitrofenil miristat, 7,9 mM 2-Metoksietanol, 5 mM sodyum kolat ve 5:2 aseton/heptan çözeltileri hazırlanmış ve Furne vd., (2005) yöntemine göre analiz gerçekleştirilmiştir. Hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapıldı (3.7).

$$\text{Lipaz} = \frac{(\text{Örnek} - \text{Kör}) \times (0,2359 + 0,0153)^2}{\text{mg protein}} \quad (3.7)$$

3.2.3.4 Pepsin aktivitesi

Mide dokudan ölçülen pepsin aktivitesinin belirlenmesi için 300mM HCl, %2,5 hemoglobin, %5 TCA kullanılarak Anson (1938) ve Worthington (1993) yöntemlerinden uyarlanan bir protokol izlenmiştir. İlk olarak %2,5'lik hemoglobin 300mM HCl ile karıştırılmış ve bu karışımdan 250 µl alınarak süpernatanta 50 µl eklenmiştir. Kör için Eppendorf tüplerine karışımdan sadece 250 µl konulmuştur. 35°C'de 10 dakika inkübasyondan sonra hem blank hem de süpernatant+karışım tüplerine 500 µl TCA eklenmiştir. TCA ilavesinden sonra boş tüplere 50 µl numune konmuş ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra tekrar 35°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 12.000 g'de 5 dakika santrifüj edilerek üst sıvı kısım alınmış ve 280 nm'de okumalar yapılmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapılmıştır (3.8).

$$\text{Pepsin} = \frac{(\text{Örnek} - \text{Kör}) \times 1000}{10 \times \text{mg protein}} \quad (3.8)$$

3.2.3.5 Tripsin aktivitesi

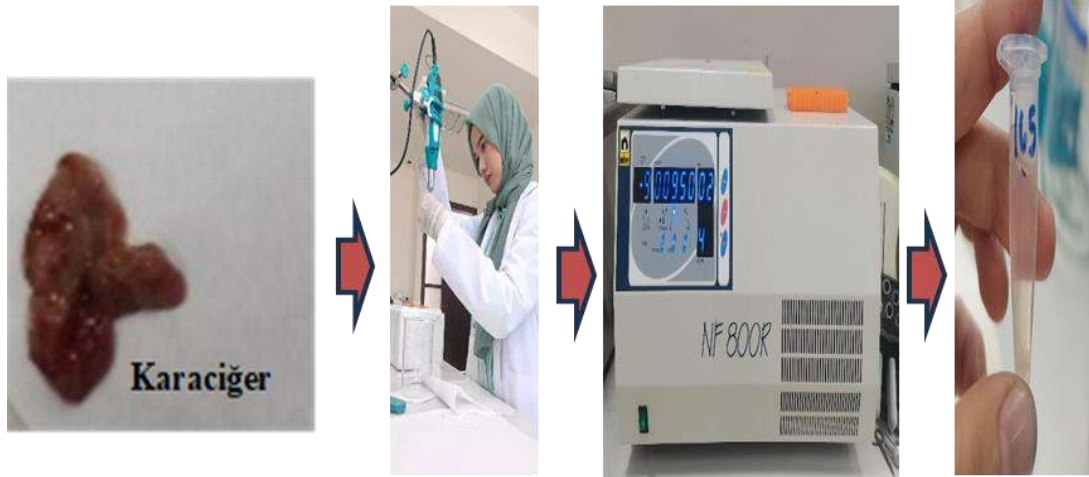
pH 8,2'de 50 ml distile su ile 0,1 M Tris, 1M NaCl, 0,01M Kalsiyum klorür çözeltisi hazırlanmıştır. 0,022g Babna 1ml DMSO içinde çözüldü ve hazırladığımız 50 ml'lik çözeltiye eklenmiştir. Süpernatanttan 200 µl ve çözeltiden 200 µl 96 plakalar üzerindeki kutulara yerleştirildi. Kör için sadece 200 µl çözelti eklenmiştir. Absorpsiyon okumaları 410 nm'de 0 dk ve 10 dk'da yapılmış ve aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (3.9 ve 3.10) (Erlanger vd., 1961).

$$\text{Absorpsiyon sonucu} = \frac{(\text{Son sonuç} - \text{İlk sonuç})}{10 \text{ dakika}} \quad (3.9)$$

$$\text{Tripsin} = \frac{\frac{[(\text{Absorpsiyon sonucu} \times 1 \text{ milyon})]}{(8.800)}}{2}{\text{mg protein}} \quad (3.10)$$

3.2.4 Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Tüm antioksidan enzimlerin analizi karaciğer dokusundan manuel yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Karaciğer numuneleri serum fizyolojik ile yıkanıp filtre kağıdı ile kurutulduktan sonra 0,1 g alınarak 1 ml fosfat tamponu (1 mM EDTA içeren 50 mM potasyum fosfat, pH:7) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 10.000 rpm ve 4°C'de 15 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant ilgili analizler için kullanılıncaya dek -80°C'de muhafaza edilmiştir. Karaciğer homojenizatlarının protein içeriği Bradford (1976) yöntemi ile belirlenmiştir.



Şekil 3.6 Antioksidan enzimlerin analizi (orijinal)

3.2.4.1 Katalaz (CAT) aktivitesi

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi Aebi (1974) ve Hadwan (2018)'a göre tayin edilmiştir. Hidrojen peroksitin maksimum absorbansı baz alınarak gerçekleştirilen yöntemde fosfat tamponu uygulanmıştır. Öncelikle supernatant solüsyonu önce fosfat tamponu (0,05 M PBS, pH: 7) içinde ön işleme tabi tutulmuştur. Fosfat tamponundan 100 µl alınarak 96 kuyucuklu mikrolakaların kuyucuklarına aktarılmıştır. Üzerine 20 µl örnek eklenmiştir. Akabinde sırasıyla 30 µl metanol ve 20 µl hidrojen peroksit ilave edilmiştir. Kör kuyucukları da örnek hariç aynı kimyasallardan oluşturulmuştur. Mikrolakanın üzeri kapatılmış ve 10 dk oda sıcaklığında karıştırıcıda inkübe edilmiştir. Daha sonra 540 nm'de 1 dk süreyle absorbansın azalışı kaydedilmiştir. Aktivite mg protein başına dakikada tüketilen hidrojen peroksit olarak hesaplanmış ve aşağıdaki formüller ile nmol H₂O₂ dk mg⁻² protein katalaz aktivitesine dönüştürülmüştür (3.11).

$$\text{CAT aktivitesi} = \frac{\text{Örnek} - \text{Kör}}{0,017} \times \text{Örnek Hacmi (}\mu\text{l)} \times \text{Dilüsyon Faktörü} \quad (3.11)$$

3.2.4.2 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilen süperoksitin nitroblue tetrazolium (NBT) ile indirgenmesiyle Durak vd., (1993) ile Sun vd. (1988)'nin metotlarına göre belirlenmiştir. Kısaca, 200 µl ölçüm karışımına (0,6 mM fosfat tamponu, 0,005 mM NBT, 0,4 M NaCO₃, 100 µl sıgır albümini ve 0,3 mM

ksantin) 30 µl örnek ilave edilmiş, kör örnek için ise yine 200 µl ölçüm karışımına 50 µl homojenize edilmiş solüsyon eklenmiştir. Daha sonra hem örnek hem de köre 20 µl ksantin oksidaz eklenmiş ve oda sıcaklığında 20 dk inkübe edilmiştir. Akabinde reaksiyonu durdurmak için 500 µl CuCl₂ eklenmiş ve absorbans değerleri 560 nm’de okunmuştur. Yüzde inhibisyon değerleri aşağıdaki formüller aracılığıyla protein muhteviyatına göre normalize edilmiş ve U mg⁻² protein olarak verilmiştir (3.12 ve 3.13).

$$Yüzde\ inhibisyon = \frac{(A_{kör} - A_{örnek})}{A_{kör}} \times 100 \quad (3.12)$$

$$Aktivite\ (U/ml) = \frac{\% inhibisyon}{50} \times \frac{1}{0,1} \quad (3.13)$$

3.2.4.3 Glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi

GPx aktivitesi, NADPH'nin NADP'ye oksidasyonu sırasında 340 nm'de absorbans seviyesindeki düşüş okunarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (3.14) (Boyland ve Chasseaud, 1969).

$$GPx\ Aktivitesi = \frac{\left(\frac{A_{örnek} - A_{kör}}{A_{kör}} \right) \times (0,00001) \times \left(\frac{1}{0,02} \right)}{mg\ protein} \times 100 \quad (3.14)$$

3.2.4.4 Lipid peroksidaz (LPO) aktivitesi

Lipit peroksidasyonu (LPO) Ahn vd. (1998)’nin yönteminde Hisar vd. (2009)’nin yaptığı değişiklikler izlenerek belirlenmiştir. Bunun için TBARS metodu ile MDA düzeyi tayin edilmiştir. Karaciğer homojenatından 0,5 ml alınarak yeni bir tüpe aktarılmıştır. Kör numune ise 1 ml su ve 2 ml TBA/TCA solüsyonu ile hazırlanmıştır. Örneğe %7,2’lik 4 ml bütil hidroksi tolüen ve 2 ml tiyobarbitürik asit/trikloroasetik asit (w/v:20 mM TBA%15 TCA) ilave edilmiş ve ağzı kapatılarak vorteks ile karıştırılmış ve akabinde 100°C’de 1 saat inkübe edilmiştir. On dakika boyunca buz üzerinde soğutulmuş ve 1 ml %70’lik TCA eklenip karıştırılmıştır. Daha sonra 1.600 rpm’de ve 4°C’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildikten sonra oluşan üst katmandan 200 µl alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya aktarılmış ve

532 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. MDA değerleri aşağıdaki formülden yararlanılarak belirlenmiştir (3.15).

$$MDA = \frac{\left(\frac{A_{örnek} - A_{kör}}{A_{kör}} \times 100 \right)}{50} \times 0,5 \quad (3.15)$$

3.2.4.5 Glukoz-6-fosfataz dehidrogenaz (G6PDH)

G6PDH aktivitesi Beutler (1984) yöntemi ile test edilmiştir. Bu aktivite testi, 2 mM NADP+ 'deki azalma nedeniyle 340 nm'deki absorpsiyonun 2 dk süresince artışının izlenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Test sistemi 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA tamponu (pH 8,0), 0,1 M MgCl₂, 2 mM NADP+, 6 mM G6P, damıtılmış su ve karaciğer dokusu homojenatı (50 µL) içerecek şekilde hazırlanmış ve aşağıdaki formülle hesaplaması gerçekleştirilmiştir (3.16).

$$G6PDH = \frac{(A_{kör1} - A_{kör2}) \times (A_{örnek2} - A_{örnek0})}{20} \times 2 \times 150 \quad (3.16)$$

3.3 İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bütün verilerin ortalama ve standart sapma ($\pm$ Std) değerleri Microsoft Office Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. Bu verilerin istatistiksel analizleri SPSS for Windows 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) istatistiksel yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veri varyansı ANOVA kullanılarak analiz edilmiş ve ardından gruplar arasındaki farkı belirlemek için Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi kullanılmış ve farkın önemi %95 doğruluk sınırları içinde değerlendirilmiştir. Değerler arasındaki farkın önemli bulunması durumunda $P < 0,05$ ifadesi, farkın önemli bulunmaması durumunda ise $P > 0,05$ ifadesi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 *M. oleifera* Sulu Etanolik Ekstraktının Büyüme Performansına Etkisinin Sonuçları

Büyüme parametreleri ve yem kullanımına ilişkin sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir. Büyümeden elde edilen sonuçlar, 75 günlük kültür periyodundan sonra Nil tilapiyasının diyetine %1 oranında *M. oleifera* %30'luk etanolik ekstraktının eklenmesiyle son ağırlığı, canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yemden yararlanma oranı ve kondüsyon faktörünün kontrol grubu ve diğer deneme gruplarından önemli ölçüde yüksek olduğunu ortaya konmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.1 *M. oleifera* etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen *O. niloticus*'un büyüme performansı ve yem kullanımı.

	Deneme Grupları			
	KONTROL	MO1	MO2	MO3
Başlangıç ağırlığı (g balık ⁻¹)	10,02 ± 0,32	10,47 ± 0,21	10,19 ± 0,48	10,75 ± 0,31
Son ağırlığı (g balık ⁻¹)	39,48 ± 15,57 ^b	45,8 ± 9,46 ^a	34,57 ± 8,64 ^c	36,57 ± 13,58 ^{bc}
CAA (%)	29,46 ± 10,09 ^b	35,33 ± 11,87 ^a	24,39 ± 9,95 ^c	25,85 ± 10,11 ^c
SBO	1,83 ± 0,02 ^{ab}	1,97 ± 0,03 ^a	1,63 ± 0,01 ^c	1,63 ± 0,03 ^c
YYO	0,81 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,02 ^a	0,71 ± 0,01 ^b	0,72 ± 0,03 ^b
KF	1,75 ± 0,95 ^b	1,78 ± 0,91 ^a	1,75 ± 0,98 ^b	1,65 ± 0,97 ^c

Değerler ortalama ve standart hata (Ort. ±std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Duncan çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. MO1: *M. oleifera* %1; MO2: *M. oleifera* %2; MO3: *M. oleifera* %3. CAA= Canlı ağırlık artışı, SBO = Spesifik büyüme oranı ve YYO = Yemden yararlanma oranı, KF=Kondüsyon faktörü.

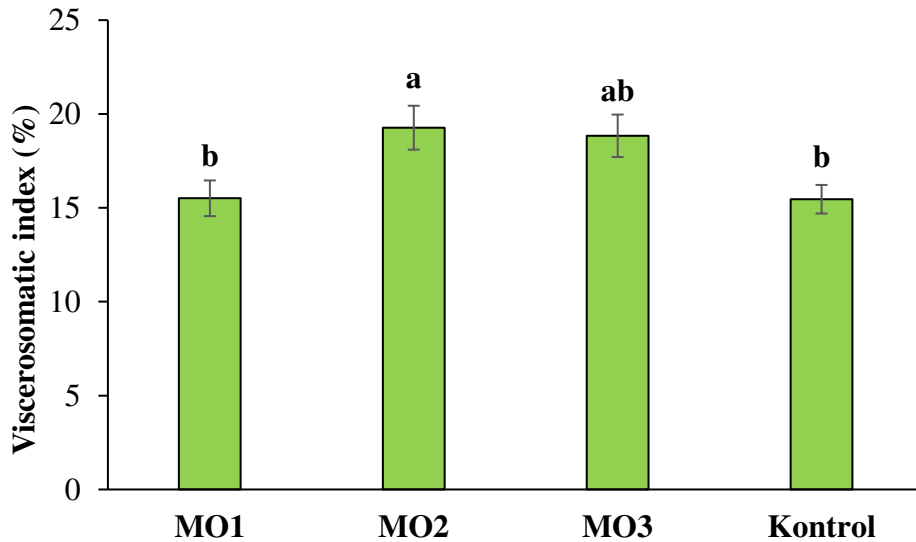
4.2 Visserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI) Sonuçları

Tablo 4.2’de Nil tilapiyasının visserosomatik (VSI) ve hepatosomatik (HSI) indeks sonuçları gösterilmiştir. *M. oleifera* etanolik ekstraktının %2’si ile takviye edilmiş diyetlerle beslenen Nil tilapiyalarının VSI ($19,27 \pm 1,17$) değerinin diğer deneme ve kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, %2 *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile desteklenmiş diyetlerle beslenen Nil tilapiyasının HSI değerinin ($4,89 \pm 0,6$) kontrol grubuna ($3,66 \pm 0,66$) kıyasla önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$) (Grafik 4.1 ve Grafik 4.2).

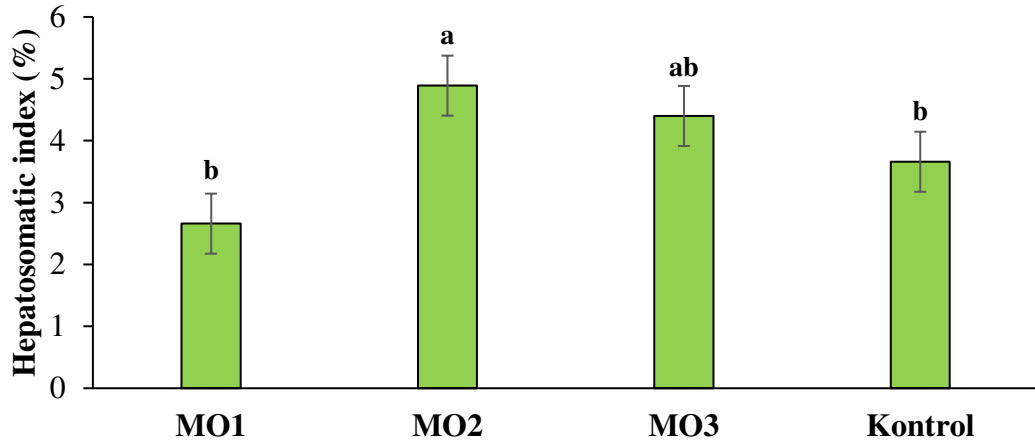
Tablo 4.2 *M. oleifera* etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen *O. niloticus*’un Visserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI)

	MO1	MO2	MO3	Kontrol
VSI	$15,51 \pm 0,95^b$	$19,27 \pm 1,17^a$	$18,84 \pm 1,13^{ab}$	$15,46 \pm 0,76^b$
HSI	$2,66 \pm 0,56^b$	$4,89 \pm 0,6^a$	$4,4 \pm 0,15^{ab}$	$3,66 \pm 0,66^b$

¹Değerler ortalama ve standart hata (Ort. $\pm$ std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Duncan çoklu karşılaştırma testine göre % 95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. MO1: *M. oleifera* %1; MO2: *M. oleifera* %2; MO3: *M. oleifera* %3. VSI:Viserosomatik İndeks, HSI: Heparosomatik İndeks.



Grafik 4.1 Farklı seviyelerde *M. oleifera* etanolik ekstraktının ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının (*O. niloticus*) Viscerosomatic indeksi



Grafik 4.2 Farklı seviyelerde *M. oleifera* etanolik ekstraktının ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının (*O. niloticus*) Hepatosomatik indeksi

4.3 *Moringa oleifera*'nın Nil Tilapiya'sında Sindirim Enzim Aktiviteleri Sonuçları

Tripsin, lipaz, amilaz ve pepsin gibi sindirim enzimi aktivitelerinin sonuçları Tablo 4.3 ve Grafik 4.3'de gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, tripsin aktivitesi, çalışmanın ilk aşamasında MO3 balık grubunda önemli ölçüde artış göstermiştir. 30. günde MO2 grubunda yükselme görülmüş ancak kontrol grubuyla arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($P > 0,05$). 45. günde, %1 ve %3 ile beslenen balıkların tripsin aktivitesi kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir ($P < 0,05$). Bununla birlikte, 60. günde, kontrol grubu takviye diyet uygulanan gruplara göre önemli ölçüde artmıştır. Çalışmanın sonunda, en yüksek tripsin aktivite seviyesi kontrol grubunda belirlenmiştir.

Tüm deneme ve kontrol grubu balıkların tüm çalışma süresince lipaz aktivitesinde istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$).

MO3 takviyeli diyetle beslenen Nil tilapilerinde amilaz aktivitesi seviyesi, kontrol veya M01 ve MO2 gruplarıyla beslenen balıklardan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). Farklı olarak, 30. günde, MO2 grubu kontrol ve diğer deney gruplarına kıyasla önemli ölçüde yükselmiştir. Her ne kadar 45. günde MO2 grubunda daha yüksek amilaz aktivitesi gözlemlense de bu değer kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur. Ancak, 60. günde MO3 grubunda kontrol ve diğer deney gruplarına

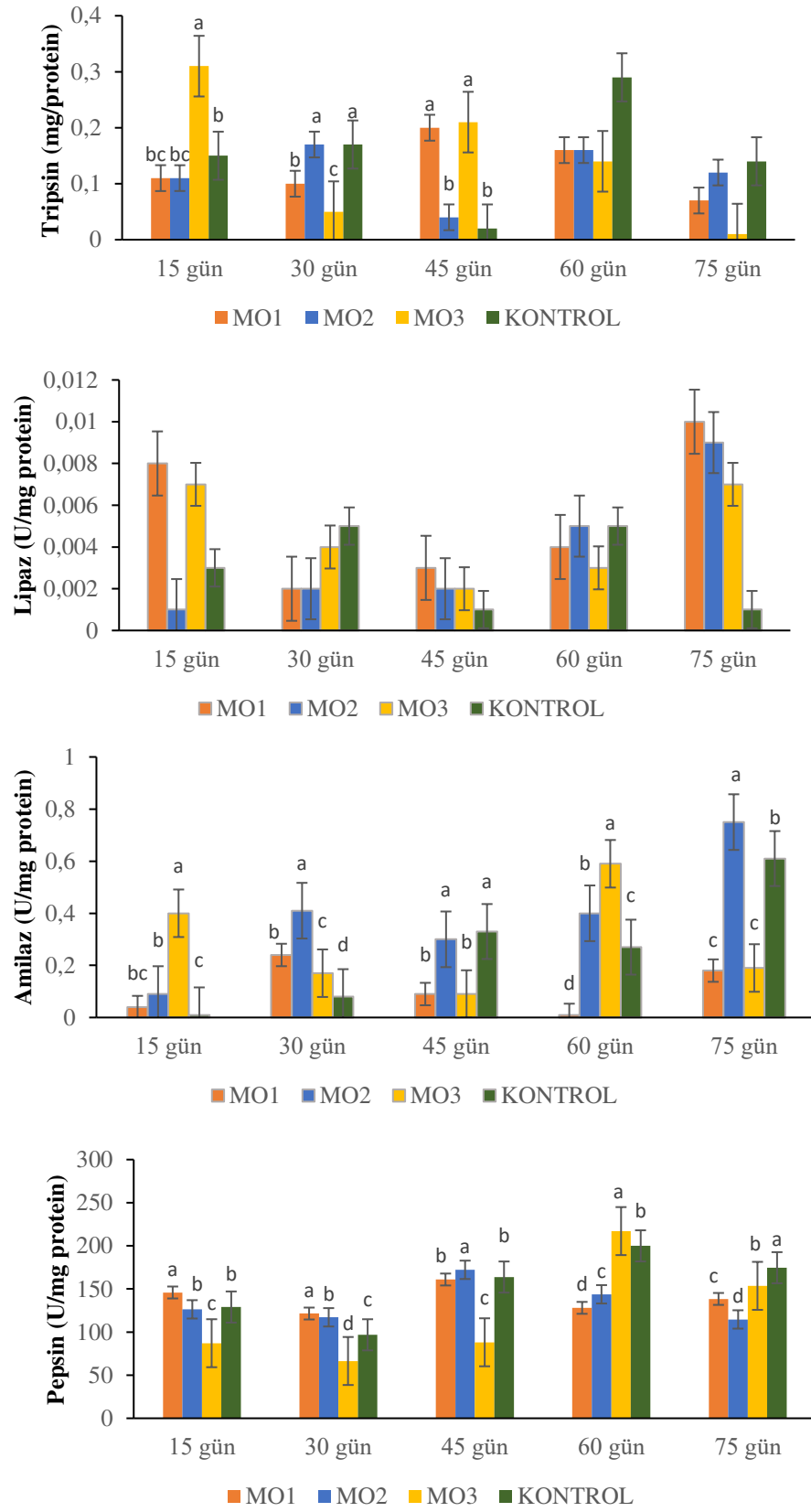
kıyasla önemli ölçüde artış tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda, %2 *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile beslenen balıkların amilaz aktivite seviyesi, kontrol ve diğer uygulamalarla beslenen balıklara göre önemli ölçüde artmıştır ($P < 0,05$).

Pepsin aktivitesi sonuçları incelendiğinde, MO1 grubu Nil tilapiyalarında 15. ve 30. günlerde kontrol ve diğer deneme gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). 45. günde, MO2 grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek pepsin aktivitesi gözlenmiştir ($P < 0,05$). Pepsin seviyesi MO3 balık grubunda çalışmanın 60. gününde diğer deneme gruplarına göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda en yüksek pepsin aktivitesi kontrol grubunda görülmüştür.

Tablo 4.3 *M. oleifera* etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen *O. niloticus*'un sindirim enzim aktiviteleri

		Deneme Grupları			
		MO1	MO2	MO3	Kontrol
15. gün	Tripsin	0,11 ± 0,28 ^{bc}	0,11 ± 0,04 ^{bc}	0,31 ± 0,19 ^a	0,15 ± 0,47 ^b
	Lipaz	0,008 ± 0,12	0,001 ± 0,001	0,007 ± 0,11	0,003 ± 0,002
	Amilaz	0,04 ± 0,03 ^{bc}	0,09 ± 0,33 ^b	0,40 ± 0,10 ^a	0,01 ± 0,02 ^c
	Pepsin	145,89 ± 13,53 ^a	126,34 ± 41,84 ^b	87,05 ± 21, 34 ^c	129,03 ± 51,73 ^b
30. gün	Tripsin	0,10 ± 0,03 ^b	0,17 ± 0,04 ^a	0,05 ± 0,04 ^c	0,17 ± 0,01 ^a
	Lipaz	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,004 ± 0,002	0,005 ± 0,004
	Amilaz	0,24 ± 0,19 ^b	0,41 ± 0,05 ^a	0,17 ± 0, 15 ^c	0,08 ± 0,11 ^d
	Pepsin	121,48 ± 23,55 ^a	117,11 ± 17,72 ^b	66,44 ± 7,36 ^d	96,81 ± 29,27 ^c
45. gün	Tripsin	0,20 ± 0,15 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	0,21 ± 0,09 ^a	0,02 ± 0,14 ^b
	Lipaz	0,003 ± 0,002	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,001 ± 0,001
	Amilaz	0,09 ± 0,08 ^b	0,30 ± 0,26 ^a	0,09 ± 0,09 ^b	0,33 ± 0,14 ^a
	Pepsin	160,94 ± 39,42 ^b	172,18 ± 18,75 ^a	88,13 ± 7,73 ^c	163,77 ± 5, 61 ^b
60. gün	Tripsin	0,16 ± 0,07	0,16 ± 0,02	0,14 ± 0,08	0,29 ± 0,04
	Lipaz	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,001	0,003 ± 0,001	0,005 ± 0,002
	Amilaz	0,01 ± 0,25 ^d	0,40 ± 0,20 ^b	0,59 ± 0,15 ^a	0,27 ± 0,1 ^c
	Pepsin	128,07 ± 8,73 ^d	143,8 ± 29,32 ^c	217,07 ± 20,87 ^a	199,94 ± 31, 71 ^b
75. gün	Tripsin	0,07 ± 0,01	0,12 ± 0,05	0,01 ± 0,07	0,14 ± 0,06
	Lipaz	0,01 ± 0,001	0,009 ± 0,005	0,007 ± 0,001	0,001 ± 0,001
	Amilaz	0,12 ± 0,07 ^c	0,75 ± 0,51 ^a	0,19 ± 0,23 ^c	0,61 ± 0,58 ^b
	Pepsin	138,42 ± 17,92 ^c	114,61 ± 35,50 ^d	153,57 ± 3,22 ^b	174,61 ± 19,95 ^a

Değerler ortalama ve standart hata (Ort. ±std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Duncan çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. MO1: *M. oleifera* %1; MO2: *M. oleifera* %2; MO3: *M. oleifera* %3.



Grafik 4.3 Farklı seviyelerde *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının sindirim enzimi aktiviteleri.

4.4 *Moringa oleifera*'nın Nil Tilapiya'sında Antioksidan Enzim Aktiviteleri Sonuçları

Farklı seviyelerde *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile beslenen Nil tilapiyasının antioksidan savunma mekanizmalarının sonuçları Tablo 4.4 ve Grafik 4.4'de sunulmuştur. Sonuçlar, Süperoksidad Dismutaz (SOD) aktivitesinin 15. günde MO1 ve MO2 gruplarında MO3 ve kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Ancak, 30. günde MO1 grubu kontrol ve diğer deney gruplarına kıyasla önemli ölçüde artmıştır. En yüksek SOD aktivitesi, tüm deney gruplarında 45., 60. ve 75. günlerde MO3 takviyeli diyetle beslenen balıklarda gözlenmiştir ($P < 0,05$).

Katalaz (CAT) aktivitesi 15. ve 30. günlerde MO2 grubunda kontrol ve diğer deney gruplarına göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). 45., 60. ve 75. günlerde, MO1'de istatistiksel olarak kontrol ve diğer deneme gruplarına kıyasla yüksek bir CAT aktivitesi tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

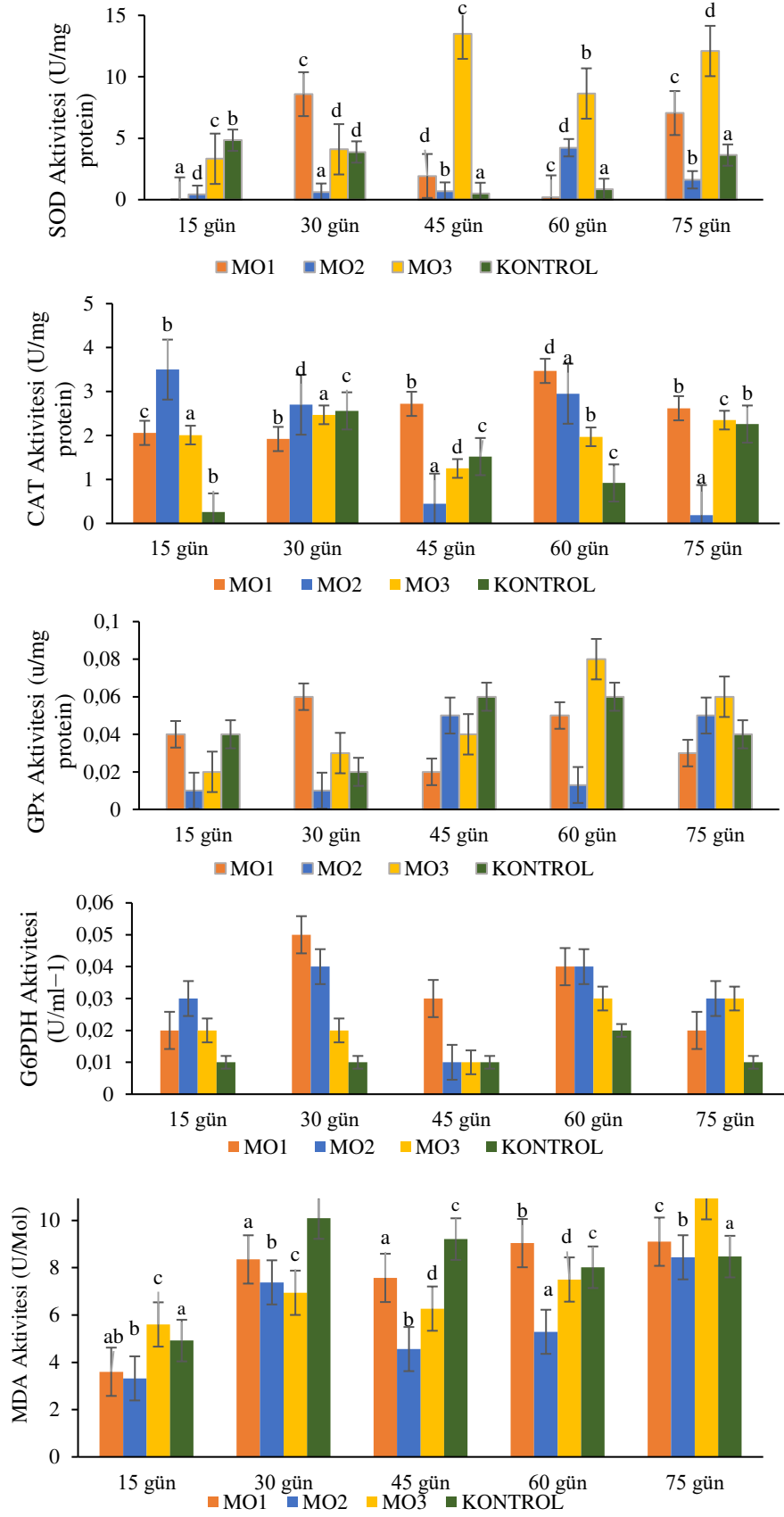
Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glukoz-6-fosfataz dehidrogenaz (G6PDH) aktiviteleri tüm deneme dönemlerinde kontrol grubu ve deneme grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık göstermemiştir ($P > 0,05$).

Malondialdehit (MDA) aktivitesi 15. günde MO2 grubunda en düşük, MO3 grubunda en yüksek olarak tespit edilmiştir. Denemenin 30. gününde ise MO3 grubu kontrol ve diğer deneme gruplarından önemli ölçüde daha düşüktür ($P < 0,05$). MO2 grubundaki MDA aktivitesi denemenin 45. ve 60. günlerinde azalma eğilimi göstermiştir.

Tablo 4.4 *M. oliefera* etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla 75 gün boyunca beslenen *O. niloticus*'un antioksidan enzim aktiviteleri

		Deneme Grupları			
		Kontrol	MO1	MO2	MO3
15. gün	CAT	0,26 ± 0,95 ^c	2,06 ± 0,025 ^b	3,50 ± 0,64 ^a	2,01 ± 0,81 ^b
	SOD	4,84 ± 0,36 ^a	0,03 ± 0,08 ^d	0,44 ± 0,02 ^c	3,33 ± 0,22 ^b
	GPx	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
	G6PDH	0,01 ± 0,02	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02
	MDA	4,92 ± 1,43 ^{ab}	3,6 ± 1,22 ^b	3,32 ± 0,49 ^c	5,6 ± 0,82 ^a
30. gün	CAT	2,56 ± 1,04 ^b	1,92 ± 0,93 ^d	2,70 ± 1,22 ^a	2,47 ± 1,91 ^c
	SOD	3,88 ± 0,51 ^c	8,59 ± 0,31 ^a	0,61 ± 0,35 ^d	4,10 ± 0,17 ^b
	GPx	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,01
	G6PDH	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,02
	MDA	10,1 ± 0,85 ^a	8,35 ± 0,81 ^b	7,38 ± 0,39 ^c	6,94 ± 1,05 ^d
45. gün	CAT	1,52 ± 0,84 ^b	2,72 ± 1,13 ^a	0,45 ± 0,80 ^d	1,25 ± 0,89 ^c
	SOD	0,51 ± 0,91 ^d	1,93 ± 0,95 ^b	0,70 ± 0,91 ^c	13,51 ± 0,11 ^a
	GPx	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01
	G6PDH	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,03
	MDA	9,21 ± 0,35 ^a	7,57 ± 0,91 ^b	4,56 ± 0,96 ^d	6,27 ± 0,49 ^c
60. gün	CAT	0,92 ± 0,28 ^d	3,47 ± 0,93 ^a	2,95 ± 0,33 ^b	1,27 ± 0,43 ^c
	SOD	0,84 ± 0,02 ^c	0,19 ± 0,08 ^d	4,23 ± 0,02 ^b	8,64 ± 0,89 ^a
	GPx	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,05 ± 0,01
	G6PDH	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,01
	MDA	8,02 ± 1,28 ^b	9,04 ± 0,92 ^a	5,29 ± 0,88 ^d	7,50 ± 0,60 ^c
75. gün	CAT	2,23 ± 0,63 ^b	2,62 ± 0,53 ^a	0,19 ± 0,67 ^c	2,35 ± 0,37 ^b
	SOD	3,63 ± 0,12 ^c	7,05 ± 0,85 ^b	1,62 ± 0,12 ^d	12,1 ± 0,98 ^a
	GPx	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
	G6PDH	0,01 ± 0,02	0,02 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,01
	MDA	8,47 ± 1,70 ^c	9,99 ± 1,18 ^b	8,44 ± 1,33 ^c	10,98 ± 1,05 ^a

Değerler ortalama ve standart hata (Ort. ±std) olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst harflerle gösterilen değerler arasındaki istatistiki fark Duncan çoklu karşılaştırma testine göre %95 doğruluk düzeyinde önemli bulunmuştur. SOD = süperoksidad dismutaz, CAT = katalaz, GPx = glutatyon peroksidad, MDA = Malondialdehit, G6PDH = glukoz-6-fosfataz dehidrojenaz.



Grafik 4.4 Farklı seviyelerde *M. oleifera* etanolik ekstresi ile 75 gün boyunca beslenen Nil tilapiyasının antioksidan enzim aktiviteleri.

5. TARTIŞMA

5.1 *M. oleifera*'nın Nil Tilapiyasının (*O. niloticus*) Büyüme Performansı, Yem Kullanımı, Visserosomatik İndeks (VSI) ve Hepatosomatik İndeks (HSI) Üzerine Etkisi

Büyüme parametreleri ve yem dönüşüm oranı, bir tıbbi bitkinin yemdeki etkilerini değerlendirmek için temel göstergelerden biri olarak kabul edilmektedir (Hoseinifar vd., 2018; Rashidian vd., 2020). Bu çalışmada, *M. oleifera* etanolik ekstraktının %1 oranında diyetle dahil edilmesi, Nil tilapiyasının büyüme performansını ve yem kullanımını önemli ölçüde artırmıştır. Önceki yapılan çalışmalarda, *M. oleifera* bitkisinin farklı balık türlerinin büyümesini ve yem kullanımını artırdığı rapor edilmiştir. 100 g kg⁻¹ *M. oleifera* yaprak unu içeren bir diyetle beslenen Bocourti yayın balığının *Pangasius bocourti*'nin daha iyi büyüme performansı ve yem kullanımı gösterdiği bildirilmiştir (Puycha vd., 2017). Benzer şekilde, önceki çalışmalarda 0,5 ve 2,5 g kg⁻¹ *M. oleifera* yaprağı ekstraktının beyaz bacaklı karidesin *Penaeus vannamei* büyüme performansını artırdığı bildirilmiştir (Abidin vd., 2021; Akbary vd., 2021). Artan büyüme oranı ve gelişmiş yem değerlendirme, bağışıklık sistemi özellikleri ve *M. oleifera* prebiyotik aktivitesi nedeniyle gelişmiş gastrointestinal enzimler ve gelişmiş bağırsak mikrobiyotası yoluyla yüksek sindirilebilirlik, emilim ve asimilasyon ile bağlantılı olabilir (Abo-State vd., 2014; Richter vd., 2003; Yuangsoi ve Charoenwattanasak, 2011). Buna ek olarak, gelişmiş büyüme *M. oleifera* yapraklarında bulunan β -karoten, C vitamini ve kuersetin gibi balıkların sağlık koşullarını iyileştiren yüksek antioksidan konsantrasyonlarından kaynaklanıyor olabilir (Vergara-Jimenez vd., 2017). Bu çalışma aynı zamanda %2 ve %3 *M. oleifera* etanolik ekstraktı içeren yemlerle beslenen Nil tilapiyasının büyümesi üzerinde olumsuz bir etki göstermiştir. Benzer şekilde Puycha vd., (2017), *Moringa sp.* yaprağı *P. bocourti*'nin beslenmesinde 100 g kg⁻¹ oranından fazla olmayacak şekilde kullanımı tavsiye edilmiştir. Başka çalışmalarda, *M. oleifera*'nın Nil tilapiyasının büyümesi üzerindeki olumsuz etkisini açıklarken, *M. oleifera* yaprak içeriğinde bulunan fenol, tanenler, fitatlar, saponinler, glukozinolatlar, nişasta olmayan polisakkaritler (NSP'ler), proteaz inhibitörleri ve gossipoller gibi antinutrientler yönünden zengin

olmasının fakat bu bileşenlerin, deney balıkları için yemin düşük kabul edilebilirliğine neden olabilecek acı bir tada sahip olmasından kaynaklığı bildirilmiştir (Egwui vd., 2013; Richter vd., 2003).

Yem maddelerindeki besin kullanımı ve biyokimyasal kompozisyon, belirli bir balığın organ ve doku indeksleri gibi balığın morfometrik karakterizasyonu kullanılarak değerlendirilebilir (Vatandoust vd., 2014). Bu çalışmada, %2 *M. oleifera* ekstraktı ilavesi Nil tilapiya (*O. niloticus*) kültürünün visserosomatik indeksini ve hepatosomatik indeksini önemli ölçüde artırmıştır. Birçok çalışmada farklı balık türlerinin organ indekslerini iyileştirmek için çeşitli tıbbi bitkiler kullanılmıştır. Örneğin, *Lemna minor* yaprak ununun %25, %50, %75 ve %100 oranlarında diyet takviyesi olarak kullanılması *C. gariepinus*'un visserosomatik ve hepatosomatik indekslerini önemli ölçüde artırmıştır (Babalola vd., 2022). Bir başka çalışmada, balık diyetine bazal katkı maddesi olarak Maltoz ilavesinin, balıkların visserosomatik ve hepatosomatik indeksler açısından durumunu artırdığı ve iyileştirdiği, bunun da deneysel diyetteki balıkların kontrol grubuna göre orta derecede enerji rezervi ile sağlıklı olduğunun bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Ighwela vd., 2014). Bu çalışmada, %2 *M. oleifera* ekstraktı ile beslenen balıklarda Nil tilapiyasının visserosomatik indeks ve hepatosomatik indeks değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sogbesan vd., (2017) göre, organ ve doku ağırlığındaki karşılık gelen artış, katkı maddelerindeki biyoaktif bileşiklerden kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte, *Jatropha curcas* çekirdek küspesi adi sazan yavrularını beslemek için kullanıldığında, bitkisel proteinle beslenen gruplarda daha yüksek bir HSI değeri gözlemlendiği bildirilmiştir (Kumar vd., 2010). Bunun karaciğerde daha yüksek lipid birikiminden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, *M. oleifera* yaprağı unu ile beslenen balıkların düşük lipid içeriğine sahip olduğu belirtilmiş ve bu durum *M. oleifera* yaprağının kolesterolü düşürme potansiyeline bağlanmıştır (Sudhir vd., 2010). Bu nedenle, *M. oleifera* ekstraktı ve fraksiyonlarının daha yüksek bir katılım seviyesi, protein ve lipid biyosentezi için mevcut enerjiyi azaltmış ve daha düşük büyüme performansı ve besin kullanımına yol açmış olabilir (Dongmeza vd., 2006). Bu nedenle, mevcut çalışmada, daha yüksek *M. oleifera* ekstraktı seviyelerine sahip gruplarda gözlemlenen en yüksek organ indeksleri, etteki düşük lipidler nedeniyle düşük vücut kütlelerinden kaynaklanıyor gibi görünmektedir.

5.2 *M. oleifera*'nın Nil Tilapiyasının (*O. niloticus*) Sindirim Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Sindirim enzim aktiviteleri, besin sindiriminde hayati bir rol oynar ve suda yaşayan hayvanların bağırsaklarının sindirim kapasitesini ve beslenme durumunu doğrudan yansıtır (Bilen vd., 2020; Xu vd., 2020). Çalışmalar, tıbbi bitkelerin balık bağırsaklarında ve midelerinde sindirim enzim aktivitelerini uyarak iştahı artırabileceğini kanıtlamıştır (Tan ve Sun, 2020). Bu çalışmada, *M. oleifera*'nın Nil tilapiyasında sindirim enzimi aktiviteleri üzerindeki etkileri test edilmiştir. Pepsin, tripsin, lipaz ve amilaz balıklarda bulunan ana sindirim enzimleridir ve öncelikle sindirimi düzenlemek için bağırsakta işlev görürler (Salem vd., 2022). Tripsin aktivitesi balıkların beslenme koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilir ve salgılanması pankreas aktivitesi ile tutarlıdır (Sunde vd., 2001). Çalışmanın ilk aşamasında %3 *M. oleifera* ekstraktı ile beslenen balıklarda tripsin aktivitesi sonuçları daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, çalışmanın sonunda, tüm deney grupları kontrol grubundan daha düşük tripsin aktivitesi göstermiştir. Birçok çalışma, tıbbi bitkinin özelliklerinin balıklarda tripsin aktivitesini uyardığını bildirmiştir. Örneğin, Bilen vd., (2020) 0,5 ve 1 g kg⁻¹ konsantrasyonda melisa ile beslenen gökkuşağı alabalığının tripsin aktivitesini uyardığını göstermiştir (Bilen vd., 2020). Ayrıca, siyah hardal (*Brassica nigra*) tohumu yağı, kontrol grubuna kıyasla tüm deney gruplarında gökkuşağı alabalığı *O. mykiss*'in tripsin aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır (Lakwani vd., 2022). Genellikle, artan tripsin aktivitesi balık ağırlığı ile ilişkilidir (Torrissen vd., 1994). Mevcut çalışma, *M. oleifera* etanolik ekstraktının daha yüksek takviye seviyesinin, Nil tilapiyasında tripsin aktivitesini azaltmış olabilecek kilo alımını önemli ölçüde azalttığını belirlemiştir.

Pankreas esas olarak lipaz enzimini salgılayan organdır ve yağların, özellikle de triailgliserollerin parçalanmasında önemli bir rol oynayarak sindirime yardımcı olur (Awad, 2010). Mevcut çalışmada, en yüksek lipaz aktivitesi çalışmanın 15. gününde %1 ve %3 *M. oleifera* ekstraktı ile beslenen balıklarda gözlenmiştir. Bununla birlikte, çalışmanın sonunda, tüm deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış görülmüştür. Benzer bulgular adı sazan *Cyprinus carpio*'da ebegümeci (*Malva sylvestris*) ekstraktı takviyesi ile lipaz aktivite seviyelerinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, ısırgan otu

yaprağı kaz ayağı (*Chenopodium album*) ekstraktının diyetle takviyesi, *Cyprinus carpio* sazanının lipaz aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır (Amhamed vd., 2018). Artan lipaz aktivitesi, *M. oleifera* ekstraktının diyet takviyesinin Nil tilapiyasının diyetle alınan lipid alımını etkili bir şekilde sindirdiğini göstermiştir.

Larva ve yavru balıklarda, amilazın büyümesi glikolitik zincirler, glikojen ve nişasta tarafından uyarılır (Krogh vd., 2005). Bu çalışma sırasında, %2 ve %3 *M. oleifera* ekstraktı ile beslenen balıklarda Nil tilapiyasında amilaz aktivitesinde bir artış gözlenmiştir, bu da Amhamed vd., (2018) sonuçlarıyla uyumludur, en yüksek amilaz aktivitesi seviyesinin %0,1 ısırgan yaprağı kaz ayağı (*Chenopodium album*) ekstraktı ile beslenen tipik sazan yavrularında fark edildiğini göstermiştir. Ayrıca, kereviz (*Apium graveolens*) diyet takviyesi, adi sazan *C. carpio*'nun amilaz aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır. Bağırsak, besin kullanımını ve balık büyümesini iyileştirebilecek fitojenik katkı maddeleri içeren diyet takviyelerinin biyoaktif bileşikleri nedeniyle amilaz salgılamak için uyarılabilir (Platel vd., 2004).

Pepsin, proteinlerin hidrolizinde rol oynayan önemli bir asidik proteazdır (Zhao vd., 2011). Bu çalışmada, MO1 ve MO2 balık gruplarındaki pepsin aktivitesi 15., 30. ve 45. günlerde önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, 60. günde, Lakwani vd., (2022) sonuçlarına benzer şekilde, MO3 balık grubu tüm gruplara kıyasla en yüksek pepsin aktivitesini gözlemlemiştir. Buna ek olarak, Bilen vd., (2020) melisa (*Melissa officinalis*) ile beslenen gökkuşağı alabalığı *O. mykiss*'te yüksek pepsin aktivitesi göstermiştir. Lakwani vd. (2022), artan pepsin aktivitesinin balıklarda yüksek protein sindirime işaret ettiğini belirtmiştir. Bununla birlikte, MO2 ve MO3 gruplarının nihai ağırlığı 75 günlük kültürden sonra önemli ölçüde artmamıştır. Bununla birlikte, sadece MO1 grubu tüm tedavi edilen gruplar arasında daha iyi büyüme performansı göstermiştir. Dolayısıyla, pepsin aktivitesindeki artış MO1 balık grubunun ağırlığındaki artıştan sorumlu olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma, *M. oleifera*'nın %30'luk sulu etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarıyla ile beslendikten Nil tilapiyasında sindirim enzimi aktivitelerinde değişiklikler olduğunu göstermiştir. Nil tilapiyasının en yüksek büyüme performansının düşük *M. oleifera* ekstraktı seviyesine sahip grupta olduğu

gözlemlenmiştir. Sindirim enzimlerinin spesifik aktivitelerinde gözlenen artışlar, sindirimin ve yem emiliminin artmasına yol açmış ve bu da Nil tilapiyasının (*O. niloticus*) büyümesinin iyileşmesine katkıda bulunmuş olabilir. Dolayısıyla, sindirim enzimi aktivitesindeki iyileşme, bağırsak mikroflorasını modüle ederek balıklarda endoselüler sindirim enzimi aktivitesini ve hücre dışı enzim aktivitesini uyaran bu *M. oleifera*'nın aktif içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

5.3 *M. oleifera*'nın Nil Tilapiyasının (*O. niloticus*) Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Antioksidan enzim savunma mekanizmaları, lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerini önlemede esastır. Bu SOD, CAT, GPx, MDA ve G6PDH enzimleri, antioksidan durumu değerlendirmek için bir gösterge olarak ve su hayvanlarında oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Biller ve Takahashi, 2018; Ighodaro ve Akinloye, 2018; Wangkahart vd., 2022). Neredeyse tüm hücrelerde bulunan çok sayıda antioksidan sistem, serbest radikalleri temizlemek ve hücre hasarı önlemek için çalışır (Sönmez vd., 2015). SOD enzimi, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit (H_2O_2) dismutasyon reaksiyonunu açıkça katalize eden ve oksijen (O_2) üreten, süperoksit radikal toksisitesine karşı önemli bir savunma mekanizması sağlayan ökaryotik organizmalarda en belirgin ve iyi bilinen enzimatik antioksidanlardan biridir (Li vd., 2015; Michiels vd., 1994; Wangkahart vd., 2022). Bu çalışmada, %3 *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile beslenen balıklarda 45. ve 75. günlerde kontrol ve diğer deney gruplarına kıyasla artan bir SOD seviyesi gözlemlenmiştir. Benzer bir bulgu, karahindiba (*Taraxacum officinalis*) ile desteklenmiş diyetlerle beslenen gökkuşığı alabalığı *Onchorhynchus mykiss* yavrularında SOD aktivitesinde önemli bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Salem vd., 2021). Buna ek olarak, *M. oleifera*'nın diyet takviyesi, *Litopenaeus vannamei* karidesinin SOD aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır (Akbari vd., 2021). Ayrıca, adaçayı (*Salvia officinalis*), nane (*Mentha spicata*) ve kekik (*Thymus vulgaris*) yağlarının diyetle takviyesi, gökkuşığı alabalığı *Onchorhynchus mykiss*'in SOD aktivitesini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artırmıştır (Sönmez vd., 2015). Önceki araştırmalar, yüksek SOD aktivitesinin, yüksek Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretiminin etkilerine

karşı koyan hücre içi süperoksit radikallerinde bir artıştan kaynaklanabileceğini göstermiştir (Cheng vd., 2007; John vd., 2001).

Katalaz (CAT) aktivitesi, hücresel antioksidan savunma sisteminin temel bir bileşeni olan hidrojen peroksidi oksijen ve suya dönüştürür (Zheng vd., 2009). Çalışmamız CAT aktivitesini %1 ve %2 *M. oleifera* ekstresi konsantrasyon seviyelerinde önemli ölçüde artırmıştır. Benzer bir çalışmada, zencefilin tilapiya diyetine dahil edilmesi CAT aktivite seviyesini önemli ölçüde artırmıştır (Şahan vd., 2017). Ayrıca, taurin takviyesi *Totoaba macdonaldi*'nin CAT aktivitesinde önemli bir artışa yol açmıştır (Bañuelos-Vargas vd., 2014). Li vd., (2019), Yılanbaş *Chana argus*'un CAT aktivitesinin diyetlerine *Allium mongolicum* ekleyerek önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Bununla birlikte, mevcut çalışmada %2 *M. oleifera* ekstraktı ile beslenen balıklarda 45. ve 75. günlerde CAT aktivitesinde önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Oksidatif strese karşı farklı tepkileri yönetebilen enzimin hücre içi lokalizasyonuna sahip olan ve bunu belirleyen peroksizomlar nedeniyle birkaç tıbbi bitki ekstraktının CAT aktivitesini azaltabileceği belirtilmiştir (Giao vd., 2010).

Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, glutasyon redüktazın çalışması için gerekli olan Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve Glutasyon disülfid (GSSG) sentezini katalize eder (Salem vd., 2021). Mevcut çalışma, %3 *M. oleifera* ekstresi içeren grupta GPx aktivitesinin arttığını göstermiştir. Benzer şekilde, *Macrobrachium rosenbergii*'nin diyetine %0,5 oranında *M. oleifera* yaprak ekstraktı eklenmesi GPx aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır (Kaleo vd., 2019). Farzollahi vd. (2019), *H. perforatum* ekstraktı bazlı diyetlerle beslenen gökkuşığı alabalığı *O. mykiss*'in GPx aktivitesini önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada, %2 takviyeli diyetle beslenen balıklarda GPx aktivite seviyesinde önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Önceki çalışmalar, GPx'deki azalmanın hücrelerin serbest radikalleri temizleme yeteneğini azaltarak genel oksidatif potansiyeli artırabileceğini göstermiştir. Önceki çalışmaları, hücre içi glutasyon içeriğini düşürerek ve glutasyonla ilişkili antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltarak oksidatif dengesizlik ve oksidatif süreçler tetiklenmiş, bu da hücre ölümünü artırmıştır (Pandey vd., 2008; Sönmez vd., 2015).

Malondialdehit (MDA), serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Bu çalışmada, Nil tilapiyasının MDA aktivitesini, diyetlerine %2 oranında *M. oleifera* etanolik ekstraktı eklenmesinin önemli ölçüde azaldığını belirledik. Benzer bulgularda, 1000 ve 250 mg kg⁻¹ Nar Kabuğu (*Punica granatum*) ve Veratrum (*Veratrum album*) takviyesi gökkuşağı alabalığı *O. mykiss*'in MDA'sını önemli ölçüde azaltmıştır (Sönmez vd., 2022). Bu durum, %1 ve %3 *M. oleifera* etanolik ekstraktı ile beslenen balıkların MDA aktivitesinin arttığı mevcut çalışma ile benzerlik göstermektedir. MDA seviyelerindeki artış, su kalitesindeki düşüş nedeniyle çevresel bir alanın bozulmasıyla ilişkili olabilir (Charissou vd., 2004). Ayrıca, lipid peroksidasyon belirteci MDA'daki önemli artış, lipid moleküllerinin reaktif oksijen türlerine duyarlılığını ve bu moleküllere uygulanan oksidatif hasarın derecesini gösterebilir (Arojoye vd., 2016).

Glukoz-6-fosfataz dehidrojenaz (G6PDH), reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan hücresel hasarın önlenmesinde hayati bir rol oynar ve hidrojen peroksitin parçalanması için gereklidir (Salem vd., 2021). Bu antioksidan parametre, pentoz fosfat yolunu katalize etmek için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) üretir. Üretilen NADPH, redüktaz ve katalaz için gereklidir (Salem vd., 2021). Çalışmamızda, Nil tilapiyasının G6PDH aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında önemli ölçüde iyileşmiştir. Gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss*'in diyetine adaçayı, nane ve kekik yağlarının diyet takviyesi, kontrol grubuna kıyasla tedavi edilen tüm grupların karaciğer dokularında önemli ölçüde artmıştır (Sönmez vd., 2015). Bu sonuç, aynı türün G6PDH aktivitesini önemli ölçüde artıran karahindiba diyet takviyesi ile tutarlıdır (Salem vd., 2021). Sönmez vd., (2015), biyokimyasal reaksiyon zincirinde artan NADPH talepleri nedeniyle artan G6PDH aktivitesinin şaşırtıcı olmadığını belirtmiştir. Ayrıca, küçük boyutlu balıklar, artan G6PDH aktivitesi seviyesinden kaynaklanan daha fazla NADPH üretimine ihtiyaç duymaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, Nil tilapiyasının diyetine *M. oleifera* etanolik ekstraktının diyetlere eklenmesinin antioksidan savunma parametrelerini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, çalışmanın bazı aşamalarında enzimlerde değişiklikler olmuştur. Bastrop vd., (1991) göre, bazı

enzimlerin aktivitesindeki değişiklik muhtemelen yetiştirme koşullarına ve diyet bileşimlerine adaptasyonu yansıtmaktadır. Bununla birlikte, *M. oleifera* ekstraktının Nil tilapiyasının antioksidan aktiviteleri üzerindeki olumlu etkileri muhtemelen flavonoid ve karotenoid içerikleri gibi çeşitli biyoaktif bileşiklerin varlığına ve serbest radikalleri ve aktif antioksidan enzimleri dışarı atan ve *M. oleifera* ile ilişkili antioksidan aktivite için daha fazla açıklama sağlayan oksidazları inhibe eden C vitamini ve E vitamini bileşimine bağlanmaktadır (Luqman vd., 2011; Pakade vd., 2013). Ayrıca, *M. oleifera* yapraklarındaki antioksidan aktivitenin, bir benzil-glikozit taşıyan ve enzimatik olarak izotiyosiyanatlara, tiyosiyanatlara veya nitrillere hidrolize olan glukozinolatların varlığıyla daha da arttığı bildirilmiştir (Bennett vd., 2003; Wach vd., 2007).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen bulgular, *M. oleifera* etanolik ekstraktının eklenmesinin etkilerinin doza bağlı olma eğiliminde olduğunu göstermiştir; bu sayede yemdeki *M. oleifera* konsantrasyonu %0'dan %1'e yükseldikçe Nil tilapiyasında büyüme performansı, yem değerlendirme ve sindirim enzimi aktiviteleri artmıştır. Bununla birlikte, *M. oleifera* %30'luk etanolik ekstraktının %2 ila %3 konsantrasyon seviyelerinde takviyesi, antioksidan aktivitelerini arttırsa da, büyüme performansını olumsuz yönde etkilemiştir. Elde edilen sonuçlara göre; %30'luk *M. oleifera* etanolik ekstraktının Nil tilapiyasında büyüme destekleyici ve immüностimülant olarak farklı dozlarda kullanılabileceği sonucuna varılabilir. Mevcut çalışmadan, *M. oleifera* konsantrasyonların Nil tilapiyası için önemli olduğu da anlaşılmaktadır. %1 oranında büyümeyi teşvik edici özellikte kullanılabilecekken daha yüksek dozajlarda ancak hastalığa karşı kısa süreli kullanımının mümkün olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle, gelecekteki araştırmalar *M. oleifera* etanolik ekstraktının tropikal bölgelerdeki Nil tilapiyasında en çok hastalık etkeni olan *Streptococcus agalactiae* patojenine karşı hastalık direnci üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla çalışmalar gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Gawad, E.A., El Asely, A.M., Soror, E.I. *et al.* (2020). Effect of dietary *Moringa oleifera* leaf on the immune response and control of *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*O. niloticus*) fry. *Aquaculture In* 28, 389–402 <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00469-0>
- Abdel-Latif, H. M., Abdel-Tawwab, M., Dawood, M. A., Menanteau-Ledouble, S., & El-Matbouli, M. (2020). A review of the benefits of dietary butyric acid, sodium butyrate, and their protected forms in aquafeeds. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28(4), 421-448.
- Abidin, Z., Huang, H. T., Hu, Y. F., Chang, J. J., Huang, C. Y., Wu, Y. S., & Nan, F. H. (2022). Effect of dietary supplementation with *Moringa oleifera* leaf extract and *Lactobacillus acidophilus* on growth performance, intestinal microbiota, immune response, and disease resistance in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). *Fish & Shellfish Immunology*, 127, 876-890.
- Abidin, Z., Huang, H. T., Liao, Z. H., Chen, B. Y., Wu, Y. S., Lin, Y. J., & Nan, F. H. (2021). *Moringa oleifera* leaves' extract enhances nonspecific immune responses, resistance against *Vibrio alginolyticus*, and growth in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). *Animals*, 12(1), 42.
- Abm, R.B.; Mun, H.S.; Yang, C.J. (2017). Breast and Thigh Meat Chemical Composition and Fatty Acid Profile in Broilers Fed Diet with Dietary Fat Sources. *J. Food Process. Tec nol.* 2017, 8, 1–7.
- Abo-State, H., Hammouda, Y., El-Nadi, A., Ahmed, H. (2014). Evaluation of feeding raw moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves meal in Nile tilapia fingerlings (*O. niloticus*) Diets. *Glob. Vet.*13: 105–111. doi: 10.5829/idosi.gv.2014.13.01.84228
- Adel, M., Omid, A. H., Dawood, M. A., Karimi, B., & Shekarabi, S. P. H. (2021). Dietary *Gracilaria persica* mediated the growth performance, fillet colouration, and immune response of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture*, 530, 735950.
- Adusei, S., Azupio, S., Emmanuel, T. M., MacCarthy, C., & Akomeng, N. (2022). Phytochemistry, nutritional composition and pharmacological potential of *Moringa oleifera*: A comprehensive review. *International journal of plant based pharmaceuticals*, 2(2), 228-238.
- Afuang, W., Siddhuraju, P., & Becker, K. (2003). Comparative nutritional evaluation of raw, methanol extracted residues and methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves on growth performance and feed utilization in Nile tilapia (*O. niloticus* L.). *Aquaculture Research*, 34(13), 1147-1159.

- Ahmadifar, E., Yousefi, M., Karimi, M., Fadaei Raieni, R., Dadar, M., Yilmaz, S., ... & Abdel-Latif, H. M. (2021). Benefits of dietary polyphenols and polyphenol-rich additives to aquatic animal health: an overview. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(4), 478-511.
- Ahmed, H. S., Adel, M., & Adel, E. (2014). Incorporation of *Moringa oleifera* leaf in Nile tilapia *O. niloticus* diet and its effect on growth performance and immune status. *Journal of Veterinary Science (Suwon-si, Korea)*.
- Ahmed, N. F., Sadek, K. M., Soliman, M. K., Khalil, R. H., Khafaga, A. F., Ajarem, J. S., ... & Allam, A. A. (2020). *Moringa oleifera* leaf extract repairs the oxidative misbalance following sub-chronic exposure to sodium fluoride in Nile tilapia *O. niloticus*. *Animals*, 10(4), 626.
- Akbary, P., Gholamhosseini, A., Ali, M., Jahanbakhshi, A., Tavabe, K. R., Kuchaksaraei, B. S., & Mirghaed, A. T. (2021). Dietary administration of *Moringa oleifera* extract enhances growth, fatty acid composition, antioxidant activity and resistance of shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Photobacterium damsela*. *Agriculture and Natural Resources*, 55(2), 161-170.
- Akbary, P., Gholamhosseini, A., Ali, M., Jahanbakhshi, A., Tavabe, K. R., Kuchaksaraei, B. S., & Mirghaed, A. T. (2021). Dietary administration of *Moringa oleifera* extract enhances growth, fatty acid composition, antioxidant activity and resistance of shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Photobacterium damsela*. *Agriculture and Natural Resources*, 55(2), 161-170.
- Amer, S. A., Rahman, A. N. A., ElHady, M., Osman, A., Younis, E. M., Abdel-Warith, A. W. A., ... & Ibrahim, R. E. (2023). Use of moringa protein hydrolysate as a fishmeal replacer in diet of *O. niloticus*: Effects on growth, digestive enzymes, protein transporters and immune status. *Aquaculture*, 740202.
- Amhamed, I. D., Mohamed, G. A., Almabrok, A. A., Altief, T. A. S., & Bilen, S. (2018). Efficacy of dietary *Chenopodium album* extract on some health parameters, digestive enzymes and growth performance in juvenile *Cyprinus carpio*. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 33(2), 165-176.
- Anjorin, T. S., Ikokoh, P., & Okolo, S. (2010). Mineral composition of *Moringa oleifera* leaves, pods and seeds from two regions in Abuja, Nigeria. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(3), 431-434.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(1), 17-25.
- Awad, E.S. (2010). Studies on plant based dietary supplements for control of *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* walbaum). Ph.D. Thesis. Heriot-Watt University, Scotland, UK

- Babalola, O. A., Sunnuvu, T. F., & Fakunmoju, F. A. (2022). Viscerosomatic and hepatosomatic indices of *Clarias gariepinus* juvenile fed with *Lemna minor* leaf meal. *Int J Sci Environ Technol*, 11, 94-104.
- Bañuelos-Vargas I, López LM, Pérez-Jiménez A, Peres H (2014) Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comp Biochem Phys B* 170:18–25
- Bastrop R, Spangenberg R, Jürss K (1991) Biochemical adaptation of juvenile carp (*Cyprinus carpio* L.) to food deprivation. *Comp Biochem Physiol (Part A)* 98:143–149
- Bbole, I., Mumba, C., Mupenda, N., & Kefi, A. S. (2016). Analysis of growth performance and haematological parameters of *O. niloticus* fed on a varying diet of *Moringa oleifera* Lam. leaf meal as an additive protein source. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 8(11), 105-111.
- Bennett, R. N., Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L., & Kroon, P. A. (2003). Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3546-3553.
- Bilen, S., Özkan, O., Alagöz, K. & Özdemir, K.Y. (2018). Effect of dill (*Anethum graveolens*) and garden cress (*Lepidium sativum*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 495:611–616.
- Bilen, S., Unal, S. & Guvensoy, H. (2016) Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 454:90–94
- 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.
- Bilen, S., Filogh, A. M., Ali, A. B., Kenanoğlu, O. N., & Zoral, M. A. (2020). Effect of common mallow (*Malva sylvestris*) dietary supplementation on growth performance, digestive enzyme activities, haematological and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture International*, 28, 73-84.
- Billah, M. B., Haque, M. E., Sarkar, S., Hossain, M. M., & Dey, S. K. (2020). Growth performance, hematological disorder and bacterial challenge on Nile tilapia (*O. niloticus*) using *Moringa oleifera* plant leaf as feed supplement. *Bangladesh J. Zool*, 48(1), 151-166.

- Biller, J. D., & Takahashi, L. S. (2018). Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 3403-3414.
- Bisht, M., Kumar, A., & Shah, T. K. (2020). Effect of *Moringa oleifera* leaf powder on skin mucosal immune responses and growth performance of guppy, *Poecilia reticulata* (Peter, 1860). *Aquaculture Research*, 51(12), 4984-4990.
- Boyd, E.C. (2004). Farm-Level Issues in Aquaculture Certification: Tilapia. Report commissioned by WWF-US in 2004. Auburn University, Alabama 36831.
- Brilhante, R. S. N., Sales, J. A., de Souza Sampaio, C. M., Barbosa, F. G., Paiva, M. D. A. N., de Melo Guedes, G. M., ... & Rocha, M. F. G. (2015). *Vibrio* spp. from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(11), 919-922.
- Bwanika, G.N., Makanga, B., Kizito, Y., Chapman, L.J. & Balirwa, J. (2004). Observations on the biology of Nile tilapia, *O. niloticus*, L., in two Ugandan Crater lakes. *African Journal of Ecology* 42: 93–101.
- Chen, S., Jia, Y., Xu, W., Peng, J., He, Y., Sun, J., ... & Gan, L. (2020). Effect of *Moringa oleifera* leaf meal supplementation on growth performance, morphological indexes, antioxidant status and resistance to *Streptococcus agalactiae* of Nile Tilapia (*O. niloticus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1), 29-39.
- Cheng, A. C., Tu, C. W., Chen, Y. Y., Nan, F. H., & Chen, J. C. (2007). The immunostimulatory effects of sodium alginate and iota-carrageenan on orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 22(3), 197-205.
- Coppin, J. P., Xu, Y., Chen, H., Pan, M. H., Ho, C. T., Juliani, R., ... & Wu, Q. (2013). Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1892-1899.
- Dawood, M. A., & Koshio, S. (2018). Vitamin C supplementation to optimize growth, health and stress resistance in aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 10(2), 334-350.
- Dawood, M. A., Eweedah, N. M., Moustafa, E. M., & Farahat, E. M. (2020). Probiotic effects of *Aspergillus oryzae* on the oxidative status, heat shock protein, and immune related gene expression of Nile tilapia (*O. niloticus*) under hypoxia challenge. *Aquaculture*, 520, 734669.
- Dongmeza, E., Siddhuraju, P., Francis, G., & Becker, K. (2006). Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves and three of its fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*O. niloticus* (L.)). *Aquaculture*, 261(1), 407-422.
- Dongmeza, E., Siddhuraju, P., Francis, G., & Becker, K. (2006). Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves and three of its

- fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*O. niloticus* (L.)). *Aquaculture*, 261(1), 407-422.
- Egwui, P.C., Mgbenka, B.O., Ezeonyejiaku, C.D. (2013). Moringa plant and its use as feed in aquaculture development: A review. *Anim. Res. Int.* 10: 1672–1680.
- Elabd, H., Soror, E., El-Asely, A., Abd El-Gawad, E., & Abbass, A. (2019). Dietary supplementation of Moringa leaf meal for Nile tilapia *O. niloticus*: Effect on growth and stress indices. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45(3), 265-271.
- El-Kassas, S., Abdo, S. E., Abosheashaa, W., Mohamed, R., Moustafa, E. M., Helal, M. A., & El-Naggar, K. (2020). Growth performance, serum lipid profile, intestinal morphometry, and growth and lipid indicator gene expression analysis of mono-sex Nile tilapia fed *Moringa oleifera* leaf powder. *Aquaculture Reports*, 18, 100422.
- El-Sayed, A. F. M. (2019). *Tilapia culture*. Academic Press.
- El-Sayed, A. F. M., & Fitzsimmons, K. (2023). From Africa to the world—The journey of Nile tilapia. *Reviews in Aquaculture*, 15, 6-21.
- El-Son, M. A., Hendam, B. M., Nofal, M. I., & Abdel-Latif, H. M. (2022). Effects of *Moringa oleifera*-based diets on growth, immunological responses, liver antioxidant biomarkers and expression of immune-related genes in Nile tilapia (*O. niloticus*) raised in hapa-in-pond system. *Aquaculture Research*, 53(12), 4338-4352.
- Emam, M. A., Shourbela, R. M., El-Hawarry, W. N., Abo-Kora, S. Y., Gad, F. A. M., Abd El-latif, A. M., & Dawood, M. A. (2021). Effects of *Moringa oleifera* aqueous extract on the growth performance, blood characteristics, and histological features of gills and livers in Nile tilapia. *Aquaculture and Fisheries*.
- Enayat Gholampour, T., Fadaei Raieni, R., Pouladi, M., Larijani, M., Pagano, M., & Faggio, C. (2020). The dietary effect of Vitex agnus-castus hydroalcoholic extract on growth performance, blood biochemical parameters, carcass quality, sex ratio and gonad histology in Zebrafish (*Danio rerio*). *Applied Sciences*, 10(4), 1402.
- Fahey, J.W. (2005). *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. Trees for Life Journal, 1(5), 1-15
- Fakurazi, S., Sharifudin, S. A., & Arulselvan, P. (2012). *Moringa oleifera* hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature. *Molecules*, 17(7), 8334-8350.
- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020).

- FAO. (2021). Global aquaculture production 1950–2019. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>. 2021.
- FAO. (2012). Cultured Aquatic Species Information Programme. *O. niloticus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Rakocy, J. E. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 18 February 2005. [Cited 11 September 2012].
- FAO. (2020a). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020—Sustainability in Action, FAO, Rome
- FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rom, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Farzollahi, H., Sarvi Moghanlou, K., & Imani, A. (2019). Single and combined effects of Chicory (*Cichorium intybus* L.) and Hypericum perforatum extracts on immune indices and antioxidant enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).
- Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses.
- Francis, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3-4), 197-227.
- Fryer, G & Iles, T.D. (1972). The Cichlid Fishes of the Great Lakes of Africa: Their biology and Evolution. T.F.H. Publications, Hong Kong.
- García-Beltrán, J. M., Mansour, A. T., Alsaqufi, A. S., Ali, H. M., & Esteban, M. Á. (2020). Effects of aqueous and ethanolic leaf extracts from drumstick tree (*Moringa oleifera*) on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, and their cytotoxic, antitumor, bactericidal and antioxidant activities. *Fish & Shellfish Immunology*, 106, 44-55.
- Ghafarifarsani, H., Kachuei, R., & Imani, A. (2021). Dietary supplementation of garden thyme essential oil ameliorated the deteriorative effects of aflatoxin B1 on growth performance and intestinal inflammatory status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 531, 735928.
- GISD (2012). Global Invasive Species Database – *O. niloticus* – Available from: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=1322&fr=1&sts=sss&lang=EN>
- Giaño, MS., Pestana, D., Faria, A., Guimaraes, J.T., Pintado, ME., Calhau, C., Azevedo, I. & Malcata, F.X. (2010) Effects of extracts of selected medicinal plants upon hepatic oxidative stress. *J Med Food* 13:131–136
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K. & Kumar, D. S. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food science and human wellness*, 5(2), 49-56.

- Hoseinifar, S. H., Yousefi, S., Capillo, G., Paknejad, H., Khalili, M., Tabarraei, A., ... & Faggio, C. (2018). Mucosal immune parameters, immune and antioxidant defence related genes expression and growth performance of zebrafish (*Danio rerio*) fed on *Gracilaria gracilis* powder. *Fish & shellfish immunology*, 83, 232-237.
- Hussain, S. M., Javid, A., Hussain, A. I., Aslam, N., Qasim, A., Hussain, M., ... & Riaz, D. (2018). Replacement of fish meal with *Moringa oleifera* leaf meal (MOLM) and its effect on growth performance and nutrient digestibility in *Labeo rohita* fingerlings. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(5).
- Ighodaro, O. M. & Akinloye, O. A. (2018). First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Ighwela, K. A., Ahmad, A. B. & Abol-Munafi, A. B. (2014). The selection of viscerosomatic and hepatosomatic indices for the measurement and analysis of *O. niloticus* condition fed with varying dietary maltose levels. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 1(3), 18-20.
- John, S., Kale, M., Rathore, N., & Bhatnagar, D. (2001). Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 12(9), 500-504.
- Kaleo, I. V., Gao, Q., Liu, B., Sun, C., Zhou, Q., Zhang, H., ... & Song, C. (2019). Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. *Fish & shellfish immunology*, 89, 603-613.
- Kaleo, I.V., Gao, Q., Bo, L., et al. (2019). Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. *Fish Shellfish Immun.* 89: 603–613. doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.039
- Karina, S., Akbar, M., Supriatna, A., & Muchlisin, Z. A. (2015). Replacement of soybean meal with *Moringa oleifera* leaf meal in the formulated diets of tilapia (*O. niloticus*) fingerlings. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 8(5), 790-795.
- Kasolo, J.N., Bimenya, G.S., Ojok, L., Ochieng, J., Ogwal-Okeng, J.W. (2010). Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(9), 753-757
- Khalafalla, M. M., Abdellatef, E., Dafalla, H. M., Nassrallah, A. A., Aboul-Enein, K. M., Lightfoot, D. A., ... & El-Shemy, H. A. (2010). Active principle from *Moringa oleifera* Lam leaves effectiveness against two leukemias and a hepatocarcinoma. *African Journal of Biotechnology*, 9(49), 8467-8471.

- Krogdahl, Å., Hemre, G.I. & Mommsen, T.P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*, 11(2): 103–122.
- Kumar, J., Priyadharshini, M., Madhavi, M., Begum, S. S., Ali, A. J., Musthafa, M. S., & Faggio, C. (2022). Impact of *Hygrophila auriculata* supplementary diets on the growth, survival, biochemical and haematological parameters in fingerlings of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 263, 111097.
- Kumar, V.; Makker, H.P.S. and Becker, K. (2010). Detoxified *Jatropha curcas* karnel meal as a dietary protein source: growth performance, nutrient utilization and digestive enzyme in common carp fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 2010 Dio: 10.1111/j. 1365-2095.
- Lakwani, M. A., Kenanoğlu, O. N., Taştan, Y. & Bilen, S. (2022). Effects of black mustard (*Brassica nigra*) seed oil on growth performance, digestive enzyme activities and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 53(1), 300-313.
- Li, M., Zhu, X., Tian, J., Liu, M. & Wang, G. (2019). Dietary flavonoids from *Allium mongolicum* Regel promotes growth, improves immune, antioxidant status, immune-related signaling molecules and disease resistance in juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Aquaculture*, 501, 473-481.
- Lim, C., & Dominy, W. (1989). Utilization of Plant Protein by Warm Water Fish American Soybean Association. *USD. ARS Tropical Aquaculture Research Unit. The Oceanic Institute. Haw ii. 3AQ (15)*, 89-4.
- Luqman, S., Srivastava, S., Kumar, R., Maurya, A.K. & Chanda, D. (2011). Experimental assessment of *Moringa oleifera* leaf and fruit for its antistress, antioxidant, and scavenging potential using in vitro and in vivo assays. *Evid-Based Compl. Alt.* 2012: 519084. doi.org/10.1155/2012/519084
- Lushchak, V.I. (2014) Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact* 224:164–175
- Magouz, F. I., Mahmoud, S. A., El-Morsy, R. A., Paray, B. A., Soliman, A. A., Zaineldin, A. I., & Dawood, M. A. (2021). Dietary menthol essential oil enhanced the growth performance, digestive enzyme activity, immune-related genes, and resistance against acute ammonia exposure in Nile tilapia (*O. niloticus*). *Aquaculture*, 530, 735944.
- Mahajan, S. G., Mali, R. G., & Mehta, A. A. (2007). Effect of *Moringa oleifera* Lam. seed extract on toluene diisocyanate-induced immune-mediated inflammatory responses in rats. *Journal of Immunotoxicology*, 4(2), 85-96.
- Makkar, H.P.S., Becker, K., (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaf. *Anim. Feed Sci. Tech.* 63, 211e228.

- Makkar, H.P.S., Becker, K., (1999). Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 175, 327–335.
- Mansour, A. T., Espinosa, C., García-Beltrán, J. M., Miao, L., Ceballos Francisco, D. C., Alsaqufi, A. S., & Esteban, M. (2020). Dietary supplementation of drumstick tree, *Moringa oleifera*, improves mucosal immune response in skin and gills of seabream, *Sparus aurata*, and attenuates the effect of hydrogen peroxide exposure. *Fish physiology and biochemistry*, 46(3), 981-996.
- Mansour, A. T., Miao, L., Espinosa, C., García-Beltrán, J. M., Ceballos Francisco, D. C., & Esteban, M. Á. (2018). Effects of dietary inclusion of *Moringa oleifera* leaves on growth and some systemic and mucosal immune parameters of seabream. *Fish physiology and biochemistry*, 44, 1223-1240.
- Mbikay, M., (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 24
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., & Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free radical Biology and medicine*, 17(3), 235-248.
- Mishra, S., Lakhawat, S. & Pandey, H. (2020). *Moringa oleifera*: A Miracle Plant. *Popular Kheti*, 8(2), 29-30.
- Monir, W., Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E. D., & Awad, S. M. (2020). Pomegranate peel and moringa-based diets enhanced biochemical and immune parameters of Nile tilapia against bacterial infection by *Aeromonas hydrophila*. *Microbial pathogenesis*, 145, 104202.
- Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925-12933.
- Nasr-Allah, A., Gasparatos, A., Karanja, A., Dompok, E. B., Murphy, S., Rossignoli, C. M., ... & Charo-Karisa, H. (2020). Employment generation in the Egyptian aquaculture value chain: implications for meeting the sustainable development goals (SDGs). *Aquaculture*, 520, 734940.
- Ozovehe, B. N. (2013). Growth performance, haematological indices and some biochemical enzymes of juveniles *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) fed varying levels of *Moringa oleifera* leaf meal diet. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 4(2).
- Paikra, B.K. & Gidwani, B. (2017). Phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Pharmacopuncture*, 20(3), 194-200
- Pakade, V., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2013). Comparison of antioxidant activity of *Moringa oleifera* and selected vegetables in South Africa. *South African journal of science*, 109(3), 1-5.

- Pandey, S., Parvez, S., Ansari, R. A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., ... & Raisuddin, S. (2008). Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-biological interactions*, 174(3), 183-192.
- Park, E.J., Cheenpracha, S., Chang, L.C., Kondratyuk, T.P. & Pezzuto, J.M. (2011). Inhibition of lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by 4- [(2'-O-acetyl-1-L-Rhamnosyl Oxy) benzyl]-isothiocyanate from *Moringa oleifera*. *Nutrition and Cancer*, 63, 971-982. <https://doi.org/10.1080/01635581.2011.589960>
- Parveen, S., Rasool, F., Akram, M. N., Khan, N., Ullah, M., Mahmood, S., ... & Manzoor, K. (2021). Effect of *Moringa oleifera* leaves on growth and gut microbiota of Nile tilapia (*O. niloticus*). *Brazilian Journal of Biology*, 84.
- Picker, M.D. & Griffiths, C.L. (2011). Alien and Invasive Animals – A South African Perspective. Randomhouse/Struik, Cape Town, South Africa. 240 pp.
- Pillay, T. V. R. (1990). *Aquaculture: principles and practices*. fishing news books.
- Puycha, K., Yuangsoi, B., Charoenwattanasak, S., Wongmaneeprateep, S., Niamphithak, P., & Wiriyaattanasub, P. (2017). Effect of moringa (*Moringa oleifera*) leaf supplementation on growth performance and feed utilization of Bocourti's catfish (*Pangasius bocourti*). *Agriculture and natural resources*, 51(4), 286-291.
- Rao, K. V., Gopalakrishnan, V., Loganathan, V. & Nathan, S. S. (1999). Anti - inflammatory activity of *M. oliefera*. *Lam Ancient Science of Life*, 18(3-4), 195.
- Rashidian, G., Bahrami Gorji, S., Farsani, M. N., Prokić, M. D. & Faggio, C. (2020). The oak (*Quercus brantii*) acorn as a growth promotor for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): growth performance, body composition, liver enzymes activity and blood biochemical parameters. *Natural Product Research*, 34(17), 2413-2423.
- Richter, N., Siddhuraju, P. & Becker, K. (2003). Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*O. niloticus* L.). *Aquaculture*, 217(1-4), 599-611.
- Ricker, W.E. (1979) Growth rates and models. In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (eds) *Fish physiology*, vol 8. Academic Press Inc, New York, pp 677–743.
- Salama, F., Labib, L., Al-Sheikh, H., Tonsy, H. & Zaki, M. (2016). Effect of Moringa, *Moringa oleifera*, leaves supplementation as a growth promoter on growth performance, body composition, and physiological profile of Nile tilapia *O. niloticus* (L.) fry. *Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development. D, Environmental Studies*, 17(1), 49-61.
- Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H. & Mirakzehi, M.T. (2017). antioxidant status and thigh meat quality of broiler chickens fed diet supplemented with α -

- tocopherolacetate, pomegranate pomace and pomegranate pomace extract. *Ita. J. nim. Sci.* 2017, 17, 386–395.
- 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 (*Onchorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with dandelion (*Taraxacum officinalis*) and lichen (*Usnea barbata*) extracts. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47(4), 1053-1062.
- 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.
- Shelton, W. L. (2002, February). Tilapia culture in the 21st century. In *proceedings of the International Forum on Tilapia Farming in the 21st Century (Tilapia Forum 2002)* (Vol. 184, pp. 1-20). Philippines Fisheries Association Inc. Los Banos, Laguna, Philippines.
- Shourbela, R. M., El-Hawarry, W. N., Elfadadny, M. R., & Dawood, M. A. (2021). Oregano essential oil enhanced the growth performance, immunity, and antioxidative status of Nile tilapia (*O. niloticus*) reared under intensive systems. *Aquaculture*, 542, 736868.
- Siddhuraju, P., Becker, K., & Makkar, H. P. S. (2000). Studies on the Nutritional Composition and Antinutritional Factors of Three Different Germplasm Seed Materials of an Under-Utilized Tropical Legume, *Mucuna pruriens* Var. U tilis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 6048-6060.
- Sogbesan, O. A., Ahmed, Y. M., & Ajijola, K. O. (2017). Growth performance, nutrient utilization, somatic indices and cost benefit analysis of african basil leaf additive diet on *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *Journal of Animal Reasearch and Nutrition*, 2(1).
- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish physiology and biochemistry*, 41, 165-175.
- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Özdemir, K. Y., Alagöz, K., & Özçelik, H. (2022). Effect of aqueous methanolic extract of pomegranate peel (*Punica granatum*) and veratrum (*Veratrum album*) on oxidative status, immunity and digestive enzyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Agricultural Sciences*, 1-1.
- Sudaporn, T., Kringsak, M., and Yuwadee, P (2010). Effect of replacing fish meal with Spirulina on growth, carcass composition and pigments of Mekong Giant cat fish. *Journal of Agricultural Science*, 2(3): 106-110. ISSN: 2041-3890

- Sudhir, K. (2010). Debasis, Mishra.; Goutam, Ghosh.; and Chandra Panda. Medical uses and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. *International Journal of Phytomedicine*, 2010, 2:210-216.
- Sunde, J., Taranger, G.L. & Rungruangsak-Torrissen, K. (2001). Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 25(4): 335–345.
- Şahan A, Duman S, Çolak SÖ, 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*. *Turk J Fish Aquat Sc* 17:91–100. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17_1_11
- Tan, X., & Sun, Z. (2020). Dietary dandelion extract improved growth performance, immunity, intestinal morphology and microbiota composition of golden pompano *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture Reports*, 18, 100491.
- Teixeira, E. M. B., Carvalho, M. R. B., Neves, V. A., Silva, M. A., & Arantes-Pereira, L. (2014). Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. leaves. *Food chemistry*, 147, 51-54.
- Thurber, M.D., Fahey, J.W., (2009). Adoption of *Moringa oleifera* to combat undernutrition viewed through the lens of the “Diffusion of Innovations” theory. *Ecology of Food and Nutrition*, 48(3), 212-225.
- Torrissen, K., Lied, E., & Epse, M. (1994). Genetic differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with different trypsin isozyme patterns. *Aquaculture Research*, 25(1), 128-129.
- Vatandoust, Saber & Anvarifar, Hossein & Mousavi-Sabet, Hamed. (2014). Morphometric and Meristic Characteristics and Morphological Differentiation of Brown Trout *Salmo trutta fario* (Pisces: Salmonidae) along the Southern Caspian Sea Basin. *European Journal of Zoological Research*. 3. 56-65.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4), 91.
- Veronica, D. R., Martaningrum, E. T., & Lokapirnasari, W. P. (2021, March). The inclusion of moringa leaf extract fermentation in commercial feed to enhance feed conversion ratio and specific growth rate of tambaqui fish, *Colossoma macropomum*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 718, No. 1, p. 012079). IOP Publishing.
- Wach, A., Pyrzyńska, K., & Biesaga, M. (2007). Quercetin content in some food and herbal samples. *Food chemistry*, 100(2), 699-704.
- 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 (*O. niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 402-410.
- Xu, A., Shang-Guan, J., Li, Z., Gao, Z., Huang, Y. C., & Chen, Q. (2020). Effects of dietary Chinese herbal medicines mixture on feeding attraction activity, growth performance, nonspecific immunity and digestive enzyme activity of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture Reports*, 17, 100304.
- Yao, Y. Y., Yang, Y. L., Gao, C. C., Zhang, F. L., Xia, R., Li, D., ... & Zhou, Z. G. (2020). Sur ace display system for probiotics and its application in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2333-2350.
- Yuangsoi, B., Charoenwattanasak, S. (2011). Utilization of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf on growth performance and protein digestibility in Tilapia (*O. niloticus* L.). Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference. Kasetsart University, Bangkok, Thailand, pp. 317–326.
- Yuangsoi, B., Klahan, R. & Charoenwattanasak, S. (2014). Partial replacement of protein in soybean meal by moringa seed cake (*Moringa oleifera*) in bocourti's catfish (*Pangasius bocourti*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 36(2), 125-135.
- Zhang, X., Sun, Z., Cai, J., Wang, J., Wang, G., Zhu, Z. & Cao, F. (2020). Effects of dietary fish meal replacement by fermented moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves on growth performance, non-specific immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). *Fish & Shellfish Immunology*, 102, 430-439.
- Zhao, L., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, M. S. & Dave, D. (2011). Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. *J. Food Process. Technol*, 2(6), 1.
- Zheng, Z. L., Tan, J. Y., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X. & Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 292(3-4), 214-218