

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

**YEMDE SİRKEN UNU KULLANIMININ (*Chenopodium album*)
ALABALIKLARIN (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME
PERFORMANSI, VÜCUT KOMPOZİSYONU VE SİNDİRİM
ENZİMLERİNE ETKİLERİ**

Iman Daw AMHAMED

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Doç. Dr. Soner BİLEN
Prof. Dr. Nadir Başçınar
Doç. Dr. Betül GÜROY
Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ
Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY**

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI**

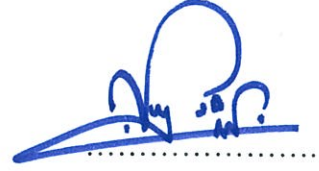
KASTAMONU – 2018

TEZ ONAYI

Iman Daw AMHAMED tarafından hazırlanan "**Yemde Sirken Unu Kullanımının (*Chenopodium album*) Alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) Büyüme Performansı, Vücut Kompozisyonu Ve Sindirim Enzimlerine Etkileri**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. Soner BİLEN
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Nadir BAŞÇINAR
Karadeniz Teknik Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Betül GÜROY
Yalova Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Adem Yavuz Sönmez
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Kerim GÜNEY
Kastamonu Üniversitesi



11/06/2018

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Iman Daw AMHAMED

Iman Daw

ÖZET

Doktora Tezi

YEMDE SİRKEN UNU KULLANIMININ (*Chenopodium album*) ALABALIKLARIN (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI, VÜCUT KOMPOZİSYONU VE SİNDİRİM ENZİMLERİNE ETKİLERİ

Iman Daw AMHAMED
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Soner BİLEN

Bu çalışmada yem katkı maddesi olarak *Chenopodium album* unu ile farklı dozlarda (% 0, % 2,5, % 5) üç ay boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığı yavrularının büyüme, vücut kompozisyonu, sindirim enzimlerine ek olarak antioksidan, bağışıklık ve hematolojik parametreleri tespit edilmiştir. Başlangıç ağırlığı $24,48 \pm 0,05$ g olan balıklar üç grup oluşturacak şekilde dokuz tanka bölünerek her tanka 40 balık olacak şekilde stoklanmıştır ve deneme üç tekrerrür olarak başlatılmıştır. Çalışma süresince her ayın sonunda solunum patlaması (NBT), lizozim ve myeloperoksidaz aktivitesine ek olarak antioksidan enzim aktiviteleri (Katalaz, CAT; superoksit dismutaz, SOD; glutatyon peroksidaz, GPx ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, (G6PDH) ve lipit peroksidasyonu seviyeleri (malondialdehit, MDA) belirlendi. Üç aylık besleme denemesi sonrasında büyüme parametrelerinde final ağırlığı, ağırlık kazanımı (WG), spesifik büyüme oranı (SGR), yem değerlendirme oranı (FCR) ve sindirim enzimlerinden pepsin, tripsin, amilaz ve lipaz ve ayrıca, hematolojik parametrelerden, kırmızı kan hücresi (RBC) sayısı, hemoglobin içeriği (Hb), hematokrit seviyesi (Hct) ve kırmızı kan hücre indeksini içeren ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hücre hemoglobini (MCH) ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre final ağırlığı, WG, SGR ve yaşama oranı % 5 C. album içeren yemlerle beslenen gruplarda kontrol grubuna kıyasla azalmış ($P < 0,05$) ve FCR değerleri de artmıştır. Pepsin, tripsin ve amilaz değerleri kontrol grubuna kıyasla kayda değer oranda artış göstermiştir, bunlardan farklı olarak lipaz tüm deneme gruplarında farklılık oluşturmamıştır. Çalışma sonunda G6PDH ve SOD aktiviteleri tüm deneme gruplarında 30 ve 60. günlerde kayda değer oranda azalmıştır ($P < 0,05$). CAT ve MDA seviyelerinde de benzer şekilde 30, 60 ve 90. günlerde düşüş gözlenmiştir. Ayrıca %2,5 oranında C album ile beslenen grupların 30. Gününde % 5 C. album içeren yemlerle beslenen grupların 60. günlerinde CAT ve MDA değerleri düşmüştür. NBT değeri hiç bir deneme grubunda değişiklik göstermezken, myeloperoksiz seviyeleri % 5 C. album grubunda azalma göstermiştir. Serum lizozim aktivitesi çalışma periyodu boyunca tüm gruplarda artış göstermiştir ($P < 0,05$). % 2,5 ve % 5 C. album ile beslenen gruplarda Hb, Hct, MCH ve MCHC değerleri önemli derecede azalmıştır. Sonuç olarak yeme C. album eklenmesi sindirim enzimleri

üzerinde olumlu, büyüme performansı, antioksidan, bağışıklık ve hematolojik parametreler üzerinde olumlu etkileri yoktur.

Anahtar kelimeler: *Chenopodium album*, Gökkuşığı alabalığı, büyüme, vücut kompozisyonu, sindirim enzimleri, antioksidan durum, bağışıklık ve hematolojik parametreler.

2018, 111 sayfa
Bilim kodu: 1205



ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EFFECTS OF VINEGAR (*Chenopodium album*) MEAL IN DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, BODY COMPOSITION AND DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Iman Daw AMHAMED
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Soner BİLEN

This study was designed to evaluate the growth, body composition and digestive enzyme activity as well as some antioxidant, immunological and haematological parameters of rainbow trout juvenile fed diets containing different levels (0%, 2.5% or 5%) of *Chenopodium album* powder as a feed additive for three months. Fish with an average initial weight 24.48 ± 0.05 g, were divided into 3 groups in 9 tanks with stocking density of 40 fish/tank (triplicate tank were assigned for each experimental group). At the end of every month, respiratory burst (NBT), lysozyme and myeloperoxidase (MPO) activity as well as liver antioxidant enzyme activities (catalase, CAT; superoxide dismutase, SOD; glutathione peroxidase, GPx and glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH) and lipid peroxidation level (melondialdehyde, MDA) were analyzed. After three months of feeding, growth parameters such as final weight, weight gain (WG), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR) and digestive enzymes like pepsin, trypsin, amylase and lipase as well as haematological profile; red blood cells (RBC) count, hemoglobin content (Hb), haematocrit value (Hct) and red blood cells indices including; the mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH) and mean cell hemoglobin concentration (MCHC) were examined. The results showed that final weight, WG, SGR and survival rate of fish significantly decrease ($P<0.05$) in 5% *C. album* diet-fed fish group with highest FCR value than the control group. Pepsin, trypsin and amylase increased significantly in all experimental groups, whereas lipase activity not affected by the plant diets, as compared to the control group. It was observed that G6PDH and SOD activities were significantly decreased ($P<0.05$) in the liver of all the treated fish groups on the 30th and 60th days of experiment, respectively. Again, a significant reduction ($P<0.05$) was found in CAT and MDA levels in the fish fed the diets with the plant powder compared to the control on the 30th, 60th and 30th days of experiment, respectively. Also, feeding with 2.5% diets for thirty days and 5% diets for sixty days led to significant decrease in hepatic GPx activity, as compared to the control. Blood NBT levels were not affected by the dietary treatment, but MPO values were significantly decreased ($P<0.05$) in 5% diet-fed fish group at the end of 60th and 90th

days. On the other hand, serum lysozyme activity was significantly increased ($P<0.05$) in all experimental groups during study periods. However, feeding with 2.5% *C. album* diet caused significant decrease ($P<0.05$) in Hb, Hct, MCH and MCHC values, meanwhile, feeding with 5% herbal diet led to significant reduction ($P<0.05$) in RBC and Hct values of fish, compared to the control group. As a general conclusion, addition of *C. album* to diets of trout exerted positive effect on digestive enzymes, compromised growth performance at different levels, and undesirable effects on antioxidant, immunological and haematological parameters.

Keywords: *Chenopodium album*, rainbow trout, growth, body composition, digestive enzymes, antioxidant status, immunological and haematological parameters

2018, 111 pages
Science code: 1205



TEŞEKKÜR

Bu çalışmada katkılarında dolayı, tez çalışması boyunca yardımlarını esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Soner Bilen'e, çalışma süresince desteğini esirgemeyen sevgili eşim İbrahim EMHAMED'e, çalışmalarım esnasında bana sorun çıkarmayan çocuklarım Rawan, Ghofran, Abd Alrahman, Mohamed ve Wael'e, anneme, babama, kardeşlerime ve laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden dolayı Libyalı ve Türk çalışma arkadaşlarıma ve son olarak da beni ekonomik olarak destekledikleri için Libya Hükümetine teşekkürü borç bilirim.

Iman Daw AMHAMED
Kastamonu, Haziran 2018



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GRAFİKLER DİZİNİ	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği	1
1.2. Balıklarda Sindirim Enzimleri.....	2
1.2.1 Alfa-Amilaz	3
1.2.2. Pepsin	4
1.2.3. Tripsin	5
1.2.4. Kemotripsin	6
1.2.5. Lipaz	7
1.3. Balıklarda Antioksidan Sistem.....	7
1.3.1 Balıklarda Oksidatif Stres.....	8
1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	9
1.3.1.2. Katalaz (CAT).....	9
1.3.1.2. GPx/GSSG redüktaz sistem	10
1.3.1.2. Lipid peroksidasyonu	11
1.4. Balıklarda Bağışıklık Sistemi.....	12
1.4.1 Doğal (Nonspesifik) Bağışıklık	12
1.4.1.1. Fiziksel parametreler	13
1.4.1.2. Hücresel parametreler	13
1.4.1.3. Humoral parametreler	14
1.4.2. Uyarlayıcı (Spesifik) Bağışıklık.....	16
1.5. Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss)	17
1.6. Chenopodium album	17

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	22
2.1. Bitkilerin Büyüme ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkileri	22
2.2. Çeşitli Bitkilerin Sindirim Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri	26
2.3. Bitkilerin Antioksidan Durumuna Etkileri	30
2.4. Bitkilerin Bağışıklık Durumuna Etkileri	34
3. YÖNTEM	37
3.1. Yem Karışımı ve Hazırlanması	37
3.2. Balık ve Çalışmanın Tasarlanması	38
3.3. Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi	38
3.4. Vücut Kompozisyonu	39
3.4.1. Nem İçeriği	39
3.4.2. Ham Protein	39
3.4.3. Ham Yağ (Diethyl Eter Ekstraktı)	39
3.4.4. Kül İçeriği	40
3.5. Sindirim Enzimi	40
3.5.1. Midesel Pepsin Aktivitesi	40
3.5.2. Bağırsak Tripsin Aktivitesi	41
3.5.3. Bağırsak Amilaz Aktivitesi	41
3.5.4. Bağırsak Lipaz Aktivitesi	42
3.6. Antioksidan Analizi	42
3.6.1. Karaciğer Katalaz Aktivitesi (CAT)	42
3.6.2. Karaciğer Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)	44
3.6.3. Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (GPx)	44
3.6.4. Karaciğer Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Aktivitesi (G6PDH) ...	45
3.6.5. Kas Lipid Peroksidaz Aktivitesi (Malondialdehyde, MDA)	47
3.7. İmmünolojik Tahliller	47
3.7.1. Kan Solunum Patlama (NBT) Seviyesinin Tahlili	48
3.7.2. Serum Myeloperoksidaz (MPO) İçeriği	48
3.7.3. Serum Lizozim Aktivitesi	49
3.8. Hematolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi	49
3.8.1. Kırmızı Kan Hücreleri (RBC) Sayımı	49
3.8.2. Hemoglobin (Hb) İçeriğinin Belirlenmesi	50
3.8.3. Hematokrit Tayini (Hct)	50

3.8.4. Kırmızı Kan Hücresi Endekslerinin Belirlenmesi	50
3.9. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR	52
4.1. Büyüme	52
4.2. Vücut Kompozisyonu	53
4.3. Sindirim Enzim Aktiviteleri	54
4.3.1. Mide Pepsin Aktivitesi	54
4.3.2. Bağırsak Tripsin Aktivitesi	55
4.3.3. Bağırsak Amilaz Aktivitesi	56
4.3.4. Bağırsak Lipaz Aktivitesi	56
4.4. Antioksidan Aktivite	57
4.4.1. Katalaz (CAT) Aktivitesi	57
4.4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)	59
4.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	60
4.4.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)	62
4.4.5. Lipid Peroksidasyonu (MDA)	63
4.5. Bağışıklık Parametreleri	64
4.5.1. Solunum Patlaması (NBT)	64
4.5.2. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO)	65
4.5.3. Serum Lizozim Aktivitesi	66
4.6. Hematolojik Parametreler	67
4.6.1. Kırmızı Kan Hücresi Sayısı (RBC)	67
4.6.2. Hemoglobin İçeriği (Hb)	67
4.6.3. Haematokrit (Hct)	67
4.6.4. Kırmızı Kan Hücresi Endeksleri	68
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
5.1. Büyüme	69
5.2. Sindirim Enzimleri	71
5.2.1. Pepsin	72
5.2.2. Tripsin	72
5.2.3. Amilaz	74
5.2.4. Lipaz	75
5.3. Antioksidan Parametreleri	76

5.3.1. Katalaz (CAT)	76
5.3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)	77
5.3.3. Glutasyon Perooksidaz (GPx)	78
5.3.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)	78
5.3.5. Lipid Peroxide (Malondialdehyde, MDA)	79
5.4. İmmünolojik Parametreler	79
5.4.1. Kan Solunum Patlaması (NBT)	80
5.4.2. Serum Myeloperoksidaz (MPO)	81
5.4.3. Serum Lizozim	82
5.5. Hematolojik Parametreler	83
5.5.1. Kırmızı Kan Hücresi Sayısı (RBC)	83
5.5.2. Hemoglobin İçeriği	84
5.5.3. Haematocrit (Hct)	85
5.5.4. Kırmızı Kan Hücre İndeksi	85
KAYNAKLAR	87

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

C	Santigrat
CAT	Katalaz
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetat
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
Gr +	Gram Pozitif
G6PDH	Glukoz 6-Fostat Dehidrogenaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
kg	Kilogram
l	Litre
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
POD	Peroksidaz
·OH	Hidroksil
O ₂	Oksijen
OH ⁻	Hidroksit
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durum
TOS	Toplam Oksidan Durum
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
U	Unite
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
°	Derece
%	Yüzde

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. <i>C. album</i> ile beslenen alabalıklarda mide pepsin aktivitesi.....	55
Grafik 4.2. <i>C. album</i> ile beslenen alabalıklarda bağırsak Tripsin aktivitesi	55
Grafik 4.3. <i>C. album</i> ile beslenen alabalıklarda bağırsak amilaz aktivitesi	56
Grafik 4.4. <i>C. album</i> ile beslenen alabalıklarda bağırsak lipaz aktivitesi	57
Grafik 4.5. Grafik 4.5. Çalışma süresince elde edilen relativ CAT aktivitesi	58
Grafik 4.6. Günlere göre relativ SOD aktivitesi	60
Grafik 4.7. Çalışma süresince grupların günlere göre relativ GPx aktivitesi	61
Grafik 4.8. Çalışma süresince grupların günlere göre relativ G6PDH aktivitesi	63
Grafik 4.9. Çalışma süresince grupların günlere göre relativ LPO değerleri	64



TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. 90 gün boyunca farklı oranlarda <i>C. album</i> içeren yemlerle beslenen alabalıkların büyüme performanslarında meydana gelen değişimler.	52
Tablo 4.2. 90 gün boyunca iki farklı <i>C. album</i> dozu ile beslenen gökkuşığı alabalıklarında vücut kompozisyonu.	53
Tablo 4.3. 90 gün boyunca farklı oranlarda <i>C. album</i> içeren yemlerle beslenen alabalıkların sindirim enzimlerinde meydana gelen değişimler.	54
Tablo 4.4. <i>C. album</i> içeren yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer CAT aktivitelerinde 30, 60 ve 90. günlerde meydana gelen değişimler.	58
Tablo 4.5. <i>C. album</i> içeren yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer CAT aktivitelerinde 30, 60 ve 90. Günlerde meydana gelen değişimler (U/ml).	59

1. GİRİŞ

1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Aquaculture (Su ürünleri yetiştiriciliği) kelimesi Latince ‘aqua’ (=su) ve ‘culture’ (=yetiştiricilik, özellikle geliştirmek bakış açısıyla) kelimelerinden türemiştir. ‘Su ürünleri yetiştiriciliği’ terimi, sucul hayvanlar ve sucul bitkilerin tatlı, acı veya tuzlu sulardan üretimi, işlenmesi ve pazarlanması gibi bütün işlemleri kapsamaktadır. Daha kısa bir deyişle su ürünleri yetiştiriciliği, yapay ve doğal su kaynaklarından insan ihtiyacına göre gerekli türlerin üretilmesi ve yetiştirilmesi ile ilgili tüm eylemleri içerir. Yetiştiricilikte balık, yumuşakça, kabuklu ve sucul bitki türleri üretilmekle birlikte bu üretimi arttırmak için stoklama, besleme, avcılar ve hastalıklardan koruma gibi müdahaleler yapılmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’nın tanımına göre yetiştiricilik ayrıca, yetiştirilen canlıların bireysel veya kurumsal sahipliğini de ima eder (Awad, Austin ve Lyndon, 2012).

Su ürünleri yetiştiriciliği dünyanın en önemli sektörüdür. Ayrıca, son on yıl boyunca yıllık ortalama %7,7’den fazla büyüme oranıyla en çok büyüyen gıda sektörü olarak kabul edilmiştir, su ürünleri yetiştiriciliğinin büyük bir kısmı Asya’da yapılmaktadır. (Gjedrem, Robinson ve Rye, 2012). 190 Ülkede yaklaşık 600 farklı sucul tür, çeşitli yoğunluklarda ve çeşitli sistemlerde yetiştirilmektedir. (Aklakur, Asharf Rather ve Kumar, 2016). Su ürünleri yetiştiriciliğindeki hızlı artışın sebebi balık ve kabuklu ürünlerin dünya genelinde büyük talep görmesidir (Olsen ve Hasan, 2012). Ayrıca, önceden var olan yetiştiricilik uygulamaları, nüfus ve ekonomik büyüme, artan ihracat fırsatları gibi birkaç etken daha mevcuttur. Doğrudan tüketilen su ürünleri üretimi miktarı, geleneksel balıkçılık ile üretilen miktardan daha iyi durumdadır. Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü mevcut oranla büyümeye devam ederse, 2020’ye kadar balık ve kabuklu üretiminin 132 milyon ton, su bitkileri üretiminin ise 43 milyon tona ulaşacağı öngörülmektedir. (Gjedrem vd., 2012). FAO’ne göre toplam su ürünleri üretimi 2030 yılında 187 milyon tona ulaşacaktır (Msangi vd., 2013).

Su ürünleri yetiştiriciliği önemli mineral, vitamin, yağ asitleri ve yüksek oranda protein içeren balık ve diğer sucul canlıların üretimi ile dünyadaki açlığın giderilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği gelir düzeyini arttırarak, iş olanağı oluşturarak ve kaynakların tekrar kullanılmasını sağlayarak büyük bir katkı sağlamaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği aynı zamanda diğer endüstri ve uygulamaların zararlı etkilerini azaltmaya yardımcı olarak da katkı yapabilir. Diğer tarımsal ve üretimsel faaliyetler sonucu oluşacak sıvı atıkların etkilerini hafifletebilen veya çevresel iyileşmeye katkı sağlayabilen su ürünleri yetiştiriciliği sistemleri mevcuttur. Su ürünleri yetiştiriciliği önümüzdeki birkaç yılda ekonomik, sosyal ve çevresel anlamda sürdürülebilir olmak için birçok zorlu aşamayla karşılaşacaktır. Su ürünleri sektörünün gelecek planlaması sahil kentlerindeki kıyı şeritlerinin ve tatlı su potansiyellerinin belirlenerek ülkeler arasındaki üretim potansiyeli belirlenebilir (Subasinghe, Soto ve Jia, 2009).

FAO'ne göre Türkiye su ürünleri yetiştiriciliğinde dünyada üçüncü sırada (Güner, Güleç, İkiz ve Kayacı, 2014). Su ürünleri yetiştiriciliği, Türkiye'de 1960'lı yılların sonunda sazan (*Cyprinus carpio*) ve gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği ile başlamış ve 1980'lerin ortasına doğru çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) yetiştiriciliği ile hız kazanmıştır (Deniz, 2010). 1990'lı yıllarda üç türün (gökkuşağı alabalığı, levrek ve çipura) yetiştiriciliği 2000 yılına kadar hızlıca büyümüş, ülkenin içinde bulunduğu ekonomik kriz sebebiyle iki yıl boyunca azalmış ve sonraki birkaç yılda tekrar artmıştır (Peteri, Nandi ve Chowdhury, 1992).

1.2. Balıklarda Sindirim Enzimleri

Bir türün sindirim sisteminin daha iyi anlaşılması, yetiştirilmesine büyük bir katkı sağlamaktadır. Münasip bir beslenme sindirim ve emilim ile yakından ilişkilidir; bu hem yemin fiziksel-kimyasal yapısına hem de sindirim kanalı boyunca bulunan enzim aktivitelerinin türüne bağlıdır. Sindirim enzimleri protein, karbohidrat ve yağ gibi besin bileşenlerinin, emilebilir alt birimlerine parçalanmasından sorumludurlar. Bunlar, dolaşım sistemi vasıtasıyla taşınarak organizmanın hücreleri tarafından emilmekte, besin olarak kullanılmakta ve böylece büyüme ve gelişmeyi

sağlamaktadırlar. Sindirim mideden rektuma kadar olan ve sonunda dışkı olarak atılan bir süreçtir (Smith, 1989).

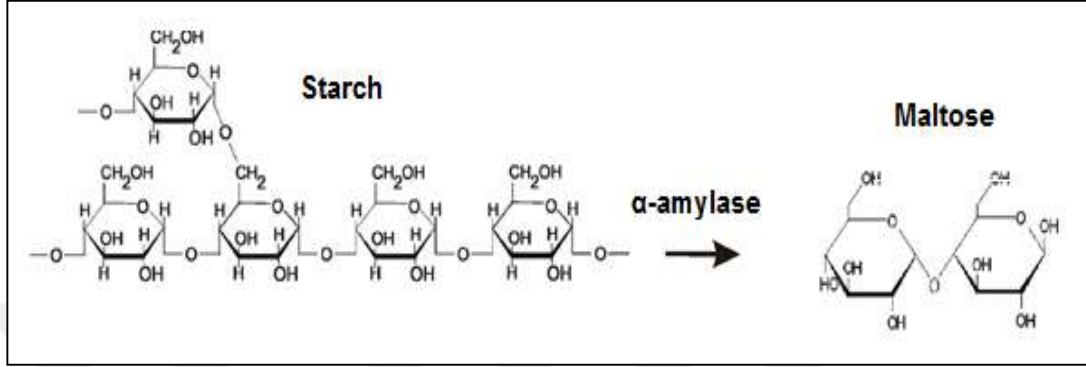
Balıklarda sindirim pepsinojen ve hidroklorikasitin üretildiği yer olan midede başlar. Asit tarafından aktif edilen pepsinojen, pepsine dönüşür ve proteoliz işlemini başlatıp peptid bağlarını yıkarak bileşiği aromatik aminoasitlere indirger. Sindirim sisteminin daha ilerisinde, bağırsak mukozası enterokinaz üretir, bu pankreas özsu (tripsinojen, amilaz, lipaz ve diğerleri) salgılanmasında görev alır. Tripsinojenin tripsine dönüşmesiyle pankreas özsuundaki kimotripsinojen, proelastaz, prokarboksipeptidaz ve bazı prolipaz gibi diğer proenzimlerin aktivasyonu da ardı ardına başlar (Ogiwara ve Takahashi, 2007; Grosell, Farrell ve Brauner, 2010). Sindirim proteazları dört ana grupta incelenir; serin-proteazlar, örn. tripsin ve kemotripsin; sistein-proteazlar, örn. katepsin; metalloproteinazlar, örn. bazı aminopeptidazlar; ve asit proteazlar, örn. pepsin, gastrisin. Her alt gruptaki özgülük farkları, hidrolizin moleküler mekanizmasına göre kabul belirlenmiştir (Whitaker, 1994). Tripsin, kemotripsin, karboksipeptidaz A ve karboksipeptidaz B gibi proteazlar, daha sonra peptid zincirlerine indirgenir ki böylece “barsak fırçası kenarı vasıtasıyla emilebilirler” (Ogiwara ve Takahashi, 2007; Grosell vd., 2010).

Balıklarda sindirim enzimlerinin aktivitesi beslenme alışkanlığı, barsak morfolojisi ve besin kompozisyonundan etkilenebilir (Ray, 1988; Kuz'mina ve Smirnova, 1992; Sabapathy ve Teo, 1993). Genellikle karnivor balıklar daha yüksek proteaz aktivitesi gösterirken, omnivore ve herbivor balıklar daha yüksek karbohidraz aktivitesi gösterir (Ugolev ve Kuz'mina, 1994). Ayrıca yaş, pH ve sıcaklık gibi diğer faktörler de sindirim enzimlerinin aktivitesini etkiler (Kuz'mina, 1996).

1.2.1. Alfa-Amilaz

Metabolizmada karbonhidratların ana görevi oksidasyonları sonucu enerji kaynağı olarak kullanılması, diğer metabolik fonksiyonlar için yakıt işlevi görmeleri ve böylece protein ve lipidleri enerji kaynağı olarak kullanılmaktan esirgemektir. Karbonhidratlar bu amaç için daha çok glikoz olmak üzere monosakkarit şeklinde kullanılırlar. Alfa-amilaz karbonhidrat sindirimi için anahtar bir enzimdir. Pankreas

tarafından emilebileceği organlar olan barsak ve pilorik sekaya salgılanır. Nişasta ve glikojen gibi tümleşik bileşiklere etki eder, hidroliz işlemi ile onları glikoz, maltoz, maltotrioz ve dallanmış bazı oligosakkarit (1:6) ve glikoz türevlerine indirger (Papoutsoglou ve Lyndon, 2003) (Şekil 1.1).

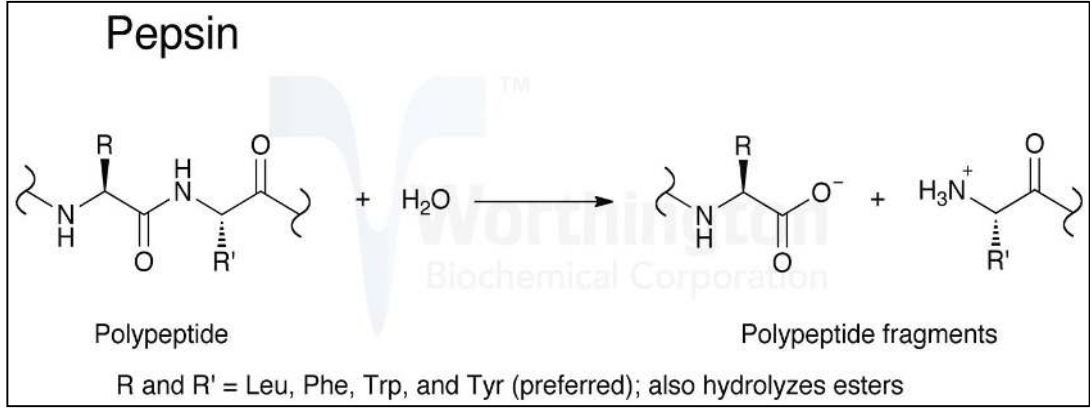


Şekil 1.1. Nişastanın α -amilaz etkisiyle maltoza dönüşmesi (Pereira, 2014).

1.2.2. Pepsin

Pepsin, proteinleri sindiren aspartik proteaz ailesindeki bir enzimdir. Peptit bağları, asidik koşullarda kolaylıkla ayrılarak proteinlerin indirgenmesine müsade edebilir (Haard ve Simpson, 2000). Memelilerde pepsinin asıl yeri midedir (hem zarda hem de mide özsuyunda) fakat bazen kısıtlı miktarlarda kanda, kasda ve idrarda bulunabilir (Effront, Prescott ve Venable, 2007). Balıklarda pepsin çoğunlukla midede mevcut olmasına rağmen bazen kaynak alabalığının gonadında veya balon balığının derisinde de bulunabilir (Bobe ve William Goetz, 2001; Kurokawa, Uji ve Suzuki, 2005). Mide pepsinlerinin herbiri farklı protein yapısında ve enzimatik özelliklere sahip birkaç çeşidi vardır (Shahidi ve Kamil, 2001).

Pepsin, pepsinojen (PG) adı verilen inaktif bir vaziyette sentezlenir ve mide zarına salgılanır. Pepsinojen, pepsine kıyasla 44 adet fazladan amino asit ihtiva eder, yüksüz veya zayıf alkali ortamlarda durağandır ancak mide özsuyunda mevcut olan hidroklorik aside (HCl-pH 1.5-2.0) maruz kalınca 44 amino asit proteolitik olarak otokatalitik yolla bertaraf edilir ve pepsin olarak aktifleşir. Pepsinin proteolizdeki ana görevi, aromatik amino asitleri (fenilalanin ve tirozin gibi) proteinlerin N-terminalinden ayırmaktır (Leonard, 2004) (Şekil 1.2).

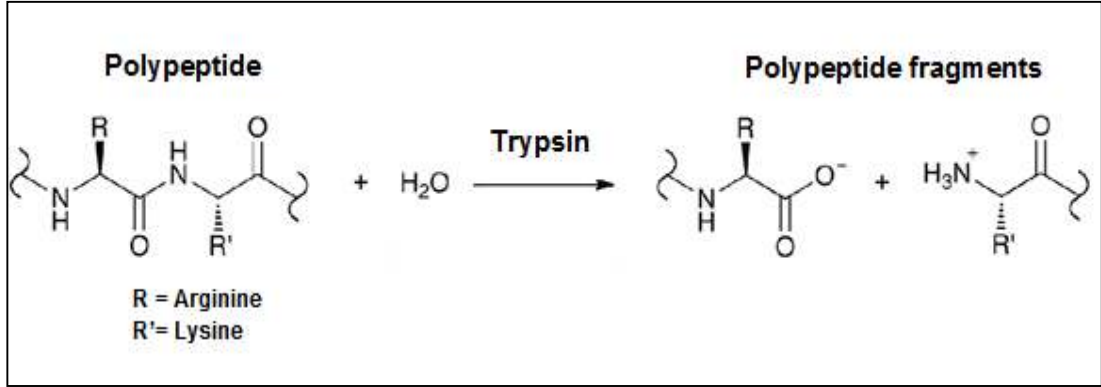


Şekil 1.2. Proteindeki peptit bağlarının pepsin etkisiyle hidrolizi (<http://www.worthington-biochem.com/pm/images/reaction.jpg>)

1.2.3. Tripsin

Tripsin, proenzim olarak pankreatik asinar hücreleri tarafından sentezlenen ve barsaklara salgılanan önemli bir pankreatik serin proteazdır. Balık tripsini, moleküler ağırlık ve içerdiği bileşenleri açısından memelilerdeki tripsine benzemektedir (Kishimura ve Hayashi, 2002). Serin amino asit temelli proteaz olarak, hidroliz için hedefi lizin ve arjinin kalıntılarının karboksil gruplarını içeren peptid bağlarıdır (Smith, 1989) (Şekil 1.3). Etkinleştirilmesi enteropeptidazın tripsinojen üzerindeki etkisiyle gerçekleşir. Çalışmalar göstermiştir ki karnivor balıklarda sindirilen proteinin %50'ye kadar olan kısmının sindiriminden tripsin sorumludur. (Eshel, Lindner, Smirnoff, Newton ve Harpaz, 1993).

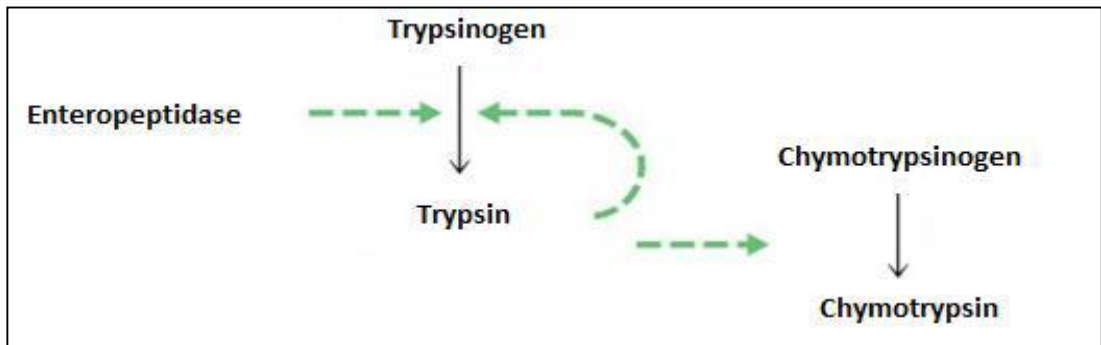
Tripsin, kendisinin ve pankreastan salgılanan diğer proteazların aktivasyonunu gerçekleştirebilerek pankreatik proteazların aktivasyonunun kontrolünde anahtar rol oynayan tek pankreatik proteazdır (Hjelmeland, Huse, Jørgensen, Molvik ve Raa, 1984). Fenil metil sülfonil florid (PMSF), soya fasülyesi tripsin inhibitörü (SBTI) ve aprotonin gibi serin-proteaz inhibitörlerine karşı duyarlıdır (Shahidi ve Kamil, 2001; Castillo-Yáñez, Pacheco-Aguilar, García-Carreño ve de los Ángeles Navarrete-Del, 2005).



Şekil 1.3. Tripsin etkisiyle polipeptit parçalanması (Pereira, 2014).

1.2.4. Kemotripsin

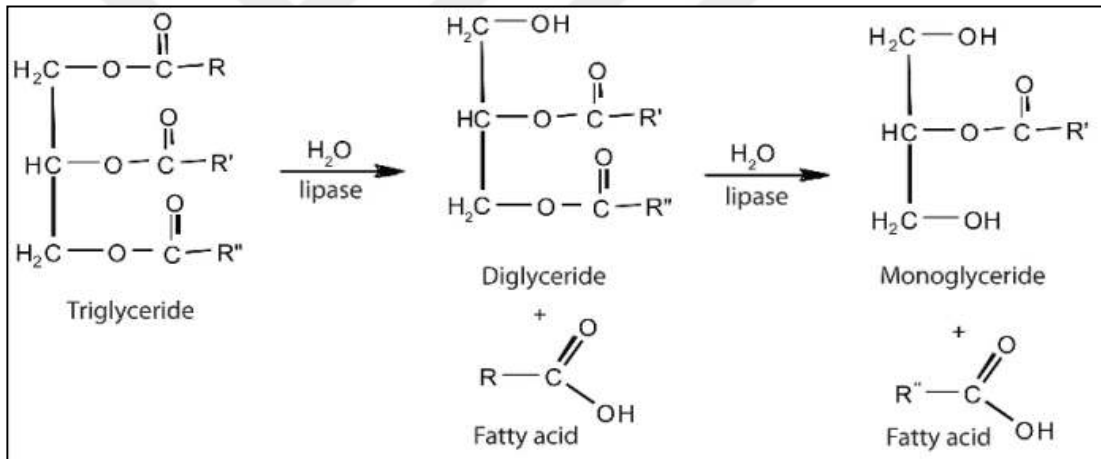
Tripsin gibi, kemotripsin de pankreastan sentezlenen ve inaktif halde barsağın lümen kısmına salgılanan serin ve alkali bir proteazdır. Kemotripsin tripsinin kemotripsinojen üzerine etkisi ile aktifleşir (Şekil 1.4.). Bu enzim daha sonra metiyonin gibi büyük hidrofobik kalıntıların ve tirozin, triptofan ve fenilalaninin aromatik zincir kısımlarının karboksil grubu tarafındaki peptit bağlarını seçerek hidroliz eder (Applebaum, Perez, Lazo ve Holt, 2001). Balık kemotripsini 2 farklı formda bulunur: kemotripsin A ve kemotripsin B. Katalitik aktivitesi daha yüksek, sıcaklık istikrarı daha düşük ve sığır kemotripsinine göre polipeptit aminoasit bileşenleri olarak farklılık gösterir (Castillo-Yáñez, Pacheco-Aguilar, García-Carreño, de los Ángeles Navarrete-Del ve López, 2006).



Şekil 1.4. Tripsin ve kemotripsinin aktifleştirilme yolu (Pereira, 2014).

1.2.5. Lipaz

Lipidlere vücutta 4 ana neden sebebiyle ihtiyaç duyulur: enerji, yağ asitleri, yapısal bileşenler ve düzenleyici işlevler. Eğer lipid kaynakları mevcut ihtiyaçtan fazla olursa, bunlar derinin altındaki yağ tabakasında, kas liflerinde ve karın bölgesinde trigliserid olarak depolanır. Yağlar suda çözünemediği için, sindirimleri protein ve karbonhidratlara göre farklılık göstermektedir. Çözünemeleri için, lidiplerin safra kesesinden salgılanan safra sıvısıyla parçalanması gerekir. Emülsiyonlaştırma işlemi ile yağlar pankreatik lipaz hidrolizasyonuna karşı zayıf hale gelir ve triaçilgliserol diaçilgliseride, daha sonra diaçilgliserid monoaçilgliseride ve son olarak serbet yağ asitlerine ve gliserole dönüşür (Şekil 1.5). Daha sonra bunlar yağ asitleri karışımı, gliserol ve safra tuzları olarak misel şeklinde emilir (Webster ve Lim, 2002).



Şekil 1.5. Lipaz etkisiyle triaçilgliserolün gliserol ve yağ asitlerine hidrolizasyonu (Pereira, 2014).

1.3. Balıklarda Antioksidan Sistem

Diğer omurgalılar gibi balıklar da reaktif oksijen türlerinin (ROS) olumsuz etkilerini azaltmak için bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) ve glutatyon-S-transferaz (GST) bu sistemde mevcut olan başlıca enzimlerdir (Halliwell, 1989). Ayrıca lipid peroksidasyonu (LPO) da çevre kirliliğine maruz kalan sucul canlılardaki oksidatif hasarı tespit etmek amacıyla biyo-

gösterge olarak kullanılmıştır. Malondialdehit (MDA) üretiminin artması balık dokusundaki LPO artışının olabileceğinin göstergesidir. (Valavanidis, Vlahogianni, Dassenakis ve Scoullou, 2006).

1.3.1. Balıklarda Oksidatif Stres

Çoğu organizmada ROS'nin oluşumu aerobik metabolizmanın kaçınılmaz bir sonucudur. Oksijen canlılar için yaşamı destekler ancak oksijen tüketimi sitotoksik yan ürünler açığa çıkarır (Li vd., 2010). ROS, O₂'i süperoksit, hidroksil radikaller, radikal olmayan hidrojen ve hatta tekli oksijen gibi reaktif oksijen türlerine dönüştüren fiziksel, kimyasal ve metabolik işlemler sonucu oluşmaktadır. Hayvan vücudunda tüketilen O₂'in yaklaşık olarak %1 ile 3'ünün ROS'ne dönüştürüldüğü tahmin edilmektedir. Mikrozomal sitokrom p-450 ve flavoprotein redüktazlar ve mitokondriyal elektron taşımanın oto-oksidasyonu en faydalılarıdır (Livingstone, 2003). ROS, sinyal iletiminde fizyolojik rol oynayabilir fakat fazla miktarda bulunması sinyal iletiminin bozarak ve/veya yağ, protein ve nükleik asit gibi hücrel makromoleküllere oksidatif hasar vererek hastalık mekanizmasına fayda sağlayabilir (Wells vd., 2009).

ROS oluşumu ilaç ve çevresel kimyasalları gibi ksenobiotikler tarafından arttırılabilir (Wells vd., 2009). Ancak çevresel etkinin ROS üretimini arttırması için fiziksel veya kimyasal tehlikeli koşulların oluşması gerekmemektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde, günlük bakımda yaygın olarak uygulanan birkaç uygulama balıkların sağlığını ve büyümesini etkileyerek strese sebebiyet verebilir. Bilimsel çalışmalara göre su ürünleri yetiştiriciliğindeki oksidatif stres, diyet etkisi (Olsen ve Henderson, 1997), besin mahrumiyeti (Pascual, Pedrajas, Toribio, López-Barea ve Peinado, 2003), yoğun stok (Bagni vd., 2007), hipoksi (Guerriero, Di Finizio ve Ciarcia, 2002), akut sıcaklık koşulları (Vinagre, Madeira, Narciso, Cabral ve Diniz, 2012) ve enfeksiyon yanıtı (Ali, Hashem ve Al-Salahy, 2011) gibi birkaç çeşit stresli koşullarla ilişkili olabilir.

Enfeksiyon yanıtı dahilinde, ROS'in ana kaynağı, ROS'i oluşturup patojene saldırmak için NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat-oksidaz) kullanan "lökosit solunum patlama atağı" olabilir (Alvarez-Pellitero, 2008). Lipid peroksidasyonu,

Çapraz bağlanma, proteinlerin inaktivasyonu, DNA ve RNA kırılmaları ve hücre ölümü gibi olaylar ROS kaynaklı hasar sonucu oluşmaktadır (Wiseman ve Halliwell, 1996).

Reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonlarının düzenlenmesi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST) gibi enzimler ve glutatyon (GSH), askorbik asit ve E vitamini gibi enzimatik olmayan bileşenler tarafından gerçekleştirilmektedir (Saxena, Srivastava, Kale ve Baquer, 1993; Wang vd., 2017).

1.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Oksiradikal yapıyı engelleyici etkileri sebebiyle SOD, antioksidan enzimleri arasında oksijen toksisitesine karşı savunma hattının  n cephesi kabul edilir. Bakır/ inko s peroksiz dismutaz (Cu/Zn-SOD), süperoksitin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalize eder (Manno, Bertazzon, Burlina ve Galzigna, 1985) (şekil 1.6). Anti-inflamatuvar, onkogenez ve tümör büyümesinin engellenmesi, iskemik dokunun reperfüzyon hasarına karşı koruma gibi etkiler rapor edilen medikal SOD uygulamaları arasında yer almaktadır (Garc a-Gonz lez ve Ochoa, 1999). SOD'lar molekülün aktif bölgesine bağlı olan metale göre üç farklı tipte incelenir; Bakır/ inko (Cu/Zn), Manganez (Mn) ve Ferrum (Fe) SOD'ları. Cu/Zn SOD genellikle ökaryotların sitosolik bölümleriyle ilişkilidir ve siyanür ve hidrojen peroksite karşı duyarlıdır. Mn SOD mitokondri ile ilişkilidir ve siyanür ve hidrojen peroksite karşı duyarsızdır. Fe SOD ise prokaryotlarda bulunur, siyanüre karşı duyarlı değildir ancak hidrojen peroksit tarafından önlenir (Kuthan, Haussmann ve Werrigloer, 1986).

1.3.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, su ve oksijene dismutasyon tepkimeleri (şekil 1.6) sonucu oluşan hidrojen peroksitleri ve dokulardaki yüksek derecede reaktif hidroksil radikallerini azaltmaya yarayan bir hemoproteindir (Searle ve Willson, 1980). CAT ayrıca peroksizomlardaki uzun yağ asidi zincirleri metabolizmasında üretilen hidrojen peroksitin de indirgenmesinden sorumludur (Li vd., 2010). Katalazın H₂O₂ konsantrasyonuna bağlı

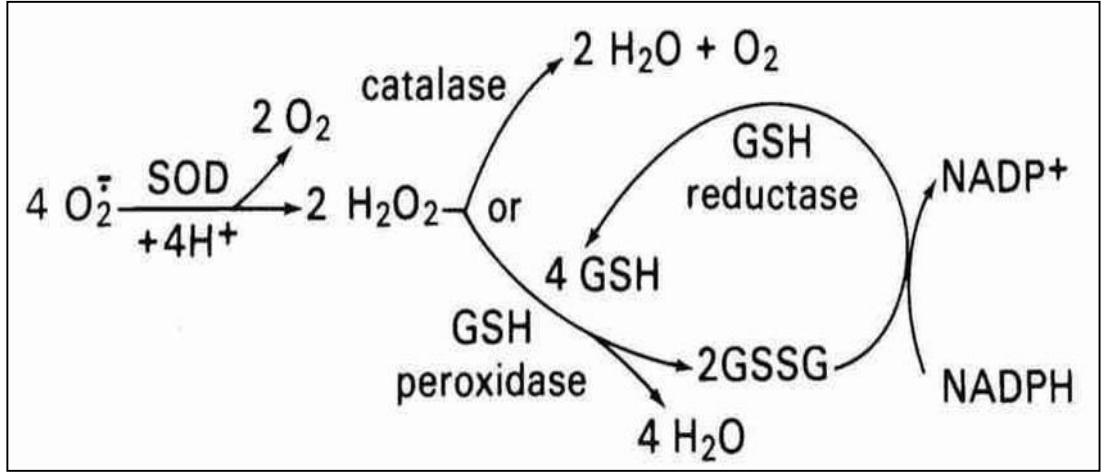
olarak iki enzimatik aktivitesi vardır. H_2O_2 konsantrasyonu yüksekse katalitik davranır yani H_2O ve O_2 oluşturarak H_2O_2 'i ortadan kaldırır (katalitik tepkime). Düşük H_2O_2 konsantrasyonunda ve uygun bir hidrojen donörü (örn. etanol, metanol, fenol, vd.) mevcudiyetinde ise H_2O_2 'i ortadan kaldırır fakat alt ürünleri oksitleyerek (peroksidik tepkime) peroksidik davranır (Scibior ve Czczot, 2006).

1.3.1.3. GPx/GSSG redüktaz sistem

Önemli miktarda selenyum içeren bir enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx), H_2O_2 'i H_2O 'e çevirerek indirgenmiş glutatyonun oksidasyonu ile detoksifiye eder (Freeman ve Crapo, 1982) (Şekil 1.6). GPx hem hidrojen peroksitin hem de lipid peroksitin indirgenmesini katalizler (Li vd., 2010).

Glutatyon (GSH), bütün hücrelerde milimol düzeyinde konsantrasyonlarda bulunan önemli bir antioksidandır (Lu, 1999). Endojen bir tripeptid olan GSH, ROS ve peroksit bileşenlerinin hücreye zarar vermesini önler. Doğrudan serbest-radikal temizleyici olarak çalışmasının yanı sıra GSH aynı zamanda GPx ve GST için substrat olarak görev alır (Pompella, Visvikis, Paolicchi, De Tata ve Casini, 2003). Kimyasal kaynaklı toksisiteye karşı en önemli biyomolekül olan glutatyon redüktaz (GR), GPx'ın mevcudiyetinde, hidroperoksitleri indirgeyerek reaktif ara ürünlerin bertaraf edilmesinde görev alabilir. Oksitlenmiş glutatyonun (GSSG), faydalı olduğu şekline (GSH) dönüştürülmesinden sorumlu bir enzimdir (Chandramohan, Al-Numair ve Pugalendi, 2009).

Glutatyon-S-transferaz (GST) hidrojen peroksit ve hidroperoksitlerin toksik olmayan ürünlere indirgenmesini katalizler (Freeman ve Crapo, 1982). Glutatyonun çeşitli sayıda elektrofille bağlanmasını katalizler ve oksidatif strese karşı koruyucu bir mekanizma sağlar (Nowier, Kashmiry, Abdel Rasool, Morad ve Ismail, 2009) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Antioksidan savunma enzimleri. Antioksidan savunmayı oluşturan üç önemli intraselüler enzim; SOD, CAT ve GPx/GSSG redüktaz sistemi. SOD süperoksidin dismutasyonunu katalizler, CAT hidrojen peroksitin H_2O ve O_2 'e dönüştürülmesini sağlar, GPx peroksitleri azaltmak için GSH'dan suya elektron transfer eder. Üretilen oksitlenmiş glutatyon (GSSG), enzim kofaktörü gibi davranan heksoz tekfosfatlı döngü (HMP döngü) tarafından üretilen NADPH'ı kullanan glutatyon redüktaz sayesinde GSH'a tekrar indirgenir (Pryor, 1978).

Son olarak, GSH ve GSSG'un toplamı olan toplam glutatyon seviyesi (TG), indirgenmiş halindeyken GPx'a elektron donörü olarak, GST için kofaktör olarak ve ayrıca doğrudan tiyol esaslı bir antioksidan olarak çalışır. Çalışmalar göstermiştir ki GSH/GSSG oranının hesaplanması antioksidan durumunu hızlıca gösterse de toplam glutatyon seviyelerindeki düşüş çok fazla miktarda GSH kullanıldığına işaretir. Bu moleküler parametreler antioksidan savunma hattının ön cephesini oluşturmakla beraber çeşitli deniz ve tatlı su organizmalarında oksidatif stres durumunun belirlenmesi amacıyla biyo-belirteç olarak kullanılmaktadır (Eroglu, Dogan, Kanak, Atli ve Canli, 2015).

1.3.1.4. Lipid peroksidasyonu

Hücrelerdeki lipidlerde meydana gelen ROS tepkimesi hücrenin en genel geçer mekanizmalarından birisi olarak değerlendirilmektedir (Gravato ve Guilhermino, 2009).

Lipidlerin oksidizasyonu genellikle peroksitlerin oluşumuyla gerçekleştiği için bu işlem “lipid peroksidasyonu” olarak adlandırılmaktadır ve lipid tabakasına ROS tarafından verilmiş olabilecek hasarın derecesini belirlemek amacıyla ölçümü yapılmaktadır (Lushchak, 2011). Malonildialdehid (MDA) ve 4-HNE (4-hidroksi-2-nonenal) oksidatif stres belirteci olarak kabul edilen aldehidik ikincil ürünlerdir (Mattill, 1947). MDA seviyelerindeki artış vücutta hücresel seviyede oluşan hasarın en önemli belirteçlerinden birisidir (Yagi, 1984). Ölçüm bölgesi bakımından, karaciğer toksikolojik çalışmaların odak noktası olmuş ve oksidan mevcudiyetine çok hassas olduğu ortaya konulmuştur (Ameur vd., 2012). Bu yüzden karaciğerdeki antioksidan enzim aktivitelerin izlenmesi, genel antioksidan durumun değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

1.4. Balıklarda Bağışıklık Sistemi

Su ürünleri yetiştiriciliğindeki hızlı yükseliş hastalıkların ortaya çıkma sıklığını artırmıştır. Balık hastalıklarının meydana gelmesinin sürekli etkileşim halinde olan üç etken (konak, patojen ve çevre) arasındaki dengeye bağlı olduğu yapılan çalışmalarca ortaya konulmuştur (Roberts, 2012). Balıkların bağışıklık sisteminin fizyolojisi bazı farklılıklar dışında diğer yüksek omurgalılarınkine benzerdir. Balıklar, diğer yüksek omurgalılara göre embriyonik evreden itibaren daha serbest-yaşayan ve hayatta kalmak için doğuştan var olan bağışıklık sistemine (doğal bağışıklık) bağlı olan organizmalardır (Rombout, Huttenhuis, Picchiatti ve Scapigliati, 2005). Doğal bağışıklık yanıt bileşenleri fiziksel, hücresel ve hümmoral etkenler olarak ayrılır ve plazma ve diğer vücut sıvılarında çözünebilen hümmoral ve hücresel reseptör molekülleri de kapsar. Balıklarda bulundan lenfoid organlar timüs, dalak ve böbrektir. İmmunoglobülinler, patojenik organizmalara karşı gösterilen immün yanıtın başlıca bileşenleridir (Uribe, Folch, Enriquez ve Moran, 2011).

1.4.1. Doğal (Nonspesifik) Bağışıklık

Doğal bağışıklık, patojen saldırısına karşı savunmanın ilk hattıdır ve gerekli immün yanıtın sağlanmasındaki görevinin yanı sıra enfeksiyon oluşumunun engellenmesinde de hayati önem taşıyan bir rol üstlenir. Tanıma göre, benliği olmayan doğal bağışıklık

sisteminin mikropları tanıması, mikropların karakteristik özelliği olan moleküler kalıpları tanıyan germ hattı-tanımlanmış kalıp tanıyan proteinler/reseptörler aracılığıyla gerçekleşmektedir (Magnadóttir, 2006). Bu moleküller peptidoglikanlar, polisakkaritler, bakteriyal DNA ve çift sarmallı virüs RNA'si içerir (Medzhitov ve Janeway, 2002; Elward ve Gasque, 2003). Doğal bağışıklık sisteminin başlıca parametreleri; "fiziksel" ve "hücrel ve humoral" parametreler olarak ayrılır (her ikisi de ilişkili reseptörler veya plazma ve diğer vücut sıvılarında çözünebilen moleküller olabilir) (Magnadóttir, 2006).

1.4.1.1. Fiziksel parametreler

Pullar, derideki mukus tabakası ve solungaçlar enfeksiyona karşı ilk bariyer olarak davranır (Ellis, 2001). Balık mukusu lektin, pentraksin, lizozim, bütün protein, antibakteriyal peptitler ve patojenlerin girişini engellemekte önemli bir rol oynayan immünoglobulin M (IgM) içerir (Saurabh ve Sahoo, 2008). Buna ek olarak epidermis farklı saldırılara (kalınlaşma ve hücrel hiperplazi) karşı gelme kabiliyetine sahiptir ve bütünlüğü ozmotik denge ve yabancı ajanların girişini engellemek açısından yaşamsal derecede önemlidir (Hibiya, 1994). Bununla birlikte lenfosit, makrofaj ve eozinofilik granüler hücreler gibi savunma hücreleri de mevcuttur (Fischer vd., 2006).

1.4.1.2. Hücrel parametreler

Balıklar; T hücreleri, B hücreleri, sitotoksik hücreler (doğal katil hücrelere benzer), makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler gibi hücrelere benzeyen lenfosit popülasyonlarına sahiptir. Kemikli balıkların bağışıklık sistemlerinde farklı tepkiler sergileyen (Mitojenlere karşı farklı tepkiler sergileyen, B hücresi akut allogref tepkimeleri, karma lökositler tepkimeleri ve antiokarların üretimi için yaşamsal olan T ve B hücreleri arasındaki işbirliği etkileşimleri ve makrofajlar) T lenfositlerin alt popülasyonları mevcuttur. Bununla beraber yassısolungaçlıgiller ve kemikli balıklar majör histokompatibilite kompleksi (MHC) ve T hücresi reseptörlerini barındıran en ilkel gruplardır (Manning ve Nakanishi, 1996).

Hem nötrofiller hem de makrofajlar, organizmayı mikrobiyal enfeksiyona karşı koruyan doğal bağışıklık sisteminin en önemli bileşenlerindendir. Her iki hücre de

fagositik, kemotaksi ve bakterisit aktivite kabiliyetine sahiptir (Katzenback, Katakura ve Belosevic, 2012).

Bu hücreler, bakteriyi solunumsal patlama esnasında reaktif oksijen türleri üreterek ortadan kaldırır. Buna ek olarak nötrofiller aktivasyonları sırasında hidrojen peroksit ve heme-içeren lizozomal glikoprotein olan, nötrofillerin azurofilik granüllerinde baskın olarak, monositlerde ve bazı doku makrofajlarında ise az miktarda bulunan myeloperoksidaz salınımına sebep olurlar. Daha sonra myeloperoksidaz, klorür iyonlarını ve hidrojen peroksiti hipokloröz asit oluşturmak üzere katalizler. Bunun sonucunda istilacı mikroorganizmaya hasar verir (Klebanoff, 1968). Nötrofillerdeki myeloperoksidaza benzer şekilde eozinofiller de daha ağır glikosile zincir ve daha hafif glikosile olmayan zincir içeren eozinofilik peroksidaz üretir. Bu enzim substrat olarak klorür yerine bromür tercih eder ve bromürü patojenleri enfekte eden toksik hipobromite çevirir (Bielek, 1981).

Fagositlerin sitoplazmik granüllerinden çıkan peroksidazlar patojenlere karşı sergilenen oksidatif yanıt işleminde görev alır. Serum peroksidaz seviyelerinin enfeksiyona karşı gösterilen yanıtı arttırdığı bilinmektedir (Alvarez-Pellitero, 2008). Bu yüzden kanda bulunan peroksidazlar, genellikle dolaşımdaki lökositlerin immünolojik olarak aktiflik durumunu tespit etmede belirteç olarak kullanılırlar.

1.4.1.3. Humoral parametreler

Hüморal parametreler yaygın olarak kalıp tanıma kabiliyetleri veya etki işlevlerinin sonuçlarına göre sınıflandırılırlar (Magnadóttir, 2006). Bu çeşit bir yanıt; hüморal etkenler, doku ve hücre, antimikrobiyal peptidler ve tamamlayıcı etkiler gibi bir dizi mekanizma gerektirir. Hüморal etkenler; hücrel reseptörler veya plazma veya diğer vücut sıvılarında çözünebilen moleküller olabilir (Magnadóttir, 2006; Subramanian, Ross ve MacKinnon, 2008).

Tamamlayıcı sistem, karaciğerde sentezlenen ve plazmaya salınan 35'ten fazla plazma proteininden oluşur ve balıklarda çok önemli bir savunma sistemini teşkil eder. Kompleks bir yapıya sahip olan ve birkaç adet inaktif glikoprotein de içeren bu plazma proteinleri 3 farklı yolla aktif edilebilir (Boshra, Li ve Sunyer, 2006). Klasik yol,

antikorun hücre yüzeyine bağlanması suretiyle (Holland ve Lambris, 2002); alternatif yol, anikorlardan bağımsız direkt olarak yabancı mikroorganizma tarafından; lektin yolu, bakteri hücresinde mannoz-bağlayıcı lektin içeren bir protein kompleksinin bağlanması suretiyle (Sakai, 1992). Bilimsel çalışmalar göstermiştir ki alternatif tamamlayıcı yolun kemikli balıklardaki doğal bağışıklık sisteminde önemli bir rolü vardır (Yano, 1996).

Lizozim vücutta oldukça yaygın olarak dağılım gösteren, birçok hayvanda nonspesifik savunma mekanizmasının bir parçası olan bakteriyolitik bir enzimdir. Salmonidlerde lizozim; serumda, vücut salgılarında, mukus tabakasında ve lökosit bakımından zengin organlar olan böbrek ve bağırsakta bulunur (Grinde, Lie, Poppe ve Salte, 1988; Lie, Evensen, Sorensen ve Froysadal, 1989). Lizozimin ana kaynağı monositler/makrofajlar ve nötrofillerdir. Ancak, yakın zamandaki çalışmalarda bu enzim aynı zamanda eozinofilik bağırsak hücrelerinin granüllerinde de tespit edilmiştir (Sveinbjornsson, Olsen ve Paulsen, 1996). Bu enzimin bakterisit eylemi; Peptidoglikandaki N-asetilmuramik asit ve N-asetil-D-glukozamin kalıntıları arasındaki 1,4-beta-bağının hidrolizasyonunun içerir (Jollès ve Jollès, 1984). Bu yüzden ilk olarak Gram-pozitif bakterilere karşı savunma mekanizmasında görev aldığı kanaati vardı ancak daha sonradan Gram-negatif bakterilere karşı görev yaptığı da bulundu. Ayrıca bu enzimin tamamlayıcı sistem ve fagozitik hücrelerin opsoninlerini tetikleme özelliğine sahip olduğu da bilinmektedir (Magnadóttir, 2006).

Antimikrobiyal peptidler düşük molekül ağırlığına sahip, bakteriyel membranları bozarak patojenleri yok etme kabiliyetine sahip peptidlerdir (Ellis, 1999). Balıkların derileri ve deri salgıları ile ilgili yapılan çalışmalar bu sistemin virüs ve bakterilere karşı savunmada önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Hellio, Pons, Beaupoil, Bourgougnon ve Le Gal, 2002 Ellis, 2001; Maier, Dorn, Gudmundsdottir ve Gudmundsson, 2008). Bu peptidler kemikli balıkların mukus, karaciğer ve solungaç dokusunda bulunmuştur (Birkemo, Lüders, Andersen, Nes ve Nissen-Meyer, 2003). Yakın zamanda ise balık deri salgısından ve balık dokusundan izole edilmiştir (Narvaez, Berendsen, Guzmán, Gallardo ve Mercado, 2010; Yue, Pan, Miao, Zhang ve Li, 2010).

Lektinler hücreleri karbonhidrat bağlanma bölgelerinden tanıyan proteinlerdir. Lektinin karbonhidrata karbonhidrat-tanıyan bölgeden (CRD) bağlanması; hidrojen bağı, iyonik çekim, hidrofobik ve van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimler sonucu gerçekleşir. Bu etkileşimler protein-ligand bağlarının spesifik ve geçici doğasını oluşturur (Nelson ve Cox, 2011). Buna ek olarak balık lektinleri aglütinasyon, fertilizasyon, immobilizasyon, oposinzasyon ve patojenlerin ölümü gibi diğer fonksiyonlara da ortam sağlar (Russell ve Lumsden, 2005). Balık lektinleri hücre yüzeyi veya biyolojik sıvılardaki çözünebilir bileşiklere gitmek üzere hücre dışı kısımlara bırakılabilir (Hébert, 2000; Vasta vd., 2011)

1.4.2. Uyarlayıcı (Spesifik) Bağışıklık

Uyarlayıcı bağışıklık; hafıza hücreleri (hücre aracılı bağışıklık) ve spesifik, çözünebilir T hücreleri ve immünoglobulinler (Ig) gibi spesifik patojenlerin ortadan kaldırılmasında hızlı ve etkili müdahaleyi sağlayan, membrana bağlı reseptörler (hümmoral yanıt) üreterek tekrarlayıcı hastalıklara karşı korumada önemli bir rol oynar (Galindo-Villegas ve Hosokawa, 2004). T hücreleri sitotoksik T-hücreleri (Tc) ve yardımcı T-hücreleri (Th) olarak ikiye ayrılır. Tc virüsleri ve intraselüler patojenleri öldürürken Th ise çeşitli bağışıklık yanıtlarını başlatan ve düzenleyen sitokinler salgılar (Secombes, Bird ve Zou, 2005). İmmünoglobulinler B-hücreleri tarafından üretilirler ve iki hafif zincir ve iki ağır zincir olmak üzere aynı basit dört peptidli zincir yapıya sahiptirler (Lydyard, Whelan ve Fanger, 2004).

Kemikli balıklarda antiokarlar; deride (Hatten, Fredriksen, Hordvik ve Endresen, 2001), bağırsakta (Rombout, Blok, Lamers ve Egberts, 1986), solungaç mukusunda (Lumsden, Ostland, Byrne ve Ferguson, 1993), safrada (Jenkins, Wrathmell, Harris ve Pulsford, 1994) ve sistemik olarak plazmada bulunur. Derinin ve solungaçların bağışıklık yanıtı önemlidir zira bu organlar çevre ile direkt temas halindedirler. Spesifik antikorlar, sistemik bir üretime ihtiyaç duymaksızın deride (Cain, Jones ve Raison, 2000), bağırsakta (Jones, Hannan, Russell-Jones ve Raison, 1999) ve solungaçta (Lumsden vd., 1993) üretilebilirler.

1.5. Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Gökkuşığı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, *Salmonidae* familyasına ait bir türdür. *Oncorhynchus* “gaga burun” anlamını taşır, *mykiss* ise Sibirya’ya özgü bir kelime olup tür için kullanılan isimdir. 1792 yılında Johann Julius Walbaum tarafından Kamchatka, Rusya’da bulunan örneklerle göre isimlendirilmiştir. Bu balık ilk olarak *Salmo gairdneri* olarak adlandırılmış fakat 1992 yılında cins adı *Salmo* yerine *Oncorhynchus* olarak değişmiştir (Awad vd., 2012). Birçok ülke gökkuşığı alabalığı üretimi yapmaktadır. Bazılarının üretim miktarları Avrupa, Kuzey Amerika, Şili, Japonya ve Avustralya gibi büyük sistemlerdekilere kıyasla çok daha önemsiz miktardadır (MacCrimmon, 1971). Hızlı büyümesi ve yetiştiricilikte stok yoğunluğuna toleransı sebebiyle dünya genelinde hem tüketim hem de balıkçılık amaçlı stoklama için yaygın olarak kullanılmaktadır (Awad vd., 2012).

Gökkuşığı alabalığı Türkiye’de en çok yetiştiriciliği yapılan balık türüdür (Sönmez vd., 2015). Alabalık Türkiye’de 1970’li yılların başından beri yetiştirilmektedir ancak büyük gelişmeler 1990’lı yıllarda meydana gelmiştir. Günümüzde 40000 tonun üzerinde yıllık üretimle Türkiye en çok alabalık üreten ülkelerden birisi olmuştur. Üretimin büyük bir kısmı tatlısuda yapılan yetiştiricilikten gelse de Karadeniz’de yapılan deniz yetiştiriciliğinde 2000 ton civarı büyük alabalık üretilmektedir (Okumuş, 2002).

1.6. *Chenopodium album*

Chenopodium cinsi *Chenopodiaceae* familyasına aittir ve yaklaşık 250 tür barındırır (Giusti, 1970). Yetiştirilen dört türü vardır: *Chenopodium album*, *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium nutalliae* ve *Chenopodium pallidicaule* (Jan, Seema, Saxena ve Singh, 2013). *C.album* en yaygın olanıdır ve Afrika, Asya, Kuzey Amerika ve Avrupa’da yetişir. Kazayağı, Domuzotu veya Kuzubudu bu tür için kullanılan isimlerden bazılarıdır (Bailey, 1977; GRIN Database, 2005; Sood, Modgil, Sood ve Chuhan, 2012). Bu bitki yapraklı bitki olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır ve yüksek protein içeriği ve bol miktarda lizin ve metiyonin içeren dengeli bir aminoasit yelpazesi sunduğu için insan ve hayvan tüketimi adına önemli bir mahsuldür (Bhargava, Shukla ve Ohri, 2003, 2006).

Önceki araştırmalar *C. album*'un besleyici öğeler (karbonhidratlar, proteinler, yağlar ve lifler) bakımından zengin; sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko, fosfor, bakır, mangan ve nitrojen gibi önemli besin öğelerine sahip ve aynı zamanda A, C, E vitaminleri ihtiva ettiğini ortaya koymuştur (Prakash, Nath ve Pal, 1993; Hussain vd., 2009; Adedapo, Jimoh ve Afolayan, 2011). *C. album*'un ihtiva ettiği besin bileşikleri Tablo 1.1.'de gösterilmiştir (Kaur ve Shri, 2015). Bahsedilen bitkideki bu allelokimyasalların mevcudiyeti, bizi kazayağı bitkisini bu çalışmada kullanmaya teşvik eden unsurdur.

Adedapo vd., (2011) ve Sood vd., (2012)'ne göre *C. album* tripsin engelleyici etki, toplam fenoller, basit fenoller, tanenler, saponin, fitik asit, fitat fosfor, alkaloidler, flavanoidler ve oksalatlar içermektedir. Yaklaşık analiz sonuçlarına göre toplam kül, suda çözünebilen kül, asitte çözünebilen kül, alkolde çözünebilen kül, sülfatlı kül, stomatal sayı, stomatal indeks, veinislet sayı, veinislet sonlanma sayısı ve palisat oran değerleri taze yapraklardan ölçülmüştür (Tablo 1.2) (Agrawal Mona, Agrawal Yogesh ve Shamkuwar Prashant, 2014).

C. album yapraklarının hidrodamıtması sonucu %0,64 v/w esansiyel yağ ortaya çıkar. Bu yağı oluşturan bileşenler: p-simen (%40,9), askaridol (%15,5), pinan-2-ol (%9,9), α -pinen (%7), β -pinen (%6,2) ve α -terpineol (%6,2) (Guil, Torija, Giménez, Rodríguez-García ve Giménez, 1996).

Tablo 1.1. *C. album* yapraklarının besin değerleri (100 g kuru ağırlıkta).

Besin Öğesi	Miktar
Enerji	180 kJ
Karbonhidrat	7.3 g

Lif	4 g
Yağ	0.8 g
Protein	4.2 g
Vitamin A	580 µg
Tiyamin (B1)	0.16 mg
Riboflavin (B2)	0.44 mg
Niyasin (B3)	1.2 mg
Vitamin (B6)	0.274 mg
Vitamin C	80 mg
Kalsiyum	309 mg
Demir	1.2 mg
Magnezyum	34 mg
Fosfor	72 mg
Potasyum	452 mg
Sodyum	43 mg
Çinko	0.44 mg

Tablo 1.2. *C. Album* yapraklarının fizikokimyasal analizi

Parameters	Kuru ağırlık bazında elde edilen değerler w/w
Kül	9,55
Suda çözünebilen kül	3,85
Asitte çözünebilen kül	8,33
Alkolde çözünebilen kül	7,28
Sülfatlı kül	10,11
Stomatal sayı	20-23
Stomatal index	4,9-8,8
Veinislet sayı	8.Kas
Veinislet bitiş sayısı	5,5-7
Palisat oranı	9,5-11,9

Kazayağının uyuşturucu, rahatlatıcı, idrar söktürücü (Arora, Itankar, Verma, Bharne ve Kokare, 2014), sindirime yardımcı, gebeliği önleyici, antiinflamatuvar, karaciğer hastalıkları, kalp hastalıkları, dalak genişlemesi, bağırsak ülserleri tedavisinde, genel yorgunluk veya kırgınlık (Agarwal, Yamrekar ve Paridhavi, 2005; Khare, 2007) gibi birçok farklı geleneksel kullanımı vardır. Yuvarlak ve kancalı kurtlara karşı da

antelmintik, antiskorbütik olarak kullanılmaktadır (Priya, Yogesh, Singhai ve Abhishek, 2010). *C. album* ile ilgili çeşitli farmakolojik çalışmalar yapılmıştır. Kumar ve Kumar (2009) ve Korcan, Aksoy, Erdoğan, Çiğerci ve Konuk (2013) göstermiştir ki *C. album*'un metanolik ve sulu ekstraktı antioksidant aktiviteye sahiptir. Buna ilaveten kazayağının hem sıvı hem alkol ekstraktının karaciğer koruyucu etkisi saptanmıştır (Pal, Banerjee, Banerjee, Masih ve Pal, 2011; Nigam ve Paarakh, 2011).

C. album 'dan elde edilen ham ve izole edilmiş bileşiklerin antibakteriyel antibacterial (Singh, Dwevedi ve Dhakre, 2011; Amjad ve Alizad, 2012; Korcan vd., 2013), antifungal (Javaid ve Amin, 2009) ve antiviral (Dutt, Yadav, Kapoor ve Lodha, 2004) özellikler gibi birçok antimikrobiyal etkisi bildirilmiştir. Ayrıca *C. album*'un anti-inflamatuar etkisi de kaydedilmiştir (Usman vd., 2010). Bitkinin aynı zamanda analjezik, spazmolitik (Ahmad vd., 2012), antiülser, ishal önleyici (Nigam ve Paarakh, 2011, 2013; Padarthi, Jagatheesh, Kowsalya, Babu ve Namasivayam, 2013), gebelik önleyici (Kumar vd., 2007), antiromatizmal (Arora vd., 2014) ve antikanser (Khoobchandani, Ojeswi, Sharma ve Srivastava, 2009) gibi birçok biyoaktivitesi mevcuttur.

Diğer yeşil yapraklı bitkilerde olduğu gibi *Chenopodium album*'un tüketimindeki en büyük problem anti-besinsel faktörlerin mevcudiyetidir. Bu faktörler, protein sindirimi, büyüme, demir ve çinko absorpsiyonu gibi işlemlerin engellenmesi yoluyla sağlık üzerinde olumsuz etkiler oluşturabilir (Larsson, Rossander-Hulthén, Sandström ve Sandberg, 1996).

Sood vd. (2012), çeşitli *Chenopodium album* kültürlerinin anti-besinsel bileşenlerini ortaya koymuşlardır. *C. album* yapraklarının toplam fenol ve basit fenol içerdiğini, bu bileşenlerin antioksidan potansiyelini düşürmenin (indirgen, hidrojen donörü ve oksijen söndürücü özellikte davranmalarını sağlayan redoks özellikleri sebebiyle) (Chang vd., 2001) yanısıra mineral bağlayarak anti-besinsel davranış gösterdiğini açığa çıkarmışlardır (Awika, Rooney, Wu, Prior, ve Cisneros-Zevallos, 2003).

Farklı *C. album* kültürlerinde proteolitik enzimlerle etkileşime girerek onları protein sindirimi için kullanılamaz hale getirerek amino asit ve protein kullanımını engelleyen

Tripsin engelleyici aktivitesi (TIA) de daha az miktarlarda mevcuttur (Glew vd., 2005). Saponin ve fitik içeriği de nispeten az miktarda vardır. Saponin, membran geçirgenliğini arttırarak bağırsakta besin alımını ve hatta ilaç emilimini yükseltebilir (Gee vd., 1993). Yüksek fitat muhtevasının, büyümenin azaltılmasının, tüketiciye ulaşamayan mineral iyonlarının, çinko ve demirin homeostazisini etkileyerek, besin değerini etkilediği ve enzim proteini ile kompleksler oluşturarak proteinlerin enzimatik sindirimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Marfo, Simpson, Idowu ve Oke, 1990).

Fitik asit ayrıca metal şelatlama yetenekleri, sinyal yollarındaki düşük inositol tutulumu ve fosfat donör / akseptör kabiliyetleri nedeniyle bazı faydalı etkiler gösterir. Alt inositol fosfatlar, demir aracılı oksidatif reaksiyonları inhibe ederek, doğal hücre fonksiyonunu ve aktivitesini arttırır ve nötrofiller tarafından bakteriyel öldürmeyi uyarak bağışıklığı güçlendiren antioksidanlar olarak hareket edebilirler (Bohn, Meyer ve Rasmussen, 2008). Yapraklarda flavonoidlerin ve alkaloidlerin varlığı da gösterilmiştir. Aynı zamanda vücudun sağlığını korumaya ve hastalıklara karşı korunmaya yardımcı olan antioksidan potansiyel sergilerler. Ayrıca metal şelatlama özelliklerinden dolayı anti-besinsel özellikler sergilerler, bu nedenle de demir bağlama ve vücuttan çıkarılmasını kolaylaştırabilirler (Sood vd., 2012).

Bu çalışma üç ay boyunca balık diyetinde kullanılan farklı diyetset Chenopodium albüm takviyesinin, gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, vücut kompozisyonu ve sindirim enzimleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla yapıldı. Ayrıca bu bitki tarafından üretilen bazı antioksidan, immünolojik ve hematolojik parametreler üzerine olası etki de incelenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Büyüme ve Vücut Kompozisyonu Üzerine Etkileri

Birçok çalışma bitkisel protein kaynaklı besin takviyelerinin balıkların büyüme performansı üzerine etkisini rapor etmektedir. Bitkisel besin takviyeleri öncelikli olarak balıkta sindirim sıvılarının salgılanmasını etkilemekte ve böylece yem alımını arttırmaktadır. Sindirim enzimleri, safra ve mukus gibi sindirim salgılarının uyarılması, yem katkı maddelerinin önemli bir etkisi olarak kabul edilmektedir.

Soltan, Hanafy ve Wafa (2008), Nil tilapiası (*Oreochromis niloticus*) üzerine yaptıkları çalışmada, yem alımı (YF), yem dönüşüm oranı (FCR), protein verim oranı (PER), kilo artışı (WG), spesifik büyüme oranı (SGR), ham protein (CP) ve kül miktarını incelemişler ve % 15, % 30, % 45 oranında FM içeren bitkisel katkılı yemler kullanılmışlardır; kanola, susam, pamuk tohumu, keten tohumu ve ayçiçeğinin oluşturduğu diyetle, en yüksek 60, 75, 90 veya 100% ikame düzeyleri ile FCR, CP ve kül hariç olmak üzere bu parametreleri önemli ölçüde düşürmüştür ($P < 0,05$). Söz konusu çalışmada bitkisel protein karışımının, tilapia performansında yan etkisi olmaksızın % 45'in yerine alternatif protein kaynağı olarak güvenli ve verimli bir şekilde kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Ahmad ve Abdel-Tawwab (2011), 5, 10, 15 veya 20g / kg kimyon tohumu (*Carum carvi*; CSM) unu kullanarak yaptıkları yem değerlendirme ve büyüme performansı çalışmasında, 3 ay boyunca Nil tilapyasının vücut kompozisyonunu incelemişler, sonuç olarak kontrol grubuna göre 10g CSM / kg grubunda en iyi sonucu elde etmişlerdir. Ayrıca, kimyon tohumu küspesinin karkastaki protein ve nem içeriği üzerine hiçbir etkisinin olmadığını, ancak total lipidi önemli ölçüde arttırdığını ve toplam kül içeriğinin, artan CSM seviyeleri ile önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir ($P < 0,05$).

Bilgüven ve Barış (2011), % 35 FM, içeren pamuk tohumu unu (CSM), ayçiçeği unu (SFM), kanola unu (CM) veya soya fasulyesi unu (SBM) ile yaptıkları gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) besleme çalışmasında; nihai ağırlık, WG, SGR ve CP

içeriğini SBM ile elde etmişlerdir. 84. günün sonunda CSM diyetinde diğer gruplara göre PER ve kül içeriği en düşük bulunmuş olup, FCR ve nem içeriğini daha yüksek bulmuşlardır ($P<0,05$). Bu bilgiler ışığında balık yemlerinde pamuk çekirdeği, ayçiçeği, kanola ve soya fasulyesi ununun protein kaynağı olarak kullanılabileceği anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, pamuk çekirdeği ve kanola öğünleri, yalnızca parmak boydan sonraki evrelerde balıkların yemlerine dahil edilmelidir.

Awad vd. (2012), gökkuşağı alabalığında 60 gün süreyle gerçekleştirdikleri besleme çalışmasında %1 ve %2 oranında lupin (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera sp.*) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) deneyerek kontrol grubuna göre ağırlık artışı, boy ve spesifik büyüme oranında (SBO) olumlu yönde önemli bir farklılık olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Tüm deneme balıklarının kuru madde analizinde, % 1 ve % 2 lupin, mango ve ısırgan otu verildikten sonraki ham protein, lipit, nem ve kül seviyelerinde önemli bir farklılık olmadığına belirtmişlerdir.

Jalili vd. (2012), 2 ay boyunca gökkuşağı alabalığı diyetlerinde farklı protein kaynaklarının (soya fasulyesi unu, buğday glütenu, mısır glütenu ve kümes hayvanı maması ürünü) FM üzerine etkisini test etmişler, bitkisel protein içeren % 40 FM 'nin kas kompozisyonunda, yem kullanımını ve büyüme endeksleri üzerinde olumsuz yönde etki etmediğini tespit etmişler. Salmonid diyetlerinde daha yüksek seviyeli bitkisel katkı maddelerinin ve kümes hayvanı ürün yan ürünü (PBM) dahil edilmesinin, balıkların performansı üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunda öne sürmektedirler.

Lech ve Reigh (2012) juvenil florida pompano (*Trachinotus carolinus*) türünde yaptıkları 70 günlük büyüme performansı çalışmasında soya proteini konsantresinin [M0/C59 seviyesinde] ve soya ununun FCR 'ı arttırdığı; WG, SGR, PER ve FI değerlerindedeki azalmaya sebep olduğunu belirtmişlerdir. M25 / C43, M30 / C39 içeren balık diyetlerinin ağırlık kazanımına etkisinin, kontrol grubununkine eş değer olduğunu M0 / C59 diyetiyle beslenen balıklarda ham protein ve lipid içeriğinin azaldığı ve kontrol grubuna göre nem ve kül içeriğinin yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Lech ve Reigh (2012) bu çalışmanın sonucunda, FM'nin soya fasulyesi unu ve soya

proteinini konsantresi karışımları ile değiştirilmesinin *T. carolinus* için uygun olduğunu belirtmişlerdir.

Xu vd. (2012), 2 ay boyunca 0, 25, 50, 62.5, 75, 87,5 ve 100% oranda soya protein izolatu (SPI) içeren balık yemi ile beslenen juvenil Amur mersin balıklarında (*Acipenser schrenckii*) ağırlık artışı ve yaşama oranlarında önemli bir azalma olduğunu, FCR değerinin ise %75 ve üzeri gruplarda arttığını belirtmişlerdir. 25% ve 62,5% değerleri arasında farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Sonuçlar, diyetle SPI'nın ilave edilmesinin, juvenil *A. schrenckii*'de yem değerlendirme ve büyüme performansı üzerine olumsuz etkilere neden olduğunu, bu raporda sunulan ağırlık artış oranına dayalı olarak % 57,64'lik bir kullanım seviyesi önerildiğini belirtmişlerdir.

Jalili vd. (2013), gökkuşağı alabalığının büyüme performanslarını, soya fasulyesi unu, buğday glütenu ve mısır glütenu içeren 8 haftalık beslenmeden sonra farklı seviyelerde (0, 40, 70 ve 100%) araştırmışlardır. Sonuçlar, % 40 bitki proteininin FM ile yer değiştirmesiyle WG, SGR ve FCR 'de anlamlı bir fark olmadığını, ancak % 70 ve % 100 bitkisel protein ile FM'nin değiştirilmesinin, balıkların FCR'sini yükselttiğini gösterdi ($P < 0,05$). Sonuçlara göre büyüme üzerinde dikkate değer bir olumsuz etki olmaksızın FM'nin % 40'ını bitki varyeteleriyle değiştirmek mümkündür. Bununla birlikte, daha yüksek bitki proteinlerinin eklenmesi, balıkların performansı üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilmektedir.

Khan'a göre vd. (2013) Nil tilapia (*O. niloticus*) 'sında yaptıkları çalışmada balık unu yerine kullandıkları % 10-20 oranında pirinç unu ve % 17,6-22 oranında hardal yağı küspesi ile 60 gün besleme denemesi sonunda nihai ağırlık, WG, SGR, FI, FCR ve PER değerleri artış göstermiştir ($P < 0,05$).

Ehsani vd. (2014), juvenil *Acanthopagrus latus* türünde 8 hafta boyunca 0, 100, 150, 250 veya 300g / kg fermente soya fasulyesi unu (FSM) içeren diyetler denediklerini kaydetmişler. Balıkların büyüme performansı ve vücut kompozisyonunun, FSM seviyesi ile etkilenmediğini ($P > 0,05$). *Acanthopagrus latus* türünde 300 gr/kg'a kadar FM proteinin, FSM ile değiştirilebileceğini öne sürmüşlerdir.

Emadi vd. (2014), 4 ay boyunca % 20 susam tohumu ile beslenen parmak boy gökkuşuğu alabalıklarında % 10 ve % 15 susam tohumu ile beslenenlere göre FCR, SGR, PER ve WG'nin yüksek değerde olduğunu vurgulamışlardır ($P<0,01$). Karkas bileşimi açısından, %20 susam içeren diyet ile kontrol grubu arasında önemli bir farklılık olmadığını da eklemişlerdir. Bu sonuçlar, susam tohumunun, beslenme diyetinde alternatif bir madde olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Siddiqui vd. (2014), kedi balıklarında (*Heteropneustes fossilis*) yaptıkları 6 haftalık besleme çalışmasında %15 soya proteini içeren diyetin büyüme parametrelerinde (WG, SGR, FCR ve PER) önemli bir değişiklik yaratmadığı ($P>0,05$) fakat soya küspesi ile beslenen balıkların yağ ve kül içeriklerinin daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Soya yeminin, kedi balığı parmak boylarında uygun maliyetli diyetler geliştirmek için balık unu yerine mükemmel bir alternatif olarak kullanılabileceği sonucuna da varmışlardır.

Haghbayan ve Mehrgan (2015), 2 ay boyunca gökkuşuğu alabalığı için yem olarak FM'ye alternatif, enzim ile muamele edilmiş soya unu tozu (HP310) kullanmışlardır. % 70 ve % 100 HP310 içeren diyetlerin, % 50 HP310 içeren diyetlere kıyasla daha yüksek FCR ve daha düşük FI, WG ve SGR'ye sahip olduğunu ($P<0,05$) ve yaşama oranlarının, diyetlerdeki HP310 seviyeleri tarafından etkilenmediğini bulmuşlardır.

Bu sonuçlar, HP310'un, balıkların büyümesi ve FCR'si üzerinde herhangi bir ters yan etki olmaksızın, gökkuşuğu alabalığı genç bireylerinde % 50'sine kadar besin olarak alabileceğini göstermektedir. Buna sebep olarak alabalıkların etobur diyeti ve yaşamlarının erken dönemlerinde balık protein kaynaklarına duydukların yüksek talep gösterilebilir.

Azab vd. (2016), bazı gıda katkı maddelerinin etkisini araştırdıkları çalışmada % 5 seviyesinde, şalgam, yaprak üzümü ve kök havuç yaprağı ve kökü ile 120 gün beslenme sonrası Koi balıklarının (*Cyprinus carpio*) büyüme performansına etki ettiğini belirtmişlerdir. Koi balıklarının boy ve kilosundaki en yüksek büyüme değerlerinin % 5 şalgam grubunda kaydedildiğini bulmuşlar, ancak en düşük değeri % 5 (şalgam + üzüm + havuç) grubunda kaydetmişlerdir. Bu nedenle Koi balıklarının

büyüme performansını artırmak için bir katkı maddesi olarak şalgam kullanılması önermişlerdir.

Krome vd. (2016), juvenil Nil tilapialarında (*O. niloticus*), 2 ay boyunca FM proteini yerine 30, 70 veya % 100 *Jatropha curcas* çekirdek unu (JKM) ile izojenjik ve izonitrojenli diyetler ile beslediklerini belirtmişlerdir. Sonuç olarak büyüme parametrelerinde önemli bir değişiklik göstermezken, % 70 ve % 100 değişen dozlarında daha yüksek lipit içeriği ve daha düşük kül içeriği ($P<0,05$) göstermiştir. JKM su ürünleri yetiştiriciliğinde umut verici bir alternatif protein kaynağıdır.

Abbasi Ghadikolaei vd. (2017), 60 gün boyunca her 100 gram ticari diyetle farklı dozlarda (0, 0,25, 0,5, 1, 2g) olan Zingiber officinale unu içeren diyetlerle juvenil sazanlarda (*Cyprinus carpio*) besleme çalışması yapmışlar. Lipit, protein ve enerji gibi büyüme parametreleri için en iyi sonuçları, kontrol grubuna kıyasla, 2g zencefil/100g diyetine ile beslenen grupta ($P<0,05$) elde ettiklerini belirtmişlerdir.

2.2. Çeşitli Bitkilerin Sindirim Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Balık sindirim enzimleri üzerine diyet içerisine dahil edilen bitki proteininin etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Örneğin, Lazzari ve arkadaşları, (2010), 3 ay boyunca hayvan protein kaynakları ile beslenmiş juvenil jundià (*Rhamdia quelen*) bağırsaklarında tripsin aktivitesinin daha yüksek ($P<0,0001$) olduğunu kaydetmiştir: MBS (et ve kemik unu + soya fasulyesi unu) ve FS (balık unu + soya unu). Gastrik proteaz aktivitesi ise, MBS ve MBY (et ve kemik unu + şeker kamışı mayası) diyetleri ile beslenen balıklarda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Lazzari vd. (2010), beslenme periyotları ve bağırsak bölümleri arasındaki amilaz aktivitesinde büyük değişiklikler olduğunu bildirmişler ve alkali proteaz, SY'de (soya fasulyesi unu + şeker kamışı mayası) ve S (soya fasulyesi unu) diyetlerinde soya unu besleme çalışmasını olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, jundià'da soya fasulyesi ununun (% 68) güçlü bir alkalın proteaz inhibitörü olduğu tespit edilebilmiştir.

Costanzo vd. (2011), 15 hafta boyunca % 35 pirinç protein konsantresinin (RPC) en yüksek seviyesi ile beslenen mandagöz mercan (*Pagellus bogaraveo*) bağırsaklarında pepsin, tripsin ve amilaz aktivitelerinde önemli bir artış ($P<0,01$) ve lipaz aktivitesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. RPC, mandagöz mercan beslenmesinde pratik diyetlerin formülasyonu için iyi ve ucuz bir alternatif protein diyet maddesi olarak düşünülebilir.

Awad vd. (2012), kontrol ile karşılaştırıldığında iki ay boyunca %1 ve % 2 oranında lupin (*Lupinus perennis*), mango (*Mangifera indica*) ve ısırgan otu (*Urtica dioica*) ile beslendikten sonra gökkuşağı alabalığının pepsin aktivitesinde önemli bir artış olduğunu kaydetmiştir ($P<0,05$). Amilaz ve lipaz aktivitesi açısından balıkların midelerinde ve bağırsaklarında kontrol ve uygulama grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Jalili vd., (2012), gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) sindirim enzimleri üzerine yaptıkları çalışmalarla, 60 gün boyunca % 100 bitki proteini (PP) ile beslenen balıkların lipaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını ($P>0,05$) fakat farklı gruplar arasında amilaz aktivitesinde önemli fark olmadığını gözlemişlerdir.

Balıkların pilorik sekalarında alkali proteaz % 70 ve % 100 PP gruplarında düşük olduğu, ancak % 40 PP, % 50 kanatlı yan ürünü protein (PM) ve PM kontrol gruplarında önemli ölçüde farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Jalili vd., (2012) PP kaynaklarının soya unu, buğday gluteni ve mısır gluteni olduğunu belirterek, bitkisel protein kaynağı ile birlikte kanatlı yan ürünlerinin (% 50:% 50), esansiyel amino asit bileşimini düzgün bir şekilde dengeledikten sonra gökkuşağı alabalığı beslemesinde kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Mondal vd. (2012), % 65 dut yaprağı unu (MLM) içeren diyetin % 50'sini balık unu (FM), % 64'ü hardal yağı keki (MOC) ve % 77'si pirinç kepeği (RB) ile değiştirdiklerini belirtilirken, iki ay boyunca beslenen *Labeo bata* tür balıklarının bağırsağında bulunan sindirim enzim aktivitelerinde; amilaz, lipaz ve proteazın aktif olduğu ortaya çıkmıştır. *L. bata*'nın beslenme formülasyonunda FM'nin yerini almak için besin maddesi olarak

MLM'nin dahil edilmesinin diyetin kuru ağırlığının% 5.3'ünü aşmaması şartıyla diyetin ham lif içeriğinin uygun bir seçenek olduğu sonucuna varılmıştır.

Xu vd. (2012), soya proteini izolatu (SPI) ile yer değiştiren FM nin genç *Acipenser schrenckii* 'de sindirim enzim aktivitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. Sonuçlara göre; balıkların ön, orta ve arka bağırsak kısımlarındaki amilaz, proteaz ve lipaz aktivitelerinin 8 haftalık beslenmeden sonra FM 75, 87.5,% 100 ile yer değiştirmiş artan SPI seviyeleri ile önemli ölçüde ($P<0,05$) bastırıldığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar, juvenil *A. schrenckii*'de sindirim enzim aktivitesi üzerine beslenmeye SPI'nın dahil edilmesinin olumsuz etkilerine işaret etmektedir.

Piccino vd. (2013), yaptıkları çalışmada juvenil çipura (*Sparus aurata*) yemlerine %18 oranda denizhiyari unu (HM) ilave etmişler ve 100 gün boyunca besleme yapmışlardır. Sindirim enzimlerinden amilaz ve lipazın HM ikamesi ile önemli bir değişikliğe uğramadığını ($P<0,05$) ve dolayısıyla çipura beslenmesinde balık unu yerine kısmen HM kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Azarm ve Lee (2014) tarafından yapılan bir araştırmada, juvenil pisi balıklarının (*Paralichthys olivaceus*) yemlerine balık unu yerine 80, 160, 240 ve 320g/kg yem oranında fermente soya fasülyesi (FSM) ikamesinin balıkların amilaz, lipaz ve tripsin değerlerinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir ($P<0,05$). Bu sonuç FSM'nin juvenil pisi balıklarının beslenmesinde balık ununun yerine 240 g/kg'a kadar kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Ehsani vd. (2014), juvenil *Acanthopagrus latus* balıklarının 8 hafta boyunca 100, 150, 250 veya 300g/kg yem miktarlarında fermente soya fasulyesi unu (FSM) içeren isolipidik ve izonitrojenik diyetlerle beslenmesi sonucu bağırsakta tripsin, amilaz ve lipaz aktivitesinde anlamlı bir değişim olmadığını belirtmişlerdir ($P>0,05$). Bu sonuca göre balık ununun %30'a kadarı *Acanthopagrus latus* balıklarının juvenillerinin beslenmesinde FSM ile değiştirilebilir.

Murashita vd. (2015), soya fasulyesi unu (SBM) ilavesinin 6 hafta boyunca juvenil fangri mercan (*Pagrus major*) beslenmesinde sindirim enzimlerinin salgılanması

üzerindeki etkisini incelemişler, SBM ile beslenen balıkların bağırsakta amilaz, tripsin ve lipaz aktivitelerinin ve bu enzimlerin hepatopankreasdaki gen ekspresyon seviyelerinin balık unu ile beslenen balıklardan daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar ışığında FM içeren diyet pankreatik sindirim enzimlerinin sentezini/salgılanmasını daha büyük oranda uyarmıştır.

Priyadarshini, Manissery, Gangadhara, Rao ve Keshavanath (2015), sazan balıkları (*Cyprinus carpio*) yavrularını, 3 ay boyunca %10, 20 ve 30 oranında horse gram ve soya unu karışımı içeren diyetle beslemişler ve %30 oranında karışım ile beslenen balıkların hepatopankreasında amilaz seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Ayrıca, aynı grubun bağırsak ve hepatopankreasındaki lipaz düzeyi daha yüksek iken kontrol grubuna oranla proteaz seviyeleri daha düşük olarak ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlara göre horse gram ve soya unu eklenmesinin sazan yavrusu yetiştiriciliğinde kullanılabileceği kanaatine varmışlardır.

Iqbal vd. (2016), juvenil rohu balığı (*Labeo rohita*) üzerine yaptıkları çalışmada pamuk tohumu ve guar unu takviyesiyle beslenen balıkların bağırsaklarında proteaz ve amilaz konsantrasyonlarının yükseldiğini tespit etmişlerdir ($P<0,05$). Buradan bu bitkilerin yemlere ilavesinin rohu balığı juvenillerinde sindirim enzimi aktivitesi bakımından etkili olduğu sonucuna varılabilir.

Yaghoubi, Mozanzadeh, Marammazi, Safari ve Gisbert (2016), juvenil simli-siyah *Sparidentex hasta* balıklarının pilorik seka ve bağırsaklarında amilaz, tripsin ve lipaz aktivitesinin, %15, 30, 45, 60 ve 70 oranlarında kullanılan soya ürünlerinin artış miktarıyla doğru orantılı olarak azaldığını göstermişlerdir ($P<0,05$). Bu sonuçlara göre juvenil *S.hasta* balıklarında balık unu yerine soya ürünleri ikamesinin alabileceği maksimum düzeylerin %16,5 ile %27,3 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Gabriel, Qiang, Ma, Xu ve Nakwaya (2017), *Aloe vera* tozunun juvenil *Oreochromis niloticus*'un sindirim enzimleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada tilapialar 60 gün boyunca %0,5, 1, 2 ve 4 oranında *Aloe vera* tozu içeren yemlerle beslenmiş, % 0,5, 1 ve 2 oranında ilave ile beslenen balıkların karaciğerinde, %1 oranında beslenenlerin midelerinde amilaz aktivitesi anlamlı derecede artış

göstermiştir ($P<0,05$). %0.5 ve 1 gruplarının sindirim kanalı boyunca toplam amilaz aktivitesi kontrol grubu ve %4 oranında ilave ile beslenen gruba göre önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Yine %0,5 oranında *A. vera* katkılı yemle beslenen balıkların midesindeki, %1, 2 ve 4 oranında beslenen balıkların duodenumlarındaki tripsin aktivitesi kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir ($P<0,05$). Ayrıca %1 oranında *A. vera* takviyesi ile beslenen tilapiaların duodenumundaki lipaz seviyesi kontrol grubuna göre artmıştır. İkinci dereceden polinom regresyon analizine dayanarak, %1,76, 1,82 veya 2,10 oranında *Aloe vera* ilavesinin genetiği geliştirilmiş çiftlik tilapyası (GIFT) balıklarında karbonhidrat, protein ve yağ sindirimini destekleyecek olduğu kanaatine varılmıştır.

2.3. Bitkilerin Antioksidan Durumuna Etkileri

Yoğun kültür sistemlerindeki balıklar, fizyolojik ve biyokimyasal koşullarında önemli değişikliklere yol açan kimyasal, biyolojik ve fiziksel rahatsızlıklar dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerine sürekli olarak maruz kalmaktadır. Bitkilerde bulunan çok çeşitli kimyasal bileşikler, organizmaların serbest radikal hasarının neden olduğu oksidatif stresle başa çıkmalarına yardımcı olan ve dolayısıyla balığın genel fizyolojik durumunu iyileştiren antioksidatif etkilere sahiptir.

Sitjà-Bobadilla vd. (2005), balık unu yerine birtakım bitki proteini kaynakları (buğday gluteni, mısır gluteni, kolza tohumu unu, ekstrüde bezelye ve tatlı beyaz lüpen) kullanımının çipura (*Sparus aurata*) juvenilleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 6 aylık besleme sonucunda kontrol grubuna kıyasla %100 oranında bitki proteini ikamesi ile beslenen balıkların hepatik glutatyon redüktaz (GRx) seviyelerinde anlamlı derecede artış ($P<0,05$), %75 ve 100 oranında ikame ile beslenen balıklarda ise GRx aktivitesinin kas dokusunda daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir. Kas ve karaciğerdeki glutatyon redoks durumundaki artışın bitki proteini ikamesindeki artış ile doğru orantılı olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak buğday gluteni, mısır gluteni, kolza tohumu unu, ekstrüde bezelye ve tatlı beyaz lüpen karışımının balık unu ile ikamesi juvenil çipuralarda antioksidatif etkiyi desteklemiştir.

Metwally (2009)'e göre, farklı formlardaki (doğal sarımsak 40 g/kg, sarımsak yağı kapsülü 250 mg/kg, sarımsak tozu tableti 32 g/kg) sarımsak (*Allium sativum*) ilavesi ile desteklenen diyet, tilapya balıklarının (*Oreochromis niloticus*) karaciğer ve serumundaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerinin kontrol grubuna oranla artmasına olanak sağlamıştır ($P<0,01$). Buna zıt olarak tüm deney gruplarında karaciğer ve serum malondialdehit (MDA) konsantrasyonları önemli derecede azalmıştır ($P<0,01$). Buna göre herhangi bir formdaki sarımsak desteğinin tilapya balıklarındaki antioksidan enzim aktivitesine katkı sağladığı sonucuna varılabilir.

Mohebbi, Nematollahi, Dorcheh ve Asad (2012), parmakboy gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine 60 gün boyunca, 10, 20, 30, 40 ve 50 g/kg konsantrasyonlarında sarımsak tozu (*Allium sativum*) ilavesinin serum lipid peroksidler ve antioksidan enzimler üzerindeki etkisini test etmişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla bütün gruplarda serum lipid peroksidasyon seviyelerinde düşüş, süperoksit dismutaz seviyelerinde ise artış tespit etmişlerdir ($P<0,05$). 10, 20 ve 30 g/kg sarımsak takviyeli yemle beslenen balıklarda katalaz aktivitesi 40 ve 50 g/kg takviye ile beslenen balıklar ve kontrol grubuna oranla önemli derecede azalmıştır ($P<0,001$). Ancak hiçbir deney grubunun glutatyon peroksidaz aktivitelerinde önemli bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar, sarımsak takviyeli beslenmenin gökkuşığı alabalıklarının antioksidan durumlarına katkı sağlayabileceğini ortaya koymuştur.

Azam ve Lee (2014), 2 ay boyunca beslenen juvenil pisi balıklarında (*Paralichthys olivaceus*) yaptıkları çalışmada fermente soya ununun 80, 160, 240 ve 320 g/kg oranında balık unu ile ikamesinin antioksidan potansiyeli üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Karaciğer ve plazmadaki GPx ve SOD antioksidan aktiviteleri hiçbir grupta fermente soya unundan etkilenmemiştir. Genel bir sonuç olarak, juvenil pisi balığı beslenmesinde fermente soya ununun 240 g/kg'a kadar balık unu ikamesi olarak kullanılabilecek potansiyeli mevcuttur.

El-Badawi (2015), bir insektisit olan NeemAzal T/S (NA)' a düşük dozda (NA1) ve yüksek dozda (NA2) maruz kalan nil tilapya balıklarını (*O. niloticus*) yemlerine %5 oranında lüpen tohumu tozu ilave ederek 30 gün boyunca beslemiştir. Lüpen tohumu

takviyesi hem SOD ve CAT aktivitesini hem de NA1 ve NA2'ye maruz kalan balıkların solungaçlarındaki toplam peroksit seviyesini arttırmıştır. Yine NA1 ve NA2 gruplarının eritrositlerindeki SOD ve CAT aktiviteleri ve toplam peroksit seviyelerinde kontrol grubuna oranla önemli derecede iyileşme tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre NeemAzal T/S'a maruz kalmış nil tilapyaalarında lüpen tohumunun oksidatif hasara karşı gösterilen antioksidan aktivitesine kuvvetli tesiri mevcuttur.

Gabriel vd. (2015), tilapya juvenillerini 2 ay boyunca %0.5, 1, 2 ve 4 oranında *Aloe vera* tozu takviyesiyle beslemişlerdir. Sonuçlara göre bütün gruptaki balıkların karaciğerlerindeki MDA seviyeleri kontrol grubuna oranla anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Öte yandan kontrol grubuna göre %4 oranında takviye alan grupta karaciğer CAT, %0.5 ve 1 takviye ile beslenen grupta ise GPx aktivitesinde anlamlı derecede artış gözlemlenmiştir ($P < 0,05$). Karaciğer SOD aktivitesi, *Aloe vera* takviyesi ile beslenen bütün gruplarda kontrol grubuna göre yüksek çıkmış ancak deney grupları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Böylece *Aloe vera* ekstraktı tilapya balıklarının beslenmesinde antioksidan destekleyici olarak önerilebilir.

Golestan, Salati, Keyvanshokoo, Zakeri ve Moradian (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) diyetine 0.5, 1 ve 2 g/kg konsantrasyonlarında *Aloe vera* tozu eklenmesinin kontrol grubuna göre plazma malondialdehit seviyesinde bir yükselmeye ve plazmanın ferrik indirgenme yeteneğinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir ($P < 0,05$). Bu bulgular, *Aloe vera* takviyesinin gökkuşağı alabalığındaki antioksidan savunma sisteminde ters etki meydana getirdiğini ortaya koymuştur.

Sönmez vd. (2015), juvenil gökkuşağı alabalıklarının (*O. mykiss*) yemlerine adaçayı (*Salvia officinalis*), nane (*Mentha spicata*) ve kekik (*Thymus vulgaris*) ilave ederek karaciğer antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon üzerine etkilerini gözlemlemişlerdir. Balıklar 8 hafta boyunca 500, 1000 ve 1500 mg/kg konsantrasyonlarında takviye ile beslenmişlerdir. Sonuçlara göre bütün deneme gruplarında karaciğer glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve glikoz-6-fosfat dehidrojenaz aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış göstermiştir ($P < 0,05$). Ancak deneme sonunda tüm grupların glutatyon redüktaz, katalaz ve

glutasyon-S-transferaz aktivitelerinde anlamlı düşüş kaydedilmiştir. Kekik ve adaçayı takviyesi ile beslenen gruplarda 30. ve 60. günde malondialdehit seviyeleri kontrol grubuna ve nane takviyesi ile beslenen gruplara oranla düşüş göstermiştir ($P<0,05$). Böylece gökkuşağı alabalığı üretiminde yemlerin kekik ve adaçayı yağları ile takviyesi MDA seviyelerini düşürecek ve en düşük konsantrasyon olan 500 mg/kg düzeyinde kullanılması antioksidan enzim aktivitelerinde en az değişime sebep olacaktır.

Hamed (2016)' e göre *Spirulina platensis* takviyesi ile 4 hafta boyunca beslenen (150 mg/kg vücut ağırlığı) karabalıktaki (*Clarias gariepinus*) solungaç, karaciğer ve böbrek malondialdehit seviyeleri, katalaz, süperoksit dismutaz, redükte glutasyon ve glutasyon peroksidaz aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir.

Manal (2016), 10 ve 20 g/kg konsantrasyonlarında zerdeçal ve sarımsak takviyesi ile beslenen tilapyları (*Oreochromis niloticus*) incelemiştir. Aflotoksin B₁ (AFB₁) enjekte edilen balıklar zerdeçal ve sarımsak takviyeli diyet ile 14 gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre karaciğer MDA seviyeleri aflotoksikosis olmuş balıklarda sarımsak ve zerdeçal verilen gruplarda kayda değer azalmıştır ($P<0,05$). Normal gruplarda MDA seviyeleri bitkisel içeriğin miktarı arttıkça gruplarda atmıştır. GSH, CAT, GPx ve GRx enzimlerinde önemli derecede artışlar gözlenmiştir.

Şahan, Özütok ve Kurutaş (2016), *A. hydrophila* ile enfekte edilmiş Nil tilapialarının (*Oreochromis niloticus*) yemlerine farklı oranlarda (%0.5, 0.1, 1) zencefil ekstraktı (*Zingiber officinale*) ilavesinin etkisini üç ay boyunca test etmişlerdir. Çalışmalarında, balıkların solungaç, karaciğer ve bağırsaklarındaki katalaz ve süperoksit dismutaz seviyeleri, zencefil oranlarındaki artış ile doğru orantılı olarak önemli ölçüde yükselmiştir ($P<0,05$). Bağırsak ve karaciğer dokularındaki MDA konsantrasyonları zencefil oranlarındaki artış ile ters orantılı olarak azalmıştır ($P<0,05$), solungaç dokusundaki MDA düzeyleri ise önemli ölçüde değişmemiştir. Zencefil dozu yükseldikçe oksidatif stres indeksleri artmış, bu artışlar Nil tilapiasında *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı zencefilin antioksidan özelliklerinin en iyi sonucu olarak kabul edilmiştir.

Wang vd. (2017), 56 gün boyunca 300, 1000 ve 3000 mg/kg *Rhodiola rosea* içeren diyetlerle beslenen karidesin (*Litopenaeus vannamei*) GPx aktivitesinde anlamlı bir fark olmadığını ($P<0,05$) kaydetmişlerdir. Tüm deney gruplarında SOD aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($P<0,05$). CAT aktivitesi, *R. rosea*-300 grubunda kontrol ve *R. rosea*-1000 grubundakinden daha yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Karideslerin toplam antioksidan durumunun (TAS) 300 mg/kg *R. rosea* içeren diyetlerde, *R. rosea*-1000 ve 3000 gruplarından anlamlı olarak daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur ($P<0,05$). Elde ettikleri sonuçlara göre, *R. rosea* takviye dozunun ve zamanının *L. vannamei*'nin antioksidan durum parametrelerinde anlamlı bir etkisi olduğu tespit edilmiştir.

2.4. Bitkilerin Bağışıklık Durumuna Etkileri

Bitkiler, aşıların aksine, zengin bağışıklık arttırıcı maddeler ve bitkisel immüno-uyarıcı kaynaklarıdır. Doğal veya uyarlayıcı bağışıklık yanıtını modüle edebilir ve özellikle hastalık salgınlarının döngüsel olduğu ve tahmin edilebildiği durumlarda balık ve kabuklu deniz ürünleri hastalıklarını kontrol etmek için kullanılabilir. Pek çok bitki ve bitki özlerinin geleneksel uygulamalarda bağışıklık fonksiyonunu güçlendirmede etkili olduğu kanıtlanmıştır ve su ürünleri yetiştiriciliğinde immünostimulanlar olarak kullanılması da önerilebilir.

Yin vd. (2009), iki Çin bitkisinin (*Lonicera japonica* ve *Ganoderma lucidum*) tilapia balıklarının doğal bağışıklık yanıtı üzerine etkisini test etmiştir. Çalışmalarında balıklar, %1 *Lonicera*, %1 *Ganoderma* ve her biri 0,5 g olan iki bitki karışımı ile 21 gün boyunca bitkisel diyetlerle beslenmiştir. Deney, bitkilerle tek başına veya kombinasyon halinde beslenmenin, çalışma periyodu boyunca kan fagositik hücresinin fagositozunu geliştirdiğini ve iki hafta beslenmeden sonra lizozim seviyesinin uyarıldığını göstermiştir. Ancak plazmadaki toplam immünoglobulin ve solunum patlaması aktivitesi gelişmemiştir. Bu nedenle, yeme ilave edilen bitki özlerinin immüno-uyarıcılar olarak işlev gördüğü ve tilapia balıklarının bağışıklık durumunu arttırdığı görülmüştür.

Harikrishnan, Balasundaram ve Heo (2010), 100, 200, 400 ve 800 mg/kg konsantrasyonlarında karışık bitkisel besin takviyesi içeren diyetlerle beslenen *A. hydrophila* enfekte edilmiş Japon balıkları üzerinde yaptıkları çalışmada, 200, 400 ve 800 mg/kg takviye içeren diyetlerle beslenen grupların kan hücrelerinin fagositik aktivitelerinde ve solunum patlaması aktivitelerinde kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış olduğunu ortaya koymuşlardır ($P<0,05$). Bununla birlikte, deney süresince, bitkisel diyetlerin tüm dozlarıyla beslenen enfekte balıklarda lizozim aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Sonuçlar, 400 veya 800 mg/kg karışık bitkisel takviyeli yemlerin, japon balıklarının *A. hydrophila*'ya karşı doğal bağışıklık sistemini tetiklediğini göstermiştir.

Wu, Liu, Chang ve Hsieh (2010) yaptıkları çalışmada *Toone sinensis* sulu özütünü Nil tilapialarına (*O. mossambicus*) intraperitoneal olarak 4 ve 8 µg/g oranlarında enjekte etmişlerdir. Çalışma sonunda lizozim, solunum patlaması, fagozitik hücre aktivitesi artış göstermiştir ($P<0,05$).

Bilen, Yılmaz ve Bilen (2013), 0.5, 1 ve 1.5 g/kg oranlarında tetra (*Cotinus coggygia*) ekstraktı ile 30 gün boyunca desteklenen sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) nitroblue tetrazolium (NBT), lizozim aktivitesi ve miyeloperoksidaz değerlerinde kontrol grubuna oranla anlamlı ölçüde artış kaydetmişlerdir. Bu sonuçlara göre tetranın sazan balıkları için etkili bir bağışıklık uyarıcı olduğu ortaya konulmuştur.

Haghighi ve Rohani (2013), üç ay boyunca %1 oranda toz zencefil (*Zingiber officinale*) katkısı ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında solunum patlaması aktivitesi ve lizozim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, zencefil tozu ilave edilmiş diyetin balıktaki bağışıklık sistemini uyardığını açığa çıkarmıştır.

Jalili vd. (2013), iki ay boyunca balık unu yerine %40, 70 ve 100 oranlarında mısır gluteni, buğday gluteni ve soya fasulyesi unu ikamesi ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının serum lizozim aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, tüm deney gruplarında alternatif kompleman aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük gözlemlenmiştir.

($P<0,05$). Toplam serum antikor değeri %100 grubunda anlamlı dereced düşmüş ($P<0,05$) ancak %40 grubunda önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Çalışma göstermiştir ki balık ununun %40 oranında bitki ile ikamesi lizozim aktivitesi ve toplam antikor gibi hümmoral bağışıklık parametrelerine herhangi bir olumsuz etki yaratmadan mümkündür.

Haghighi vd. (2014), gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularının yemlerine 1 ay boyunca %1 oranında *Aloe vera* ekstraktı ilave etmişlerdir. *Aloe vera* katkısı ile beslenen balıkların solunum patlama aktivitesi, fagositik aktivitesi ve lizozim aktivitesi kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0,05$). Sonuç olarak gökkuşığı alabalıklarında *Aloe vera* katkılı diyet, doğal bağışıklık sistemini destekleyici olarak kullanılabilir.

Bilen, Altunoglu, Ulu ve Biswas (2016a), 30 gün boyunca 0, 0,1 ve 0,5 g/kg oranlarında gebre otu (*Capparis spinosa*) katkısı ile beslenen gökkuşığı alabalıklarının *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı doğal bağışıklık yanıtını, büyüme oranını ve diğer parametrelerini incelemişlerdir. Bütün deney gruplarının fagositik, lizozim, miyeloperoksidaz aktiviteleri ve süperoksit anyon üretimi kontrol grubuna oranla artmıştır. Gebre otu dozu arttıkça büyüme performansı artmıştır. Yaşama oranı 0,1 ve 0,5 g/kg gruplarında *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı kontrol grubuna oranla anlamlı derecede artmıştır ($P<0,05$).

Bilen, Ünal ve Güvensoy (2016b), 0,1 ve 0,5 g/kg oranlarında ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve kavak mantarı (*Pleurotus ostreatus*) ekstraktı ilavesi ile beslenen gökkuşığı balıklarında (*O. mykiss*) *A. hydrophila* enfeksiyonunu test etmişlerdir. Deney sonunda tüm grupların solunum patlama, fagositik, lizozim ve miyeloperoksidaz aktiviteleri kontrol grubuna oranla anlamlı derecede artış göstermiştir ($P<0,05$). Ayrıca *A. hydrophila* enfeksiyonu sonucu en yüksek seviyede yaşama oranı, farklı seviyelerde ısırgan otu katkısı ile beslenen balıklarda gözlemlenmiştir. Kavak mantarı katkısı ile beslenen balıklarda ise yaşama oranı bakımından bir fark ortaya çıkmamıştır. Bu sonuçlar ışığında kavak mantarı ve ısırgan otu ekstraktlarının gökkuşığı alabalıklarında bağışıklık uyarıcı ve antimikrobiyal etkisi olduğu yorumu yapılabilir.

3. YÖNTEM

3.1. Yem Karışımı ve Hazırlanması

Denemede tüm yemlerde balık unu birincil protein kaynağı olarak, balık yağı ise lipid kaynağı olarak kullanılmıştır. Bitki (*Chenopodium album*) Türkiye'nin batı Karadeniz bölgesinde bulunan Kastamonu ilinden toplanmıştır ve tüm bitkiler gölgede kurutulmuştur. Kurutulmuş bitki mekanik olarak toz haline getirilmiş, bir ev tipi elek kullanılarak elenmiş ve daha sonra sıcak su ilavesiyle 100g yem başına 0g (kontrol), 2.5g ve 5g elde etmek için doğrudan balık yemiyle karıştırılmıştır. Daha sonra, yem makinesi ile pelet haline getirilmiş ve kuruyana kadar 12 saat 80 °C'de bir fırında kurutulmuştur. Her bir besleme muamelesi için kurutulmuş peletler, tek tek paketlenmiş ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Standart yöntemler kullanılarak yaklaşık kompozisyonlar için iki tekerrür halinde analiz edilmiştir (AOAC, 1990). Test edilen yemlerin bileşenleri ve yaklaşık kimyasal bileşimi Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Table 3.1. *Deneyisel diyetlerin formülasyonu*

Bileşenler			
	Kontrol	% 2,5%	% 5
Balık unu	30	30	30
<i>Chenopodium album</i>	0	2,5	5
Soya unu	19	19	19
Mısır gluteni	14,5	14,5	14,5
Buğday gluteni	5,4	5,4	5,4
Buğday unu	15,4	12,9	10,4
Balık Yağı	14,8	14,8	14,8
Vitamin karışımı ¹	0,5	0,5	0,5
Mineral karışımı ²	0,1	0,1	0,1
Bağlayıcı	0,3	0,3	0,3
Toplam	100	100	100

¹Vitamin karışımı (mg /kg yem, NRC 1977): vitamin A, 5500IU; vitamin D₃, 1000 IU; vitamin E, 50 IU; vitamin K, 10 mg; kolin, 550 mg; niyasin, 100mg; riboflavin, 20mg; piridoksin, 20 mg; tiyamin 20mg; biyotin, 0.1mg; folasin, 5mg; B₁₂, 20µg; inositol, 100 mg; kolin klorür, 5000 mg. ²Mineral karışımı (mg/kg yem, H440): NaCl, 1.0; MgSO₄, 7; NaH₂PO₄, 25; KIO₃, 0.0003; ZnSO₄, 0.353; MnSO₄, 0.162.

3.2. Balık ve Çalışmanın Tasarlanması

Deney, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde dokuz adet plastik 1000-L tanktan oluşan kapalı bir dolaşım sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tanklarda su derinliği, bir rezervuar tankından sürekli taze su ekleyerek deney boyunca 50 cm'de tutulmuştur, besin artıkları ve dışkılar günlük olarak sifonlanmıştır. Her tank, hava pompaları kullanılarak hava taşlarıyla beslenmiştir.

Kastamonu-Türkiye'de yerel bir alabalık çiftliğinden elde edilen ortalama başlangıç ağırlığı $24,48 \pm 0,05$ gram olan toplam 500 adet gökkuşağı alabalığı, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne taşınmıştır. Alabalıklar 2 hafta boyunca laboratuvar koşullarına alıştırmış ve kontrol diyetiyle beslenmiştir (Tablo 3.1). Adaptasyon sürecinin ardından 360 balık tek tek tartılmış ve tank başına 40 balık olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrılmış ve 3 tekrür yapılmıştır. Bir grup (kontrol) toz haline getirilmiş *Chenopodium album* ilavesi almazken diğer balık gruplarının yemlerine %2,5 ve %5 oranında toz haline getirilmiş *Chenopodium album* ilave edilmiştir. Balıklar, saat 9:00 ve 16:00'da olmak üzere günde 2 kez 90 gün süreyle doyana kadar beslenmiştir. Su kalitesini korumak için sistemdeki suyun yarısı deney boyunca günlük olarak değiştirilmiştir. Ortalama su kalitesi parametreleri; sıcaklık 9-11 °C, çözülmüş oksijen 6-8 mg / L, pH 7.8-8.2 olarak ölçülmüştür ve deney 12 saat karanlık / 12 saat ışıktaki sürdürülmüştür.

3.3. Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi

Bütün balıklar hem deney başında hem deney sonunda ortalama ilk ağırlık (IBW) ve ortalama son ağırlık (FBW) değerlerini hesaplayabilmek için tartılmadan önce 24 saat süreyle aç bırakılmıştır. Ağırlık artışı (WG), spesifik büyüme oranı (SGR), yem dönüşüm oranı (FCR) ve yaşama oranı (SR) değerleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Tekinay ve Davies, 2001)

$$\text{Ağırlık artışı (WG \%)} = 100 (\text{son ağırlık} - \text{ilk ağırlık}) / \text{ilk ağırlık}$$

$$\text{Spesifik büyüme oranı (SGR \% / gün)} = 100 (\ln \text{son ağırlık}) - (\ln \text{ilk ağırlık}) / \text{deney gün sayısı}^*$$

Yem dönüşüm oranı (FCR) = alınan yem (g) / ağırlık artışı (g)

Yaşama oranı (SR %) = son balık sayısı / ilk balık sayısı X 100

*ln sayının logaritması olmak üzere.

3.4. Vücut Kompozisyonu

Araştırmanın başında 6 balık analiz için dondurulmuştur. Ayrıca, 90 günün sonunda, kontrol ve deneme gruplarından altı balık örneği rastgele seçilmiş, bu örnekler öldürülerek ve derhal dondurulmuş, 8 saat 105 °C'de fırında kurutulup Yalova Üniversitesi'nde araştırma laboratuvarına taşınmıştır. Örnekler AOAC yönergelerine göre analiz için ezilmiştir. (AOAC, 1990).

3.4.1. Nem İçeriği

Numuneler, fırında 105 °C'de 8 saat muamele edilmeden önce tartılmış ve nem içeriğini belirlemek için muameleden sonra yeniden tartılmıştır. Kuru örnekler toz haline getirilmiş ve protein, yağ ve kül içeriğinin belirlenmesi için bir disektörde saklanmıştır.

Nem içeriği (%) = kurutulduktan sonraki ağırlık / kurutulmadan önceki ağırlık X 100

3.4.2. Ham Protein

Ham protein, numunenin deneysel faktör 6.25 ile çarpılan toplam nitrojen içeriğini ölçerek mikro Kjeldahl yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. % Protein = % nitrojen X 6,25

3.4.3. Ham Yağ (Diethyl Eter Ekstraktı)

Ham yağ içeriği, kurutulmuş numuneyi içeren filtre kâğıdının tartılması ve sonra da 12 saat süreyle 60-80 °C'de diethyl eter kullanılarak Soxhlet aparatına aktarılmasıyla

belirlenmiştir. Filtre kâğıdı ile numune kurutulmuş ve tekrar tartılmıştır. Numune ağırlıkları arasındaki fark numune içindeki toplam yağ içeriğini göstermiştir.

Yağ (%) = yağ çıkarıldıktan sonraki numune ağırlığı / yağ çıkarılmadan önceki numune ağırlığı X 100

3.4.4. Kül İçeriği

Kül içeriği, kurutulmuş numuneyi içeren krozenin tartılması ve daha sonra 8 saat boyunca 550 °C'de bir mufla fırınına aktarılmasıyla belirlenmiştir. Numuneyi içeren kroze yeniden tartılmış ve numune ağırlıkları arasındaki fark kül içeriğini göstermiştir.

Kül (%) = fırınlandıktan sonraki numune ağırlığı / fırınlanmadan önceki numune ağırlığı X 100

3.5. Sindirim Enzimi

48 saat açlıktan sonra, her bir tanktan iki balık toplanmış, öldürülüp mideleri ve anterior bağırsakları çıkarılmış, atıklardan ve tüm görünür yağlardan arındırıldıktan sonra analiz edilene kadar -80 °C'de dondurulmuştur. Sindirim sistemi (mide ve anterior bağırsak) tartılmış (0.1 g) ve Potter Elvenhjem homojenleştirici kullanılarak 1 ml soğuk çift damıtılmış suda homojenize edilmiş, daha sonra homojenat 4 °C'de 20 dakika boyunca 15,000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantlar toplanmış ve analize kadar 80 °C'de muhafaza edilmiştir. Alınan örneklerde protein konsantrasyonu, bir protein standardı olan sığır serum albümini kullanılarak Bradford yöntemi (1976) ile belirlenmiştir. Ölçülen enzimlerin spesifik aktivitesi, mg protein başına (U / mg protein) birim enzim aktivitesi olarak ifade edilmiştir.

3.5.1. Midesel Pepsin Aktivitesi

Midede homojen olarak ölçülen pepsin aktivitesi, substrat olarak 0,06 N hidroklorik asit (HCl) içindeki % 2'lik hemoglobin (Sigma-Aldrich) kullanılarak Worthington (1993)'e göre yapılmıştır. Bunun için, 0,01 N HCl içinde 100 ul enzim özütü (homojenat) ve 500 ul substrat, 10 dakika boyunca 37 ° C'de inkübe edilmiştir.

Reaksiyon, 1 ml % 5 trikloroasetik asit (TCA; Sigma-Aldrich) ilavesiyle durdurulmuş ve 5 dakika süreyle 12000 rpm'de santrifüj işleminden önce 5 dakika için bekletilmiştir. Absorbans değerleri (A) 280 nm'de ölçülmüştür. Referans (blank) olarak enzim ekstraktı eklenmeden önce substrat olarak TCA eklenmiştir. Spesifik aktivite (U) ifadesi:

Pepsin aktivitesi (U/mg protein) = [(A numune - A blank) X 1000] / (10 dk X mg protein)

3.5.2. Bağırsak Tripsin Aktivitesi

Tripsin aktivitesi, substrat olarak N-a-benzoil-dlarginin-p-nitroanilid (BAPNA) ile ölçülmüştür. BAPNA (50 mM Tris-HCl içinde 1 mM, pH 8.2, 20 mM kalsiyum klorür, CaCl₂) 37 °C'de enzim özütü (bağırsak homojenatı) ile inkübe edilmiş ve absorbans 0 dk ve 10 dk'da 410 nm'de kaydedilmiştir (Erlanger, Kokowsky ve Cohen, 1961). Absorbans sonucu = son sonuç – ilk sonuç / 10 dk

Tripsin aktivitesi (U/mg protein) = (absorbans sonucu X 113.6363) / (2 X mg protein)

3.5.3. Bağırsak Amilaz Aktivitesi

Amilaz aktivitesi, substrat olarak % 2 nişasta (Sigma Aldrich) kullanılarak Worthington (1991) ve Wang, Guo, Bureau ve Cui (2006)'ya göre değerlendirilmiştir. Nişasta substratı pH 6,9, 0,02 M sodyum dihidrojen fosfat, NaH₂PO₄, 0,006 M sodyum klorür ve NaCl içeren bir tamponda seyreltilmiştir. Substrat (250 ul), 25 °C'de 3-4 dakika süreyle bağırsak homojenatı (50 ul) ve tampon çözeltisi (250 ul) ile inkübe edilmiştir. Daha sonra 0,5 ml %1 dinitrosalisilik asit (DNS) çözeltisi ilave edilmiş ve 5 dakika kaynatılmıştır. Kaynama işleminden sonra, karışıma 5 ml damıtılmış su eklenmiş ve soğutulmuş çözeltinin absorbansı 540 nm'de kaydedilmiştir. Referanslar aynı şekilde hazırlanmış ancak ham enzim özleri ilave edilmemiştir.

Amilaz aktivitesi (U/mg protein) = {[(A numune – A blank)² X 7.712] – [1.082 X (A numune – A blank)] + 0.082} / mg protein

3.5.4. Bağırsak Lipaz Aktivitesi

Lipaz seviyesi, n-nitrofenil miristatın hidrolizi ile bağırsak homojenatında muameleye tabi tutulmuştur. Her bir numune (0,5 ml), 0,53 mM n-nitrofenil miristat, 0,25 mM 2-metoksietanol, 5 mM sodyum cholat ve 0,25 M Tris-HCl (pH 9,0) içermiştir. İnkübasyon, 15 dakika boyunca 30 °C'de gerçekleştirilmiş ve reaksiyon, 0.7 ml aseton / n-heptan (5: 2, v / v) ilave edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı kuvvetlice karıştırılmış ve 2 dakika boyunca 6100 rpm'de santrifüj edilmiştir. Absorbans, sonuçtaki alt sulu tabakada 405 nm'de ölçülmüştür (Higgs vd., 1979).

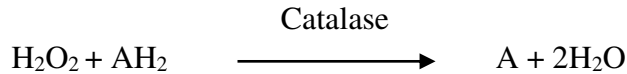
Lipaz aktivitesi (U/mg protein) = [(A numune – A blank) X 0,0487 / mg protein]

3.6. Antioksidan Analizi

Karaciğer ve kas örnekleri beslemenin 30, 60 ve 90. günlerinde toplanmıştır. Karaciğer ve kas dokuları tartılarak (0.1 g) ve bir Potter Elvehjem tipi homojenizatörde (1 ml) buz soğukluğunda 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) içinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar, 20 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edilmiştir ve ortaya çıkan süpernatantlar, karaciğer ve kas parametrelerinin hesaplanması için kullanılmıştır.

3.6.1. Karaciğer Katalaz Aktivitesi (CAT)

Karaciğer katalazı Cayman Kimyasal Kiti (Ürün No. 707002) kullanılarak belirlenmiştir. Bu kit, düşük molekül ağırlıklı alkollerin elektron donörü olarak işlev görebileceği enzim aktivitesinin belirlenmesi için CAT'nin peroksidaz fonksiyonunu kullanır. Alifatik alkoller CAT için spesifik substratlar olarak görev yaparken, peroksidaz aktiviteye sahip diğer enzimler bu substratları kullanmazlar.



Bu Kitte bulunan reaktifler; katalaz formaldehit standardı, katalaz potasyum hidroksit, katalaz purpald (kromojen), (0,5 M hidroklorik asit içinde 4-amino-3-hidrazino-5-merkapt-1,2,4-triazol) ve katalaz potasyum periodat. Bu reaktiflerin hepsi kullanıma hazırdır. Ancak diğer reaktifler aşağıda belirtildiği gibi kullanılmadan önce

seyreltilmiştir; Katalaz tayini tamponu, bu reaktifin 2 ml'sine 18 ml HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) düzeyinde su ilave edilmiştir; Son tahlil tamponu, 100 mM potasyum fosfat (pH 7); Katalaz örnek tamponu, bu reaktifin 5 ml'sine 45 ml HPLC düzeyinde su eklenmiştir; Örnek tamponu, pH 7,5, 1 mM EDTA (Etilendiamintetraasetik asit) ve 0,1% BSA (sığır serum albumini) içeren 25 mM potasyum fosfat. Katalaz (kontrol), şişeye 2 ml seyreltilmiş numune tamponu (toz halinde liyofilize sığır karaciğer CAT içeren) eklenerek vortekslenmiş daha sonra 100 µl'sine 1,9 ml seyreltilmiş örnek tamponu eklenmiştir; Son olarak, katalaz hidrojen peroksit, reaktifin 40 µl'si 9,96 ml of HPLC-düzeyinde su ile seyreltilmiştir.

Tahlil referansa, numuneye ve pozitif kontrole 100 µl seyreltilmiş örnek tamponu ve metanol ekleyerek gerçekleştirilmiştir. Yalnızca referansa 20 µl formaldehit, yalnızca pozitif kontrole 20 µl seyreltilmiş katalaz kontrol ve yalnızca numuneye 20 µl numune (karaciğer homojenatı) eklenmiştir. Bütün küvetlere 20 µl seyreltilmiş hidrojen peroksit eklenerek tepkime başlatılmıştır. Üstleri kapatılmış ve oda sıcaklığında karıştırıcıda 20 dk inkübe edilmiştir. Tepkimeyi sonlandırmak için her küvete önce 30 µl potasyum hidrooksit sonra 30 µl katalaz purpald (kromojen) eklenmiş ve karıştırıcıda oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra her küvete 10 µl katalaz potasyum periodat eklenerek oda sıcaklığında karıştırıcıda 5 dk inkübe edilmiş ve 540 nm'de absorbans değerleri okunmuştur.

$$\text{Formaldehit } (\mu\text{M}) = [(\text{numune absorbansı}) - (\text{y-değeri}) / \text{eğim}] \times 8.5 \text{ ml}$$

$$\text{y-değeri} = 0,1256 \text{ ve eğim} = 0,1167$$

Bir birim, dakikada 1.0 nmol formaldehit oluşumuna neden olacak enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. 25°C.

$$\text{Katalaz aktivitesi (U/mg protein)} = [(\mu\text{M of numune} / 20 \text{ dk}) \times \text{numune dilüasyonu}] / \text{mg protein}$$

3.6.2. Karaciğer Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

Karaciğerde süperoksit dismutaz, Sigma-Aldrich Kit (No. 19160) kullanılarak kolorimetrik olarak belirlenmiştir. SOD test kiti, süperoksit anyonu ile indirgendikten sonra, suda çözünebilen bir formazan boyası üreten Dojindo'nun suda çözünür tetrazolyum tuzunu, WST-1 (2- (4-İyodofenil) -3- (4-nitrofenil) -5- (2,4-disulfophenyl) -2-hatetrazolyum, monosodyum tuzu), kullanarak SOD analizine olanak verir. Çalışma solüsyonlarının hazırlanması: 19 ml tampon çözeltisi ve enzim çalışma çözeltisi ile 1 ml WST çözeltisi seyreltilmiş, 5 saniye boyunca enzim çözeltisi tüpü santrifüj edilip, pipetle karıştırılmış ve 2,5 ml seyreltme tamponuyla 15 ul enzim çözeltisi seyreltilmiştir. Her bir numuneye ve referansa 20 µl numune çözeltisi (karaciğer homojenatı) ilave edilerek ve 2. referans boşaltılmış, 1 ve 3. referanslara 20 µl iki kez distile edilmiş su eklenmiştir.

Daha sonra her tüpe 200 µl WST çalışma solüsyonu eklenip karıştırılmış ve referans 2 ve 3'e 20 µl dilüasyon tamponu eklenmiştir. Son olarak her numuneye ve 1. referansa 20 µl enzim çalışma solüsyonu ilave edilerek karıştırılmıştır. 37 °C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra absorbans (A) değerleri 450 nm'de okunmuştur.

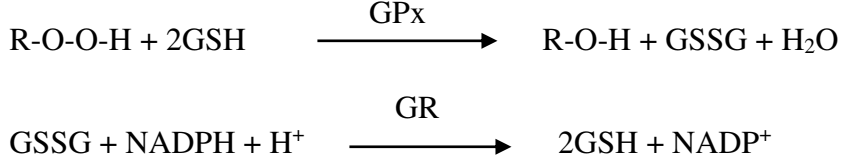
SOD aktivitesini hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{İnhibisyon oranı \%} = \{[(A \text{ referans 1} - A \text{ referans 3}) - (A \text{ numune} - A \text{ referans 2})] / (A \text{ referans 1} - A \text{ referans 3})\} \times 100$$

$$\text{SOD aktivitesi (U/mg protein)} = [(\text{inhibisyon oranı \%}) \times (1/0,1)] / \text{mg protein}$$

3.6.3. Karaciğer Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (GPx)

GPx, Cayman Kimyasal Kiti (Ürün No. 703102) kullanılarak belirlenmiştir. Yöntem, GPx aktivitesini, glutasyon redüktaz (GR) ile birleştirilmiş reaksiyon ile dolaylı olarak ölçer. GPx ile hidroperoksidin indirgenmesi üzerine üretilen oksidize glutasyon (GSSG), GR ve NADPH ile indirgenmiş durumuna geri dönüştürülür:



GPx kümen hidroperoksit hariç kitin diğer tüm reaktifleri kullanımdan önce aşağıda verildiği hazırlanmıştır; GPx tahlil tamponu, şişedeki solüsyon (5 mM EDTA içeren 50 mM Tris-HCl, pH 7,6) (3 ml) 27 ml HPLC-düzeyinde su ile seyreltilmiştir; GPx örnek tamponu, bu solüsyonun 2 ml'sine 18 ml HPLC-düzeyinde su eklenmiştir (tamponun son hali: 5 mM EDTA ve 1 mg/ml BSA içeren 50 mM Tris-HCl, pH 7,6); Ayrıca 10 µl glutatyon peroksidaz (kontrol için 50 µl sığır eritrosit GPx) başka bir şişeye alınmış ve 490 µl seyreltilmiş örnek tamponu eklenerek buzda tutulmuştur; Son olarak, GPx ko-substrat karışımı, NADPH, glutatyon ve liyofilize edilmiş toz halinde glutatyon redüktaz içeren şişelere 6 ml HPLC-düzeyinde su eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.

120 µl tahlil tamponu ve 50 µl ko-substrat karışımı kuyulara aktarılmıştır. Pozitif kontrol için 100 µl tahlil tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı ve 20 µl seyreltilmiş GPx kontrol, numune kuyularına ise 100 µl tahlil tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı ve 20 µl numune eklenmiştir. Bütün kuyulara 20 µl sümen hidroperoksit eklenerek plak birkaç saniye hafifçe çalkalanmış ve böylece tepkime başlatılmıştır. Son olarak absorbans değerleri 340 nm'de okunmuştur.

$$\Delta A_{340}/\text{dk.} = A_{340}(\text{zaman 2}) - A_{340}(\text{zaman 1}) / \text{zaman 2 (dk.)} - \text{zaman 1 (dk.)}$$

Bir birim, NADPH'nin 1 nmol'ünün 25 °C sıcaklıkta dakikada NADP⁺'ye okside edecek enzim miktarı olarak tanımlanır.

$$\text{GPx aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta A_{340}/\text{dk.} / 0,00373 \mu\text{M}^{-1}) \times 9,5 \text{ ml} \times \text{numune dilüasyonu}] / \text{mg protein}$$

3.6.4. Karaciğer Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Aktivitesi (G6PDH)

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, Cayman Kimyasal Kiti (Ürün No. 700300) kullanılarak belirlenmiştir. Tahlilde, G6PDH, NADP⁺'nin NADPH'ye eşzamanlı indirgenmesi ile

birlikte glikoz-6-fosfatın 6-fosfo-D-glukonat'a oksidasyonunu katalize eder. NADPH, 530-540 nm'lik bir eksitasyon dalga boyuyla analiz edilebilen, yüksek bir flüoresan ürün elde etmek için fluorometrik detektör ile reaksiyona girer. Kitteki reaktifler aşağıda verildiği gibi hazırlanmıştır: R1; G6PDH tahlil tamponu, 5 ml R1 solüsyonu 45 ml HPLC-düzeyinde su ile seyreltilmiştir (tamponun son hali: 10 mM magnezyum klorür (MgCl₂) içeren 50 mM Tris-HCl, pH 7,4); R2, G6PDH substratı, liyofilize edilmiş toz halinde glükoz-6-fosfat ihtiva eden şişe içeriği 600 µl seyreltilmiş tahlil tamponu ile sulandırılmıştır; R3, G6PDH kofaktör, liyofilize edilmiş toz halinde NADP⁺ ihtiva eden şişe içeriği 600 µl R1 ile sulandırılmıştır; R4, G6PDH enzim karışımı, liyofilize edilmiş toz halinde enzim içeren şişelere 600 µl seyreltilmiş R1 eklenmiş ve buzda bekletilmiştir; R5, G6PDH fluorometrik detektör, liyofilize edilmiş toz halinde fluorometrik detektör ihtiva eden her şişeye 600 µl seyreltilmiş R1 eklenmiştir; R6, G6PDH pozitif kontrol, 50 µl glikoz-6-fosfat içeren şişeye 450 µl seyreltilmiş tahlil tamponu eklenmiş ve buz üzerinde tutulmuştur; Son olarak R7, NADPH standart, liyofilize edilmiş toz halinde NADPH ihtiva eden şişe içeriğine 2 ml seyreltilmiş R1 eklenmiştir.

Analizin gerçekleştirilmesi: 150 µl R1, 10 µl R3 ve 10 µl R4 referans kuyularına, pozitif kontrole ve numune kuyularına aktarılmıştır. Referans kuyularına 10 µl R7, pozitif kontrol kuyularına 10 µl seyreltilmiş R6 ve numune kuyularına 10 µl numune (karaciğer homojenatı) eklenmiştir. Daha sonra her kuyuya 10 µl R5 ilave edilmiştir. Tekrar hepsine 10 µl R2 eklenerek tepkime başlatılmıştır. Son olarak plak kapağı ile kapatılmış ve 37 °C'de 20 dk inkübe edilmiş ve 530-540 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

$$\text{NADPH } (\mu\text{M}) = [(\text{düzeltilmiş absorbans}) - (\text{y-değeri})] / \text{eğim}$$

$$\text{y-değeri} = 0,0721 \text{ ve } \text{eğim} = 0,0005$$

Bir birim, 1 nmol glikoz-6-fosfatın 6-fosfo-D-glukonat haline dönüştürülmesini katalize edecek ve 37 °C'de dakikada 1 nmol NADPH üretecek olan enzim miktarı olarak tanımlanır.

G6PDH (U/mg protein) = [(NADPH (μM) / 20 dk) X 2 X numune dilüasyonu] / mg protein

3.6.5. Kas Lipid Peroksidaz Aktivitesi (Malondialdehyde, MDA)

Bu analizde Cayman tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) test kiti (Ürün No. 10009055) kullanılmıştır. Bu kitteki reaktifler aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır: Renk reaktifi, 530 mg TBA tartılmış ve 50 ml seyreltilmiş TBA asetik asit solüsyonu (40 ml TBA asetik asit ve 160 ml HPLC-düzeyinde su) içeren behere aktarılmıştır. Hazırlanan karışım 50 ml seyreltilmiş TBA sodyum hidroksit (20 ml TBA NaOH ve 180 ml HPLC-düzeyinde su) solüsyonuna eklenmiş ve çözünene kadar karıştırılmıştır. Referans tüplerine 100 μl malondialdehid standart, numune tüplerine 100 μl numune (kas homojenatı) eklenmiştir. Her tüpe 100 μl SDS solüsyonu ve 4 ml renk reaktifi ilave edilmiştir. Daha sonra tüplerin ağızları kapatılmış ve su banyosuna tabi tutulmuştur. Tepkimeyi sonlandırmak için bir saat sonra tüpler alınarak buz üzerinde 10 dk bekletilmiştir. 1600 rpm, 4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Her tüpten 150 μl alınarak plak kuyularına yerleştirilmiş ve 530-540 nm'de absorbens değerleri ölçülmüştür.

MDA konsantrasyonu (μM/g doku) = [(düzeltilmiş absorbens) – (y-değeri)] / (eğim X g kullanılan doku)

y-değeri = 0,0261 ve eğim = 0,0096

3.7. İmmünolojik Tahliller

İmmünolojik parametrelerin belirlenmesi için, 30, 60 ve 90. günlerde balıkların kaudal damarlarından kan alınmış ve EDTA ile muamele edilmiş tüplere toplanmış ve doğrudan solunum patlaması (NBT) aktivitesinin belirlenmesi için kullanılmıştır, kanın geri kalanı, 4 °C'de 20 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüjden sonra serum elde etmek için kullanılmış ve miyeloperoksidaz içeriği ve lizozim aktivitesinin tahlili için -80 °C'de saklanmıştır.

3.7.1. Kan Solunum Patlama (NBT) Seviyesinin Tahlili

Fagositik hücreler tarafından üretilen nitro mavi tetrazolyumun (NBT) indirgenmesi, tarif edilen yöntemlere göre ölçülmüştür (Anderson ve Siwicki, 1994). NBT stok çözeltisi, 10 ml deiyonize su içinde bir NBT tabletinin çözülmesi, daha sonra mikrofiltre ile filtrasyonun yapılmasıyla hazırlanmıştır.

Heparinize edilmiş kandan 0,1 ml alınarak 0,1 ml %2'lik NBT solüsyonu ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 25 °C'de 30 dk inkübe edildikten sonra ayrı bir tüpe 50 µl alınmış ve 1 ml N,N-dimetilformamid eklenerek 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant yavaşça alınmış ve 540 nm'de N,N-dimetilformamid referans alınarak absorbans değerleri okunmuştur.

Solunum patlama aktivitesi = sonuç X 4

3.7.2. Serum Myeloperoksidaz (MPO) İçeriği

Serumdaki toplam myeloperoksidaz (MPO) içeriği Quade ve Roth (1997) ve Sahoo, Kumari ve Mishra (2005) yöntemi modifiye edilerek ölçülmüştür. İlk olarak bir tablet fosfat sitrat 100 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür. TMB solüsyonu hazırlamak için 10 ml 0,05 M fosfat-sitrat tamponu (pH 5) içine bir tablet 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin dihidroklorür eklenmiştir. 370 ml Ca^{+2} veya Mg^{+2} ihtiva etmeyen Hank'in dengeli tuz çözeltisi (HBSS) ile 30 µl serum karıştırılarak 100 µl TMB solüsyonu ve %0,006'lık taze hidrojen peroksit eklenmiştir. Tepkime 450 nm'de 0,5 ve 4.5 dakikalarda absorbans artışının ölçülmesiyle kinetik olarak devam etmiştir. Tepkime hızı IU olarak belirlenmiş ve dakikada 0.5 ml reaksiyon karışımında absorbansta 0.001 artış elde etmek için gerekli olan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır ($\Delta A_{450}/dk/ml$).

Myeloperoksidaz konsantrasyonu = (ikinci okuma – ilk okuma) X 1906,54

3.7.3. Serum Lizozim Aktivitesi

Serum lizozim aktivitesi turbidimetrik bir analizle tayin edilmiştir (Anderson ve Siwicki, 1994). Lizozim çözeltisi, bir miktar (0,02 g) bakteri (*Micrococcus lysodeikticus*) hücresi tozunun 1 ml PBS (fosfat tamponlu salin) ile 100 ml distile su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlandıktan sonra 4°C’de muhafaza edilmiştir. Test serumu (10 µl), 100 µl bakteriyel süspansiyona eklenmiş ve 530 nm’de absorbanstaki azalma, 0,5 ve 4,5 dakika sonra ölçülmüştür. Bir lizozim aktivitesi birimi, absorbansta dakikada 0,001’lik bir düşüşe neden olan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Lizozim aktivitesi = [ilk okuma – ikinci okuma / serum miktarı] X 100

3.8. Hematolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Deneme periyodunun sonunda (90 gün), her bir grupta toplam dokuz gökkuşağı alabalığı olan tanklardan üçer balık rastgele seçilmiş, EDTA-tüplerindeki heparinize şırıngalarla kaudal damarlarından kan alınmış ve kırmızı kan hücreleri (RBC) sayısı, hemoglobin (Hb) içeriği ve hematokrit seviyeleri gibi hematolojik parametreleri tespit etmek için hemen kullanılmıştır.

3.8.1. Kırmızı Kan Hücreleri (RBC) Sayımı

Kan, görsel yöntemle kırmızı kan hücrelerinin (RBC) sayısını belirlemek için alındıktan hemen sonra hemositometre ve uygun seyreltme sıvısı kullanılarak analiz edilmiştir (Blaxhall ve Daisley, 1973). Kan, kırmızı kan hücresi seyreltme pipeti vasıtasıyla tam olarak 0,5 işaretine kadar çekilmiştir. Daha sonra seyreltme sıvısı 101 işaretine kadar çekilerek 1:200 oranında bir seyreltme gerçekleştirilmiş ve hemositometre yardımıyla sayılmıştır.

Milimetreküp başına düşen kırmızı kan hücrelerinin hesaplanması için sayılan toplam hücre sayısı 10000 ile çarpılmıştır (seyreltme faktörü 200, hacim korelasyonu 50).

3.8.2. Hemoglobin (Hb) İçeriğinin Belirlenmesi

Hemoglobin konsantrasyonu siyametemoglobin şeklinde kolorimetrik olarak, Biodiagnostic Company kiti vasıtasıyla, Drabkin ve Austin (1932) yöntemine göre belirlenmiştir. Hemoglobin, potasyum ferrisiyanit ve potasyum siyanür ile reaksiyona girer ve renk yoğunluğunun hemoglobin konsantrasyonu ile orantılı olduğu siyanmethemoglobine dönüştürölür. Drabkin reaktifi potasyum ferrisiyanit, potasyum siyanür ve potasyum dihidrojen fosfattan oluşur.

Analiz için 2.5 ml distile su, 0,05 ml Drabkin reaktifi ve 0,01 ml taze kan karıştırılmış ve 5 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra numunelerin absorbans değeri distile su referans alınarak 540 nm’de ölçölmüştür.

Hemoglobin konsantrasyonu (g/dl) = A numune X 36,77 (standart yoğunluk)

3.8.3. Hematokrit Tayini (Hct)

Hematokrit, özel bir tipteki kılcal tüplerde (hematokrit tüpü) kan örneğinin santrifüj edilmesiyle belirlenmiştir (Britton, 1963). Kılcal tüpün işaretli ucu (kırmızı), kan damlasına yerleştirilmiş ve kanın, tüpün yaklaşık üçte ikisi tarafından alınmasına izin verilmiştir. Tüpler 5 dakika yüksek hızda mikrohematokrit santrifüjü kullanılarak santrifüj edilmiştir. Daha sonra, kan hücreleri tarafından işgal edilen toplam hacim yüzdesi, özel bir tüp okuyucuda okunmuştur.

3.8.4. Kırmızı Kan Hücresi Endekslerinin Belirlenmesi

RBC sayımının, hemoglobin içeriğinin ve balıkların hematokritinin belirlenmesinden sonra kırmızı kan hücreleri endeksleri; ortalama hücre hacmi (MCV), ortalama hücre hemoglobin (MCH) ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), Lewis, Bain ve Bates (2006) standart formülleri kullanılarak hesaplanmıştır:

$$MCV (fl) = [Hct / RBC (\times 10^6/mm^3)] \times 10$$

$$MCH (pg) = [Hb (g/dl) / RBC (\times 10^6/mm^3)] \times 10$$

$$\text{MCHC (\%)} = [\text{Hb} / \text{Hct}] \times 100$$

3.9. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur. Çeşitli parametreler için gruplar arasında karşılaştırma Duncan'ın çoklu menzil testini ($P < 0,05$) takip eden tek yönlü ANOVA ile yapılmıştır. Tüm hesaplamalar SPSS istatistik yazılımı sürüm 23 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

Bu çalışmada *C. album* bitkisi ununun yemlere ilavesinin alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, vücut kompozisyonu sindirim enzimleri, antioksidan bağışıklık yanıt ve kan parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir.

4.1. Büyüme

Çalışma sonunda elde edilen verilere göre % 2,5 oranında *C. album* ile beslenen alabalıkların büyüme performanslarında özellikle final ağırlığı ve ağırlık kazanımlarında düşüş gözlenmiştir. Bununla birlikte bu düşüş kontrol grubu ile kıyaslandığında kayda değer oranda değildir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. 90 gün boyunca farklı oranlarda *C. album* içeren yemlerle beslenen alabalıkların büyüme performanslarında meydana gelen değişimler.

	Kontrol	% 2,5	% 5
Başlangıç Ağırlığı (g)	24,48 ± 0,03 ^a	24,49 ± 0,03 ^a	24,51 ± 0,01 ^a
Bitiş Ağırlığı (g)	81,15 ± 0,57 ^a	79,21 ± 0,22 ^a	76,89 ± 1,15 ^b
Ağırlık Kazanımı (WG%)	231,49 ± 1,95 ^a	223,49 ± 0,49 ^a	213,76 ± 4,86 ^b
Yem Değerlendirme Oranı (FCR)	0,84 ± 0,003 ^a	0,90 ± 0,009 ^b	0,92 ± 0,026 ^b
Specifik Büyüme Oranı	1,33 ± 0,009 ^a	1,31 ± 0,003 ^a	1,28 ± 0,017 ^b
Yaşama Oranı (%)	93,75 ± 0,72 ^a	91,25 ± 0,72 ^b	90 ± 0,00 ^b

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

% 5 *C. album* ile belenen gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla final ağırlığı ve ağırlık kazanımında kayda değer oranda bir düşüş gözlenmiştir ($P>0,05$). Aynı zamanda, tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek büyüme oranı kontrol grubunda elde edilmiştir. Başka bir açıdan büyüme performansı verileri ele alındığında, yem değerlendirme oranı (FCR) %2,5 ve 5 gruplarında kontrol grubuna göre kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir. Bundan farklı olarak spesifik büyüme oranı kontrol grubu ile % 2,5 grubu arasında farklılık göstermezken % 5 grubunda bunlardan farklı olarak kayda değer oranda düşük tespit edilmiştir. Yaşama oranları da buna benzer olarak kontrol grubuna kıyasla önemli derece azalmıştır.

4.2. Vücut Kompozisyonu

Çalışma sonucunda elde edilen proksimet analiz sonuçları Tablo 4.2’de ifade edilmiştir. Bu sonuçlara göre gruplar kendi aralarında incelenmediklerinde vücut proteini, nem ve kül açısından gruplar arasında kayda değer bir değişikliğin olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Bununla birlikte yağ oranı %2,5 gruplarında önemli derece artış göstermiştir ($P<0,05$).

Tablo 4.2. 90 gün boyunca iki farklı *C. album* dozu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında vücut kompozisyonu.

	Gruplar		
	Kontrol	% 2,5	% 5
Nem (%)	71,3±0,38	70,8±0,81	71,5±0,74
Ham Protein (%)	15,7±0,24	16,1±0,45	16,0±0,63
Ham Yağ (%DM)	11,7±0,75	12,0±0,84 ^a	11,9±0,71
Kül (%DM)	4,1±0,21	4,0±0,27	3,8±0,15

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

4.3. Sindirim Enzim Aktiviteleri

Çalışmada pepsin, tripsin, amilaz ve lipaz enzimlerinde meydana gelen değişimler kontrol edilmiş ve bu değerler Tablo 4.3'te ifade edilmiştir.

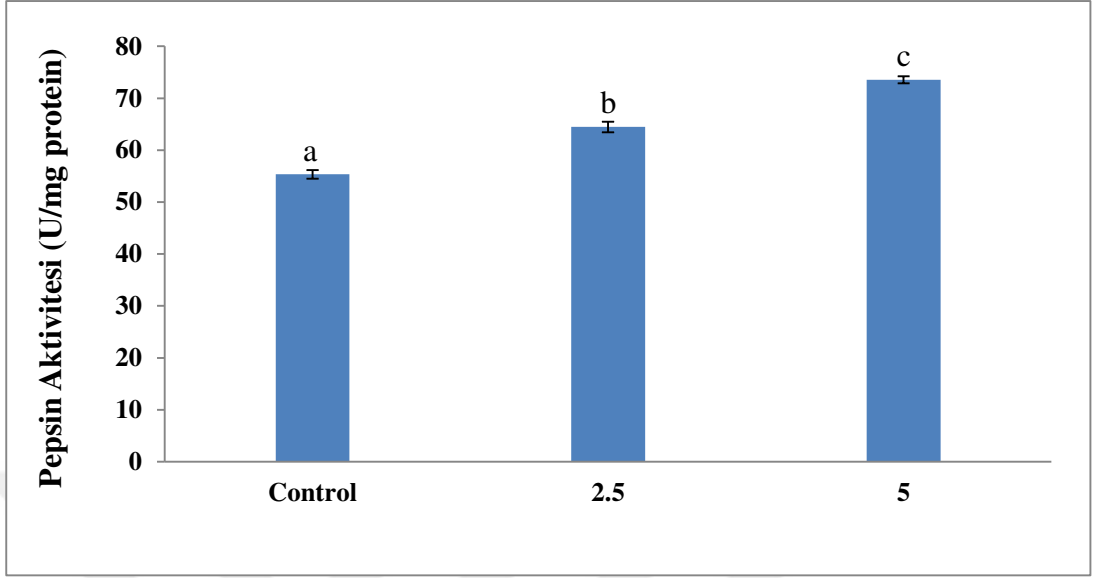
Tablo 4.3. 90 gün boyunca farklı oranlarda *C. album* içeren yemlerle beslenen alabalıkların sindirim enzimlerinde meydana gelen değişimler.

	Gruplar		
	Kontrol	% 2,5	% 5
Pepsin (U/mg protein)	55,36 ± 0,83 ^a	64,46 ± 1,04 ^b	73,54 ± 0,67 ^c
Tripsin (U/mg protein)	1,32 ± 0,12 ^a	2,33 ± 0,13 ^b	2,22 ± 0,15 ^b
Amilaz (U/mg protein)	0,70 ± 0,02 ^a	2,34 ± 0,22 ^b	2,04 ± 0,19 ^b
Lipaz (U/mg protein)	0,020 ± 0,002 ^a	0,015 ± 0,001 ^a	0,016 ± 0,002 ^a

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

4.3.1. Mide Pepsin Aktivitesi

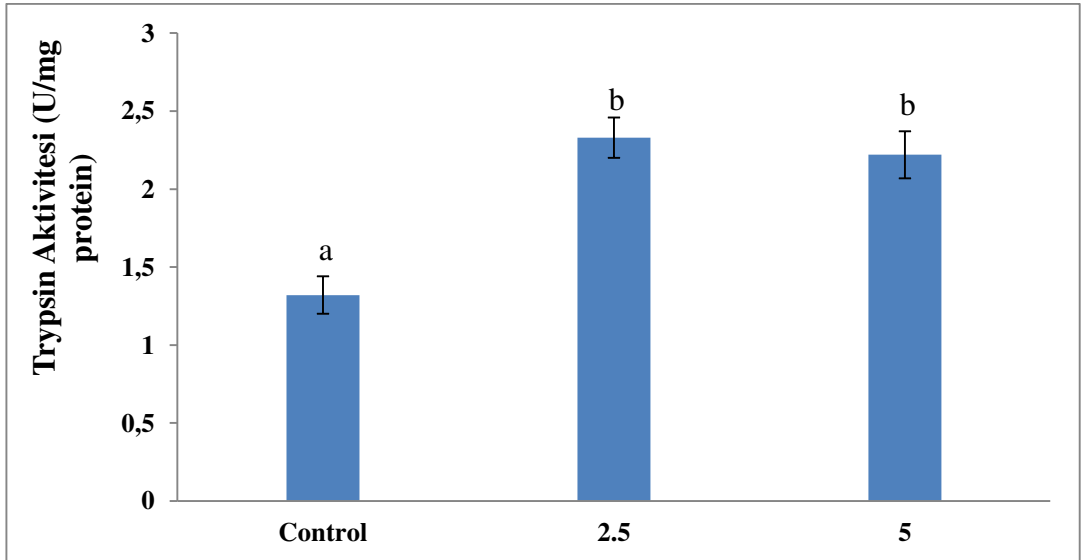
Çalışma sonuçlarına göre % 2,5 *C. album* unu ile beslenen gruplarda pepsin aktivitesinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). % 5 *C. album* ile beslenen grupta da pepsin aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlenmiştir ve pepsin aktivitesinin en yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$) (Grafik 4.1).



Grafik 4.1. *C. album* ile beslenen alabalıklarda mide pepsin aktivitesi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($P<0,05$).

4.3.2. Bağırsak Tripsin Aktivitesi

Doksan günlük çalışma sonucunda elde edilen tripsin aktivitesi Grafik 4.2’de verilmiştir.

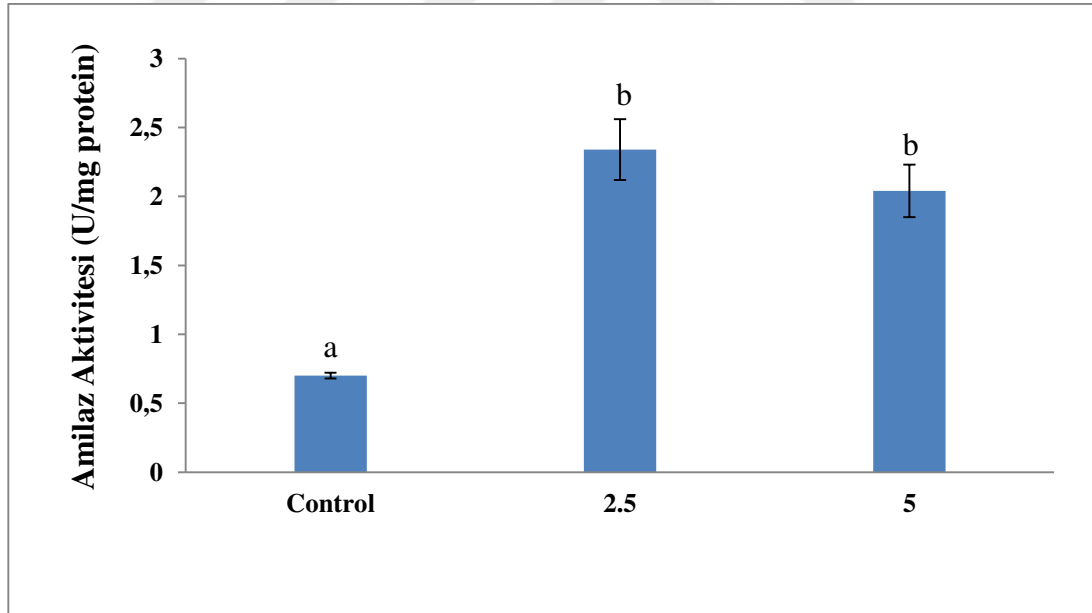


Grafik 4.2. *C. album* ile beslenen alabalıklarda bağırsak Tripsin aktivitesi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($P<0,05$).

Doksan günlük çalışma sonucunda elde edilen tripsin aktivitesi, % 2,5 *C. album* ile beslenen gruplarda kontrol grubuna göre kayda değer oranda yüksek çıkmıştır ($P<0,05$). Benzer olarak % 5 *C. album* ile beslenen grupta da tripsin aktivitesi yüksek tespit edilmiştir. Bununla birlikte % 2,5 *C. album* ve % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$) (Grafik 4.2). Çalışma sonucu elde edilen veriler Grafik 4.2’de verilmiştir.

4.3.3. . Bağırsak Amilaz Aktivitesi

Grafik 4.3’te bağırsaklardan elde edilen amilaz aktivitesinde meydana gelen değişimler ifade edilmiştir. Bu sonuçlara göre % 2,5 ve % 5 *C. album* ile beslenen gruplarda amilaz aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). En yüksek amilaz aktivitesi % 2,5 *C. album* ile beslenen grupta gözlenirken % 2,5 ve % 5 *C. album* grupları arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir.

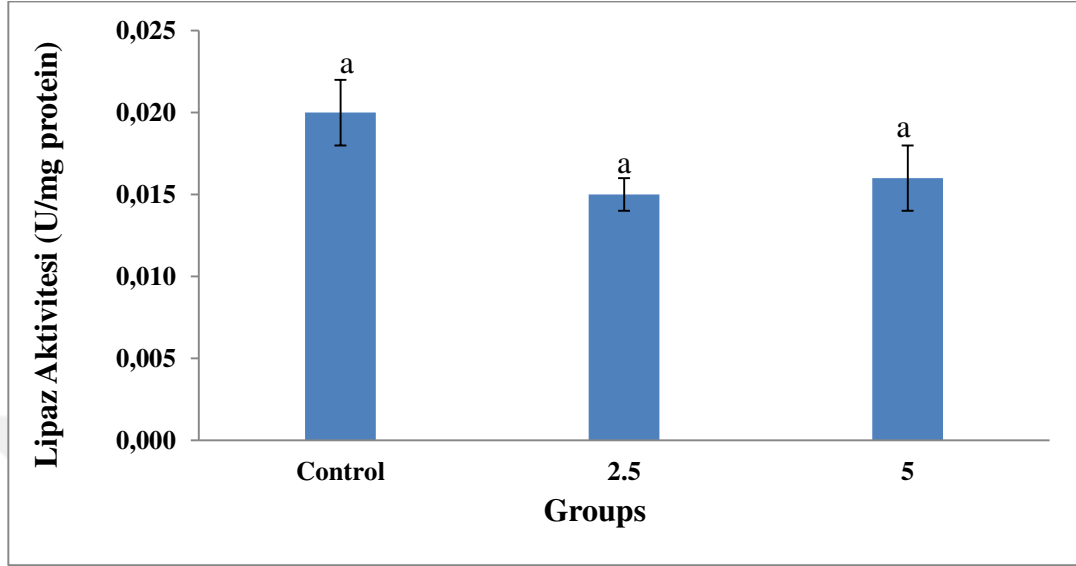


Grafik 4.3. *C. album* ile beslenen alabalıklarda bağırsak amilaz aktivitesi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($P<0,05$).

4.3.4. Bağırsak Lipaz Aktivitesi

% 2,5 ve % 5 *C. album* içeren diyetlerle beslenen alabalıkların bağırsaklarındaki lipaz aktivitesi genel olarak düşü göstermiştir. Bununla birlikte bu azalma kontrol grubu ile

kıyaslandığında istatistiksel olarak öneme haiz değildir ($P>0,05$). En yüksek lipaz aktivitesi kontrol grubunda gözlenmiştir (Grafik 4.4)



Grafik 4.4. *C. album* ile beslenen alabalıklarda bağırsak lipaz aktivitesi. Farklı harfler gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade eder ($P<0,05$).

4.4. Antioksidan Aktivite

4.4.1. Katalaz (CAT) Aktivitesi

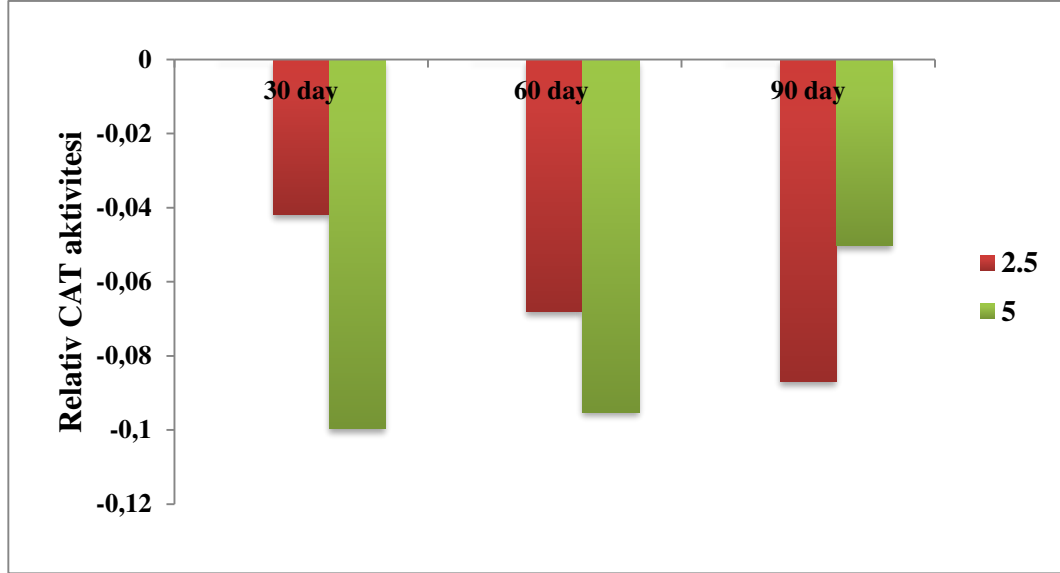
Çalışma sonunda elde edilen veriler Tablo 4.4'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre tüm örnekleme dönemlerinde (30, 60, 90. günler) % 2,5 *C. album* ile beslenen alabalıklarda katalaz (CAT) aktivitesi kontrol grubuna kıyasla düşüş göstermiş olmakla birlikte bu azalma kayda değer olmamıştır ($P<0,05$). % 5 *C. album* ile beslenen alabalıklarda 30 ve 60. günlerde katalaz aktivitesinde önemli derecede bir azalma gözlenmiştir ($P<0,05$). 90. gün verileri kontrol edildiğinde % 5 *C. album* ile beslenen gruplarda kontrol grubun kıyasla CAT aktivitesi düşük olmakla birlikte bu azalma kayda değer olmamıştır ($P<0,05$). Genel bir bakış açısıyla değerlendirildiğinde tüm grupların CAT aktivitesinde kontrol gruplarına kıyasla bir azalmadan söz etmek mümkündür.

Tablo 4.4. *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer CAT aktivitelerinde 30, 60 ve 90. günlerde meydana gelene değişimler

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	43,46 ± 0,63 ^{aA}	46,02 ± 1,48 ^{aA}	47,37 ± 1,94 ^{aA}
% 2,5	41,64 ± 1,16 ^{aA}	42,89 ± 1,19 ^{aA}	43,25 ± 1,70 ^{aA}
% 5	39,13 ± 1,22 ^{bA}	41,64 ± 1,01 ^{bA}	44,99 ± 1,28 ^{aB}

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

Çalışma sonunda elde edilen relatif CAT aktivitesi Grafik 4.5'te verilmiştir.



Grafik 4.5. Çalışma süresince elde edilen relatif CAT aktivitesi

4.4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

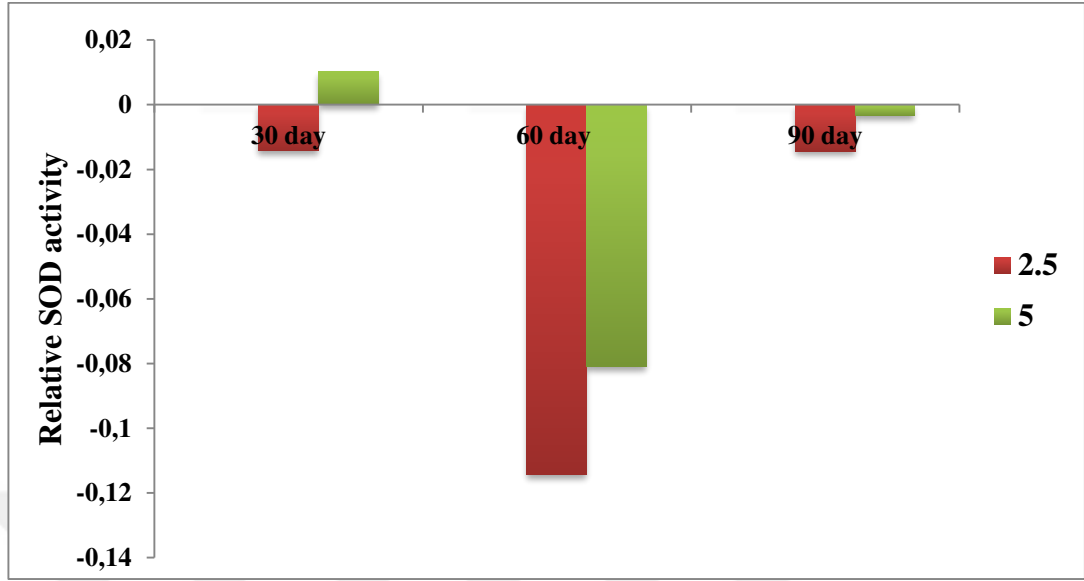
% 2,5 ve % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen deneme gruplarında 30 ve 90. Günlerde elde edilen SOD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla değişkenlik göstermiş olmakla birlikte bu değişim önemli derecede olmamıştır ($P<0,05$) (Tablo 4.5). Bundan farklı olarak her iki deneme grubu içinde çalışmanın 60. günü elde edilen SOD aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir. Gruplar kendi içlerinde SOD aktiviteleri değişimleri incelendiğinde tüm gruplarda 60. günlerde diğer günlere oranla bir artıştan söz etmek mümkündür.

Tablo 4.5. *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer CAT aktivitelerinde 30, 60 ve 90. Günlerde meydana gelen değişimler (U/ml).

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	61,45 ± 1,23 ^{aA}	67,44 ± 1,20 ^{aB}	60,96 ± 1,40 ^{aA}
% 2,5	60,58 ± 1,50 ^{aA}	59,72 ± 1,37 ^{bA}	60,09 ± 1,79 ^{aA}
% 5	62,08 ± 0,70 ^{aA}	61,98 ± 0,64 ^{bA}	60,75 ± 1,45 ^{aA}

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

Grupların relatif SOD değerleri Grafik 4.6'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre SOD aktivitesi 30. gün elde edilen veriler ışığında bir farklılık göstermezken, bundan farklı olarak 60. gün sonuçlarına göre tüm deneme gruplarının SOD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir ($P<0,05$).



Grafik 4.6. Günlere göre relativ SOD aktivitesi

4.4.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

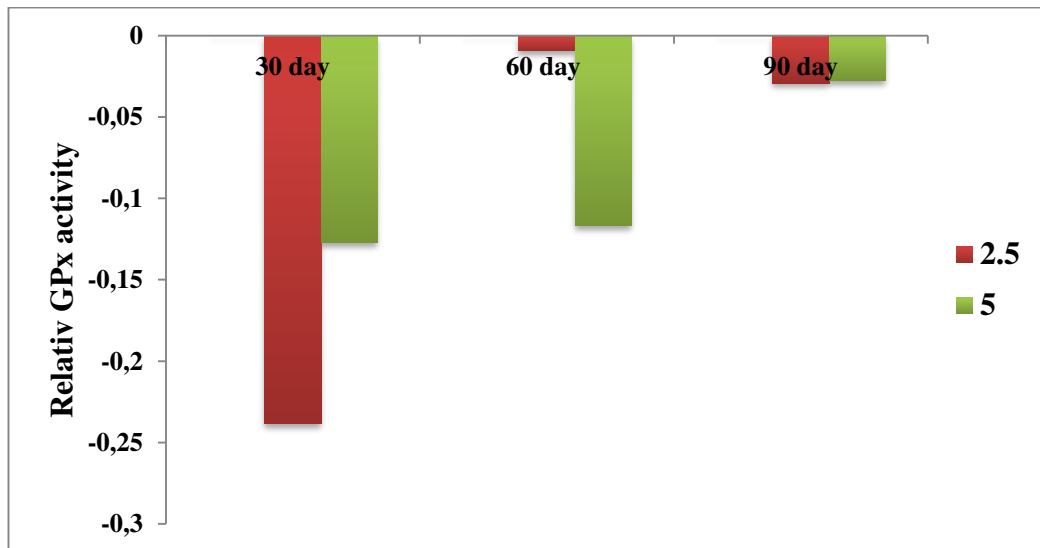
Tablo 4.6’da GPx aktivitelerinde meydana gelen değişimler ifade edilmiş olup, sonuçlar değerlendirildiğinde % 2,5 ve %5 oranında *C. album* içeren yemlerle beslenen alabalıkların GPx aktiviteleri genel olarak azalmıştır. bu sonuçlar değerlendirildiğinde, 30. günde % 2,5 *C. album* ve 60. günde % 5 *C. album* ile beslenen alabalıklardaki GPx düşüşü istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Çalışmanın tüm farklı örnekleme zamanlarında, gruplar kendi içlerinde kontrol edildiğinde kontrol grubunda günlere bağlı bir değişim gözlenmemiştir. % 2,5 *C. album* grubunda 60 ve 90. günler 30. güne kıyasla önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$) ve bu artış en yüksek 90. günde meydana gelmiştir. Diğer yönden, % 5 *C. album* grubunun 30 ve 60 günlerinde bir değişim gözlenmezken bunlardan farklı olarak çalışmanın 90. gün örneklemeğinde GPx aktivitesi artmıştır.

Tablo 4.6. *C. album* iki farklı dozu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer GPx aktivitelerinde 30, 60 ve 90. günde meydana gelen değişimler (nmol/min/ml).

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	404,34 ± 20,46 ^{aA}	384,78 ± 10,09 ^{aA}	426,91 ± 7,44 ^{aA}
% 2,5	308,02 ± 19,56 ^{bA}	381,25 ± 17,17 ^{aB}	423,42 ± 11,04 ^{aC}
% 5	352,96 ± 17,60 ^{aA}	339,78 ± 13,44 ^{bA}	422,91 ± 6,26 ^{aB}

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

Farklı dozlarda *C. album* ile beslenen alabalıkların relatif GPx aktiviteleri grafik 4.7’de verilmiştir. 30 ve 60. günlerin ardından % 5 grubunda kontrol grubuna kıyasla azaldığı gözlenmektedir. En düşük relatif GPx aktivitesi %2,5 *C. album* grubunda 30. günde gözlenmişken, 60 ve 90. günlerde benzerlik göstermiştir.



Grafik 4.7. Çalışma süresince grupların günlere göre relatif GPx aktivitesi

4.4.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)

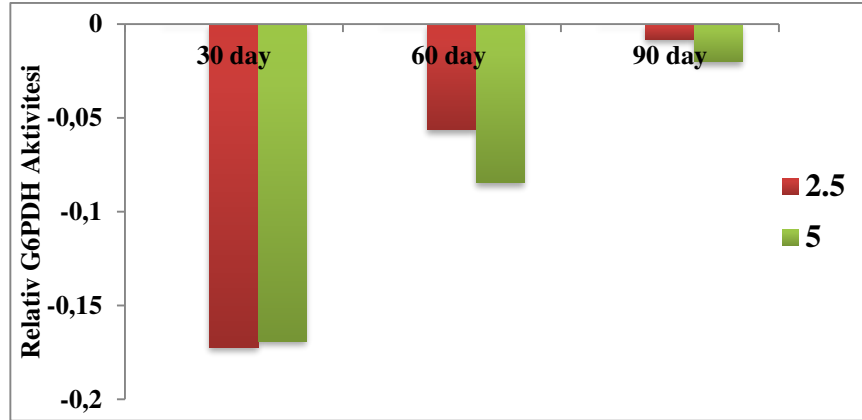
Çalışmada, G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.7’de verilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre % 2,5 ve % 5 oranında *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının G6PDH aktiviteleri 30. günde kontrol grubuna kıyasla kayda değer oranda azalmıştır ($P<0,05$). Diğer örnekleme dönemlerinde gruplar arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

Tablo 4.7. *C. album* iki farklı dozu ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer G6PDH aktivitelerinde 30, 60 ve 90. Günde meydana gelen değişimler (U/ml).

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	$3,08 \pm 0,04^{aA}$	$2,85 \pm 0,16^{aA}$	$2,53 \pm 0,13^{aB}$
% 2,5	$2,55 \pm 0,10^{bA}$	$2,69 \pm 0,15^{aA}$	$2,51 \pm 0,09^{aA}$
% 5	$2,56 \pm 0,08^{bA}$	$2,61 \pm 0,13^{aA}$	$2,48 \pm 0,08^{aA}$

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) ($n=3$).

Grafik 4.8’de, çalışmanın 30 ve 60. günlerinde kontrol grubuna göre relatif G6PDH aktivitesindeki düşüler gösterilmiştir. Çalışmanın 90. gününde değişimler yine azalma yönünde olmakla birlikte bu fark önemsiz tespit edilmiştir.



Grafik 4.8. Çalışma süresince grupların günlere göre relatif G6PDH aktivitesi.

4.4.5. Lipid Peroksidasyonu (MDA)

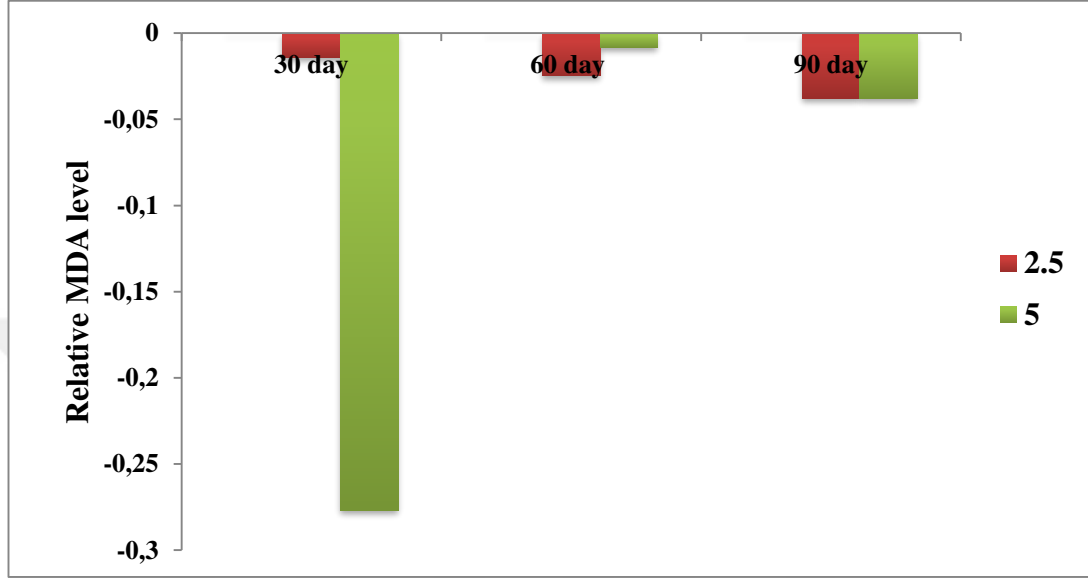
Çalışmanın 30. gününde % 2,5 ve % 5 *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarının lipid peroksidasyonlarında kontrol grubuna kıyasla düşüş gözlenmiş olmakla birlikte bu farklılık 30. nünde sadece % 5 grubunda kayda değer olarak tespit edilmiştir ($P < 0,05$) (Tablo 4.8). Diğer taraftan 60 ve 90. gün MDA değerleri kontrol edildiğinde % 2,5 ve % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalıklarında istatistiksel açıdan bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir ($P > 0,05$).

Tablo 4.8. *C. album* iki farklı dozu ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarında lipid peroksidasyon değişimleri (U/ml).

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	$2,89 \pm 0,29^{aA}$	$2,46 \pm 0,11^{aA}$	$2,12 \pm 0,11^{aB}$
% 2,5	$2,85 \pm 0,28^{aA}$	$2,40 \pm 0,29^{aA}$	$2,02 \pm 0,16^{aB}$
% 5	$2,09 \pm 0,17^{bA}$	$2,44 \pm 0,09^{aA}$	$2,04 \pm 0,13^{aA}$

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha = 0,05$) ($n = 3$).

Relativ MDA oranları dikkate alındığında 30. günde % 5 grubundaki düşüş gözlenmektedir. Bunlara ek olarak diğer tüm örnekleme dönemlerinde de deneme gruplarının relativ MDA değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmektedir.



Grafik 4.9. Çalışma süresince grupların günlere göre relativ LPO değerleri.

4.5. Bağışıklık Parametreleri

4.5.1. Solunum Patlaması (NBT)

Solunum patlaması sonuçları Tablo 4.9’da verilmiştir. Bu sonuçlara göre deneme grupları ve kontrol grubu arasında deneme süresince 30, 60 ve 90. günlerde kayda değer bir değişim gözlenmediği tespit edilmiştir ($P<0,05$). Bu sonuçlara göre besleme süresi ve solunum patlaması arasında bir ilişki söz konusudur. Çalışma sonuçlarına göre gruplar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde günlere göre azalmadan söz etmek mümkündür. Kontrol grubunda solunum patlaması 60. günde düşmüş 90. günde 60. güne artmışken 30. güne göre düşük kalmıştır ($P<0,05$). % 2,5 *C. album* ile beslenen gruplarda ise solunum patlaması 60 ve 90. günlerde azalırken bu iki örnekleme dönemi arasında farklılık gözlenmemiştir. Benze sonuçlar % 5 *C. album* ile beslenen grup için de geçerlidir.

Çalışma verileri günlere göre kıyaslandığında 30 günlerde diğer tüm örnekleme günlerine göre yüksektir. Bununla birlikte tüm grupların kendi içlerinde altmış ve doksanıncı günlerde elde edilen MPO aktiviteleri ile kıyaslandığının otuz ve altmışıncı günlerde tüm gruplarda kayda değer oranda bir azalma söz konusudur.

Tablo 4.9. Farklı dozlarda *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarının 30, 60 ve 90. günlerdeki Solunum patlaması.

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	$3,63 \pm 0,05^{aA}$	$1,60 \pm 0,05^{aB}$	$1,81 \pm 0,07^{aC}$
% 2,5	$3,47 \pm 0,16^{aA}$	$1,76 \pm 0,05^{aB}$	$1,73 \pm 0,05^{aB}$
% 5	$3,43 \pm 0,15^{aA}$	$1,73 \pm 0,08^{aB}$	$1,97 \pm 0,12^{aB}$

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder (n=3).

4.5.2. Myeloperoksidaz Aktivitesi (MPO)

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre *C. album*'un farklı dozları ile beslenen alabalıkların MPO aktiviteleri arasında bir farklılık gözlenmemiştir ($P < 0,05$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Farklı dozlarda *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarının 30, 60 ve 90. günlerdeki myeloperoksidaz aktivitesi (MPO).

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	136,42 ± 2,39 ^{aA}	92,67 ± 2,37 ^{aB}	58,58 ± 3,23 ^{aC}
% 2,5	135,05 ± 2,19 ^{aA}	87,93 ± 2,25 ^{aB}	52,76 ± 1,90 ^{aC}
% 5	135,45 ± 2,55 ^{aA}	82,51 ± 2,66 ^{bB}	49,76 ± 2,97 ^{bC}

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) (n=3).

Genel olarak düşüşler yaşanmış ve bunlar % 2,5 ve % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gruplarda olduğu gibi kontrol grubunda da zamana bağlı düşüşler gözlenmiştir. Bu azalmalar sadece % 5 *C. album* grubunda ve doksanıncı günlerde kontrol grubuna kıyasla yüksek tespit edilmiştir.

4.5.3. Serum Lizozim Aktivitesi

% 2,5 ve % 5 oranlarında *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıkları lizozim aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir ($P<0,05$). Bu artış sadece çalışmanın 60. gününde istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmamıştır (Tablo 4.11). Çalışma süresince gruplar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde kontrol grubunun hiçbir örnekleme döneminde birbirinden farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Diğer yandan % 2,5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalığı uygulama başladıktan sonra 60. günde lizozim aktiviteleri 30. güne göre azalma kaydetmiş, 90. gün verileri değerleri 30. güne göre azalmış olmakla birlikte istatistiksel olarak farklılık oluşmamıştır.

Tablo 4.11. Farklı dozlarda *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarının 30, 60 ve 90. günlerdeki lizozim aktivitesi.

Gruplar	Çalışma Günleri		
	30 Gün	60 Gün	90 Gün
Kontrol	$0,33 \pm 0,03^{aA}$	$0,34 \pm 0,03^{aA}$	$0,27 \pm 0,01^{aA}$
% 2,5	$0,70 \pm 0,04^{bA}$	$0,41 \pm 0,03^{aB}$	$0,63 \pm 0,02^{bA}$
% 5	$1,12 \pm 0,07^{cA}$	$0,58 \pm 0,02^{bB}$	$0,63 \pm 0,05^{bB}$

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder. Farklı büyük harfler grupların kendi içlerindeki zamana bağlı farklılıklarını ifade eder ($\alpha=0,05$) ($n=3$).

4.6. Hematolojik Parametreler

4.6.1. Kırmızı Kan Hücresi Sayısı (RBC)

Bu çalışmada, elde edilen tüm hematolojik veriler Tablo 4.12’de özetlenmiştir. Bu sonuçlara göre *C. album* ile beslenen gökkuşuğu alabalıklarının RBC sayasılarında kontrol grubuna kıyasla hem %2,5 hem de % 5 gruplarında önemli bir azalma göstermiş olmakla birlikte bu farklılık % 2,5 grubunda istatistiki olarak önemli bulunmamışken ($P>0,05$) % 5 grubunda kayda değ olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$).

4.6.2. Hemogloblin İçeriği (Hb)

Hemogloblin içeriği % 2,5 *C. album* grubunda kontrol grubu ve % 5 *C. album* grubuna oranla kayda değer oranda azalmıştır ($P<0,05$) (Tablo 4.12). Kontrol grubu ve % 5 grubu arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P>0,05$).

4.6.3. Haematokrit (Hct)

Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde çalışma sonunda % 2,5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarında ve % 5 içeren yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarında hematokrit seviyeleri azalmış ($P<0,05$) kontrol grubunda en yüksek değerler elde edilmiştir (Tablo 4.12).

4.6.4. Kırmızı Kan Hücresi Endeksleri

Çalışma sonundaki kırmızı kan hücre endekslerinin, örneğin, otlamama hücre hacmi (MCV), ortalama hücre hemoglobini (MCH), ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu tablo 4.12’de özetlenmiştir. Bu sonuçlara göre MCV değerleri %2,5 ve % 5 *C. album* ile beslenen gruplardaki değerler arasında farklılık gözlenmemiştir. Benzer olarak % 5 gruplarındaki MCH ve MCHC değerleri kontrol grubuna kıyasla farklılık göstermemiştir ($P<0,05$).

Tablo 4.12. 90 gün sonunda *C. album* içeren diyetlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarının hematolojik profili.

Parametreler	Gruplar		
	Kontrol	% 2,5	% 5
RBC ($\times 10^6$ cells mm^{-3})	1,59 $\pm$ 0,07 ^a	1,40 $\pm$ 0,05 ^a	1,30 $\pm$ 0,06 ^b
Hb (g dl^{-1})	8,75 $\pm$ 0,32 ^a	7,00 $\pm$ 0,38 ^b	7,70 $\pm$ 0,44 ^a
Hct (%)	34,03 $\pm$ 0,93 ^a	23,33 $\pm$ 2,13 ^b	27,75 $\pm$ 1,68 ^b
MCV (fl)	220,15 $\pm$ 1,81 ^a	212,63 $\pm$ 6,44 ^a	216,35 $\pm$ 1,54 ^a
MCH (pg)	58,40 $\pm$ 0,41 ^a	44,65 $\pm$ 1,80 ^b	57,00 $\pm$ 0,87 ^a
MCHC (%)	278,25 $\pm$ 4,78 ^a	223,25 $\pm$ 1,11 ^b	276,75 $\pm$ 2,87 ^a

Verilen değerler standart hataları ifade eder. Farklı küçük harfler gruplar arasındaki kayda değer farklılıkları ifade eder ($\alpha=0,05$)($n=3$)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Daha önceden *Chenopodium album*'un bazı hayvanlar üzerindeki etkileri çalışılmış olmakla birlikte, özellikle *Oncorhynchus mykiss* ve diğer su canlıları üzerindeki büyüme, hematoloji ve biyokimyasal parametreleri üzerinde araştırmalar yoktur. Bu çalışmada yeme eklenen *C. album* ununun gökkuşağı alabalığı yavrularında düşük sindirilebilirlik nedeni ile yem alımında azalmalar ve büyüme performansında düşüşler gözlenmiştir. Gökkuşağı alabalıklarının sindirim enzimleri, lipaz hariç bitkisel hammadde destekli yeme karşı son derece iyi bir adaptasyon göstermiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre yeme *C. album* unu eklenmesi antioksidan, hematolojik ve immünolojik açıdan bir farklılık ortaya koymadığı tespit edilmiştir.

5.1. Büyüme

Bilinen bir gerçek, balıklarda büyüme tamamen yemde kullanılan protein sindirilebilirliği ve fraksiyonu ile ilgilidir (Castro, Hernández, Araiza, Pérez ve López, 2011). Bitkisel protein kaynakları, dengeli olmayan aminoasit profilleri, besinsel olmayan içerikleri ve kolay sindirilememeleri gibi nedenlerle ya metabolik işlemlerde yada dışkı olarak doğrudan atılmaktadır (Siddiqui vd., 2014). Bu çalışmada, çalışma sonunda elde edilen ağırlık, ağırlık kazanımı, spesifik büyüme oranı (SGR) ve yaşama oranı gibi değerler % 2,5 ve % 5 oranında *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularında ve bunlara ek olarak yüksek yem değerlendirme oranı (FCR) değerlerine neden olmuştur. Bunun asıl sebebi *C. album*'un düşük besinsel profili olabilir. Bu sebepler aynı zamanda sağlık üzerinde, protein sindiriminde, büyüme, demir ve çinko gibi elementlerin emilememesi gibi nedenlerden kaynaklanabilir.

Sood vd., (2012) yaptıkları çalışmada kültür edilen *Chenopodium album* yapraklarının besinsel olmayan kompozisyonlarını tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarında toplam fenol, basit fenol ve besin dışı etkinlik gösteren ve mineralleri bağlayan toplam fenol bileşenlerine (Awika vd., 2003) rastlanmıştır. Kültürü yapılan *C. album* türlerinde protein sindirimi için uygun olmayan proteolitik enzimlerin salgılanmasıyla etkileşim içine giren ve aminoasit ve proteinlerin sindirimlerini zorlaştıran etkileri ortadan kaldıran tripsin inhibitör aktivitesinin (TIA) az olduğu belirlenmiştir (Glew vd., 2005).

Saponin, membran geçirgenliğini arttırarak yem alımını ve sindirim seviyesini arttırdığı gibi ilaçların sistem içerisinde indirgenmesine de yardımcı olur (Gee vd., 1993). Besinlerdeki yüksek fitat içeriği, kompleks protein enzimlerin, proteinlerin enzimatik sindirimlerinin engellenmesi, demir ve çinko gibi elementlerin mineral alımında homeostasis ile etkilenecek minerallerin bağlanmaması sonucu yem değerlendirmesini düşürdüğü bilinmektedir (Marfo vd.,1990). Fitik asit, metal şelatlama özelliği ile faydalı özellikler göstermekte, fosfat sunucu olarak görev almaktadır (Bohn vd.,2008). Flavonoid ve alkaloidlerin varlığı da ayrıca bitkiler üzerinde gösterilmiş olup metal şelatlama özellikleri ile demirin bağlanmasını engellemekte ve vücuttan atılmalarını kolaylaştırmaktadır (Bohn vd.,2008, Sood vd.,2012). Genel olarak, balıkların bitkisel protein kaynakları ile beslenmesinin düşük büyüme performansı, bitkisel proteinlerin düşük sindirilebilirliği, bazı aminoasitler açısından zayıf olmaları, kullanılabilir fosforun azlığı, lipit metabolizmasındaki düzensizlik ve yüksek orandaki besinsel olmayan faktörler (ANF) sayılabilir (Gomes, Rema and Kaushik, 1995; Ye, Liu, Wang and Wang, 2011).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Azab vd., (2016)'un koi (*Cyprinus carpio*) balıklarını şalgam, üzüm ve havuç ile besledikleri çalışmalarında elde ettikleri düşük final ağırlığı, ağırlık kazanımı (WG), SGR ve FCR'daki artış ile benzer olarak tespit edilmiştir. Soltan vd., (2008) Nil tilapiaları üzerinde yaptıkları çalışmada balıkları farklı bitkisel protein (kanola, susam, pamuk tohumu, keten tohumu ve ayçiçek unu) içerikleri karışımı hazırlayarak beslemişler ve çalışmamıza benzer olarak düşük final ağırlığı, WG, SGR ve artan FCR değerleri tespit etmişlerdir. Balık ununun yüksek oranlarda bitkisel proteinlerle ikame edildiği durumlarda azalan büyüme parametreleri bitkiler içerisindeki tam olarak tanımlanamamış beslenme dışı etkenler, yüksek oranda lif içeriği bitkisel proteinlerin düşük sindirilebilirlikleri, lezzetten kaynaklanan yem tüketimindeki azalmalar olabilir (Luo vd.,2006).

Birçok araştırmacı çalışmamıza benzer şekilde bitkisel protein ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) (Jalili vd.,2012), *Trachinotus carolinus* yavrularında (Lech ve Reigh, 2012), mersin balığı (*Acipenser schrenckii*) (Xu vd.,2012) ve tilapia balıklarında (*Oreochromis niloticus*) (Khan vd., 2013) yem alımında ve büyüme performansında azalmalar tespit etmişlerdir.

Farklı olarak, Ahmad ve Abdel-Tawwab (2011) kimyon tohumu (*Carum carvi*) ile besledikleri Nil tilapialarında (*Oreochromis niloticus*) yüksek oranda büyüme performansı ve yem değerlendirilebilirliği tespit etmişlerdir. Benzer olarak Emadi vd.,(2014) gökkuşağı alabalıklarını (*O. mykiss*) susam içeren yemlerle besledikleri çalışmalarında WG, SGR FCR ve protein etkinlik oranı üzerinde olumlu etkilerini tespit etmişlerdir.

Son dönemde yapılan bir çalışmada Abbasi Ghadikolaei vd.,(2017), *Zingiber officinale* unu ile besledikleri sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı ve yem değerlendirmede daha iyi sonuçlar gösterdiğini belirlemişlerdir. Buna ek olarak Ehsani vd.,(2014) ve Krome vd.,(2016) balık unu yerine fermente edilmiş soya unu kullandıkları çalışmalarında sarı yüzgeçli mercanlarda (*Acanthopagrus latus*) ve *Jatropha curcas* çekirdek içi unu ile besledikleri Nil tilapialarında (*O. niloticus*) benzer büyüme performansı elde etmişlerdir.

5.2. Sindirim Enzimleri

Sindirim enzimleri, proteinlerin hidrolize edilmelerinde, yağ ve karbonhidratların sindiriminde son derece önemli bir role sahiptirler. Bu besinler doku ve organlara taşınarak balıkların büyümesi ve üremesi için malzeme ve enerji olurlar (Furne vd.,2005). Bununla birlikte, mideye alınmış besinlerin sindirimi midedeki sindirim enzimleri ile başlar ve bağırsaklarda pankreas tarafından salgılan sindirim enzimlerinden tripsin, kiotripsin, amilaz ve lipaz ile devam eder (Cockson ve Bourne, 1972; Moriarty, 1973; Fang ve Chiou, 1989).

Bu çalışmada lipaz hariç diğer tüm enzim aktiveleri bitkisel içerikli yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) çok iyi adaptasyon örneği göstermiştir. *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarda proteolitik enzimlerde meydana gelen değişimler, içeriğindeki temel yapılardan kaynaklanmış olabilir (Caruso, Costanzo, Palmegiano, Gai ve Genovese, 2005). Önceki çalışmalarda *C. album*'un besin elementleri açısından zengin olduğu (karbonhidrat, protein, yağ ve lif) ve önemli besinsel elementlerden sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko, fosfor, bakır, manganez içerdiği, ayrıca bunlara ek yüksek vitamin A, vitamin C ve

vitamin E (Tablo 1.1) içerdiği belirlenmiştir (Prakash vd.,1993; Hussain vd.,2009; Adedapo vd.,2011). Bitkinin bu özellikleri aslında proteaz sınırlayıcı özelliklerinin yanında artı olarak gözükmetedir (Krogdahl, Lea ve Olli, 1994; Haard, Dimes, Arndt ve Dong, 1996).

Önceki araştırmalar balıklarda tıbbi bitkilerin pankreas tarafından safra asidi salgılamasının arttırılarak sindirim enzimlerinin salgılanmasını da arttırarak sindirimi düzenlediklerini ortaya koymuşlardır (Bhosale, Bhilave ve Nadaf, 2010). Bu gibi sonuçlar çalışmamızda % 2,5 ve % 5 *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında artan pepsin, tripsin ve amilaz gibi sindirim enzim aktivite sonuçlarının artmasını açıklayıcı olabilir.

5.2.1. Pepsin

Mide içerisinde protein sindirimleri, asidik ortamda pepsinin aktivitesi ile meydana gelir (Alarcón, Moyano ve Díaz, 1999). Pepsin sindirim sisteminde vücut ağırlığının yaklaşık % 5'ini oluşturan proelotik bir enzimdir (Nalinanon, Benjakul, Visessanguan ve Kishimura, 2007; Zhao, Budge, Ghaly, Brooks ve Dave, 2011).

Bu çalışma sonuçlarında 90 gün sonunda elde edilen veriler ışığında *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında pepsin aktivitesi önemli derece artmıştır. Bu sonuçlar Costanzo vd., (2011) tarafından siyah noktalı mercan balıklarının (*Pagellus bogaroveo*) pirinç proteini ile besledikleri çalışmada elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Yine, Awad vd.,(2012), acıbakla, mango, ısırgan otu ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarda pepsin aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. Lazzari vd.,(2010) *Rbamdia quelen* ile yaptıkları çalışmada artan bir pepsin aktivitesi tespit etmişlerdir.

5.2.2. Tripsin

Tripsin önemli bir pankreatik serin proteazı olup pankreasta asiner hücreleri tarafından proenzim olarak sentezlenmekte ve bağırsak içerisine salgılanmaktadır (Kishimura ve Hayashi, 2002). Tripsin, lisin ve argininin karboksilleri üzerindeki peptit bağları parçalamaktadır. Tripsin, protonin, phenyl-metil-sülfonil florid (PMSF) ve soya tripsin inhibitörü (SBTI) gibi serin-proteaz inhibitörüdür (Shahidi ve Kamil, 2001;

Castillo-Yáñez vd., 2005). Tripsin kod balıklarında büyüme performansı ve yem değerlendirme oranı belirleyicisidir (Lemieux, Blier ve Dutil, 1999) ve ringa balığı (*Clupea harengus*) larvalarında besin kondisyonu ve sindirim kapasitesi ile ilgilidir (Ueberschär ve Clemmesen, 1992).

Bu çalışmada, bağırsaklardaki tripsin seviyelerinin çalışma sonunda *C. album* ile beslenen balıklarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Çalışma sonuçlarımız, Mondal vd.,(2012)'nın dut yaprakları ile besledikleri Hindistan sazanında (*Labeo bata*) elde ettikleri sonuçlar ile örtüşmektedir. Benzer olarak Lazzari vd.,(2010) ve Costanzo vd.,(2011) *Rbamdia quelen* ile yaptıkları çalışmada ve pirinç proteini ile besledikleri siyah noktalı mercan balıklarında (*Pagellus bogaroveo*) artan tripsin aktivitesi tespit etmişlerdir. Ek olarak Iqbal vd., (2016) bağırsak proteaz aktivitesinin guar ve pamuk tohumu unu ile besledikleri *Labeo rohita* balıklarında tripsinin arttığını belirlemişlerdir. Yüksek proteaz aktivitesi aynı zamanda yüksek protein içeren yemlerin kullanılması ile de ilişkilidir (Euesbio ve Coloso, 2002; Xiong, Xie, Zhang ve Liu, 2011; Melo, Lundstedt, Moraes ve Inoue, 2012). Gabriel vd., (2017) yaptıkları çalışmada, *Aloe vera* unu içeren yemlerle besledikleri *Oreochromis niloticus* balıklarında tripsin aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir.

Bunlardan farklı olarak Murashita vd., (2015) mercan balıklarında (*Pagrus major*) yeme katılan soya ununun bağırsak tripsin aktivitesinde azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Yaghoubi vd., (2016) gümüş sinarit balıklarında (*Sparidentex hasta*) yeme soya ürünleri kattıkları besinler ile beslediklerinde azalan bir tripsin aktivitesi belirlemişlerdir. Xu vd., (2012) mersin balıklarını (*Acipenser schrenckii*) soya proteini izolatu içeren yemlerle beslediklerinde, soya proteini içerisinde yer alan proteaz engelleyicilerden dolayı proteaza yapışması ve aynı zamanda proteinlerin sindirilmesi için yüksek oranda sindirim enzimi salgılanmasından dolayı artan bir tripsin aktivitesi belirlemişlerdir (Haard vd., 1996).

Diğer bir taraftan, Azarm ve Lee (2014) ve Ehsani vd., (2014) yaptıkları çalışmada balık unu yerine ikame olarak fermente edilmiş soya unu kullanımının pisi balıklarında (*Paralichthys olivaceus*) ve mercan balıklarında (*Acanthopagrus latus*), tripsin aktivitesi açısından bir farklılık oluşturmadığını tespit etmişlerdir.

5.2.3. Amilaz

Alpha-amilaz karbonhidrat sindiriminde anahtar role sahiptir. Pankreas tarafından bağırsak ve plorikseka içerisine salgılanır. Temel vazifesi, polisakkaritlerden nişasta ve glikojeni glikoz, maltoz, maltotrios ve bölümlenmiş kombibasyonlara (1:6) oligosakkarit ve glukoza dönüştürülmesinde görev almaktır (Papoutsoglou ve Lyndon, 2003). Larvalarda ve yavru balıklarda nişasta, glikojen ve glikolitik zincirleri katalizler (Krogdahl, Hemre ve Mommsen, 2005). Bu çalışmada, deneme sonunda balıkların bağırsak sistemlerindeki kayda değer bir artışın olduğu gözlenmiştir. Costanzo vd., (2011)'nın siyah noktalı mercan balıklarında yüksek pirinç unu içeren diyetlerle besledikleri çalışmalarında çalışmamıza benzer olarak amilaz aktivitesinin önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Mondal vd., (2012) yaptıkları çalışmada, dut yaprağı unu ile hazırladıkları yemlerle besledikleri Hindistan sazanlarının (*Labeo rohita*) çalışmamıza benzer olarak amilaz aktivitelerinde artış olduğunu tespit etmişlerdir. Ek olarak, Gabriel vd., (2017) *Aleo vera* içeren yemlerle besledikleri *Oreochromis niloticus* balıklarında karaciğer, ve mide içerisinde amilaz enzim aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.

Bunlardan farklı olarak Xu vd., (2012) mersin balıklarını (*A. schrenckii*) soya proteini isolatı ile besledikleri çalışmada amilaz aktivitesinde düşüler tespit etmişlerdir. Buna ek olarak bazı bitkisel protein kaynakları sazan balıklarında (*C. carpio*) (Priyadarshini vd., 2015) gümüş sinariti (*Sparidentex hasta*) (Yaghoubi vd., 2016) azalan bir amilaz aktivitesine neden olmuştur. Başka bir çalışmada bitkisel protein kaynakları ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında (Jalili vd., 2012), deniz hıyarı unu içeren yemlerle beslenen çipura balıklarında (*Sparus aurata*) (Piccinno vd., 2013) ve fermente edilen soya unu ile beslenen mercan balıklarında (Ehsani vd., 2014) amilaz enzim aktivitelerinde düşüş kaydedilmiştir.

5.2.4. Lipaz

Lipaz pankreastan salgılanan ve özellikle triasilgliserollerin, yağların yıkımı gerçekleştirerek sindirimini sağlayan enzimdir (Awad vd., 2012). Bu çalışmada C.

album içeren yemlerle beslenen grupların bağırsak lipaz aktiviteleri karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bunun temel nedeninin çalışmada kullanılan yağ kaynaklarının aynı içerikten gelmesi ve *C. album* bitkisinden gelen yağ içeriğinin eser miktarda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamıza benzer olarak Piccinno vd., (2013) yaptıkları çalışmada çipuraları (*Sparus aurata*) % 18 oranında deniz hıyarı unu içeren yemlerle beslemişler ve lipaz seviyelerinde bir değişiklik gözlemlememişlerdir. Ehsani vd., (2014), fermente edilmiş soya unu ile besledikleri sarı yüzgeçli mercan balıklarının lipaz aktivitelerinde bir değişiklik tespit etmemişlerdir. Azarm ve Lee (2014) yavru pisi balıklarında (*Paralichthys olivaceus*) yaptıkları çalışmada balıkları yine benzer olarak fermente soya unu ile beslemişler ve balıkların lipaz aktiviteleri üzerinde bir değişiklik gözlemlememişlerdir.

Çalışmamızdan farklı olarak Yaghoubi vd., (2016) gümüş sinarit balıkları ile yaptıkları çalışmada soya yan ürünleri balıkları beslemişler ve taurin ve glisin içeriğinden dolayı (Liaset vd., 2009; Salze ve Davis, 2015) lipaz aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir. Bunlara ek olarak yüksek pirinç proteini beslenen balıklarda (Costanzo vd., 2011), soya protein izolatu ile beslenen (Xu vd., 2012) ve soya unu ile beslenen (Murashita vd., 2015) balıklarda lipaz aktivitesine düşümler tespit edilmiştir. Ayrıca bunlardan farklı olarak Mondal vd., (2012), Hindistan sazanlarını (*Labeo bata*) dut yaprağı içeren yemlerle beslediklerinde lipaz aktivitesinde artışlar gözlemlemişlerdir. Priyadarshini vd., (2015) at gram unu ve soya unu ile besledikleri sazan balıklarında çalışmamızdan farklı olarak lipaz aktivitesinde artışlar tespit etmişlerdir. Gabriel vd., (2017), 1% *Aloe vera* içeren yemlerle besledikleri tilapia balıklarında lipaz aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir.

5.3. Antioksidan Parametreleri

Balıklar da diğer Vertebrata'da olduğu gibi ROS'un olumsuz etkilerinden korunmak için antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Antioksidan savunma sistemi

içerisinde yer alan enzimler süperoksid dizmutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6-posfat dehidrogenaz (G6PDH) ve glutatyon-S- transferazdır (GST) (Halliwell, 1989). Lipid peroksidasyonu (LPO) da çevresel kirliliğe maruz kalmış sucul organizmalarda oksidatif hasarın belirlenmesinde biyo-belirleyici olarak kullanılır. LPO balık dokularında malondialdehit (MDA) miktarının artması ile tespit edilir (Valavanidis vd., 2006).

5.3.1. Katalaz (CAT)

Katalaz oksijen ve su ile dismutasyon etkileşimine girerek üretilen hidrojen peroksiti indirgeyen hemoproteindir ve yüksek hidroksil radikallerinden dokuları korur (Searle ve Willson, 1980). CAT ayrıca peroksizomlardaki uzun zincirli yağ asitlerinin metabolizması esnasında üretilen hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumludur (Li vd., 2010). Genel olarak CAT tüm hayvan dokularında bol olarak bulunmakla birlikte özellikle karaciğer dokularında daha fazla olarak yer almaktadır (Sönmez vd., 2015). Balıklardaki hepatik katalaz aktivitesine ilişkin bu çalışma sonuçları *C. album* ile beslenen deneme gruplarında tüm deneme süresince genel olarak CAT üretiminde bir azalma ortaya koymuştur. Bu düşüş özellikle 30 ve 60. günlerde % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gruplarda istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Mohebbi vd., (2012) yapmış oldukları çalışmada 10, 20 ve 30 g/kg oranında sarımsak içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında çalışmamıza benzer olarak CAT aktivitesinde düşüşler tespit etmişlerdir. Manal (2016), tilapia balıklarını 20 g/kg sarımsak ve 10 ve 20 g/kg kimyon içeren yemlerle besledikleri çalışmada karaciğerdeki katalaz seviyesinde düşüşler tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Sönmez vd., (2015) adaçayı, nane ve kekik içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarının karaciğer katalaz aktivitelerinde düşüşler tespit etmişlerdir.

Bu çalışmalardan farklı olarak Gabriel vd., (2015) *Aloe* destekli yemlerle besledikleri tilapia balıklarında karaciğer CAT aktivitesinde kayda değer artışlar tespit etmişlerdir. Hamed (2016), *Spirulina platensis* içeren yemlerle besledikleri Afrika kedi balıklarında (*Clarias gariepinus*) böbrek, karaciğer ve solungaçlarda artış gözlemlemişlerdir.

5.3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan enzimler içerisinde SOD, oksiradikal formasyonunda önleyici etkilerinden dolayı oksijen toksisitesine karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Bakır/çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) süperoksitlerin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizler (Manno vd., 1985). SOD'in anti-inflamasyonu içeren medikal uygulamaları, onkogenesis ve tümör büyümesinin önlenmesinde ve işemik dokuların reperfüzyon hasarlarından korunmasında önemli olduğunu ortaya koymuştur (García-González ve Ochoa, 1999).

Yeme *C. album* eklenmesi farklı dozlarda uygulandığı 30 ve 60. günlerde balıkların karaciğerlerindeki SOD aktivitesi üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Besleme periyodu ile ilgili olarak, % 2,5 ve % 5 oranında bitki eklentisi örnekleme dönemleri içerisinde kendi aralarında bir değişikliğe neden olmamıştır. Benzer olarak Azarm ve Lee (2014) fermente edilmiş soya unu kullandıkları çalışmada pisi balıkları üzerinde kan plazması ve karaciğer üzerindeki SOD aktivitelerinde bir değişiklik tespit edememişlerdir. Gabriel vd., (2015) karaciğer SOD aktivitesi üzerinde farklı dozlarda *Aloe vera* ile besledikleri tilapia yavrularında herhangi bir değişiklik tespit edememişlerdir. Benzer olarak Hamed (2016), *S. platensis* içeren yemlerle besledikleri Afrika kedi balıklarında (*Clarias gariepinus*) solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki SOD aktivitelerinde bir değişiklik gözlemlememişlerdir. Çalışmanın 60. gününde *C. album* ile beslenen deneme gruplarından elde edilen veriler değerlendirildiğinde Sönmez vd., (2015) yapıtlıkları çalışmada 1500 mg/kg kekik yağı ile besledikleri *Oncorhynchus mykiss*'lerde çalışmadaki 30, 60. günlerde elde edilen verilere benzer olarak SOD değerlerinde azalma göstermiştir.

Çalışmamızdan farklı olarak El-Badawi (2015) acıbakla verdikleri *O. niloticus* balıklarında SOD aktivitelerinde kayda değer artışlar tespit etmişlerdir. Şahan vd., (2016) zencefil ile yaptıkları çalışmada artan doz oranlarının SOD aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir.

5.3.3. Glutasyon Perooksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz (GPx), selenyum içeren bir enzim olup eksilen glutatyonun oksidasyonu ile H_2O_2 'i H_2O 'ya detoksifiye etmektedir (Freeman ve Crapo, 1982). GPx hidrojen peroksit ve lipid peroksiti katalizleyerek redükte eder (Li vd., 2010). Bu çalışmada balıkların karaciğerindeki GPx içeriği %2,5 ve % 5 oranında *C. album* bulunduran yemlerle beslenen balıklarda değişim göstermemiştir. Bu sonuçlara benzer olarak Mohebbi vd., (2012) sarımsak unu ile besledikleri gökkuşağı alabalık yavrularında GPx aktivitesinde bir değişiklik tespit edememişlerdir. Aynı zamanda, Azarm ve Lee (2014) fermente soya unu ile beslenen *Paralichthys olivaceus* balıklarında SOD değerinin herhangi bir değişim göstermediğini tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada, Wang vd., (2017) *Rhodiola rosea* kullandıkları çalışmada GPx sonuçlarında bir değişiklik tespit etmemişlerdir.

Çalışmada GPx aktivitesinde kayda değer bir düşüş %5 *C. album* içeren yemlerle beslenen deneme gruplarında 30 ve 60. günlerde gözlenmiştir. Çalışma süresince 60 ve 90. günlerde % 2,5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gruplarda GPx aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Çalışmadan farklı olarak Metwally (2009), sarımsak içeren yemlerle besledikleri tilapia balıklarında GPx aktivitelerinde azalma tespit etmişlerdir. Sitjà-Bobadilla vd., (2005) çipura balıklarında üzerinde yaptıkları çalışmada, balıkları yüksek oranda bitkisel protein hammaddesi içeren yemlerle besledikleri çalışmada GPx değerlerinde artış belirlemişlerdir.

5.3.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH)

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) hücrelerde yüksek oranda NADPH/NADP⁺ oranının sürdürülmesi ve GSSG'den GSH oluşturulmasında kritik rol oynar (Jain, 1998). G6PDH vücutta tüm hücrelerde sunulur ve glukoz-6-fosfatın 6-fosfoglukonolata oksidasyonunu katalizler. Bu basamak hidrojen peroksitin indirgenmesinde hayati öneme sahiptir (Ali vd., 2005). Bu çalışmada yeme *C. album* ilavesi sonucu çalışmanın 30. gününde azalma ve 60 ve 90. günlerinde herhangi değişim olmadığı gözlenmiştir. Bu bağlamda *C. album* eklentisinin çalışma periyodu açısından G6PDH aktivitesinde kayda değer bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Çalışmadan farklı olarak Sönmez vd., (2015), adaçayı, nane ve kekik yağı ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) G6PDH seviyelerinde bir artış tespit etmişlerdir.

5.3.5. Lipid Peroxide (Malondialdehyde, MDA)

Malondialhit (MDA) oksijen serbest radikalleri tarafından neden olduğu lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan oksidatif stresin belirlenmesinde önemli bir kriterdir. MDA seviyelerinin artması hücre içerisinde hasar olduğunun önemli bulgularındandır (Yagi, 1984). Bu çalışmada balıkların beyaz kaslarında MDA seviyelerinde *C. album* ile beslenen deneme gruplarında önemli bir düşüş elde edilmiştir. Bununla birlikte bu düşüş sadece % 5 *C. album* grubunda istatistiksel açıdan farklılık oluşturmuştur. Çalışmamıza benzer olarak Golestan vd., (2015) yapmış oldukları çalışmada 0.5 ve 2 g/kg *Aloe vera* içeren yemlerle besledikleri alabalıklarda, Şahan vd., (2016) zencefil özütü ile besledikleri Nil tilapialarında çalışmamıza benzer olarak MDA seviyelerinde azalma gözlemlemişlerdir. Ayrıca , Sönmez vd., (2015) adaçayı içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) MDA seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir.

Çalışmamızdan farklı olarak sarımsak ve kimyon içeren yemlerle beslenen Nil tilapialarında (*O. niloticus*) MDA seviyelerinde artış tespit edilmiştir (Manal, 2016). Hamed (2016), Afrika kedi balıklarını (*Clarias gariepinus*) *Spirulina platensis* içeren yemlerle besledikleri çalışmalarda karaciğer, solungaç ve böbrek dokularındaki MDA seviyelerinde bir değişiklik tespit edememişlerdir.

5.4. İmmünolojik Parametreler

Balıklardaki bağışıklık sistemi yüksek omurgalı türlerle benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte yüksek omurgalı türlerden farklı olarak hayatta kalmak için edilgen bağışıklık sistemini hayatlarının erken dönemlerinde embriyonik safhada elde ederler (Rombout vd., 2005). Edilgen bağışıklık fizyolojik, hücresel ve humoral faktörler ve bunlara ek olarak humoral ve hücresel alıcı moleküller, plazma ve vücut sıvıları içerisinde bulunmaktadır. Ayrıca balıklarda lenfoid organ olarak timüs, dalak ve

böbrek yer almaktadır. Pathogenik organizmalara karşı immunoglobulinler bağışıklık yanıtta temel içerikleri oluşturmaktadır (Uribe vd., 2011).

5.4.1. Kan Solunum Patlaması (NBT)

Memelilerde edilgen bağışıklığın en önemli belirteci ve ilk gözlemi lökositlerdeki fagositik işlemlerden kaynaklanan oksijen tüketimindeki artış olarak 1930'lu yıllarda ortaya konan gerçektir (Balldridge ve Gerard, 1932). Patojenlerin fagozite edilmesi süresince lökositler NADPH oksidasyonu sonucu oksijen tüketimlerini arttırmakta ve çok farklı reaktif oksijen türleri üretilmektedir (Robinson, 2008). Bunlar içerisinde süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve tekli oksijen (1O_2) örnek olarak verilebilir (Muñoz vd.,2000). Süpereoksit anyonu solunum patlaması esnasında salınan ilk üründür ve ayrıca aktivitenin ölçümü için de O_2^- belirlemesi genel kabul edilen yöntemdir (Secombes, 1990; Roch, 1999). O_2^- ölçümünde iki farklı yöntem kullanılmaktadır; birincisi: feristokrom c indirgemesinin tespit edildiği hücre dışı ve ikincisi nitro blue tetrazolium indirgemesinin belirlendiği hücre içi yöntemdir (Dügenci, Arda ve Candan, 2003). NBT solunum patlaması aktivitesinin balıklardaki bakterisidal aktivitenin ölçüldüğü en önemli yöntemdir (Secombes ve Fletcher, 1992). Nötrofilleri NBT ile boyamak aktivitenin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. Çözülen NBT boyası pinositosis ile nötrofiller tarafından alınmakta, mikroskobik örneklemelerde koyu mavi formazan granülleri bırakılmaktadır (Haghighi ve Rohani, 2013).

Bu çalışmada balıkların NBT aktiviteleri üzerinde çalışma örneklemeinin yapıldığı 30, 60 ve 90. günler dahil olmak üzere herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Bu sonuç Yin vd., (2009) yaptıkları çalışmada hanımeli ve reishi içeren yemlerle besledikleri tilapia balıklarında elde ettikleri sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Bilen vd., (2013) tetra özütü ile besledikleri sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) balıklarının solunum patlaması seviyelerinde bir değişiklik gözlemlememişlerdir. Harikrishnan vd., (2010) 100 m/kg karışık bitkisel takviye edici kullandıkları çalışmada japon balıkları üzerinde solunum patlaması üzerinde bir değişikliğe neden olmadığını belirlemişlerdir.

Çalışma süresince, solunum patlaması seviyelerinde özellikle grupların günlere bağlı değişimi kontrol edildiğinde 60 ve 90. günlerde bir azalmadan söz etmek mümkündür. Gruplara göre en yüksek solunum patlaması seviyeleri 30. günde tespit edilmiştir. Buradan en yüksek solunum patlaması verilerini grupların 30. gününde elde edildiği söylenebilir. Bilen vd., (2016b) istiridye mantarı ve ısırgan otu sulu metanolik özütü ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarında elde ettikleri veriler çalışmamız ile örtüşmektedir.

Çalışmamızdan farklı olarak, Haghighi vd., (2014) gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları ile yaptıkları çalışmada balıkları *Aloe vera* içeren yemlerle beslemişler ve deneme gruplarında solunum patlaması seviyelerinde kayda değer artışlar tespit etmişlerdir. Haghighi ve Rohani (2013), zencefil içeren yemlerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) yaptıkları çalışmada NBT verilerinin arttığını tespit etmişlerdir.

5.4.2. Serum Myeloperoksidaz (MPO)

Nötrofiller, stoplazmik granülleri içerisinde hidrojen peroksit içerirler ve bunu bakteriyal enfeksiyonlarda bakterilerin hücre duvarını parçalamada kullanırlar (Uribe vd., 2011). MPO mikrop öldürücü özelliği ile son derece önemlidir ve hipokloröz asit üretmek için oksidativ radikalleri (H_2O_2) kullanır (Dalmo, Ingebrigtsen ve Bøgwald, 1997). Bu sistemin mikropların öldürülmesinde son derece önemli olduğuna inanılmaktadır (Johnston, 1978). Ayrıca MPO'nun inflamasyon yanıtta nötrofil (Lau vd., 2005) ve makrofajları (Grattendick vd., 2002) uyarmak gibi karmaşık görevleri vardır. Bu çalışmada serumdan elde edilen MPO aktivitesi % 2,5 oranında *C. album* ile beslenen balıklarda 30, 60 ve 90. günlerde bir değişiklik göstermemiştir. Bu sonuçlar Bilen vd., (2016a) 0.5 g/kg oranında kapari ile otuz gün boyunca besledikleri gökkuşağı alabalıklarından elde ettikleri MPO aktivitesi ile benzerlik göstermektedir. Christyapita, Divyagnaneswari ve Michael (2007) yaptıkları çalışmada tilapia balıklarını *Eclipta alba* yarak özütü ile üç hafta boyunca besledikleri çalışmada MPO aktivitesinde herhangi bir değişim gözlemlememişlerdir.

Çalışmamızda % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen deneme gruplarında 60 ve 90. günlerde balıkların MPO aktivitelerinde bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca tüm deneme grupları kendi içlerinde karşılaştırıldıklarında 60 ve 90. gün MPO değerleri 30. gün elde edilen değerlere kıyasla azalma göstermiştir. Bunlardan farklı olarak tetra özütü ile beslenene koi balıklarında (*Cyprinus carpio*) MPO seviyeleri önemli derece artış göstermiştir (Bilen vd., 2013). Bilen vd., (2016b) istiridye mantarı özütü içeren yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında MPO değerlerinde önemli bir artış tespit etmişlerdir.

5.4.3. Serum Lizozim

Savunmanın ilk hattı, serumda bulunan lizozim gibi birçok peptit mikroorganizmaların birbirine tutunarak kolonize olmalarını engelleyerek görev alırlar (Alexander ve Ingram, 1992). Lizozim bir çok balıkta mukus içerisinde, lenfoid dokularda, plazmada ve diğer vücut sıvıları içerisinde bulunmaktadır (Sun, Wang, Xie, Gao ve Nie, 2006; Larsen, Solstad, Svineng, Seppola ve Jørgensen, 2009). Nötrofiller ve makrofajlar lizozimlerinde lizozim ve hidrolitik enzimlere sahiptirler (Uribe vd., 2011). Ayrıca balık savunmasında önemli element olan lizozim opsonin gibi görev alarak komplement sistemin ve fagozitlerin aktivasyonunda ve bakterilerin liziz edilmesinde görev alır (Magnadóttir, 2006). Ayrıca katyonik bir enzim olup bakterilerin hücre duvarlarındaki peptidoglikan b-1,4 glikozitik asit ve N asetil glukosamini kırar. Bu aktivasyon genel olarak Gram pozitif bakterilere ve aynı zamanda Gram negatif bakterilere de komplement ile konjugasyonda saldırı için gerekli olduğu bilinmektedir (Alexander ve Ingram, 1992).

Bu çalışmada serum lizozim aktivitesindeki artışlar *C. album* ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında ortaya konmuştur ve bu durum Wu vd., (2010) yaptıkları çalışmada *T. sinensis* sulu özütü ile intraperitoneal olarak enjekte edilen tailapialarda elde edilen lizozim aktivitesine sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Haghighi ve Rohani (2013) *O. mykiss* balıklarını zencefil tozu ile besledikleri çalışmada elde ettikleri sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Bir çok çalışmada bitkisel içeriklerin lizozim seviyesini arttırdığını tespit etmişlerdir (Yin vd., 2009; Harikrishnan vd., 2010; Bilen vd., 2013).

Çalışmada süresince grupların kendi içlerinde lizozim aktiviteleri kontrol edildiğinde % 2,5 *C. album* ile beslenen grupların 60. günde, % 5 *C. album* ile beslenen guruplarda ise 60 ve 90. günlerde bir azalma gözlenmiştir. % 2,5 *C. album* gruplarında 90. gün sonuçları ile 30. gün sonuçları arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlara benzer olarak mısır guleti ile buğday gluteni ve soya unu içeren yemelerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında lizozim aktivitelerinde bir değişiklik gözlenmemiştir (Jalili vd., 2013).

5.5. Hematolojik Parametreler

Hematolojik parametreler yetiştiriciliği yapılan hayvanların sağlık durumları hakkında kısa sürede ve güvenilir bilgi edinmede kullanılmaktadır (Grant, 2015). Yemin kalitesine bağlı olarak farklı tepkiler gösterir ve bu sayede sağlık belirleyici bir anahtar olarak kullanılırlar (De Pedro, Guijarro, López-Patiño, Martínez-Álvarez ve Delgado, 2005; Ferguson vd., 2010). Hematolojik verilerde meydana gelen değişimler besin içeriklerinde değişimlerden kaynaklanacağı gibi besinsel ve besinsel olmayan besleme faktörleri de bu hususta etkili olmaktadır (Osuigwe, Nwosu ve Ogunji, 2007).

5.5.1. Kırmızı Kan Hücresi Sayısı (RBC)

Bu çalışmada yeme eklenen % 5 *C. album* grubunda RBC sayısında önemli bir azalma gözlenmiştir. Benzer sonuçların bitkisel içeriklerle beslenen balıklarda RBC düşüşlerinin ortaya konduğu birçok sonuç ifade edilmiştir. Yaghoubi vd., (2016) % 75 soya ürünü ile besledikleri gümüş sinarit balıklarında RBC sayılarında önemli azalmalar tespit etmişleridir. Saponin içeren yemelerle beslenen balıklarda saponinin RBC'sini hemolize uğratmasından ötürü anemiden söz etmek mümkündür (Lim ve Lee, 2009; Lim vd., 2011). Iqbal vd., (2016) yavru *Labeo rohita* balıklarını guar, pamuk tohumu ve soya unu içeren yüksek protein diyetleri ile besledikleri çalışmada RBC sayılarında azalma gözlemlemişlerdir. Ozovehe (2013) *Moringa oleifera* yaprak unu ile besledikleri *Clarias gariepinus* balıklarında özellikle *Moringa oleifera* oranının artıkça balıklarda RBC sayılarında azalmaya neden oldukları belirlenmiştir.

Bunlardan farklı olarak, Heidarieh vd., (2012) ergosan açısından zengin yemelerle besledikleri gökkuşağı alabalıklarında balıkların RBC sayılarının arttığını ve sağlık

durumlarını iyileştğini ortaya koymuşlardır. Bilen vd., (2013) tetra özütü ile besledikleri koi balıklarında çalışmamızdan farklı olarak RBC sayılarının arttığını tespit etmişlerdir. Tüm bu sonuçların yem içerisindeki besinsel ve besinsel olmayan faktörlere bağlı olduğu (Osuigwe vd., 2007) söylenebilir.

5.5.2. Hemoglobin İçeriği

Hemoglobin (Hb) eritrositlerin oksijen taşıma görevlerinde ana içerik olup hayvanların fiziksel kondisyonlarını belirlemede kullanılır (Chang, Mao, Yang ve Chan, 2006). Bu çalışma sonuçları % 2,5 oranında *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşaklı alabalıklarında Hb oranlarının azaldığını ortaya koymuştur. Harikrishnan vd., (2010) tarafından *C. longa*, *A. indica* ve *O. sanctum* içeren diyetlerle besledikleri japon balıklarında çalışma sonuçlarımıza benzer olarak Hb değerlerinde azalma gözlenmiştir. Scott ve Rogers (1981) Hb seviyelerindeki düşüşlerin balıklarda şişkinliğe ve sonrasında hemapoetik organlardaki bozukluğa işaret edeceğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda % 5 *C. album* içeren yemlerle beslenen gökkuşaklı alabalıklarında Hb seviyelerinde bir azalma gözlenmemiştir. Bu bulgulara benzer olarak Jalili vd., (2013) buğday gluteni, mısır gluteni ve soya unu içeren yemlerle besledikleri gökkuşaklı alabalıklarında Hb seviyelerinde herhangi bir değişim tespit edememişlerdir. Benzer olarak sekiz hafta süren ve gökkuşaklı alabalıklarının *Aleo vera* özütü ile beslendikleri çalışmada Hb seviyelerinde bir değişim gözlenmemiştir (Haghighi vd., 2014). Yavru *Labeo rohita* balıkları yüksek protein diyetleri ile beslendiklerinde de çalışma sonuçları Hb açısından herhangi bir değişimin olmadığını tespit edilmiştir (Iqbal vd., 2016). Bunlardan farklı olarak Haghighi ve Rohani (2013) 90 gün boyunca besledikleri gökkuşaklı alabalıklarında zencefil unu kullanımının Hb seviyelerinde artışa neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Kumar vd., (2014) kedi balıklarında *O. tenuiflorum*, *Z. officinale* ve *A. cepa* içeren diyetlerle beslemenin balıkların Hb seviyelerini arttırdığı belirlemişlerdir.

5.5.3. Haematocrit (Hct)

Hematokrit RBC miktarının kan hacmine oranıdır (Harikrishnan vd., 2010). Bu çalışmada Hct seviyelerinde deneme gruplarında kontrol grubuna oranla azalma gözlenmektedir. Bu sonuçlar Harikrishnan vd., (2010) yaptıkları çalışmada bitkisel hammaddeleri ile besledikleri japon balıklarında aldıkları sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Yaghoubi vd., (2016) gümüş sinarit balıklarında % 75 oranında soya ürünleri ile besledikleri çalışmalarında Hct seviyelerinde azalma kaydetmişlerdir. Benzer olarak buğday gluteni, mısır gluteni ve soya unu içeren yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında Hct seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Jalili vd., 2013). Bunlardan farklı olarak Haghighi ve Rohani (2013) zencefil unu ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) Hct seviyelerinde artış gözlemlemişlerdir. Şahan vd., (2016) da Nil tilapialarında Hct seviyelerinde zencefil özü ile beslediklerinde artışlar tespit etmişlerdir.

5.5.4. Kırmızı Kan Hücre İndeksi

Çalışmada 2.5% *C. album* unu ile beslenen balıklarda MCH ve MCHC değerlerinde önemli düşüş meydana gelmiş ve bu bulgular Haghighi vd., (2014)'nın *Aloe vera* ile besledikleri gökkuşağı alabalıklarında elde ettikleri sonuçlarla örtüşmektedir. Haghighi ve Rohani (2013), zencefil unu içeren yemlerle besledikleri *O. mykiss* balıklarında MCH değerlerine önemli bir azalma tespit etmişlerdir.

Bu çalışma sonuçları % 5 *C. album* içeren diyetlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarının ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu, ortalama hücre hemoglobini, ortalama hücre hacmi açısından bir farklılık oluşturmadığını göstermiştir. Bu bulgular Harikrishnan vd., (2010) tarafından japon balıklarını *C. long*, *A. indico* ve *O. sanctum* bitkileri ile besledikleri ve Bilen vd., (2013) sazan balıklarını *Cotinus coggygia* ile besledikleri çalışma sonuçları ile örtüşmektedir. Bundan farklı olarak bazı araştırmacılar bitkisel destekli yemler ile besledikleri balıkların kırmızı kan hücrelerinde artıştan bahsetmektedirler. Şahan vd. (2016), zencefil özütü ile besledikleri Nil tilapialarında, Yaghoubi vd. (2016), gümüş siyah sinaritleri soya proteini ile besledikleri çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bazı çalışmalarda bitkisel ürün kullanımının kırmızı kan hücre sayılarını arttırdığı tespit edilmiştir. Şahan vd., (2016), zencefil özütü % 0,1, 0,5 ve 1 oranında besledikleri Nil tilapialarında,

Yaghoubi vd., (2016) gümüş sinarit yavrularını soya unu ve soya izole proteini ile besledikleri çalışmalarında benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmamızda bazı enzimlerde ve diğer durumlarda meydana gelen değişimler muhtemelen yem içeriğinden ve besleme koşullarından ileri gelmiş olabileceği (Bastrop, Spangenberg ve Jürss, 1991) önemlidir.

Yapmış olduğumuz çalışma sonuçlarında yeme *C. album* unu eklenmenin alabalıkların büyüme performansını olumsuz yönde etkilediği söylenebilir. Genel olarak balık yemlerinde bitkisel diyetlerin kullanımını kısıtlayan üç ana husus vardır. Bunlar düşük yem alımı, düşük sindirilebilirlik, aminoasit dengesizliği olarak söylenebilir. Balıklarda pepsin ve tripsin enzim aktivitelerinin artışı genel olarak yemdeki protein seviyelerindeki artışa paralel olarak artmaktadır. Ayrıca artan karbonhidrat seviyelerine bağlı olarak amilaz enzimi aktivitesi de artmaktadır. Bu çalışma sonuçlarına göre de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Başka bir ifadeyle, çalışmada kullanılan gökkuşağı yavruları bitkisel kaynaklı yem ile beslendiklerinde lipaz hariç sindirim enzimleri açısından iyi bir adaptasyon örneği göstermişlerdir. Benzer sonuçlar lizozim aktivitesi için de geçerlidir. Bunlardan farklı olarak, antioksidan aktivite de yada kan parametrelerindeki değişimlerin olumsuz olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden bu çalışma sonuçlarına binaen, *C. album* ununun alabalık yavru yemlerinde yem hammaddesi olarak kullanımının uygun olmadığı kanaati hasıl olmuştur. Bu bitki bölgesel olarak yaygın olarak bulunmaktadır. Bundan dolayı bu bitki ile ilgili olarak farklı işlemlerden geçirildikten sonra kullanımının son derece makul olacağı, ileriki çalışmaların bu yönde şekillenmesi gerektiği kanaati oluşmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abbasi Ghadikolaei, H., Kamali, A., Soltani, M., and Sharifian, M. (2017). Effects of Zingiber officinale powder on growth parameters, survival rate and biochemical composition of body in juvenile common carp (Cyprinus carpio). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(1), 67-85.
- Adedapo, A. D. E. O. L. U., Jimoh, F., and Afolayan, A. (2011). Comparison of the nutritive value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of Bidens pilosa and Chenopodium album. *Acta poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 68(1), 83-92.
- Agarwal, S. S., Yamrekar, B. P. and Paridhavi, M. (2005). Clinical useful herbal drug. Ahuja Publishing House, New Delhi, 10-12.
- Agrawal Mona, Y., Agrawal Yogesh, P., and Shamkuwar Prashant, B. (2014). Phytochemical and biological activities of Chenopodium album. *International Journal of PharmTech Research*, 6(1), 383-391.
- Ahmad, M. H., and Abdel-Tawwab, M. (2011). The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.) fingerlings. *Aquaculture*, 314(1), 110-114.
- Ahmad, M., Mohiuddin, O. A., Jahan, N., Anwar, M. U. N. I. R., Habib, S., Alam, S. M., and Baig, I. A. (2012). Evaluation of spasmolytic and analgesic activity of ethanolic extract of Chenopodium album Linn and its fractions. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(31), 4691-4697.
- Aklakur, M., Asharf Rather, M., and Kumar, N. (2016). Nanodelivery: An Emerging Avenue for Nutraceuticals and Drug Delivery. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(14), 2352-2361.
- Alarcón, F. J., Moyano, F. J., and Díaz, M. (1999). Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (Sparus aurata). *Aquatic Living Resources*, 12(4), 233-238.
- Alexander, J. B., and Ingram, G. A. (1992). Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 249-279.
- Ali, E. H., Hashem, M., and Al-Salahy, M. B. (2011). Pathogenicity and oxidative stress in Nile tilapia caused by Aphanomyces laevis and Phoma herbarum isolated from farmed fish. *Diseases of aquatic organisms*, 94(1), 17-28.
- Ali, N., Anwar, M., Ayyub, M., Bhatti, F. A., Nadeem, M., and Nadeem, A. (2005). Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in some

- ethnic groups of Pakistan. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 15(3), 137-141.
- Alvarez-Pellitero, P. (2008). Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary immunology and immunopathology*, 126(3), 171-198.
- Ameur, W. B., de Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-Lopez, D., Gonzalez-Linares, J., Driss, M. R. and Borràs, M. (2012). Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). *Marine pollution bulletin*, 64(2), 241-251.
- Amjad, L., and Alizad, Z. (2012). Antibacterial Activity of the *Chenopodium album* leaves and flowers extract. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 6(1), 903-906.
- Anderson, D. P., and Siwicki, A. K. (1994). Simplified assays for measuring non-specific defense mechanisms in fish. In *Seattle, WA: Fish Health Section/American Fisheries Society Meeting* (p. 26e35).
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Applebaum, S. L., Perez, R., Lazo, J. P., and Holt, G. J. (2001). Characterization of chymotrypsin activity during early ontogeny of larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 25(4), 291-300.
- Arora, S. K., Itankar, P. R., Verma, P. R., Bharne, A. P., and Kokare, D. M. (2014). Involvement of NFκB in the antirheumatic potential of *Chenopodium album* L., aerial parts extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 155(1), 222-229.
- Awad, E., Austin, B. and Lyndon, A. (2012). Effect of dietary supplements on digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of American Science*, 8(12), 858-864.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., and Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Azab, A. M., Khalaf-Allah, H. M., and Maher, H. (2016). Effect of some food additives on growth performance of koi fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). *international-journal*, 7, 73-83.

- Azarm, H. M. and Lee, S. M. (2014). Evaluation of fermented soybean meal to replace fish meal for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*: growth performance, amino acid profile and biochemical parameters. *European Journal of Zoological Research*, 3 (4), 6-12.
- Bagni, M., Civitareale, C., Priori, A., Ballerini, A., Finoia, M., Brambilla, G., and Marino, G. (2007). Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 263(1), 52-60.
- Bailey, L. H. (1977). Manual of cultivated plants. Most commonly grown in the continental United States and Canada. Rev. ed., compl. restudied. New York: Macmillan.
- Baldrige, C. W., and Gerard, R. W. (1932). The extra respiration of phagocytosis. *American Journal of Physiology--Legacy Content*, 103(1), 235-236.
- Bastrop, R., Spangenberg, R., and Jürss, K. (1991). Biochemical adaptation of juvenile carp (*Cyprinus carpio* L.) to food deprivation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 98(1), 143-149.
- Bhargava, A., Shukla, S., and Ohri, D. (2003). Genetic variability and heritability of selected traits during different cuttings of vegetable *Chenopodium*. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 63(4), 359-360.
- Bhargava, A., Shukla, S., and Ohri, D. (2006). *Chenopodium quinoa*—an Indian perspective. *Industrial crops and products*, 23(1), 73-87.
- Bhosale, S. V., Bhilave, M. P., and Nadaf, S. B. (2010). Formulation of fish feed using ingredients from plant sources. *Research Journal of Agricultural Science*, 1(3), 284-287.
- Bielek, E. (1981). Developmental stages and localization of peroxidatic activity in the leucocytes of three teleost species (*Cyprinus carpio* L.; *Tinca tinca* L.; *Salmo gairdneri* Richardson). *Cell and tissue research*, 220(1), 163-180.
- Bilen, S., Altunoglu, Y. C., Ulu, F., and Biswas, G. (2016a). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 57, 206-212.
- Bilen, S., Ünal, S., and Güvensoy, H. (2016b). 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., Yılmaz, S. and Bilen, A. M. (2013). Influence of tetra (*Cotinus coggygia*) extract against *Vibrio anguillarum* infection in koi carp, *Cyprinus carpio* with reference to haematological and immunological changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(3), 517-522.
- Bilgüven, M., and Barış, M. (2011). Effects of the feeds containing different plant protein sources on growth performance and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3), 345-350.
- Birkemo, G. A., Lüders, T., Andersen, O., Nes, I. F., and Nissen-Meyer, J. (2003). Hipposin, a histone-derived antimicrobial peptide in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1646(1), 207-215.
- Blaxhall, P. C. and Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of fish biology*, 5(6), 771-781.
- Bobe, J., and William Goetz, F. (2001). An ovarian progastricsin is present in the trout coelomic fluid after ovulation. *Biology of reproduction*, 64(4), 1048-1055.
- Bohn, L., Meyer, A. S., and Rasmussen, S. K. (2008). Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(3), 165-191.
- Boshra, H., Li, J., and Sunyer, J. O. (2006). Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish & shellfish immunology*, 20(2), 239-262.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248.
- Britton, C. J. (1963). Disorders of the blood. (Text book) 9th ed. J. & A. Churchill LTD., London, W.I.
- Cain, K. D., Jones, D. R., and Raison, R. L. (2000). Characterisation of mucosal and systemic immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using surface plasmon resonance. *Fish & shellfish immunology*, 10(8), 651-666.
- Caruso, G., Costanzo, M. T., Palmegiano, G. B., Gai, F., and Genovese, L. (2005). Blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*) fed on rice protein concentrate meal: effect on digestive enzymes. *European Aquaculture Society Special Publication*, 35, 158-159.

- Castillo-Yáñez, F. J., Pacheco-Aguilar, R., García-Carreño, F. L., and de los Ángeles Navarrete-Del, M. (2005). Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine *Sardinops sagax caerulea*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 140(1), 91-98.
- Castillo-Yáñez, F. J., Pacheco-Aguilar, R., García-Carreño, F. L., de los Ángeles Navarrete-Del, M., and López, M. F. (2006). Purification and biochemical characterization of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caeruleus*). *Food chemistry*, 99(2), 252-259.
- Castro, C. A. C., Hernández, L. H. H., Araiza, M. A. F., Pérez, T. R., and López, O. A. (2011). Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility, phosphorus and nitrogen excretion of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Hidrobiológica*, 21(2), 118-125.
- Chandramohan, G., Al-Numair, K. S., and Pugalendi, K. V. (2009). Restoration of altered plasma, erythrocyte and liver antioxidant levels by 3-hydroxymethyl xylitol in streptozotocin-diabetic rats. *International Journal of Integrative Biology*, 5(3), 176-181.
- Chang, G. R., Mao, F. C., Yang, C. C., and Chan, F. T. (2006). Hematological profiles of Formosan black bear (*Ursus thibetanus formosanus*). *Zoological Studies*, 45(1), 93-97.
- Chang, S. T., Wu, J. H., Wang, S. Y., Kang, P. L., Yang, N. S., and Shyur, L. F. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3420-3424.
- Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., and Michael, R. D. (2007). Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology*, 23(4), 840-852.
- Cockson, A., and Bourne, D. (1972). Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 41(4), 715-718.
- Costanzo, M., Palmegiano, G. B., Caruso, G., Gai, F., Daprà, F., Maricchiolo, G., Micale, V. and Genovese, L. (2011). Alternative Dietary Sources in Feeding of Blackspot Sea Bream *Pagellus bogaraveo* (Brunnich, 1768). *Open Marine Biology Journal*, 5, 12-23.
- Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K. and Bøgwald, J. (1997). Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20(4), 241-273.

- De Pedro, N., Guijarro, A. I., López-Patiño, M. A., Martínez-Álvarez, R., and Delgado, M. J. (2005). Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture research*, 36(12), 1185-1196.
- Deniz, H. (2010). National Aquaculture Sector Overview. Turkey. *Fisheries and Aquaculture Department*, 11(1),1-5.
- Drabkin, D.L. and Austin, J.H. (1932). Spectrophotometric constants for common hemoglobin derivatives in human, dog, and rabbit blood. *The Journal of Biological Chemistry*, 98: 719-733.
- Düğenci, S. K., Arda, N., and Candan, A. (2003). Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), 99-106.
- Dutt, S., Yadav, O. P., Kapoor, H. C., and Lodha, M. L. (2004). Possible mechanism of action of anti viral proteins from the leaves of *Chenopodium album* L. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 41(1), 29-33.
- Effront, J., Prescott, S. C. and Venable, C. S. (2007). Biochemical catalysts in life and industry: proteolytic enzymes. *Kessinger Publishing*, 151-289.
- Ehsani, J., Azarm, H. M., Maniat, M., Ghabtani, A., and Eskandarnia, H. (2014). Effects of partial substitution of dietary fish meal by fermented soybean meal on growth performance, body composition and activity of digestive enzymes of juvenile yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*). *International Journal of Biosciences*, 5(4), 99-107.
- El-Badawi, A. A. (2015). Antioxidant Activity of Lupine Seeds in Nile Tilapia Fish (*O. niloticus*) Suspected to Oxidative Stress Induced by Neemazal T/S. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 3(2), 170-178.
- Ellis, A. E. (1999). Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 9(4), 291-308.
- Ellis, A. E. (2001). Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8), 827-839.
- Elward, K., and Gasque, P. (2003). “Eat me” and “don’t eat me” signals govern the innate immune response and tissue repair in the CNS: emphasis on the critical role of the complement system. *Molecular immunology*, 40(2), 85-94.

- Emadi, H., Mokhayer, B., and Faal, M. (2014). Alternative role of sesame seed replacing fish meal in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(3), 608-620.
- Erlanger, B. F., Kokowsky, N., and Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 95(2), 271-278.
- Eroglu, A., Dogan, Z., Kanak, E. G., Atli, G., and Canli, M. (2015). Effects of heavy metals (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn) on fish glutathione metabolism. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(5), 3229-3237.
- Eshel, A., Lindner, P., Smirnoff, P., Newton, S., and Harpaz, S. (1993). Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the European sea bass and hybrid striped bass reared in freshwater. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 106(4), 627-634.
- Eusebio, P. S., and Coloso, R. M. (2002). Proteolytic enzyme activity of juvenile Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), is increased with protein intake. *Aquaculture Research*, 33(8), 569-574..
- Fang, L. S., and Chiou, S. F. (1989). Effect of salinity on the activities of digestive proteases from the tilapia fish, *Oreochromis niloticus* in different culture environments. *Comparative biochemistry and physiology. A. Comparative physiology*, 93(2), 439-443.
- Ferguson, R. M. W., Merrifield, D. L., Harper, G. M., Rawling, M. D., Mustafa, S., Picchietti, S., Balca'zar, J. L. and Davies, S. J. (2010). The effect of *Pediococcus acidilactici* on the gut microbiota and immune status of on-growing red tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Microbiology*, 109(3), 851-862.
- Fischer, U., Utke, K., Somamoto, T., Köllner, B., Ototake, M., and Nakanishi, T. (2006). Cytotoxic activities of fish leucocytes. *Fish & shellfish immunology*, 20(2), 209-226.
- Freeman, B. A., and Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 47(5), 412-426.
- Furne, M., Hidalgo, M. C., Lopez, A., Garcia-Gallego, M., Morales, A. E., Domezain, A., Domezaine, J. and Sanz, A. (2005). Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*, 250(1), 391-398.
- Gabriel, N. N., Qiang, J., Ma, X. Y., He, J., Xu, P., and Liu, K. (2015). Dietary Aloe vera improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective

- enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus iniae* challenge. *Fish physiology and biochemistry*, 41(5), 1321-1332.
- Gabriel, N. N., Qiang, J., Ma, X. Y., Xu, P., and Nakwaya, D. N. (2017). Effects of dietary Aloe vera crude extracts on digestive enzyme activities and muscle proximate composition of GIFT tilapia juveniles. *South African Journal of Animal Science*, 47(6), 904-913.
- Galindo-Villegas, J., and Hosokawa, H. (2004). Immunostimulants: towards temporary prevention of diseases in marine fish. *Advances en Nutricion. Acuicola VII Memorias del VII Simposium Internationale de Nutricion Acuicola*, 16-19.
- García-González, A., and Ochoa, J. L. (1999). Anti-inflammatory activity of *Debaryomyces hansenii* Cu, Zn-SOD. *Archives of medical research*, 30(1), 69-73.
- Gee, J. M., Price, K. R., Ridout, C. L., Wortley, G. M., Hurrell, R. F., and Johnson, I. T. (1993). Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa*): Effects of processing on their abundance in quinoa products and their biological effects on intestinal mucosal tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63(2), 201-209.
- Giusti, L. (1970). El género *Chenopodium* en Argentina: I. Números de cromosomas. *Darwiniana*, 98-105.
- Gjedrem, T., Robinson, N., and Rye, M. (2012). The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: a review. *Aquaculture*, 350, 117-129.
- Glew, R. S., VanderJagt, D. J., Bosse, R., Huang, Y. S., Chuang, L. T., and Glew, R. H. (2005). The nutrient content of three edible plants of the Republic of Niger. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(1), 15-27.
- Golestan, G., Salati, A. P., Keyvanshokoo, S., Zakeri, M., and Moradian, H. (2015). Effect of dietary aloe vera on growth and lipid peroxidation indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Veterinary Research Forum* (Vol. 6, No. 1, p. 63). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- Gomes, E. F., Rema, P., and Kaushik, S. J. (1995). Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130(2), 177-186.
- Grant, K. R. (2015). Fish hematology and associated disorders. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 18(1), 83-103.

- Grattendick, K., Stuart, R., Roberts, E., Lincoln, J., Lefkowitz, S. S., Bollen, A., Moguilevsky, N., Friedman, H. and Lefkowitz, D. L. (2002). Alveolar macrophage activation by myeloperoxidase: a model for exacerbation of lung inflammation. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 26(6), 716-722.
- Gravato, C., and Guilhermino, L. (2009). Effects of benzo (a) pyrene on seabass (*Dicentrarchus labrax* L.): biomarkers, growth and behavior. *Human and Ecological Risk Assessment*, 15(1), 121-137.
- GRIN Database USDA, ARS. National Genetic Resources Program, Germplasm Resources Information Network (GRIN), National Germplasm Research Laboratory, Beltsville, Maryland. Available online at <http://www.ars-grin.gov2/cgi-bin/npgs/html/genform.pl> 2005.
- Grinde, B., Lie, O, Poppe, T., and Salte, R. (1988). Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture. *Aquaculture*, 68(4), 299-304.
- Grosell, M., Farrell, A. P., and Brauner, C. J. (2010). *Fish physiology: The multifunctional gut of fish* (Vol. 30). Academic Press.
- Guerriero, G., Di Finizio, A., and Ciarcia, G. (2002). Stress-induced changes of plasma antioxidants in aquacultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(1), 205-211.
- Guil, J. L., Torija, M. E., Giménez, J. J., Rodríguez-García, I., and Giménez, A. (1996). Oxalic acid and calcium determination in wild edible plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1821-1823.
- Güner, Y., Güleç, F., Ikiz, M., and Kayaci, A (2014). General view to turkish carp (*C. carpio*) production 67. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 7 (2), 66-69.
- Haard, N. F., and Simpson, B. K. (2000). *Seafood enzymes: utilization and influence on postharvest seafood quality*. CRC Press.
- Haard, N. F., Dimes, L. E., Arndt, R. E., and Dong, F. M. (1996). Estimation of protein digestibility—IV. Digestive proteinases from the pyloric caeca of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets containing soybean meal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 115(4), 533-540.
- Haghighayan, S., and Shamsaie Mehrgan, M. (2015). The Effect of Replacing Fish Meal in the Diet with Enzyme-Treated Soybean Meal (HP310) on Growth and Body Composition of Rainbow Trout Fry. *Molecules*, 20(12), 21058-21066.

- Haghighi, M. and Rohani, M. S. (2013). The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Medicinal Plant and Herbal Therapy Research*, 1(1), 8-12.
- Haghighi, M., Sharif Rohani, M., Samadi, M., Tavoli, M., Eslami, M. and Yusefi, R. (2014). Study of effects *Aloe vera* extract supplemented feed on hematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(6), 2143-2154.
- Halliwell, B. E. (1989). Lipid peroxidation: a radical chain reaction. *Free radicals in biology and medicine*.
- Hamed, H. S. (2016). Ameliorative effects of *Spirulina platensis* on deltamethrin-induced biochemical alterations and oxidative stress in the African catfish; *Clarias gariepinus*. *Clarias gariepinus*, 1-10.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M. S. (2010). Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology*, 28(2), 354-361.
- Hatten, F., Fredriksen, Å., Hordvik, I., and Endresen, C. (2001). Presence of IgM in cutaneous mucus, but not in gut mucus of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Serum IgM is rapidly degraded when added to gut mucus. *Fish & shellfish immunology*, 11(3), 257-268.
- Hébert, E. (2000). Endogenous lectins as cell surface transducers. *Bioscience reports*, 20(4), 213-237.
- Heidarieh, M., Mirvaghefi, A. R., Akbari, M., Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A. A., and Behgar, M. (2012). Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish physiology and biochemistry*, 38(4), 1169-1174.
- Hellio, C., Pons, A. M., Beaupoil, C., Bourgougnon, N., and Le Gal, Y. (2002). Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of extracts from fish epidermis and epidermal mucus. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20(3), 214-219.
- Hibiya T (ed.) (1994). An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany. 5–125.
- Higgs, D. A., Markert, J. R., MacQuarrie, D. W., McBride, J. R., Dosanjh, B. S., Nichols, C., and Hoskins, G. (1979). Development of practical dry diets for Coho Salmon using poultry-by-product meal, feather meal, soybean

- meal and rapeseed meal as major protein sources. *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*. Heenemann Verlagsgesellschaft MbH, Berlin, 3-68.
- Hjelmeland, K., Huse, I., Jørgensen, T., Molvik, G., and Raa, J. (1984). Trypsin and trypsinogen as indices of growth and survival potential of cod (*Gadus morhua* L.) larvae. In: *The propagation of cod Gadus morhua L.: an international symposium*, Arendal, 14-17 June 1983.
- Holland, M. C. H., and Lambris, J. D. (2002). The complement system in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology*, 12(5), 399-420.
- Hussain, J., Khan, A. L., Rehman, N., Hamayun, M., Shah, T., Nisar, M., Bano, T., Shinwari, Z. K., and Lee, I. (2009). Proximate and nutrient analysis of selected vegetable species: A case study of Karak region, Pakistan. *African Journal of Biotechnology*, 8(12), 2725-2729.
- Iqbal, K. J., Ashraf, M., Javid, A., Khan, N., Abbas, F., Hafeez-ur-Rehman, M., Rafique, M. K., Rasool, F., Azmat, H., Altaf, M. and Irfan. (2016). Effect of Different Plant and Animal Origin (Fishmeal) Feeds on Digestive Enzyme Activity and Haematology of Juvenile *Labeo rohita*. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(1), 201-207.
- Jain, S. K. (1998). Glutathione and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency can increase protein glycosylation. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(1), 197-201.
- Jalili, R., Noori, F., and Agh, N. (2012). Effects of dietary protein source on growth performance, feed utilization and digestive enzyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Biological Sciences*, 6(3), 61-68.
- Jalili, R., Tukmechi, A., Agh, N., Noori, F., and Ghasemi, A. (2013). Replacement of dietary fish meal with plant sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); effect on growth performance, immune responses, blood indices and disease resistance. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(3), 577-591.
- Jan, R., Seema, Saxena, D.C. and Singh, S. (2013). Pasting and Thermal Properties of Starch Extracted from *Chenopodium Album* Grain. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4(10), 981-988.
- Javaid, A., and Amin, M. (2009). Antifungal activity of methanol and n-hexane extracts of three *Chenopodium* species against *Macrophomina phaseolina*. *Natural product research*, 23(12), 1120-1127.
- Jenkins, P. G., Wrathmell, A. B., Harris, J. E., and Pulsford, A. L. (1994). Systemic and mucosal immune responses to enterically delivered antigen in

- Oreochromis mossambicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 4(4), 255-271.
- Johnston, J. R. (1978). Oxygen metabolism and the microbicidal activity of macrophages. In *Federation Proceedings* (Vol. 37, No. 13, pp. 2759-2764).
- Jollès, P., and Jollès, J. (1984). What's new in lysozyme research?. *Molecular and cellular biochemistry*, 63(2), 165-189.
- Jones, D. R., Hannan, C. M., Russell-Jones, G. J., and Raison, R. L. (1999). Selective B cell non-responsiveness in the gut of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 172(1), 29-39.
- Katzenback, B. A., Katakura, F., and Belosevic, M. (2012). Regulation of teleost macrophage and neutrophil cell development by growth factors and transcription factors. In *New Advances and Contributions to Fish Biology*. InTech.
- Kaur, S. and Shri, R. (2015). *Chenopodium album* L.- ethnobotany, phytochemistry and pharmacology – a review. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 5(4), 267-277.
- Khan, M. S. K., Siddique, M. A. M., and Zamal, H. (2013). Replacement of fish meal by plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet: growth performance and utilization. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4), 864-872.
- Khare, C. P. (2007). Indian medicinal plants. Springer International Publication, New Delhi, 141-142.
- Khoobchandani, M., Ojeswi, B. K., Sharma, B., and Srivastava, M. M. (2009). *Chenopodium album* prevents progression of cell growth and enhances cell toxicity in human breast cancer cell lines. *Oxidative Medicine and cellular longevity*, 2(3), 160-165.
- Kishimura, H., and Hayashi, K. (2002). Isolation and characteristics of trypsin from pyloric ceca of the starfish *Asterina pectinifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 132(2), 485-490.
- Klebanoff, S. J. (1968). Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system. *Journal of bacteriology*, 95(6), 2131-2138.
- Korcan, S. E., Aksoy, O., Erdoğan, S. F., Cığerci, İ. H., and Konuk, M. (2013). Evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA protective capacity of *Chenopodium album*'s ethanolic leaf extract. *Chemosphere*, 90(2), 374-379.

- Krogdahl, Å., Hemre, G. I., and Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture nutrition*, 11(2), 103-122.
- Krogdahl, Å., Lea, T. B., and Olli, J. J. (1994). Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 107(1), 215-219.
- Krome, C. A., Jauncey, K., and Focken, U. (2016). Jatropha curcas kernel meal as a replacement for fishmeal in practical Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* feeds. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation*, 9(3), 590-596.
- Kumar, I. V., Chelladurai, G., Veni, T., Peeran, S. S. H., and Mohanraj, J. (2014). Medicinal plants as immunostimulants for health management in Indian cat fish. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(6), 426-430.
- Kumar, S., and Kumar, D. (2009). Antioxidant and free radical scavenging activities of edible weeds. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9(5), 1174-1190.
- Kumar, S., Biswas, S., Mandal, D., Roy, H. N., Chakraborty, S., Kabir, S. N., Banerjee, S. and Mondal, N. B. (2007). Chenopodium album seed extract: a potent sperm-immobilizing agent both in vitro and in vivo. *Contraception*, 75(1), 71-78.
- Kurokawa, T., Uji, S., and Suzuki, T. (2005). Identification of pepsinogen gene in the genome of stomachless fish, Takifugu rubripes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 140(1), 133-140.
- Kuthan, H., Haussmann, H. J., and Werringloer, J. (1986). A spectrophotometric assay for superoxide dismutase activities in crude tissue fractions. *Biochemical Journal*, 237(1), 175-180.
- Kuz'mina, V. V. (1996). Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. *Aquaculture*, 148(1), 25-37.
- Kuz'mina, V. V., and Smirnova, Y. G. (1992). Distribution of alkaline phosphatase activity along the length of the intestine of freshwater teleosts. *Journal of Ichthyology C/C of Voprosy Ikhtiologii*, 32, 1-9.
- Larsen, A. N., Solstad, T., Svineng, G., Seppola, M., and Jørgensen, T. Ø. (2009). Molecular characterisation of a goose-type lysozyme gene in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Fish & shellfish immunology*, 26(1), 122-132.

- Larsson, M., Rossander-Hulthén, L., Sandström, B., and Sandberg, A. S. (1996). Improved zinc and iron absorption from breakfast meals containing malted oats with reduced phytate content. *British Journal of Nutrition*, 76(5), 677-688.
- Lau, D., Mollnau, H., Eiserich, J. P., Freeman, B. A., Daiber, A., Gehling, U. M., Brümmer, J., Rudolph, V., Münzel, T., Heitzer, T., Meinertz T. and Baldus, S., (2005). Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(2), 431-436.
- Lazzari, R., Radünz Neto, J., Pedron, F. D. A., Loro, V. L., Pretto, A., and Gioda, C. R. (2010). Protein sources and digestive enzyme activities in jundiá (*Rhamdia quelen*). *Scientia Agricola*, 67(3), 259-266.
- Lech, G. P., and Reigh, R. C. (2012). Plant products affect growth and digestive efficiency of cultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed compounded diets. *PLOS One*, 7(4), e34981.
- Lemieux, H., Blier, P., and Dutil, J. D. (1999). Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)?. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20(4), 293-303.
- Leonard R. Johnson (Ed.). (2004). Encyclopedia of gastroenterology (Vol. 2). Academic Press.
- Lewis, S.M., Bain, B.J. and Bates, I. (2006). Dacie and Lewis Practical Haematology. 10 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier. 221 pp.
- Li, Z. H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., and Randak, T. (2010). Modulation of antioxidant defence system in brain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after chronic carbamazepine treatment. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 151(1), 137-141.
- Liaset, B., Madsen, L., Hao, Q., Ciales, G., Mellgren, G., Marschall, H. U., Hallenborg, P., Espe, M., Frøyland, L., and Kristiansen, K. (2009). Fish protein hydrolysate elevates plasma bile acids and reduces visceral adipose tissue mass in rats. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(4), 254-262.
- Lie, O., Evensen, O., Sorensen, A., and Froysadal, E. (1989). Study on lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 6(1), 1-5.

- Lim, S. J., and Lee, K. J. (2009). Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 290(3), 283-289.
- Lim, S. J., Kim, S. S., Ko, G. Y., Song, J. W., Oh, D. H., Kim, J. D., Kim, J.U. and Lee, K. J. (2011). Fish meal replacement by soybean meal in diets for Tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Aquaculture*, 313(1), 165-170.
- Livingstone, D. R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire*, 154(6), 427-430.
- Lu, S. C. (1999). Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *The FASEB Journal*, 13(10), 1169-1183.
- Lumsden, J. S., Ostland, V. E., Byrne, P. J., and Ferguson, H. W. (1993). Detection of a distinct gill-surface antibody response following horizontal infection and bath challenge of brook trout *Salvelinus fontinalis* with *Flavobacterium branchiophilum*, the causative agent of bacterial gill disease. *Diseases of aquatic organisms*, 16(1), 21-27.
- Luo, L., Xue, M., Wu, X., Cai, X., Cao, H., and Liang, Y. (2006). Partial or total replacement of fishmeal by solvent-extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 12(6), 418-424.
- Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101(1), 13-30.
- Lydyard, P. M., Whelan, A., and Fanger, M. W. (2004). Immunology, Instant Notes. *Bios Scientific, London*.
- MacCrimmon, H. R. (1971). World distribution of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 28(5), 663-704.
- Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish & shellfish immunology*, 20(2), 137-151.
- Maier, V. H., Dorn, K. V., Gudmundsdottir, B. K., and Gudmundsson, G. H. (2008). Characterisation of cathelicidin gene family members in divergent fish species. *Molecular immunology*, 45(14), 3723-3730.
- Manal, I. (2016). Detoxification and antioxidant effects of garlic and curcumin in *Oreochromis niloticus* injected with aflatoxin B1 with reference to gene expression of glutathione peroxidase (GPx) by RT-PCR. *Fish physiology and biochemistry*, 42(2), 617-629.

- Manning MJ, and Nakanishi T (1996): Cellular defenses. In: Iwama GK, Nakanishi T (eds.): Fish Fisiology. XV. The fish immune system. Academic press. London, England. 159–205.
- Manno, M., Bertazzon, A., Burlina, A., and Galzigna, L. (1985). Interaction of low doses of ionizing radiation and carbon tetrachloride on liver superoxide dismutase and glutathione peroxidase in mice. *Enzyme*, 34(2), 107-112.
- Marfo, E. K., Simpson, B. K., Idowu, J. S., and Oke, O. L. (1990). Effect of local food processing on phytate levels in cassava, cocoyam, yam, maize, sorghum, rice, cowpea, and soybean. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1580-1585.
- Mattill, H. A. (1947). Antioxidants. *Annual review of biochemistry*, 16(1), 177-192.
- Medzhitov, R., and Janeway, C. A. (2002). Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, 296(5566), 298-300.
- Melo, J. F. B., Lundstedt, L. M., Moraes, G., and Inoue, L. A. K. A. (2012). Effect of different concentrations of protein on the digestive system of juvenile silver catfish. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(2), 450-457.
- Metwally, M. A. A. (2009). Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of fish and marine sciences*, 1(1), 56-64.
- Mohebbi, A., Nematollahi, A., Dorcheh, E. E., and Asad, F. G. (2012). Influence of dietary garlic (*Allium sativum*) on the antioxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 43(8), 1184-1193.
- Mondal, K., Kaviraj, A., and Mukhopadhyay, P. K. (2012). Effects of partial replacement of fishmeal in the diet by mulberry leaf meal on growth performance and digestive enzyme activities of Indian minor carp *Labeo bata*. *International Journal of Aquatic Science*, 3(1), 72-83.
- Moriarty, D. J. W. (1973). The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish, *Tilapia nilotica*. *Journal of Zoology*, 171(1), 25-39.
- Msangi, S., Kobayashi, M., Batka, M., Vannuccini, S., Dey, M. M., and Anderson, J. L. (2013). Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture. *World Bank Report*, (83177-GLB), 102.
- Muñoz, M., Cedeño, R., Rodríguez, J., van der Knaap, W. P., Mialhe, E., and Bachère, E. (2000). Measurement of reactive oxygen intermediate production in

haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 191(1-3), 89-107.

Murashita, K., Fukada, H., Takahashi, N., Hosomi, N., Matsunari, H., Furuita, H., Oku, H. and Yamamoto, T. (2015). Effect of Feed Ingredients on Digestive Enzyme Secretion in Fish. *Bulletin of Fisheries Research Agency*, 40, 69-74.

Nalinanon, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Kishimura, H. (2007). Use of pepsin for collagen extraction from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*, 104(2), 593-601.

Narvaez, E., Berendsen, J., Guzmán, F., Gallardo, J. A., and Mercado, L. (2010). An immunological method for quantifying antibacterial activity in *Salmo salar* (Linnaeus, 1758) skin mucus. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(1), 235-239.

Nelson, D. L. and Cox, M. M. (2011). *Lehninger: principles of biochemistry*, Porto Alegre: Artmed, 5, 1274p.

Nigam, V., and Paarakh, P. M. (2011). Hepatoprotective activity of *Chenopodium album* Linn. against paracetamol induced liver damage. *Pharmacologyonline*, 3, 312-328.

Nigam, V., and Paarakh, P. M. (2013). Evaluation of antidiarrheal activity of hydro alcoholic extract of *Chenopodium album* (L.). *International Journal of Natural Products and Resources*, 4(1), 61-66.

Nowier, S.R., Kashmiry, N.K., Abdel Rasool, H.A., Morad, H. and Ismail, S. (2009). Association of type 2 diabetes mellitus and glutathione-S-transferase (GSTM1 and GSTT1) genetic polymorphism. *Research journal of medicine and medical sciences*, 4(2), 181-188.

Ogiwara, K., and Takahashi, T. (2007). Specificity of the medaka enteropeptidase serine protease and its usefulness as a biotechnological tool for fusion-protein cleavage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(17), 7021-7026.

Okumuş, İ. (2002). Rainbow trout broodstock management and seed production in Turkey: Present practices, constraints and the future. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2(1), 41-56.

Olsen, R. E., and Henderson, R. J. (1997). Muscle fatty acid composition and oxidative stress indices of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in relation to dietary polyunsaturated fatty acid levels and temperature. *Aquaculture Nutrition*, 3(4), 227-238.

- Olsen, R. L., and Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*, 27(2), 120-128.
- Osuigwe, D. I., Nwosu, C., and Ogunji, J. O. (2007). Preliminary observations on some haematological parameters of juvenile *Heterobranchius longifilis* fed different dietary levels of raw and bioled jackbean (*Canavalia ensiformis*) seed meal. In *Proceedings of Conference of International Agricultural Research Development* (p. 6).
- 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).
- Padarathi, P. K., Jagatheesh, K., Kowsalya, R., Babu, C. M., and Namasivayam, E. (2013). Protective effect of *Chenopodium album* ethanolic extract against aspirin induced peptic ulcer in rat model. *International Journal of Phytopharmacology*, 4(2), 99-105.
- Pal, A., Banerjee, B., Banerjee, T., Masih, M., and Pal, K. (2011). Hepatoprotective activity of *Chenopodium album* Linn. plant against paracetamol induced hepatic injury in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 55-57.
- Papoutsoglou, E. S., and Lyndon, A. R. (2003). Distribution of α -amylase along the alimentary tract of two Mediterranean fish species, the parrotfish *Sparisoma cretense* L. and the stargazer, *Uranoscopus scaber* L. *Mediterranean Marine Science*, 4(2), 115-124.
- Pascual, P., Pedrajas, J. R., Toribio, F., López-Barea, J., and Peinado, J. (2003). Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-biological interactions*, 145(2), 191-199.
- Pereira, L. F. F. (2014). Growth performance, antioxidant and innate immune responses in european seabass fed probiotic supplemented diet at three rearing temperatures.
- Peteri, A., Nandi, S., and Chowdhury, S. N. (1992). Manual on seed production of carps. *Fisheries and Aquaculture Department Rome*. 59.1-8.
- Piccinno, M., Schiavone, R., Zilli, L., Sicuro, B., Storelli, C., and Vilella, S. (2013). Sea cucumber meal as alternative protein source to fishmeal in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) nutrition: effects on growth and welfare. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(2), 305-313.

- Pompella, A., Visvikis, A., Paolicchi, A., De Tata, V., and Casini, A. F. (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical pharmacology*, 66(8), 1499-1503.
- Prakash, D., Nath, P., and Pal, M. (1993). Composition, variation of nutritional contents in leaves, seed protein, fat and fatty acid profile of chenopodium species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(2), 203-205.
- Priya, S., Yogesh, S., Singhai, A. K. and Abhishek, S. (2010). Pharmacological and phytochemical profile of *Chenopodium album* linn. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 3(4), 960-963.
- Priyadarshini, M., Manissery, J. K., Gangadhara, B., Rao, L. M., and Keshavanath, P. (2015). Growth Performance, Body Composition and Digestive Enzyme Activity of Common carp (*Cyprinus carpio*) Fry Fed on Soybean and Horse Gram Supplemented diets. *International Journal of Aquaculture*, 5(17), 1-7.
- Pryor, W. A. (1978). The formation of free radicals and the consequences of their reactions in vivo. *Photochemistry and photobiology*, 28(4-5), 787-797.
- Quade, M. J., and Roth, J. A. (1997). A rapid, direct assay to measure degranulation of bovine neutrophil primary granules. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 58(3), 239-248.
- Ray, A. K. (1988). On the digestive enzymes in three Indian freshwater perches in relation to food and feeding habits. *Journal of the Inland Fisheries Society of India (India)*, 20, 1-5.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology*. John Wiley & Sons.
- Robinson, J. M. (2008). Reactive oxygen species in phagocytic leukocytes. *Histochemistry and cell biology*, 130(2), 281-297.
- Roch, P. (1999). Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. *Aquaculture*, 172(1-2), 125-145.
- Rombout, J. H. W. M., Huttenhuis, H. B. T., Picchietti, S., and Scapigliati, G. (2005). Phylogeny and ontogeny of fish leucocytes. *Fish & shellfish immunology*, 19(5), 441-455.
- Rombout, J. W., Blok, L. J., Lamers, C. H., and Egberts, E. (1986). Immunization of carp (*Cyprinus carpio*) with a *Vibrio anguillarum* bacterin: indications for a common mucosal immune system. *Developmental & Comparative Immunology*, 10(3), 341-351.
- Russell, S., and Lumsden, J. S. (2005). Function and heterogeneity of fish lectins. *Veterinary immunology and immunopathology*, 108(1), 111-120.

- Sabapathy, U., and Teo, L. H. (1993). A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lateolabrax niloticus*. *Journal of Fish Biology*, 42(4), 595-602.
- Şahan, A., Özütok, S., and Kurutaş, E. B. (2016). Determination of Some Hematological Parameters and Antioxidant Capacity in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Fed Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) to *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(1), 197-204.
- Sahoo, P. K., Kumari, J., and Mishra, B. K. (2005). Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2), 151-155.
- Sakai, D. K. (1992). Repertoire of complement in immunological defense mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 223-247.
- Salze, G. P., and Davis, D. A. (2015). Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*, 437, 215-229.
- Saurabh, S., and Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39(3), 223-239.
- Saxena, A. K., Srivastava, P., Kale, R. K., and Baquer, N. Z. (1993). Impaired antioxidant status in diabetic rat liver: Effect of vanadate. *Biochemical pharmacology*, 45(3), 539-542.
- Scibior, D., and Cieczot, H. (2006). Katalaza–budowa, właściwości, funkcje [Catalase: structure, properties, functions]. *Postępy Hig Med Dosw (Online)*, 60, 170-180.
- Scott, A. L., and Rogers, W. A. (1981). Histological effects of prolonged sublethal hypoxia on channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Journal of Fish Diseases*, 3(4), 305-316.
- Searle, A. J., and Willson, R. L. (1980). Glutathione peroxidase: effect of superoxide, hydroxyl and bromine free radicals on enzyme activity. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*, 37(2), 213-217.
- Secombes, C. J. and Fletcher, T. C. (1992). The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 53-71.
- Secombes, C. J. (1990). Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. *Techniques in fish immunology*, 1, 137-154.

- Secombes, C. J., Bird, S., and Zou, J. (2005). Adaptive immunity in teleosts: cellular immunity. *Developments in biologicals*, 121, 25-32.
- Shahidi, F., and Kamil, Y. J. (2001). Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 12(12), 435-464.
- Siddiqui, M. I., Khan, M. A., and Siddiqui, M. I. (2014). Effect of soybean diet: Growth and conversion efficiencies of fingerling of stinging cat fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal of King Saud University-Science*, 26(2), 83-87.
- Singh, K. P., Dwevedi, A. K., and Dhakre, G. (2011). Evaluation of antibacterial activities of chenopodium album L. *International journal of applied biology and pharmaceutical technology*, 2(3), 398-401.
- Sitjà-Bobadilla, A., Peña-Llopis, S., Gómez-Requeni, P., Médale, F., Kaushik, S., and Pérez-Sánchez, J. (2005). Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249(1), 387-400.
- Smith, L. S. (1989). Digestive functions in teleost fishes. *Fish nutrition*, 2, 331-421.
- Soltan, M. A., Hanafy, M. A., and Wafa, M. I. A. (2008). Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Global Veterinaria*, 2(4), 157-164.
- Sönmez, A. Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., and 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(1), 165-175.
- Sood, P., Modgil, R., Sood, M., and Chuhan, P. K. (2012). Anti-nutrient profile of different *Chenopodium* cultivars leaves. *Annals Food Science and Technology*, 13(1), 68-74.
- Subasinghe, R., Soto, D., and Jia, J. (2009). Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 2-9.
- Subramanian, S., Ross, N. W., and MacKinnon, S. L. (2008). Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 150(1), 85-92.
- Sun, B. J., Wang, G. L., Xie, H. X., Gao, Q., and Nie, P. (2006). Gene structure of goose-type lysozyme in the mandarin fish *Siniperca chuatsi* with analysis on the lytic activity of its recombinant in *Escherichia coli*. *Aquaculture*, 252(2-4), 106-113.

- Sveinbjornsson, B., Olsen, R., and Paulsen, S. (1996). Immunocytochemical localization of lysozyme in intestinal eosinophilic granule cells (EGCs) of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 19(5), 349-355.
- Tekinay, A.A. and Davies, S.J. (2001). Dietary carbohydrate level influencing feed intake, nutrient utilisation and plasma glucose concentration in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25(5), 657-666.
- Ueberschär, B., and Clemmesen, C. (1992). A comparison of the nutritional condition of herring larvae as determined by two biochemical methods—tryptic enzyme activity and RNA/DNA ratio measurements. *ICES Journal of Marine Science*, 49(2), 245-249.
- Ugolev, A. M., and Kuz'mina, V. V. (1994). Fish enterocyte hydrolases. Nutrition adaptations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 107(1), 187-193.
- Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R., and Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinari Medicina*, 56(10), 486-503.
- Usman, L. A., Hamid, A. A., Muhammad, N. O., Olawore, N. O., Edewor, T. I., and Saliu, B. K. (2010). Chemical constituents and anti-inflammatory activity of leaf essential oil of Nigerian grown *Chenopodium album* L. *EXCLI journal*, 9, 181-186.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., and Scoullos, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 64(2), 178-189.
- Vasta, G. R., Nita-Lazar, M., Giomarelli, B., Ahmed, H., Du, S., Cammarata, M., Parrinello, N.; Bianchet, M. A. and Amzel, L. M. (2011). Structural and functional diversity of the lectin repertoire in teleost fish: relevance to innate and adaptive immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1388-1399.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H. N., and Diniz, M. (2012). Effect of temperature on oxidative stress in fish: lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Ecological indicators*, 23, 274-279.

- Wang, Y., Guo, J. L., Bureau, D. P., and Cui, Z. H. (2006). Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients in feeds for cuneate drum (*Nibea miichthioides*). *Aquaculture*, 252(2), 476-483.
- Wang, Y., Liang, J. P., Duan, Y. F., Niu, J., Wang, J., Huang, Z., and Lin, H. Z. (2017). Effects of dietary *Rhodiola rosea* on growth, body composition and antioxidant capacity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal conditions and combined stress of low-salinity and nitrite. *Aquaculture Nutrition*, 23(3), 548-559.
- Webster, C. D., and Lim, C. (Eds.). (2002). *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*. Cabi.
- Wells, P. G., McCallum, G. P., Chen, C. S., Henderson, J. T., Lee, C. J., Perstin, J., Preston T.J., Wiley M.J., and Wong, A. W. (2009). Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. *Toxicological sciences*, 108(1), 4-18.
- Whitaker, J. R. (1994). *Principles of enzymology for the food sciences*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York.
- Wiseman, H., and Halliwell, B. (1996). Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*, 313(Pt 1), 17-29.
- Worthington, C. C. (1991). *Worthington enzyme manual related Biochemical*. Freehold, New Jersey, USA.
- Worthington, V. (1993). *Worthington Enzyme Manual. Enzymes and Related Biochemicals* Worthington Chemical, New Jersey, US. 399 pp.
- Wu, C. C., Liu, C. H., Chang, Y. P., & Hsieh, S. L. (2010). Effects of hot-water extract of *Toona sinensis* on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology*, 29(2), 258-263.
- Xiong, D. M., Xie, C. X., Zhang, H. J., and Liu, H. P. (2011). Digestive enzymes along digestive tract of a carnivorous fish *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 95(1), 56-64.
- Xu, Q. Y., Wang, C. A., Zhao, Z. G., and Luo, L. (2012). Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for Juvenile Amur Sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25(11), 1588-1594.

- Yaghoubi, M., Mozanzadeh, M. T., Marammazi, J. G., Safari, O., and Gisbert, E. (2016). Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). *Aquaculture*, 464, 50-59.
- Yagi, K. (1984). Assay for plasma lipid peroxides. *Methods Enzymol*, 109, 328-331.
- Yano, T. (1996). The nonspecific immune system: Humoral defence. In: Iwama G, Nakanishi T (eds.): *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press, San Diego. 105–157.
- Ye, J., Liu, X., Wang, Z., and Wang, K. (2011). Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture international*, 19(1), 143-153.
- Yin, G., Ardó, L. Á. S. Z. L. Ó., Thompson, K. D., Adams, A., Jeney, Z., and Jeney, G. (2009). Chinese herbs (Astragalus radix and Ganoderma lucidum) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26(1), 140-145.
- Yue, F., Pan, L., Miao, J., Zhang, L., and Li, J. (2010). Molecular cloning, characterization and mRNA expression of two antibacterial peptides: crustin and anti-lipopolysaccharide factor in swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 156(2), 77-85.
- Zhao, L., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, M. S., and Dave, D. (2011). Extraction, purification and characterization of fish pepsin: a critical review. *Journal of Food Processing and Technology*, 2(6), 2-6.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Iman AMHAMED
Doğum Yeri ve Yılı : 1982 – Zentan
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce, Türkçe
E-posta : mohammedemhemed06@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Mohammed Al-Emam (1999-2000)
Lisans : Al-Jabal Al-Gharbi Üniversitesi (2003-2004)
Master degree : Cairo Üniversitesi (2011)

Deneyim

Çalışma Yeri : Al-Jabal Al-Gharbi Üniversitesi

Uluslararası hakemli dergide yayınlanan makaleler

Kamel, Z.H., Daw, I., Marzouk, M. (2011). Effect of Cichorium endivia leaves on some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 5(7):387-396.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Özet Kitabında Basılan Bildiriler

Almabrok, A.A., Daw Amhamed, I., Mohamed, G.A., Bilen, S. (2018). Innate Immune and Hematological Responses to Tilia tomentosa Methanolic Extract in Common Carp (Cyprinus carpio) Juveniles. 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan 2018., pp 328.

Mohamed, G.A., Daw Amhamed, I., Almabrok, A.A., Bilen, S. (2018). Innate Immune and Hematological Responses to *Chenopodium album* Methanolic Extract in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Juveniles. 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan 2018., pp 365.

Daw Amhamed, I., Mohamed, G.A., Bilen, S., Almabrok, A.A., (2018). Digestive Enzyme Activity and Growth Performance of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fed Diet Supplemented with Celery (*Apium graveolens*) Extract. 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan, pp 391.

Mohamed, G.A., Daw Amhamed, I., Almabrok, A.A., Bilen, S., (2018). The Methanolic Extract of *Chenopodium album* and its Effect on Digestive Enzymes Activity and the Growth Performance Response in Common carp (*Cyprinus carpio*) Juveniles. 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan, pp 392.

Daw Amhamed, I., Mohamed, G.A., Almabrok, A.A., Bilen, S., (2018). Immune and Haematological Responses of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fed Diet Supplemented with Celery (*Apium graveolens*) Extract. 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan, pp 394.

Almabrok, A.A., Mohamed, G.A., Daw Amhamed, I., Bilen, S., (2018). The Effects of *Tilia tomentosa* on the Growth Performances and Digestive Enzyme Activity in Common Carp (*Cyprinus carpio*). 1st International Congress on Engineering and Life Science, Kastamonu, TURKEY, 26-29 Nisan, pp 402.