

**FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇÖREKOTU (*Nigella sativa*, L) YAĞININ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'NİN İMMÜN SİSTEMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI.**

DOKTORA TEZİ

Yük. Müh. Başar ALTINTERİM

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Programı: Balık Hastalıkları

Mart-2010

ÖNSÖZ

Çalışmasını gerçekleştirdiğim fitoterapi (bitkisel tedavi) uygulaması, bitkilerin ve doğal ürünlerinin su ürünlerinde uygulanması ve özellikle sürerek uygulanması bakımından bir ilktir. Çörekotu yağının koruyucu amaçlı olarak alabalıklarda kullanımında immünostimulan etkilerinin farklı yöntemlerle oluşturduğu değişiklikleri ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Bitki ve mamullerinin hem tedavi hemde koruyucu olarak balıklarda kullanımı teşvik edilmelidir. Tez çalışması sırasında ve her zaman yardımlarını esirgemeyen ve beni bugünlere getiren aileme başta olmak üzere, danışman hocam Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ'ye, teşekkürü bir borç bilirim.

Başar ALİNERİM
ELAZIĞ-2010

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çörekotunun Tarihçesi.....	4
1.2. Genel Özellikleri.....	5
1.3. Biyokimyasal yapısı.....	6
1.4. İçerdiği maddelerin gösterdiği farmakolojik etkileri.....	6
1.5. Yan etkileri.....	7
1.6. Çörekotu'nun içeriği.....	7
1.7. Çörekotunun ihtiva ettiği maddelerin özellikleri.....	8
1.7.1. Vitamin A (retinol).....	8
1.7.2. Vitamin B1 (Tiamin).....	8
1.7.3. Vitamin B2 (Riboflavin).....	8
1.7.4. Vitamin B3 (Nikotinik asit, Niasin).....	8
1.7.5. Vitamin C (Askorbik Asit).....	9
1.7.6. Kalsiyum.....	9
1.7.7. Potasyum.....	9
1.7.8. Demir.....	10
1.7.9. Selenyum.....	10
1.7.10. Magnezyum.....	10
1.7.11. Çinko.....	10
1.8. Çörekotu ve yağı ile yapılmış çalışmalar.....	11
1.9. Balıklarda immünite.....	14
1.9.1. Doğal immünite.....	16
1.9.2. Edinsel immünite.....	17
1.9.2.1. Hümorale immünite.....	17
1.9.2.2. Hücresele immünite.....	17
1.9.3. İmmün yanıtta rol oynayan lenfoid organlar.....	18
1.9.4. İmmün sistem hücreleri.....	18
1.9.5. Doğuştan immünitenin belirleyicileri ve işaretçileri.....	19
1.9.5.1. Fagositler.....	20
1.9.5.2. Antiviral ve antibakteriyel peptitler.....	20
1.9.5.3. Komplemant aktiviteleri.....	21
1.9.5.4. Spesifik olmayan sitotoksik aktiviteleri.....	21
1.9.5.5. Sitokinler.....	21
1.9.6. Edinsel immünite işaretçiler ve determinantlar.....	22
1.9.7. Spesifik antikorlar: İmmünoglobülinler (Ig) ve B-hücreler.....	23
1.9.8. Hücresele tanıma.....	23

1.9.8.1. T-hücreler.....	23
1.9.8.2. T-hücre reseptörleri (TcR).....	24
	<u>Sayfa No</u>
1.9.8.3. Rekombinasyon aktive edilen genler: (RAG1 ve RAG).....	25
1.9.8.4. Spesifik yok ediciler.....	25
1.9.8.4.1. MHC sınıf I.....	25
1.9.8.4.2. CD8 ⁺ co-reseptörleri (öncül reseptörler).....	26
1.9.8.5. Yardımcı aktiviteler.....	26
1.9.8.5.1. MHC sınıf II.....	26
1.9.8.5.2. CD4 ⁺	27
1.9.8.5.3. IFN- γ	27
1.9.8.6. Edinsel yanıtaki sitokinler	29
1.9.8.6.1. İnterlökin-2.....	29
1.9.8.6.2. İnterlökin-4.....	29
1.9.8.6.3. İnterlökin-10.....	30
1.9.8.6.4. İnterlökin-15.....	30
1.9.8.6.5. İnterlökin-21.....	31
1.9.8.6.6. İnterlökinler-22 ve İnterlökinler-26.....	31
1.9.8.6.7. Makrofaj-koloni uyarıcı faktör (M-CSF).....	32
1.9.8.6.8. Dönüşümlü b büyüme faktörü β (TGF β).....	32
1.10. İmmünostimulantlar.....	33
1.10.1. İmmünostimulant kullanımının gerektiği durumlar.....	34
1.10.2. İmmünostimulantların yararları.....	34
1.10.3. İmmünostimulantlarda aranan özellikler.....	35
1.10.4. İmmünostimulantların veriliş yollarına göre etkileri.....	36
1.10.4.1. Besleme	36
1.10.4.2. Banyo (Daldırma).....	37
1.10.4.3. Enjeksiyon.....	38
1.10.4.4. Sürme.....	38
1.11. Balıklarda kullanılan kimyasal ve bitkisel immünostimulantlar	39
1.11.1. Balıklarda kullanılan kimyasal immünostimulantlar.....	41
1.11.2. Balıklarda kullanılan bitkisel immünostimulantlar.....	41
1.12. Bitkisel immünostimulantların kimyasal immünostimulantlardan farkı.....	44
1.13. Esas immünolojik fonksiyon.....	44
1.14. Dozlar.....	44
2. MATERYAL VE METOT.....	46
2.1. Materyal.....	46
2.1.1. Uygulama Yeri ve Balık.....	46
2.1.2. Çörekotu Materyali.....	47
2.1.3. Su Kalitesi.....	48
2.1.4. Yem.....	48
2.2. Metot.....	49
2.2.1. Uygulama materyalinin hazırlanışı.....	49
2.2.2. Çörekotu yağı Letal Dozları.....	49
2.2.3. Deneysel Plan ve Çörekotu Yağının Balıklara Uygulanması	50
2.2.3.1. Yeme karıştırma.....	51
2.2.3.2. İntraperitoneal Enjeksiyon (İ. P. Enjeksiyon).....	51
2.2.3.3. Çörekotu Yağının Sürülmesi	52

2.2.4.	Kan örneklerinin hazırlanması.....	53
2.2.4.1	Hematokrit (Ht) Düzeyi.....	54
	Sayfa No	
2.2.4.2.	Lökosit (Lt) Düzeyi.....	54
2.2.4.3.	Eritrosit ve Lökosit Düzeyi.....	54
2.2.4.4.	Nitro blue Tetrazolium (NBT) aktivitesi.....	55
2.2.4.5.	Protein Düzeyi.....	55
2.2.4.6.	Toplam İmmünoglobülin Miktarı.....	55
2.2.5.	İstatistik Analizleri.....	55
3.	BULGULAR.....	56
3.1.	Çörekotu yağı uygulanan grupların lökosit değerleri.....	56
3.1.1.	Yeme karıştırılan çörekotu yağının uygulandığı balıkların lökosit değerleri.....	56
3.1.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların lökosit değerleri.....	57
3.1.3.	Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen lökosit değerleri.....	59
3.2.	Çörekotu yağı uygulanan grupların eritrosit değerleri.....	60
3.2.1.	Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grupların eritrosit değerleri.....	60
3.2.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların eritrosit değerleri.....	61
3.2.3.	Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen eritrosit değerleri.....	63
3.3.	Çörekotu yağı uygulanan grupların lökosit ve hematokrit değerleri.....	64
3.3.1.	Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan grupların hematokrit değerleri.....	64
3.3.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların hematokrit değerleri.....	66
3.3.3.	Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen hematokrit değerleri.....	67
3.4.	Çörekotu yağı uygulanan grupların NBT değerleri.....	69
3.4.1.	Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarının NBT değerleri.....	69
3.4.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların NBT değerleri.....	70
3.4.3.	Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen NBT değerleri.....	71
3.5.	Çörekotu yağı uygulanan grupların Toplam protein değerleri.....	73
3.5.1.	Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarının toplam protein değerleri.....	73
3.5.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların toplam protein değerleri.....	74
3.5.3.	Çörekotu yağının deriden sürüldüğü grupların toplam protein değerleri.....	76
3.6.	Çörekotu yağı uygulanan grupların Toplam Ig değerleri.....	77
3.6.1.	Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarının toplam Ig değerleri.....	77
3.6.2.	İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların toplam Ig değerleri.....	79
3.6.3.	Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen toplam Ig değerleri.....	80
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	82
4.1.	Balıklarda kullanılan çörekotu yağının etkileşiminin değerlendirilmesi.....	82

4.1.1.	Lökosit değerlerinin incelenmesi.....	82
4.1.2.	Eritrosit değerlerinin incelenmesi	83
		<u>Sayfa No</u>
4.1.3.	Hematokrit değerlerinin incelenmesi.....	84
4.1.4.	Lökosit değerleri incelenmesi	85
4.1.5.	NBT değerlerinin incelenmesi	86
4.1.6.	Protein değerlerinin incelenmesi.....	87
4.1.7.	Toplam Ig değerlerinin incelenmesi.....	89
5.	ÖNERİLER.....	90
	KAYNAKLAR.....	93
	ÖZGEÇMİŞ.....	116

ÖZET

ÇÖREKOTU (*Nigella sativa*, L) YAĞI'NIN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'NİN İMMÜN SİSTEMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI.

Bu çalışmada çörekotu (*Nigella sativa*, L) yağı'nın gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'nin spesifik olmayan immün sistem parametrelerine etkileri araştırıldı. Araştırmada ortalama ağırlığı 102,30 g (84,2–121,1 g) olan 900 adet gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Çalışmada çörekotu yağı alabalıklara 3 farklı yöntemle verildi. 1. yöntemde çörekotu yağı % 0.1, 1.0 ve 10 oranlarında yeme ml. olarak ilave edilerek 21 gün süreyle alabalıklara verildi. 2. yöntemde çörekotu yağı % 0.1, 1.0 ve 10 oranlarında balık dozları enjeksiyonla alabalıklara uygulandı. 3. yöntemde çörekotu yağının % 0.1, 1.0 ve 10 dozları 3 gün boyunca alabalıkların yanıl çizgisine sürülerek uygulandı. Bu işlemler sonrasında alabalıklardan, 3, 7, 14, 21. günlerde kan örnekleri alındı. Alınan bu örneklerin hematokrit (Ht), lökosit (Lt), eritrosit, lökosit, nitroblue tetrazolium (NBT) aktivitesi, Protein düzeyi ve toplam immünoglobülin seviyeleri belirlendi.

Sonuç olarak, hematokrit, eritrosit, lökosit, NBT seviyelerinin en yüksek seviyeleri, çörekotu yağının balıklara sürülerek uygulamasında tespit edildi. Üç yöntemin uygulandığı farklı grupların lökosit seviyelerinde kayda değer bir değişim bulunmadı. Toplam protein seviyeleri ölçümlerinde besleme yöntemi uygulanan gruplarda en yüksek değerler elde edildi. Toplam Ig seviyeleri incelemelerinde en yüksek değerler enjeksiyon yönteminde elde edildi fakat parabolik bir çizgi izlemediği bununla birlikte sürme uygulamasında parabolik bir eğri tespit edildi. Besleme yöntemi ile verilen gruplarda çörekotu yağının besleyici özelliklerinin minimum oranlarda bile kullanıldığında protein seviyelerini yükseltecek kadar etkili olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Çörekotu tohumu yağı, gökkuşığı alabalığı, *Nigella sativa*, *Oncorhynchus mykiss*, spesifik olmayan immün parametreler, balıkların immün sistemi.

SUMMARY

A STUDY ON THE EFFECT OF BLACK SEEDS (*Nigella sativa*) OIL ON IMMUNE SYSTEM OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

In this study, changes in some non-specific defence mechanisms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to aqueous extracts of *Nigella sativa* were investigated. A total of 900 fish (mean weight 102.30 g) were used in the study. Fish were treated with black seed oil by using 3 different application methods. At first method, the fish were fed with % 0.1, 1.0 ve 10 doses of black seed oil during 21 days period. At second method, % 0.1, 1.0 ve 10 doses of black seed oil was injected to the fish. At third method, % 0.1, 1.0 ve 10 doses of black seed oil were smeared up lateral line of fish during 3 days. After these applications, blood sampels of fish were taken at 3., 7., 14. and 21. days.

Hematocrit (Ht), Leucocrit (Lt), Erythrocyte, Leucocyte, Nitroblue Tetrazolium (NBT) activate, Protein level and Total immünoglobulin levels were determined.

Consequently, the highest levels of hematocrit, erythrocyte, leucocyte, nitroblue tetrazolium (NBT) were occurred at smearing method. Differences in Leucocrit levels of different groups that practiced three method were not important. The highest levels of total protein were occurred at feeding method. The highest levels of total Ig were occurred at injection method but it was not parabolic. Nonetheless smearing method had a parabolic flexuous. It was observed that nutritive characteristics of black seed oil at groups with feeding method were effective by increasing protein levels even in minimum levels.

Key Words: Black seed oil, rainbow trout, *Nigella sativa*, *Oncorhynchus mykiss*, non-specific immune parameters, immune system of fish.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.2.1. Çörekotu çiçeği.....	5
Şekil 1.2.2. Çörekotu tohumları.....	5
Şekil 2.1.1.1. Deneylerde kullanılan tankların ve balıkların genel görünüşü.....	46
Şekil 2.2.3.1.1. Çörekotu yağının yeme karıştırma ile uygulanışı	51
Şekil 2.2.3.2.1. Çörekotu yağının balıklara intraperitoneal (ip) enjeksiyonla uygulanışı.....	52
Şekil 2.2.3.3.1. Çörekotu yağının balıklara sürülmesi.....	53
Şekil 2.2.4.1. Çörekotu yağı uygulanmış balıklardan kan alınışı	54
Şekil 3.1.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	57
Şekil 3.1.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	58
Şekil 3.1.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	59
Şekil 3.2.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	61
Şekil 3.2.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	62
Şekil 3.2.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	63
Şekil 3.3.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.....	65
Şekil 3.3.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.....	66
Şekil 3.3.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.....	68
Şekil 3.4.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yemi uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	69
Şekil 3.4.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	71
Şekil 3.4.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	72
Şekil 3.5.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri	74
Şekil 3.5.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.....	75
Şekil 3.5.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.....	76
Şekil 3.6.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	78
Şekil 3.6.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	79

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.6.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	81

TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.8.1. Türkiye de yetişen Çörekotu'nun değerleri.....	14
Tablo 1.9.5.1.1. Balıklarda araştırılmış doğuştan immün aktivitenin ana unsurları.....	20
Tablo 1.9.6.1. Balıklarda araştırılan edinsel immünite parametreleri.....	22
Tablo 1.11.1. Balıklarda kullanılan bitkisel ve hayvansal immünostimulantlar.....	40
Tablo 2.1.2.1. Çörekotu yağının amino asit değerleri	47
Tablo 2.1.2.2. Çörekotu yağının yağ asitleri değerleri.....	47
Tablo 2.1.2.3. Çörekotu yağındaki eser element değerleri.....	48
Tablo 2.1.2.4. Çörekotu yağının içindeki mineraller.....	48
Tablo 2.1.2.5. Çörekotu yağının vitamin değerleri.....	48
Tablo 2.2.3.1. Deneme gurupları.....	50
Tablo 3.1.1.1. Yeme karıştırma yoluyla çörekotu (<i>Nigella sativa</i> L.) yağı uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	56
Tablo 3.1.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	58
Tablo 3.1.3.1. Sürerek çörekotu (<i>Nigella sativa</i> L.) yağı uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.....	59
Tablo 3.2.1.1 Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	60
Tablo 3.2.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	62
Tablo 3.2.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.....	63
Tablo 3.3.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.....	65
Tablo 3.3.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.....	66
Tablo 3.3.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri....	67
Tablo 3.4.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yemi uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	69
Tablo 3.4.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	70
Tablo 3.4.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.....	72
Tablo 3.5.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.....	73
Tablo 3.5.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.....	75

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.5.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.....	76
Tablo 3.6.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	78
Tablo 3.6.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	79
Tablo 3.6.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.....	80

SEMBOLLER LİSTESİ

COX-2	: Cyclooxygenase 2
-	: Azalma
+	: Artma
0	: Değişim yok
CD	: Cell-differentiation cluster
CL	: Chemiluminescence
Con A	: Concanavalin A.
CRP	: C reactive protein
IFN	: Interferon
Ig	: Immunoglobulin
IL	: Interleukin
İm	: İmmersiyon
iNOS	: Inducible nitric oxide synthase
İp	: İntra peritoneal
LtB	: Lymphotoxin B
mAb	: Monoclonal antibodies
MAF	: Makrofaj aktivite faktörü
MHC	: Major histocom-patibility antigen
NBT	: Nitro blue tetrazolium
NCCRP-1	: Nonspecific cytotoxic cells receptor protein-1
NK	: Natural killer
pAb	: Polyclonal antibodies
PLA2	: Phospholypase A2
RAGs	: Recombinase-activating genes
ROS	: Reactive oxygen species
SAP	: Serum amyloid P
TcR	: T cell receptor
TLRs	: Toll-like receptors
TNF	: Tumor necrosis factor

1.GİRİŞ

Günümüzde artan gıda ihtiyacına bağlı olarak gıda maddelerinin üretimine de hız verilmektedir. Büyük ve küçükbaş hayvan üretiminin yetersiz olması kırmızı etin aşırı tüketiminin insan sağlığında oluşturduğu olumsuzluklar, maliyet yüksekliği gibi nedenlere bağlı olarak balık üretimi günden güne önem kazanmaktadır (Anonim1, 2006). Balıklar omega 3 ve omega 6 yağ asitleri, EPA (Eikozapentaenoik Asit) ve DHA (Dokosaheksaenoik Asit) içerir. Omega 3 ve omega 6 cildi ve saçını geliştirir, kan basıncını azaltır, kireçlenmeyi önler, kolesterolü düşürür, trigliserit seviyelerini azaltır, kandaki pıhtılaşmanın oluşmasını azaltır. EPA ve DHA'nın insanlarda kalp krizi, kalp damar hastalığı, depresyon, migren türü baş ağrıları, eklem romatizmaları, şeker hastalığı, yüksek kolesterol ve tansiyon, bazı alerji türleri ile kanser gibi birçok önemli hastalıktan korunmada etkisinin olduğu bildirilmiştir (Delaquis vd., 2002).

EPA ve DHA, Gözlerin uygun şekilde çalışmasında, beyin fonksiyonlarının eksiksiz olarak yerine getirilmesinde ve kandaki lipid konsantrasyonunun düzenlenmesinde rol alır. Ayrıca balık ve balık yağları protein miktarlarının yüksek olması, demir, selenyum, çinko ve A, B₃, B₆, B₁₂, D ve E vitaminlerini içermesi bakımından önem arz etmektedir. Balıklar insan beslenmesinde önemli bir gıda maddesidir. Balık tüketimi kandidiyaz, kardiyovasküler hastalıklar, egzama ve sedef hastalıklarının tedavisinde etkilidir. Beyinde yüksek konsantrasyonda bulunan esansiyel yağ asitleri sinir uyarımına yardımcı olur ve beyin normal gelişmesi ve çalışması için gereklidir. Esansiyel yağ asitlerin yetersizliği ve eksikliği öğrenim yeteneğini ve bilgilerin hatırlanmasını engelleyebilir. Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı sağlık açısından balığın tüketiminin bilincine varılmıştır. Artan talep ile birlikte yoğun üretime yönelen balık yetiştiricileri kültür balıkçılığına ağırlık vermişler ve bunun sonucunda da sektörde hızlı gelişmeler kaydedilmiştir. Hızlı gelişme, hastalıkların çıkış sıklığını, patojen çeşidini ve bunlarla mücadeleyi de beraberinde getirmiştir. Bu nedenle balık yetiştiriciliğinde hastalıkların tedavisi, sektörün gelişimi açısından çok önemli görülmektedir.

Balıkların yaşadıkları su ortamı patojen birçok mikroorganizma içermektedir. Balıkların mikroorganizmalara karşı göstereceği direnç büyük önem taşımaktadır. Bu direnç de koruyucu tedavi uygulamasıyla gerçekleştirilebilmektedir (İspir vd., 2004).

Koruyucu önlemler alınarak balıklarda hastalıkları önlemek, hastalığın tedavisinden daha ucuza ve daha kaliteli ürünlerin elde edilmesine neden olmaktadır. Koruyucu önlemlerin en önemlisi balığın bağışıklık sistemini güçlendirmektir. Balıklarda bağışıklık sistemi, enfeksiyonun meydana gelmesini engelleyen ve enfeksiyona karşı vücudun cevap vermesini sağlayan faktörlerin birçoğunu içermektedir. Bu faktörlerin birçoğu kimyasal maddelerden oluşan immüno stimulantlar tarafından uyarılarak aktif hale getirilir. İmmüno stimulantlar enfeksiyöz hastalıklara karşı direnci artırır. Bu da spesifik olmayan savunma mekanizması tarafından sağlanmaktadır. Spesifik olmayan savunma mekanizmasının antijenleri uzun süre saklayabilecek hafızası yoktur ve cevap kısa sürelidir. Kullanılan immüno stimulantlar immün kazanımın artımında ve balığın hastalıklara direnç kazanmasında etkili bir yoldur. Balıklarda immüno stimulant kullanımına yönelik araştırmalar gittikçe çoğalmakta ve etkisi tespit edilen immüno stimulantlar yetiştiricilik endüstrisinde kullanılmaktadır. Kemoterapötik maddelere ve aşılar ek olarak immüno stimulantların kullanımı balık yetiştiriciliği yapan kişiler tarafından geniş çapta kabul görmektedir. İmmüno stimulantların, balıkların spesifik olmayan savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği bilinmektedir (Aoki, 1992; Sağlam ve Yonar, 2009).

Yetiştiricilikte kullanılan immüno stimulantların birçoğu levamisol, lipopolisakkarit, glukanlar, peptidoglikan ve muramil dipeptid gibi maddelerin oluşturduğu heterojen karışımlardır. Bu immüno stimulantlar çeşitli balıklar üzerinde test edilmiş ve kullanımları yaygın hale gelmiştir. İmmün sistemin etkili uyarımı için immüno stimulantların birçoğu mikroorganizmalardan elde edilen ve immüno stimulantın etkisini artırıcı karakterdeki adjuvant adı verilen maddelerle birlikte kullanılmaktadır (Anderson, 1992a; Yano vd., 1989).

Genelde mikroorganizmalardan hazırlanan adjuvantlar, alüminyum hidroksit, alüminyum fosfat ve kalsiyum fosfat içeren alüminyum bileşikleri kullanılmaktadır. Toksoid aşılar adsorpsiyon için kullanılacak adjuvant maddenin alüminyum hidroksit jeli olması durumunda ise aşının gücünün daha kuvvetli olacağı bildirilmiş ve diğer alüminyum fosfat ve kalsiyum fosfat tuzlarının toksoidler için ikinci derecede adjuvantlar olduğu gösterilmiştir. Bitkilerdeki saponinler ve polisakkaritler de adjuvant maddeler olarak bağışıklık sistemini uyarmaktadır (Coeugnet ve Kuhnast, 1986).

Bağışıklık oluşturmada kullanılan yöntemlerden biri de aşılama. Aşılama, balıkları enfeksiyöz hastalılara karşı koruyan bir yöntemdir. Aşıların; vibriosis, yersiniozis ve

furunkulozis gibi bakteriyel hastalıklarda, IPN (İnfeksiyöz pankreatik nekrozis) gibi viral hastalıklarda kullanımı yaygındır. Aşı balık hastalıklarının kontrol altında tutulmasında en etkili yöntemdir. Hatta *Renibacterium salmoninarum* gibi hücre içi patojenlere karşı aşılar geliştirilmeye çalışılmış, fakat başarılı olunamamıştır. Bu yüzden sadece aşıları kullanarak bütün balık hastalıklarının kontrol altında tutulması mümkün değildir (Siwicki vd., 1994).

Antibiyotik başta olmak üzere çeşitli dezenfektanların gelişigüzel kullanımı sonucu balıkların bağışıklık sistemi olumsuz etkilenmektedir. Özellikle yavru balıklarda bu ilaçların yan etkileri görülmektedir. İmmünolojik olarak ebeveynlerden gelen doğumsal bağışıklıktaki yetersizlik, balığın kolay hasta olmasına, hastalıktan kurtulma süresinin uzamasına, kullanılan ilacın normal dozunun etkisiz olmasına, etkenin patojenite gücünün artmasına neden olmaktadır. Yavru balıklarda yeterli immün gücün oluşmaması otozomal (genetik) ve otoimmün (vücudun kendi hücrelerinden bazılarını düşman kabul ederek savunmaya geçtiği immünite şekli) hastalıkların ortaya çıkmasına da neden olmaktadır (Rath, 1993).

Gelişmiş ülkelerde yerel bitkisel ilaçların kullanımının yaygınlaşmasını sağlamak 1970'lerde dünya sağlık organizasyonunun politikası haline gelmiştir. Bitkiler ve otlar; günümüzde kullanılan kimyasal ilaçların % 25'inde direkt olarak katılarak ve diğer ilaçların % 25'inde kimyasal yapıları değiştirilmiş olarak eklenmesiyle kullanılmaktadır. Sağlığa yararlı olan bitki veya bitkisel karışımlar fitoterapi (bitkilerle tedavi)'de ve gıda maddesi olarak kullanılmaktadır (Ramakrishna vd., 2003).

Balıklarda çeşitli bakteriyel hastalıkların engellenmesinde veya tedavisinde kullanılan ilaçların bağışıklık sistemini güçlendirmede başarı oranı sınırlıdır. Buna karşın bitkilerin içinde mevcut olan doğal immüno stimulant maddeler, çoğunu sentetik olarak üretilmediğimiz maddeler ve diğer tamamlayıcı maddeler (tanenler, terpenler, aldehytler, düz zincirli hidrokarbürler vs.) ile mükemmel bir bileşim oluşturmuştur. Bu bileşim, hem bağışıklık sistemini uyaran hem de vücudun eksikliklerini gideren besleyici süper bir karışımdır (Logambal vd., 2000; Yunxia vd., 2001).

Fesleğen (*Ocimum sanctum*), zerdecive (*Curcuma longa*) ve yalancı tespih ağacı yaprakları (*Azadirachia indica*) gibi bazı tıbbi bitkiler balık hastalıklarının tedavi ve kontrol altına alınmasında denenmiş ve iyi sonuçlar alınmıştır (Campbell vd., 1998, Chakraborty ve Chattopadhyay, 1998; Dubick, 1986). Antibiyotik ve aşılardan balıkların dokularında birikim yapması balıkların immün sistemleri üzerinde baskılayıcı etki göstermesi alternatif bir yol aranmasına neden olmuştur. Ayrıca bitkisel ilaçlar

immünoterapi için aktif maddelerce zengin bir kaynak olmasına rağmen immünotimulant olarak kullanımı yaygın değildir (Hadden, 1993).

Ülkemizde su ürünlerinde bitkisel immünotimulantların kullanımı üzerine çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu çalışmayla balıklarda koruyucu olarak çörekotu yağının ve balıkta farklı uygulama şekillerinin etkilerini bulmak amaçlanmıştır.

1.1. Çörekotunun Tarihçesi

Çörekotu çok eskiden beri bilinen bir kültür bitkisi olup, ülkemizde, ekmek, çörek ve bazı peynir çeşitlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çörekotu eski Mısırlılar tarafından da tedavi amacı ile kullanılmıştır. Firavunların özel doktorları daima bir kâse çörekotunu hazır bulundurur, gerek ölçüsüz yemek ziyafetlerinden sonra hazmı kolaylaştırmak amacıyla gerekse soğuk algınlığı, baş, diş ağrıları ve iltihaplarda ilaç olarak yararlanırlarmış. Hippokrates ve Dioscorides eserlerinde çörekotundan "Melanthion" adıyla söz etmişlerdir. Hz. MUHAMMED (S.A.V.) ise hadislerinde "Çörekotuna kıymet verin, zira o ölümden başka her derde şifadır" buyurmuştur. Ortaçağ'ın başlarında çörekotu Avrupa ülkelerinde de önem kazanmış olup, Alman krallarından Büyük Karl ve Ludwig der Fromme 9. yüzyılda ülkelerinde çörekotu tarımı yapılmasını sağlamışlardır. 1031 yılında büyük Türk tıp bilgini ve filozofu İbn-i Sina eserlerinde tedavi edici çok yönlü etkilerini açıkladıktan sonra, çörekotu önemli bir tıbbi bitki olarak keşfedilmiştir. 18. yüzyıla kadar çörekotu halk arasında, kuduz ve yılan ısırıkları ile tümörlerin tedavisinde, antienflamatuvar (iltihap önleyici) ve süt artırıcı olmak üzere birçok amaçla kullanılmıştır. Ancak, batılı ülkelerde 200 yıl kadar unutulup, ihmal edildikten sonra, 20. yüzyılın sonunda bir tesadüf sonucu yeniden keşfedilmiştir (Atta-ur-Rahman vd., 1985a; Grondel vd., 1987).

Günümüzde Avrupa ve Amerika'da, veteriner ilaçları olarak da üretilmeye başlayan bitkisel ilaçlar, hayvanlarda özellikle koruma ve gelişimi artırma bakımından tercih edilen yan etkisiz maddeler olarak görülmektedir. Hayvanlarda görülen hastalıklara uygulanan geniş spektrumlu ilaçların hayvanların bünyelerinde birikim yaparak bunları tüketen insanları da etkilediği tespit edilmiştir. Bu etki, insanların bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Uno vd., 1993, Arda vd., 2002).

1.2. Genel Özellikleri

Çörekotunun genel özellikleri aşağıda verilmiştir (Gad vd., 1983; Şahin vd., 2003).

Botanik sistematığı:

Aile: *Ranunculaceae*

Alt aile: *Ranunculoideae*

Cins: *Nigelleae*

Tür: *Nigella sativa* L. (Burits ve Bucar, 2000).

Fiziksel Özellikleri:

Çörekotu Akdeniz bölgesinde yetişen boyu 3 mm.yi geçmeyen mor çenekli beyaz yapraklı tohumları siyah renkli bir bitkidir (Şekil 1.2.1, 1.2.2).

Bulunduğu bölgeler:

Çörekotu (*Nigella sativa* L.) Akdeniz bölgelerindeki ülkelerde (Mısır, Suriye, Türkiye) ve Hindistan da yetişmektedir.

Yetiştigi ortam:

Çörekotu, iyi bahçe toprağında ve güneşli bir bölgede daha iyi yetişmektedir. Sıklıkla işlenmiş toprakta verimi daha iyi olmaktadır. Özellikle batı Asya ve Hindistan'da yetişmektedir. Tohumları ve soğuk basınçta elde edilen yağı tüketilmektedir.



Şekil 1.2.1. Çörekotu çiçeği (URL 1).



Şekil 1.2.2. Çörekotu tohumları (URL 1).

1.3. Biyokimyasal yapısı

Çörekotunun içerisinde: Alanin, arginin, askorbik–asit, asparagin, kampesterol, karvon, simen, sistin, dehidroaskorbik–asit, eikosadienoik–asit, glukoz, glutamik–asit, glisin, demir, izolösin, lösin, d–limonen, linoleik–asit, linolenik–asit, lipaz, lisin, metiyonin, miristik–asit, nigellin, nigellon, oleik–asit, palmitik–asit, fenilalanin, pitosteroller, potasyum, beta–sitosterol, alfa–spinasterol, stearik–asit, stigmasterol, tanen, tireonin, timohidrokuinon, timokuinon, tiriptofan, tirozin maddeleri tespit edilmiştir (Singh vd., 2005).

1.4. İçerdiği maddelerin gösterdiği farmakolojik etkileri

Çörekotu (*Nigella sativa*, L.), yaygın olarak siyah tohum veya siyah kimyon olarak bilinir. Geleneksel olarak Arap ülkelerinde (Sadey, 1980), Hindistan’da (Nadkarni, 1976), Avrupa’da (Lautenbacher, 1997), hem mutfaklarda hem de ilaç amaçlı kullanılmaktadır. Antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoan, antihistaminik, antioksidan, antienflamatuvar ve immünostimulant özelliklere sahiptir (Ali ve Blunden, 2003). Özellikle de astım, hipertansiyon, şeker (Tip II), enflamasyon, öksürük, bronşit, baş ağrısı, egzama, grip, ateş, baş dönmesi gibi birçok hastalıklarda kullanılmaktadır.

Halk arasında 2500 yıldan beri tanınan ve kullanılan çörekotu (*Nigella sativa* L.) üzerinde 1959 yılından itibaren uluslar arası düzeyde 200’den fazla araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda şimdiye kadar çörekotunda 100’den fazla madde tespit edilmiştir (Singh vd., 2005). Bu durum, çörekotunu doğal tedavi yöntemleri uygulayan hekimleri ilgi odağı haline getirmiştir.

Çörekotu yağının insan ve bazı hayvanlarda bağışıklık sistemi üzerine etkisi araştırılmış olmasına rağmen yapılan literatür incelemelerinde deriden sürme uygulamasıyla balıkların bağışıklık sistemine olan stimulan etkisinin tespit edilmediği görülmüştür.

İnsanlarda astım ve nörodermatit hastalarının çörekotu ile tedavisinde başarılı sonuç elde edilmesi, Almanya ve Amerika başta olmak üzere, dünyanın birçok yerinde çörekotunun etkileri ve etkili maddeleri üzerine araştırmalar başlatılmıştır. Çörekotunun antienflamatuvar, antialerjik, antibakteriyel, antimikotik, immünoregülator, antidiyabetik ve antiromatizmal etkileri olduğu bildirilmektedir (Houghton vd., 1995; Linditsch, 1997; Schleicher vd., 1996; Hamed vd., 1998; Salomi vd., 1992). Son yıllarda çoğu ilaç firmaları çörekotu veya çörekotu yağını, içerdiği maddelerden dolayı tercih etmektedir. Bu maddeler

antineoplastik (tümöre karşı) (Hasan vd., 1989), antibakteriyel (Hussein, 1990; Hanafy ve Hatem., 1991), antifungal (Ali ve Blunden, 2003), antihelmintik (Worthen vd., 1998; Lautenbacher, 1997) etkilere sahiptir.

Çörekotunun uçucu yağının çeşitli reaksiyonlarda görev aldığı tespit edilmiştir (Ali ve Blunden, 2003). Bu görevler:

- Antihistaminik, antienflamatuvar, antienfektif özelliklere sahip olduğu ve bronko dilatasyon (damar genişletme) yaptığı,
- Kristalize nigellon'un histamin salınımını tetikleyici madde olarak bilinen protein kinaz C'yi inhibe ettiği,
- Esansiyel yağlarının bağışıklık sistemini dengelediği,
- Alerjik reaksiyonları regule ettiği,
- Metabolizmayı desteklediği, kolesterol ve şekeri düşürdüğü,
- Kemik iliğini uyararak interferon üretimini artırdığı,
- Eser elementlerin enzim reaksiyonları için elzem kofaktörler içerdiği belirlenmiştir.

1.5. Yan etkileri

Çörekotu tohumlarının ve yağının şimdiye kadar belirlenen herhangi bir yan etkisi tespit edilmemiştir. Yararları uzun dönemde ve düzenli olarak kullanılırsa görülebilir.

1.6. Çörekotu'nun içeriği

Çörekotunun protein içeriğinde 15 amino asit bulunur, 8 tanesi esansiyel olup, genelde kırmızı et ve balıkta mevcut olan arginin de mevcuttur. Karbonhidrat grubundan monosakkaridler ve nişasta olmayan polisakkaritlerde bulunmaktadır.

Çörekotunun (*Nigella sativa* L.) tohumlarında % 36–38 yağ, %20 protein, alkaloidler, saponin ve % 0,4–2,5 uçucu yağ vardır. Tespit edilen yağda, yağ asitlerinden, pek rastlanmayan araşidik ve eikosadienoik asitler vardır (Atta–ur–Rahman vd., 1985b; Atta–ur–Rahman vd., 1995; Altınterim, 2003; Hajhashemil vd., 2004).

Uçucu yağ analizlerinde ise tyhmoquinone (% 27,8–57,0), p–simen (%7,1–15,5), karvakrol (% 5,8–11,6), t–anethol (% 0,25–2,3), 4–terpineol (% 2,0–6,6) ve longifolin (% 1,0–8,0), dört alkaloid; nigellisin (Atta–ur–Rahman ve Zaman, 1992), nigellidin (Atta–ur–Rahman vd., 1985a), nigellimin (Yin vd., 2006) ve N–oksit (Şahin vd., 2003) tespit edilmiştir.

1.7. Çörekotunun ihtiva ettiği maddelerin özellikleri

1.7.1. Vitamin A (Retinol)

Görme, büyüme ve yaşlanma etkilerini azaltan etkileri vardır. Kemik gelişimini, embriyonik gelişimi etkilemektedir. Antioksidan özelliğinden ötürü kanser gelişiminin önüne geçmektedir. Karotenoidler antioksidan aktivitesi yüksek maddelerdir. Retinolün eksikliğinde; iştahsızlık, gelişme durgunluğu, döl veriminde gerileme, ekzoftalmus, karında su toplanması, vücutta ödemlerin oluşması, böbrekte hemoraji ve pigmentasyon eksikliği gibi patolojik durumlar meydana gelmektedir (Shim ve Tan, 1989; Hoşsu vd., 2001; Dey, 1997).

1.7.2. Vitamin B₁ (Tiyamin)

Enerji metabolizmasında ve sinir uyarımının başlatılmasında önemlidir. Eksikliğinde balıklarda kas ve görme yeteneğinde kayıplara neden olur. İnsektisit özeliği vardır. Tiyamin eksikliğinde; yüzme bozuklukları, iştahsızlık, sinir sistemi bozuklukları ve felç, beyin lezyonları, hava kesesinde aşırı şişme ya da büzülme görülmektedir. İlerlemiş halde ölümler meydana gelir. Aydınlanma süresi ve ışık şiddeti arttıkça bu bozukluklar artar. Bu bozukluklar Salmonid ve Cyprinidlerde sıkça rastlanmasının yanı sıra *Ichthalurus punctatus*, *Pagrus major*, *Lates calcarifer* ve *Anguilla anguilla* türlerinde görülmektedir (Boonyaratpalin ve Wanakowat, 1991; Lim vd., 1991; Korkut vd., 2002).

1.7.3. Vitamin B₂ (Riboflavin)

Karbonhidratlardan, yağ ve proteinlerden enerji salınımını sağlar. Kırmızı kan hücrelerinin bütünlüğünü sürdürmelerine yardımcı olur. Riboflavin sık sık görülen enfeksiyonlara ve karaciğer hastalıklarına karşı canlı organizmayı uzun süre korur. Vitamin B2 eksikliğinde; gökkuşağı alabalıklarında göz, burun deliklerinin dış kısımları ve operkulumda kanamalar meydana gelir. Gözlerin donuklaşması, bulanık görme, iriste renksizleşme, ışıktan kaçma, deride siyahlaşma ve yüzme bozuklukları görülmektedir. Ayrıca mortalite yükselir (Hughes vd., 1981).

1.7.4. Vitamin B₃ (Niyasin, Nikotinik asit)

Karbonhidrat ve yağlardan enerji salınımında ve protein metabolizmasında görev alır. Hormonların yapımına ve kırmızı kan hücrelerinin oluşumuna yardımcı olur. Niyasin

eksikliğinde balıklarda; yüzme bozuklukları, bağırsak lezyonları, vücutta ödemler, kas spazmları, solungaç şişlikleri görülmektedir. Bunlara ilave olarak yayın balıklarında ışıktan kaçma, tetani ve uyuşukluk; çinok salmonlarında ise deri iltihaplanması görülmüştür. Salmonidlerde, *Cyprinus carpio*, *Ichталurus punctatus*, *Pagrus major*, *Anguilla japonica* ve *Silurus glanis* türlerinde niyasin eksikliğine bağlı hastalıklar belirlenmiştir (Poston ve Page, 1982; Lovell ve Nuston, 1984; Korkut vd., 2002).

1.7.5. Vitamin C (Askorbik Asit)

Vücudun birçok fonksiyonunda çok önemli rollere sahiptir. Güçlü bir antioksidandır, DNA'nın oksidatif yıkımına karşı koruyucu özelliği vardır, yağların ve proteinlerin yapısına girer. Sinir sistemi transmitterlerinin ve hormonların yapısına girer. Bağışıklık sisteminin düzenli çalışmasını sağlar. Alınan C vitamini balıklarda yem alımını artırır. Eksikliğinde veya yetersizliğinde; lordosis, kıkırdak dokunun bozulması, deri, karaciğer, böbrek ve kaslarda hemorajiler, solungaç, yüzgeç, çene ve kılçıklarda anomaliler oluşur (Karabulut vd. 2005).

1.7.6. Kalsiyum

Kan pıhtılaşması, kas kasılması, enzim reaksiyonları, hücrel iletişim ve deri değişimlerinde rol oynar. Kemik ve dişlerin güçlenmesine yardım eder. Eksikliğinde iskelet sisteminde gelişememe, balıkların yumurta sayısında azalmalara neden olmaktadır. Tuzlu sulardan tatlı sulara geçişte balıklar normal kalsiyum ihtiyacını, su içerisindeki kalsiyumu epitellerinden ve solungaçlarından alarak kullanabilmektedir (McCormic vd., 1992).

1.7.7. Potasyum

Kan akışına, sinir hücrelerinin iletişimine yardım eder. Deniz balıklarının veya tatlı sulardan tuzlu sulara göç eden balıkların solungaç dokularında Na-K ATPaz enziminin aktivasyonu ile gerçekleşen adaptasyon işleminde rol alırlar. Ayrıca taşıdıkları iyonlar vasıtasıyla balık vücudunda elektrik yüklerinin dengelenmesi, hipertansiv özelliklerinden ötürü dolaşım sistemi ve böbreklerde etkindirler (Evans vd., 1974).

1.7.8. Demir

Demir, oksijenin akciğerlerden kan yolu ile dokulara taşınmasında kırmızı kan hücrelerinin hemoglobin proteininin yapısına girer. Benzer bir kas proteini olan miyoglobülin kas kasılmalarında ihtiva ettiği demir içerisinde depolamış olduğu oksijeni kullanır. Demir, birçok enzim için bir kofaktör olarak ve hücresel enerji üretimi için bulunmaz bir maddedir. Demir eksikliğinde genellikle balıklarda kansızlık ve kilo kaybı, anemi ve büyüme geriliği görülür görülür. Demir depoları tüketildiği zaman oksijen tutma kapasitesi azalır (Tanker vd., 1998). Demir balıklarda oksidasyon/redüksiyon olaylarının bir kısmında elektron transportunda, bazı enzimlerin yapısında, oksijen taşınmasında rol oynar. Demir, solungaçlardan alınmasına karşın barsak mukozasından emilir. (Watanabe vd., 1997).

1.7.9. Selenyum

Önemli bir ametal bir maddedir. Çoğu kanser tiplerine karşı tavsiye edilmektedir. Birçok proteinin fonksiyonu için önemlidir. Bunlardan biri glutatyon peroksidazdır. Bu enzim peroksitlerin hücrede meydana getirdiği yıkımı engellemede önemlidir. Selenyum, arsenik ve cıva gibi toksik maddeleri bağlayabilir. Selenyum eksikliğinde balıklarda kas güçsüzlüğü, kaslarda iltihaplanmaya ve kırmızı kan hücrelerinde kolay parçalanmaya neden olur (Tanker vd., 1998; Lemly, 1993; Poston vd., 1976).

1.7.10. Magnezyum

Çeşitli enzimlerin yapısı ile birleşerek enerji metabolizmasında görev alır. Protein sentezi ve nükleik asit sentezinde rol oynar. Eksikliğinde sindirim sistemi bozuklukları görülür. Kalsiyum seviyesini düzenler. Kalsiyum seviyesi ile magnezyum seviyesi doğru orantılıdır. Deniz balıklarının böbrekleri, alınan deniz suyundan çok güçlü magnezyum üretir. Tatlı su balıklarında uygulanan magnezyum belirli bir seviyeden sonra toksik etki göstermiştir. Özellikle kalsiyumca zengin olan sularda, tatlı suya adapte edilen alabalıkların Mg kanallarının, Mg/Zengin Ca adı verilen hücrelerce zenginleştiği tespit edilmiştir (Knox vd., 1981; Beyenbach, 2000).

1.7.11. Çinko

Büyümede, iştahta, erkek cinsel özelliğin gelişiminde, deri sağlığında, zihinsel aktivitede, yaraların iyileşmesinde ve bağışıklık sisteminin fonksiyonlarında önemli rollere

sahiptir. Çinko çoğu enzim için bir kofaktördür ki bu enzimler karbonhidrat, yağ ve nükleik asit (DNA gibi) metabolizmasında rol oynar (Salem, 2005). Çinko, membranların ve hücre bileşenlerinin stabilizasyonunda işlevseldir. Karbonhidrat ve lipit gibi makro moleküllerin sentezi ve yıkımı ile ilgili bazı enzimlerin bileşenidir. Çinko ve mangan eksikliğinde balıkların gelişiminde yavaşlama görülmektedir (Watanabe vd., 1997; Manera vd., 2000).

1.8. Çörekotu ve yağı ile yapılmış çalışmalar

Çörekotu ve yağı ile günümüze kadar 200’ü aşkın değişik hastalık tedavilerinde ve immünolojik yönden çalışmalar yapılmıştır. Çörekotu (*N. sativa* L.), eskiden beri birçok hastalığın tedavisinde doğal bir ilâç olarak kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, çörekotunda brankodilatör (bronşları genişleten), antibakteriyel, kan basıncını kontrol edici ve safra ifrazatını artırıcı özellikler olduğunu göstermiştir. U. S. A. Food Drug Administration (FDA) tarafından 1996’da bağışıklık sistemini uyarıcı bir ilaç olarak kullanılması kabul edilmiştir (Houghton vd., 1995).

Çörekotu (*N.sativa* L.) yaprakları çok ince parçalı olan tek yıllık bitkilerdir; meyve, 5 folikülün kısmen birleşmesiyle meydana gelen bir kapsüldür (Meral vd., 2001). Çörekotu tohumları *Ranunculaceae* ailesinin bir üyesidir. Binlerce yıldan beri bir baharat ve yiyecekleri koruyucu olarak kullanılmıştır. Tohumların ve yağın içeriğinde; timokuinon (TQ) geleneksel tedavide potansiyel ilaç özelliği göstermiştir. Çörekotu yağı, aktif içeriğiyle bağışıklık sistemi düzenleyici, T hücreleri ve NK hücrelerinin güçlerini artırıcı özelliğe sahiptir. Hem çörekotu hem de çörekotu yağının farklı mikrop türlerine karşı antimikrobiyal ve antitümör özelliklerine sahip olduğu tespit edilmiştir (El-Kadi ve Kandil., 1987).

Swamy ve Tan, (2000), yaptıkları çalışmada Vitamin E+, Selenyum ve Çörekotu (*Nigella sativa* L.)’nun karaciğer yıkımını engelleyici etkilerini araştırmışlardır. Ratlarda karaciğer nekrozu oluşturulduktan sonra çörekotu besleme yoluyla uygulanmıştır. Sonuç olarak en az ağırlık kaybı sadece çörekotu verilen grupta gözlenmiş bu ise çörekotunun koruyuculuğunu göstermiştir. Yapılan testler de Swamy ve Tan, (2000), Vitamin E+, Selenyum ve Çörekotu’nun karaciğer yıkımını engellediğini tespit etmişlerdir.

Haq vd., (1999), çörekotu tohumları ekstraktının farklı kanser tiplerinde sitotoksik özelliklerini gözlemlemişlerdir. Farklı yapıdaki bu kanser tiplerine karşı immüno stimulant bir etki gösterdiğini, özellikle koruyucu özelliğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar;

  rekotunun, mitojenleri seçici özelliğe sahip T ve B lenfositlerinin bağışıklık sistemi düzenleyici özelliklerini artırdığını tespit etmişlerdir.

Deneyssel olarak  eker hastası yapılan ratlarda   rekotu (*Nigella sativa* L.) tedavisi Swamy ve Tan, (2000), tarafından uygulanmıştır. 2 ay boyunca beslenen ratlardan alınan kan örneklerinde malondialdehit (MDA) seviyelerinde azalma, düşük olan glutatyon (GSH) seviyesinde ve seruloplazmin konsantrasyonunda artma görülmüştür. Karaci erden alınan dokularda yapılan histopatolojik analizlerde  eker hastalığının neden olduğu karaciğer yıkımının engellendiği ve antioksidan savunma sistemini artırdığını tespit etmişlerdir.

Burits ve Bucar, (2000), yaptıkları çalışmada çörekotu tohumlarının insanlardaki T hücrelerini uyararak imm nopotensiyeli artırdığını göstermişlerdir. Yine Khanna vd., (1993), çörekotu tohumlarının T-lenfositleri, interlökin, IL-3 ve IL-1   üretimini artırdığını göstermiştir.

Al-Ghamdi (2001), çalışmalarında çörekotu ekstraktının fare dalak hücrelerinde immün düzenleyici etki gösterdiğini ve önemli bir immün cevap verdiğini tespit etmişlerdir.

Badary ve Gamal (2001),   rekotu ya ından izole edilen thymoquinone, carvacrol, t-anethole ve 4-terpineol serbest radikalleri fark edip yok eden antioksidan maddelerin varlığını tespit etmişlerdir.

Abdul-Ela (2002),   rekotunun analjezik özelliğini ortaya koymuştur.

El-Dakhakhny vd., (2000b), antienflamatuvar etkisini tespit etmişlerdir.

Badary vd., (1997), antikarsinojenik, Meral vd. (2001) ise mutajenik etkilerini ara tırmı lardır. El-Tahir vd. (1993b), antihepato, Enomoto vd. (2001) de nefrotoksik etkilerini incelemişlerdir.

Ayrıca   rekotunun kanda antidiabetik etkisi ve kardiovasküler etkisi El-Dakhakhny vd., (2000a); Agrawal vd., (1979); Mahmoud vd., (2002), tarafından araştırılmıştır.

El Daly (1998) antiülser özelliğini, Badary vd. (1998), antimikrobiyal özelliğini, Rouchou vd., (2007), antiparazitik etkisini ara tırmı lardır.

Islam vd., (2004), çalışmalarında çörekotu ya ının içerisindeki maddelerdense çörekotu ya ının saf olarak kullanımında deri hastalıklarında topikal olarak uygulandığında oldukça iyi sonuçlar almışlardır. Çörekotu uçucu ya ının bağışıklık sistemi düzenleyici ve sitotoksik özellikleri araştırılmıştır. Ratlarda yapılan bu araştırmada çörekotu ya ı serum antikor titresini artırıcı yönde çalışan potansiyel bir ajan gibi davranış

göstermiş, fagositoz ve hücre içi öldürmeyi ve antinötrofil antikorlarının üretimini arttırdığını, nötrofillerin uzun ömürlü olmalarını sağlamada içerdiği çinko ve bakırın etkili olduğu tespit etmişlerdir. Fagositik hücreler fagositoz sayesinde düşman hücreleri tespit edip, öldürebilir. Çörekotu yağının sitotoksitesine yönelik yaptıkları çalışmada ise kanser hücrelerinin büyümesini engellediğini veya onları seçerek yok ettiğini tespit etmişlerdir.

Çörekotu tohumları çok sayıda önemli besleyici maddeleri içermektedir. Yaygın olarak gıda amaçlı kullanılan bitkisel yağlara çok iyi bir alternatif ve esansiyel yağ asidi kaynağıdır. Çörekotu bozulmadan uzun süre kalabilecek gıdalarda kullanılan konservatif maddeleri doğal olarak ihtiva etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı kozmetik ve parfümeride tercih edilmektedir.

Rouchou vd., (2007) çalışmalarında çörekotu yağında potasyum, magnezyum, kalsiyum, fosfor, sodyum, demir, bakır, çinko, mangan, karbonhidrat, ham protein, kuru madde, yağ, nem ihtiva ettiğini tespit etmişlerdir.

Kökçü vd. (2006), besleme yoluyla iki tür çörekotu yağı ile 4 hafta boyunca beslenen ratlarda biyokimyasal parametrelerden LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein), VLDL (çok düşük özgül ağırlığa sahip lipoprotein) kolesterolün, azaldığı HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterolün arttığı tespit etmişlerdir. AST (SGOT, Serum glutamik oksalasetik transaminaz) ve ALP (Alkalen fosfataz)'de azalma, MCHC (eritrosit içindeki ortalama hemoglobin konsantrasyonu) ve RDW (Alyuvar dağılım genişliği) oranlarında artma olmasına karşın, albümin, ürik asit ve MCV (oksijen taşıyan eritrositlerin ortalama büyüklüğü) seviyesinde azalma tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada keldal metodu ile sokslet cihazı kullanılarak total yağ 40–60 °C'de eter ekstraktı, standart AOAC metodu kullanılmıştır (Anonim 2, 1990). Bu prosedür ile nem, kül ve ham lif, külde hidroklorik asit de yapılan mineral analizi, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile kalsiyum, sodyum, bakır, demir, çinko, potasyum ve vitaminlerde HPLC ile tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan kobaylara Suriye ve Türkiye de yetiştirilen çörekotları verilmiştir. Mineral analizlerinde: demir: 105 mg/kg, bakır 18 mg/kg, çinko 60 mg/kg, fosfor: 527 mg/kg, kalsiyum: 1860 mg/kg., tiamin 15,4 mg/kg., niasin: 57 mg/kg, piridoksin: 5,0 mg/kg ve folik asit: 160 µg, enerji: 531 MJ. olarak tespit edilmiştir. İki çörekotu tipinden Türkiye de yetişen çörekotunun net protein kullanım (NPU) oranının daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 1.8.1.).

Tablo: 1.8.1. Türkiye de yetişen Çörekotu'nun değerleri (mg/kg) (Randhawa ve Al-Ghamdi, 2002).

Nem	Kül	Ham protein	Eter Ekstraktı	Ham lif	Nitrojen serbest ekstraktı	Kalori (Mj)
82	55	91	131	41	600	3935

Çörekotu yağında Timohidrokinon bileşiğinin bulunması, antihistaminik aktivite göstermesini de sağlamaktadır. Yağ, bağışıklık sistemi için gerekli selenyum mineralini de içerir. İçerdiği diğer değerli mineraller, çinko, demir, bakır ve kalsiyumdur. Haricen kullanımda cildi besleyicidir. İnce cilt dokusu dışındaki cilt bölgelerindeki kepeklenme gibi sorunlarda kullanılabilir. Saçlı deride saçların dökülmesini önleyici özelliği düzenli kullanımda görülmektedir. Besleyici değerinin yanında, antiseptik etkisi de vardır. Gıda amaçlı olarak, özel aroması nedeniyle balzamik sirkelere karıştırmak suretiyle salatalara sos olarak da kullanılır (Randhawa ve Al-Ghamdi, 2002).

1.9. Balıklarda immünite

İmmünite, vücudun hastalığa özellikle enfeksiyöz hastalık etkenlerine karşı dirençli olması şeklinde tanımlanır yani bağışıklıktır. Enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin toplamına “bağışıklık sistemi” adı verilir. Bu hücrelerin ve moleküllerin enfeksiyona yol açan mikroplara karşı düzenli olarak verdikleri tepkiye de “immün yanıt” denir. İmmün sistemin fizyolojik işlevi enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmektir (Abdul-Ghani vd., 1987).

Balık, insan ve sıcak kanlı hayvanlardan farklı olarak çevresel faktörlere bağımlıdır. Balıkların sahip olduğu antikor molekülleri biyokimyasal olarak insanda hastalık seviyesinde çok etkin olan antikorlardan farklıdır. Birçok balık hastalığının antijenleri, sıcak kanlı hayvanları enfekte edebilen antijenlerle homolog olmasına rağmen balığı enfekte eden birkaç patojen, insana bulaşabilir (Anderson, 1974).

Hastalık etkenlerinin yoğun olarak bulunabildiği su ortamında yaşayan balıklar güçlü bağışıklık sistemleri sayesinde birçoğunu elemine edebilmektedirler. Balıkların bağışıklık sistemleri, insan ve diğer memelilerin bağışıklık sistemlerine benzerlik göstermektedir. İmmün organ ve hücrelerin çoğu aynı yapı ve işleve sahiptir (Magnadottir, 2006). Balıkların bağışıklık sisteminin güçlü olması bu kadar patojenlere sahip ortamda hayatını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmesi yetiştiricilik açısından çok önemlidir. Hastalıkların az

görülmesi veya hiç görülmemesi, bu hastalıkların tedavisi için kullanılan ilaç ve işçilik masraflarının azalmasına ve et kalitesini artırarak talebin artmasına neden olmaktadır.

Sıcak kanlılarda enfeksiyöz hastalıkların kontrolünde ve bunlardan korunmada çok büyük yararlar sağlayan bağışıklık (immünite) mekanizması balıklarda da aynı derecede öneme sahiptir. Ancak sıcak kanlıların aksine balıkların içinde yaşadığı sucul ortamın sahip olduğu sıcaklık, pH, tuzluluk, çözünmüş O₂ miktarları gibi fiziksel ve kimyasal özellikler, balığın bağışıklık sistemi üzerine direkt etkisi vardır. Balıklar, sıcak kanlılara oranla daha basit bir immün sisteme sahiptir. Antikor sentezi, balıkların su ortamına dolayısıyla vücut ısılarına bağlıdır. Vücuda giren hastalık ajanlarının (aktif aşılar) çoğalma kapasitelerinin azalması veya durması bu ısıya bağlıdır. Antijenik moleküllerin immün sistemi uyarmada ve bunlara karşı oluşan bağışıklık yanıtın (immun response) oluşmasında, ısıya bağlı olarak etkinlik hızının düşmesi tam bir koruma sağlayamamaktadır. Bu nedenle, ılık veya sıcak sularda yaşayan balıkların antijenik substanslara karşı bağışıklık yanıtları, soğuk sulardakine oranla daha erken oluşur. Böylece enfeksiyonlara karşı daha çabuk bir immün cevap oluşmakta ve korunma meydana gelmektedir. Bu nedenle balıklar bulundukları doğal yaşam ortamlarının kimyasal ve fiziksel karakterlerine, patojenlerin ve antijenik substansların vücuda giriş yollarına, miktarlarına ve antijenitelerine göre daha az veya çok, erken veya geç immün bir yanıt meydana getirirler (Muinswinkel, 1997).

Balıklar, primitif vertebratalardan olmalarına ve sıcak kanlılara oranla daha geç spesifik antikor sentezi gerçekleştirmelerine karşın patojenik etkenlere veya vücuda giren antijenik substanslara karşı bir bağışık yanıt oluşturmaktadırlar. Arzu edilen, bir etken vücuda girdikten veya aşı olarak verildikten kısa bir süre sonra koruma sağlayacak seviyede bir antikor titresinin oluşmasıdır (Arda vd., 2002).

Sıcakkanlıların aksine balıklarda sadece, tetramerik bir özellik taşıyan tek tip spesifik antikor (İmmünoglobülin M, IgM) sentezlenmektedir. Balıklarda tespit edilen diğer Ig tipleri IgM türevi immünoglobülinlerdir. Doğal olarak bu durum balıklarda humoral bağışıklık yönünden zayıflık oluşturmaktadır. Çünkü memelilerde 5 tür spesifik antikor (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) bulunmakta ve bunların etkinlikleri de birbirlerini destekleyici özellik taşımaktadır.

Balıkların savunma sistemi temel olarak memelilerinkine benzer. Hücresel savunma sistemleri, kemikliler (Teleost) makrofajlara, nötrofillere ve doğal öldürücü hücrelere benzer fagositik hücrelere sahiptir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda öldürücü

makrofajların reaktif nitrojen türlerinin (RNS) özellikle hücre içi patojenlerini yok ettiğini göstermektedir (Anderson vd., 1992b). Makrofajların öldürme mekanizmaları, oksijene bağlı olan veya olmayan şeklinde sınıflandırılabilir. Oksijene bağlı öldürme mekanizmaları reaktif oksijen türleri (ROS) vasıtasıyla aracılık edilmektedir ki bunlarda NBT (Hardie vd., 1991), kemiluminesens (kimyasal bir reaksiyon sonucu ışık saçarak enerji açığa çıkarma olayı) (Siwicki vd., 1996) testleri ile tespit edilebilir. Ayrıca kemikli balıklar T ve B lenfositlere de sahiptir. Lenfositler immünostimulantlar tarafından harekete geçirilirler, immünostimulantlar mitojen (Mitoz hücre bölünmesini tetikleyerek DNA sentezini uyaran maddelere verilen addır) aktiviteyi artırır. Mitojen aktivite ise konkanaralin A, lipopolisakkaritler ve makrofaj üretimi sağlayan faktörler tarafından uyarılır (Li ve Lovell, 1985; Engstad vd., 1992).

Kemikli balıklar lizozim, doğal hemolisin, transferin ve C-reaktif protein gibi tamamlayıcı olarak bulunan çeşitli humoral savunma bileşenlerine sahiptir. Hatta sitokinlerin varlığı da saptanmıştır ki bunların içinde interferon, interlekin 2, makrofaj aktive eden faktörler yer almaktadır (Anderson, 1974).

Doğuştan elde edilen bağışıklık sistemi (Doğal bağışıklık) omurgalıların ve balıkların temel savunma mekanizmalarını oluşturur. Doğuştan bağışıklık, immün cevapta ve homeostasisde yüksek omurgalılardakiler kadar etkin rol oynar. Doğuştan sistem, kendinden olmayanı ve tehlike sinyallerini tanıması, bakteri veya mantarın glukoproteinleri ve lipopolisakkaritleri ve hücre içi zarar veren veya hastalığa neden olan bileşiklerin protein yapılarını tanıyan kalıpları bünyesinde sınırlı sayıda barındırır. Yani bu patojenlerin hepsi olmamakla beraber büyük miktarda bu zararlıları yok edecek şifrelere doğuştan sahiptir. Doğuştan bağışıklık fiziksel bariyerleri, hücresel ve humoral bileşikler içerir. İki tip immünite vardır: 1-)Doğal immünite ve 2-)Edinsel immünite (Ellis, 1981).

1.9.1. Doğal immünite

Mikropların girmesini engelleyen ilk savunma hattını, epitelde bulunan özelleşmiş hücreler ile doğal antikorlar oluşturur. Mikroplar dokuları deler ve dokulara ya da dolaşıma girerlerse fagositler, doğal öldürücü hücreler (özelleşmiş lenfositler ve kompleman sistemin proteinlerini de içeren bazı plazma proteinleri) tarafından saldırıya uğrarlar. Doğal immünitenin bütün mekanizmaları, mikropları tanır ve tepki verirler, ancak enfeksiyona yol açmayan yabancı maddelere tepki vermezler.

Doğal bağışıklık yanıtları enfeksiyonlara karşı erken savunmanın yanı sıra, doğal enfeksiyona yol açan maddelere karşı gelişen edinsel immün yanıtları da güçlendirir.

1.9.2. Edinsel immünite

Lenfositler ve onların antikor gibi ürünlerinden oluşur. Doğal immün yanıt mekanizmaları mikrop tiplerini tanıırken, edinsel immünitenin hücreleri (lenfositler) mikropların ürettiği değişik maddeleri ve enfeksiyona yol açmayan molekülleri de tanıyan reseptörler taşırlar. Edinsel immün yanıtlar değişik tipteki mikroplarla savaşmak üzere özel mekanizmalar oluşturur. Örneğin; antikorlar hücre dışında, T lenfositler hücre içinde yaşayan mikropları yok eder. İki tip edinsel immünite vardır. Hüморal ve hücreyel immünite (Abbas ve Lichtman, 2007).

1.9.2.1. Hüморal immünite

Hüморal immünite B lenfositlerin ürettiği antikor denilen proteinler tarafından oluşturulur ve hücre dışı mikrobik antijenleri tanıır. B lenfositlerin ürettiği “antikor” adı verilen proteinler dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal kanalda ve solunum yolları gibi mukoza içeren organların lümenlerinde bulunabilen mikropları veya mikrobik toksinleri etkisiz hale getirirler (Magnadottir vd., 2006).

1.9.2.2. Hücreyel immünite

Hücreyel immünite T lenfositler vasıtasıyla hücre içinde gerçekleşir. T lenfositlerin bir kısmı fagositik veziküller tarafından yutulan mikropları yok etmek için fagositleri aktive eder (Stoskopf, 1993). T lenfositler hücre içindeki mikropların ürettiği antijenleri tanıır. B lenfositler tarafından üretilen antikorlar ise hücre dışı mikrobik antijenleri tanıır. Bir diğer önemli husus ise T lenfositlerin sadece mikrobik antijenleri tanımasına karşın, B lenfositlerin ürettiği antikorlar protein, karbonhidrat ve lipit içeren pek çok değişik mikrobik molekül tipini tanıır (Muinswinkel, 1997).

Bağışıklık sistemi; enfeksiyonu geçirerek ya da aşılama ile (Aktif immünite) veya daha önce enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış bireylerden alınan antikor ve lenfositler bireye verilerek (Pasif immünite) güçlendirilebilir.

İmmün sistemin en az bir milyar farklı antijeni ve antijen parçasını birbirinden ayırt edebilme yeteneği vardır (Akaylı, 2001).

1.9.3. İmmün yanıtta rol oynayan lenfoid organlar

Deri ve mukus tabakası, balığın sahip olduğu birincil kalkanlardır. Sağlam bir dış deri çoğu mikroorganizmayı elimine eder. Solungaçlardan salgılanan mukus gerek solungaçların gerekse derinin epitelyum tabakasını bir zırh gibi kaplar ve balığı korur. Mukus tabakası mikroorganizmaları tutar ve dolayısıyla mikroorganizmaların epiteliyal hücrelere girişini engellemektedir. Mukus; patojenleri yok eden lizozimlere, lektinlere, kompleman proteinlerine, antibakteriyel peptitlere ve IgM'ye sahiptir. Gastro intestinal sistem düşük pH'ı ile birçok mikroorganizmanın yaşayamayacağı bir ortamdır. İnsanlarda kan hücrelerinin üretiminden internal kemik iliği sorumludur. Fakat balıklar kemik iliğine ve lenf nodüllerine sahip değildirler. Teleost balıklarda başlıca lenfoid organlar; timus, böbrek ve dalaktır (Darson, 1981; Waterstrat vd., 1991).

Böbrekler antikor üreten başlıca organlardır. Anterior böbrek gökkuşağı alabalıklarında en önemli hemapoietik organdır. Böbrekte küçük lenfositler, nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller de bulunur. Alabalık böbreğinde sirküler kandan veya diğer organlardan daha fazla sayıda fagositik makrofajlar bulunur (Anderson, 1974).

Timus balıklarda solungaç çemberinde dorso-lateral olarak farengeal epitel altında bilateral olarak bulunan bir çift organdır (Hibiya, 1982). Lenfositler buradan dolaşıma ve diğer lenfoid organlara göç eder. Timusun antikor üretimi ve antijenlerin yakalanması görevi yoktur (Erganiş ve İstanbulluoğlu, 1993).

1.9.4. İmmün sistem hücreleri

Memelilerin bağışıklık savunma mekanizması hakkında kayda değer bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgi diğer omurgalılarla karşılaştırıldığında anatomik ve fonksiyonel olarak benzerlik göstermektedir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar memelilerle, soğuk kanlı canlıların özellikle balıkların immünolojik yönden farklılıklara sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu farklılıkların kökeninde; incelenen balık türlerinin sayısındaki artış, alışlagelmişin haricinde yemlerle beslenme, bulunduğu ortamdan farklı bölgelerde yetiştirilme çalışmaları, her bir yaşayan türün bulunduğu ortamın çevresel koşullarının farklı olması immün cevaptaki hücresel ve moleküler bileşiklerin eksikliği yatmaktadır. Bu eksiklikler ise immün cevabın yüksek genetik çeşitliliği ile ortadan kalkmaktadır. Kemikli balıkların biyolojik fonksiyonlarından lökositlerin immün düzenleyici rekombinant peptitleri, lökosit popülasyonu ve alt popülasyonlarının belirlenmesinde hücresel işaretçilerdir. Lökosit işaretçilerinin birçoğu B-hücreleri, granülositler ve trombositleri

yönetir (Scapigliati vd., 1999). Diğer taraftan kemikli balıklarda T-hücre aktivitelerinin belirlenmiş olmasına rağmen T-lenfositler sadece iki balık türünde deniz levreği (Scapigliati vd., 1995) ve sazanda (Rombout vd., 1998) tespit edilmiştir. Bunların ise kemikli balık hücrelerinin 1. ve 2. sınıf yüzeylerinin MHC moleküllerini güçlendirdiği tespit edilmiştir (Buonocore vd., 2007; Kruiswijk vd., 2002; Romano vd., 1997).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kemikli balıkların yetiştiriciliğinin dünya çapında artmasıyla birlikte balıklar üzerinde yapılan immünolojik araştırmalar da olmuştur. Kemikli balıklar, soğukkanlı canlılar üzerinde yapılan araştırmalarda örnek model olarak ele alınmaktadır. Modern gelişim biyolojisi, dokular, organlar ve sistemlerin oluşumunda rol alan hücrelerin gelişimini, değişimini, farklılaşımını ve şekil almasını (morfojenez) inceler. Embriyoloji, organizmanın döllenmeden doğuma kadar geçen süreç içindeki oluşum ve gelişimidir. Bir başka alt dal ise evrimsel gelişim biyolojisidir. Bu dal 1990'larda moleküler gelişim biyolojisi ve evrimsel biyolojideki buluşların birleştirilmesi ve yeni bakış açılarının yaratılması ile ortaya çıkan bir sentezdir. Evrimsel gelişim biyolojisi canlıların evrimsel bağlamdaki organizma formları ve çeşitliliğiyle ilgilenir. Gelişim biyolojisinde kullanılan başlıca model organizmalardan fugu ve zebra balıklarının gen dizilimleri tespit edilmiştir. Bu da açıkça deneysel biyoloji çalışmalarında balıkların ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Diğer yandan kemikli balıkların immün aktivite fonksiyonları üzerine araştırma sayısı oldukça azdır. Bunun nedeni ise balıkların memeliler ile benzer bağışıklık sistem genlerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Randelli vd., 2008).

1.9.5. Doğuştan immünitenin belirleyicileri ve işaretçileri

Doğuştan immün cevaplar istilacı organizmaları ve kompleks molekül ve hücrelerini yok etmek veya inaktif hale getirmek için hızlıca harekete geçer. Doğuştan immün cevap hücrelerinin çoğu lökosit hücre tipleridir, bunlar: B hücreleri içeren tek çekirdekli fagositler, çok çekirdekli lökositler ve doğal öldürücü hücrelerdir. Diğer hücre tipleri doğuştan immünite de bağışıklık sistemi düzenleyici moleküller içerir. Bunlar da epiteliyal dendritik hücreler ve fibroblastlardır. Doğuştan immün cevap içeren moleküller antibakteriyel peptitler, lizozim, transferin, kompleman, akut-faz proteinleri, prostaglandinler (PGE2), reaktif oksijen intermediates (ROI), siklooksijenaz-2 (COX-2), sitokinler, kemokinler, lektinler ve toll-like reseptörleridir (TLR) (Tablo 1.9.5.1).

Tablo 1.9.5.1. Balıklarda araştırılmış doğuştan immün aktivitenin ana unsurları (Bennani vd., 1995).

Aktivite/Faktör	Hücre içerikleri	cDNA kodlama sıralaması	Hücresel işaretçiler
Phagocytosis	Tek çekirdekli fagositler, B-hücreler	–	mAb'dan MΦ ve IgM, pAb'den granülositler, nötrofilleri, granulin
ROS türleri	Tek çekirdekli fagositler	iNOS	NBT, antikor yok.
Kompleman ve akut-faz cevapları	Hepatositler	C3, C4, C5, C7, C8, CRP, SAP	pAb dan C3'e
Antibakteriyel	Çeşitli tipler	Peptid ailesinden	Yok
Antiviral	Lökositler	IFN-1, IFN, Mx protein	Yok
Enzimler	Çeşitli tipler	Lizozim, kaspaz, proteaz	Yok
İltihaplanma, sitokinler, monokinler	Lökositler	TNF α , COX-2, PLA2, TLRs, ILs (1, 6, 12, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22), >16 kemokinler	pAb for IL-1, TNF α için pAb ve mAb
Spesifik olmayan öldürücüler	Lökositler	NCCRP-1	mAb 5C6

1.9.5.1. Fagositler

Yabancı partiküllerin fagositozu, fizyolojik bir aktivite olarak doğuştan plasenta ve anne sütü ile vücuda geçen B hücreleri içeren tek çekirdekli fagositler, çok çekirdekli lökositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından gerçekleşir. Fagositoz, patojen etkileri tespit edilmiş mikroorganizmaların fagosite edildikten sonra edinsel immünitete sunulmasında önemli bir rol oynar (Savina ve Amigorena, 2007). Patojen organizmalara karşı oluşan bazı hücresel immünite cevaplarının oluşup oluşmadığı veya ne derecede oluştuğu ROS (reaktif oksijen türleri) ve NBT (nitroblue tetrazolium) deneyleri ile ölçülür. Örneğin deniz levreğinin ön böbreğindeki adherent hücreleri, bakteri (*Aeromonas salmonicida*) ve mantar (*Candida albicans*) patojenik ajanları tarafından uyarılmalarının ardından fagositik aktivite gerçekleşir. Fagositoz ve ROS ölçümünde ışık mikroskobu kullanılır.

1.9.5.2. Antiviral ve antibakteriyel peptitler

Kemikli balıklarda interferon tip 1 (IFN) (Kinkelin ve Dorson, 1973; Collet ve Secombes, 2002) ve Mx (Leong vd., 1998) proteinlerinin antiviral aktiviteleri

gözlemlenmiştir. Hızlı antibakteriyel aktiviteleri, antibakteriyel peptitler ve bazı antikor türleri için gen kodlarının aktivasyonunu sağlar. IFN ve Mx birçok türlerde tespit edilmiştir. Son zamanlarda alabalıklardan elde edilen poliklonal antiserum Mx ve bir peptit parçası kullanılmıştır. Bu peptit parçası immünohistokimyasal olarak virüs ile enfekte edilmiş balıklarda immün tepki oluşturur (Jensen vd., 2002; Das vd., 2007).

1.9.5.3. Kompleman aktiviteleri

Balıklarda birkaç serum kompleman şekilleri keşfedilmiştir. Bunlar: C3 (Sunyer vd., 1996), C4 (Sambrook vd., 2003), C5 (Franchini vd., 2001), C7 (Zarkadis vd., 2005) ve C8'dir (Kazantzi vd., 2003). Bunlara ilaveten gen dizilimleri, kompleman aktivitelerinin in vitro çalışmaları ve bazı antikorların kompleman alt kısımlarına karşı oluşmuştur (Boshra vd., 2001). Morina balıklarında yapılan incelemelerde immünoaktif hücrelerin immünohistokimyası araştırılmıştır. Çoğu larval dokularda C3 antijenlerinin yaygın bir katkısının bulunduğu tespit edilmiştir (Magnadottir vd., 2005).

1.9.5.4. Spesifik olmayan sitotoksik aktiviteleri

Kemikli balıklarda allojenik hedeflere karşı lökositler tarafından doğumsal sitotoksik aktiviteler tespit edilmiştir (Evans vd., 1984). Yayın balıklarında yapılan spesifik olmayan sitotoksik hücre çalışmalarında mAb 5C6, protein-1 (NCCRP-1) spesifik olmayan sitotoksik hücre reseptörleri için spesifik olduğu tespit edilmiştir (Evans vd., 1999).

Yayın balıklarının spesifik olmayan hücrelerinde anti reseptörler 32-kDa tip III, proteinkinaz enzimi ile irtibatlı membran proteini tespit edilmiştir. Üstelik granzim enzim ailesinden serin proteaz, 5C6-pozitif hücrelerinin sitotoksik aktivitelerini gösterdiği tespit edilmiştir (Sasaki vd., 2002). Gökkuşluğu alabalıklarında ki nötrofillerin spesifik olmayan sitotoksik aktiviteleri bulunmuştur. Bu çalışmada ön böbrekten izole edilen mAb 5E9, YAC-1 hedef hücrelerine karşı sitotoksik yıkım hücrelerinin aktiviteleri tespit edilmiştir.

1.9.5.5. Sitokinler

Sitokinler TNF (Tümör nekroz faktör), İnterlökin-1 (IL-1), Kemokinler, IL-12, İnterferon- γ (IFN- γ), Tip I IFN'lar (IFN- α , IFN- β), IL-10, IL-6, IL-15, IL-18'dir.

İmmün yetersizlik hastalıkları, bağışıklık sistemin farklı bileşenlerinin eksikliğine bağlı gelişir ve bazı kanserlere ve enfeksiyonlara artmış yatkınlık ile sonuçlanır. Edinsel immün yetersizlikler enfeksiyonlara, malnütrisyonu ve diğer hastalıklar için uygulanan

tedavilerin bağışıklık sistemi üzerine baskılayıcı etkisine bağlı olarak gelişir (Abbas ve Lichtman, 2007).

Son yıllarda kemikli balık sitokinleri için çok sayıda gen kodları tespit edilmiştir. Bu hızlı gelişmeye rağmen sitokinlerin biyolojik aktiviteleri hakkında bilgi edindiğimiz 2 tipi mevcuttur. Bunlar: IL-1 ve tümör nekrozis faktörüdür (TNF) (Zou vd., 2003a). Gökkuşluğu alabalıklarında Western blot yöntemi kullanılarak IL-1'in öncül maddesi olan IL-1b tespit edilmiştir (Hong vd., 2004). Alabalık makrofajlarında ki IL-1b molekülü, memelilerdeki IL-1b molekülüne benzemektedir. TNF molekülü enflamatuvar cevapları düzenler ve iki TNF geni tespit edilmiştir. Bunlar birleştirilmiş E. coli ve tavşan antiserumun da çoğaltılmıştır. Western blot analizlerinde rTNF yapısında monomerik, dimerik ve trimerik TNF'nin canlılık aktivitelerinde gerekli olan 3 forma sahip olduğu görülmüştür (Morrison vd., 2007). Atlantik salmonlarında da amoebial enfeksiyona karşı alabalık TNF'nün etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada parazit enfekte edilen ve edilmeyen kontrol grubu balıkların çeşitli dokularındaki TNFa tespit edilmiştir (Pancer vd., 2004).

1.9.6. Edinsel immünite işaretçileri ve determinantlar

Spesifik antijen tanıma özelliğine sahip edinsel immünite sadece çeneli omurgalılarda mevcuttur. Tüm çeneli omurgalılarda görülen yeniden oluşan antijen reseptörlerinin nasıl oluştuğu henüz bilinmemesine rağmen kazanılmış immün cevap yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Magnadottir, 2006). Şu ana kadar balıklarda çeşitli edinsel immünite parametreleri tespit edilmiştir (Tablo 1.9.6.1).

Tablo 1.9.6.1. Balıklarda araştırılan edinsel immünite parametreleri (Wilson vd., 1997).

Faktör	Bulunduğu hücre	cDNA kod sıralaması için	Hüresel işaretçiler
Spesifik antikor, hafıza	B-hücreler	IgM, IgD, IgT, RAGs	mAb den IgM ve B-hücreleri
Hüresel tanıma, hafıza	T-hücreler	TcRa, b, g, d, CD3, RAGs	DLT15, WCL38
Spesifik öldürücüler	T-hücreler	CD8 ⁺ , CD8 ⁺ b, MHC	Yok
Yardımcı aktiviteler	T-hücreler	CD4 ⁺ , MHC	Yok
Yardımcı aktiviteler	Th1	IFN- γ , IL-2	Yok
	Th2	IL-4, IL-10	Yok
	Lökositler	ILs:7, 15, 21, 22, 26, LtB	Yok

1.9.7. Spesifik antikorlar: İmmünoglobülinler (Ig) ve B–hücreler

Aşılama sonrasında ve antijen parçacıkları ile uyarımdan sonra kemikli balıklarda antikor oluşumu gerçekleşir. Biyokimyasal ve moleküler çalışmalarda kemikli balık türleri, tüm çeneli omurgalılarda bulunan IgM'ye benzer bir immünoglobülin ihtiva eder. Son zamanlarda balıklarda IgM'nin diğer sınıflarından IgD (Stenvik ve Jorgensen, 2000; Hansen ve Kaattari, 2005), IgT (Danilova vd., 2005) ve IgZ (Van Ginkel vd., 1994) bulunmuştur. İmmünoglobülinin immün reseptör formu immünoglobülinin çapraz bağlanmasını ve antijen bağlanmasını uyaran ikincil mesaj taşıyıcı yeteneğine de sahiptir (MacDougal vd., 1999; Picchiatti vd., 2002). Balık antikorları memelilerinkinden düşük eğilim ve çeşitliliğe sahiptirler. Çeşitli balık türlerinin yumurta veya yeni doğmuş bireylerinde immünoglobülin veya immünoglobüline benzer moleküller çeşitli yöntemlerle tespit edilebilir. Çipura ve deniz levreği yumurtalarında yapılan çalışmalarda Ig molekülleri bulunmuştur (Picchiatti vd., 2004; Picchiatti vd., 2006; Etlinger vd., 1976).

1.9.8. Hücresel tanıma

1.9.8.1. T–hücreler

Kemikli balıklarda T–hücre popülasyonunun varlığının kanıtları 1970'lerde tespit edilmiştir. Timus kökenli antijen uyarımına bağlı oluşan yardımcı hücre konumundaki antikorlar ve karışık lökosit reaksiyonuyla oluşan tepki vasıtasıyla mitojenlerin üremesi görülmüştür (Sizemore vd., 1984; Nakanishi ve Ototake, 1999).

Kemikli balıklarda görülen T–hücre aktivitesi GVHR (graft–versus–host reaction: graftın alıcıyı reddi) reaksiyonudur. Sazanlarda yapılan tipik bir GVHR ve tetraploid alıcılar enjekte edilmiş triploid hücrelere duyarlılık kazandırılmıştır (Romano vd., 1997). Sazanlarda intestinal T–hücrelerine (WCL38) karşı bir mAb uygun olmasına rağmen deniz levreklerinde sadece deniz balıklarında kullanılan spesifik anti T–hücre işaretçileri (DLT15) uygundur. mAb DLT15 timositler ve periferel T–hücreler için spesifiktir. Yani canlı hücreler ve doku kısımlarının antijenlerini tanırlar. Balıklardaki T–hücrelerinin bileşimindeki ilk değişimi, lökositlerin sitoflorimetrik analizleri ve IF'nin tespiti mAb DLT15'nin kullanımı ile gerçekleşir. mAb DLT15: PBL'nin %3, splenositlerin %9, ön–böbrek hücrelerinin % 4, timositlerin % 75, GALT'ın % 51 ve solungaç–lenfoid organların % 60 oranlarında bileşimlerine girer (Rombout vd., 1998).

DLT15'in kullanımının bir önemi deniz levreklerinin organlarındaki hücrelerin artırılmış immünoreaktif özellikte olmasıdır. Temelde lenfoid dokulardan bağırsak ve kandan veya deniz levreğinin T-hücre reseptörlerinin klonlanması için artırılmış olarak kullanılır.

Deniz levreğinin kas allogreftlerinin DLT15 ile immünohistokimyasal analizlerinde dokulardan süzülen hücreler DLT15-pozitif hücrelerdir. Monoklonal antikor WCL38 (sazanların bağırsaklarındaki T-hücrelerine karşı) sazanların bağırsak interepitelyal lenfoid hücrelerin membran moleküllerinden elde edilerek farede immünizasyonu ile üretilir.

Akışkan sitometrik analizler WCL38 bağırsak, solungaç veya deriden elde edilen lenfoid hücrelerin % 50-70 oranında, timus, böbrek veya dalaktan ve PBL'nin ihmal edilebilir oranda elde edilen lenfoid hücrelerin % 6'dan daha az reaksiyon verdiğini göstermiştir.

İmmünokimyasal analizler: WCL38 mukozal lenfoid hücrelerindeki bir M ile bir dimerik membran molekülü ile reaksiyona girdiğini göstermiştir. WCL38 lenfoid hücreleri T hücresi olarak kabul edilir. Çünkü WCL38, B hücreleri, makrofajlar veya spesifik olmayan sitotoksik hücreler ile reaksiyona girmez. Sonuç olarak yüksek yapılı omurgalılarda, deniz çipurasında ve deniz levreğinde mukozal dokularında ki T hücre popülasyonu bir farklılığa sahiptir (Babbitt vd., 1985).

1.9.8.2. T-hücre reseptörleri (TcR)

T lenfositleri membrana bağlanabilen antijen reseptörlerine sahiptir. Bunlar antikor molekülleri ile iletişim içerisindedir. T-hücreler hücresel immün savunmanın ana efektörleridir. MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri ile ortak çalışarak antijen peptitlerine cevap oluşturarak tanınmalarını sağlarlar. B-hücrelerin aksine, T-hücreler çözünebilir protein antijenlerine, nükleik asitlere, polisakkaritlere, lipitlere ve küçük kimyasal parçacıklara yanıt vermezler (Scapigliati vd., 2000) TcRa ve TcRb alt bölümleri çeşitli balık türlerinden klonlanmıştır (Timmusk vd., 2003). Bu moleküller üzerinde antikor hazırlamak için birçok çalışma yapılmıştır. Özellikle gökkuşağı alabalığında farelerden TcR plazmit DNA'nın immünizasyonun taşınması kullanılarak anti-TcR mAb'nin hazırlanmasında iki tipi tasvir edilmiştir (Jansson vd., 2003) mAb bileşiği, akışkan sitometride, boyama kalıp profiline sahiptir. Bu da tahmin edilen sayıda ki T-hücrelerin sayısını tespit etmemize yardımcı olur. Diğer bir yolu gökkuşağı alabalıklarının TcRb zincirlerinden türetilen peptitlerin farelerde immünojen olarak kullanımudur. Bu yaklaşımla

immünoreaktif hücrelerin boyanmasıyla (Willett vd., 1997) elde edilen mAb geniş bir bant genişliği göstermiştir.

Son yıllardaki raporlarda TcRb–pozitif hücrelerin dağılımı deniz levreklerinde T–hücreler ile mAb DLT15 ve melezleme (ISH) vasıtasıyla TcRb’ye geçiş yapan hücreler olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada timus ve bağırsakların yüksek sayıda TcRb pozitif T hücreleri içerdiği ortaya çıkmıştır.

1.9.8.3. Rekombinasyon aktive edilen genler: (RAG1 ve RAG)

RAG1 ve RAG2 T ve B lenfositlerde gerçekleşir. RAG1 ve RAG2’nin ekspresyonu uygun olgun lenfositlerin gelişimi için gereklidir. Zebra balığı (*Danio rerio*) (Hansen ve Kaattari, 1995), alabalık (Hansen ve Kaattari, 1996; Sullivan vd., 2006) ve yayın (Littman vd., 1985) balığının birçok RAG dizilimleri genbank da sunulmaktadır. Ekspresyon çalışmalarının ilklerinden biri zebra balıklarında RAG1 ve RAG2’nin ekspresyonudur. Bunlar izole edilerek analizi yapılmıştır. RAG1 ve RAG2 spesifik olmayan antikorları balıklar için uygundur.

1.9.8.4. Spesifik yok ediciler

1.9.8.4.1. MHC sınıf I

T–hücrelerinin çoğu antijen bağlayan MHC molekülleri iki polipeptit zincirinin heterodimer olarak birleşmesiyle oluşur. Memelilerde bu zincir 40e50 kDA asidik glukoproteindir ve b zinciri yüksüz bir 40e45 kDA’dur veya temel bir glukoproteindir. MHC sınıf I molekülleri vücudun her çekirdekli hücresinde bulunur. Çünkü MHC sınıf I molekülleri sitosolik proteinlerden türer. Sitoplazmadan giren patojen virüsler MHC sınıf I moleküllerine antijen sunarak uyarır ve T–hücrelerinin ilk enfekte virüs sinyali uyarımını sağlar. MHC sınıf I molekülleri CD8⁺ (Sitotoksik) T–hücreleri (CTLs) ile etkileşim içerisindedirler. Virüs bulaşmış hücrelerin akıbeti CTL’ler tarafından başlatılan apoptosise bağlıdır ve önemli ölçüde enfeksiyonun komşu hücelere yayılmasının önüne geçer. MHC sınıf I ve sınıf II genleri tüm çeneli omurgalıların önde gelen türlerinde tespit edilmiştir. Şaşırtıcı olan ise kemikli balıklarda MHC sınıf I ve sınıf II genleri birbirine bağlı değildir (Scapigliati vd., 2000).

1.9.8.4.2. CD8⁺ co–reseptörleri (öncül reseptörler)

CD8⁺, sitotoksik T lenfositlerinde bir TcR reseptörüdür ve iki alt bölümden oluşur, CD8⁺a ve CD8⁺b, (Nagarajan vd., 2004) CD8⁺ membrana bağlı bir glukoproteindir ve fare ve insanlarda aa homodimerleri veya ab heterodimerleri olarak bulunur. a ve b zincirlerinin her ikisi de tek bir N–terminal ekstrasellüler Ig superfamily (IgSf) V bölge, membran proximala bağlı bölge, bir transmembran bölgesi ve hücre içi sinyalleri algılayan bir C–terminal sitoplazmik kuyruk içerir. Homodimer CD8⁺ molekülleri Doğal öldürücü hücreleri (NK), intestinal intraepitelyal lenfositleri (IEL) ve dendritik hücrelerin altkümelerini uyarmalarına rağmen (Parnes, 1989), timositler ve olgun T lenfositler heterodimer CD8⁺ molekülü tarafından eksprese ederler (Fischer vd., 2003). Sitotoksik reaksiyonları gerçekleştiren CD8⁺’in hücresel eş değeri sitotoksik hücreler balıklarda tespit edildiği rapor edilmiştir (Pinto vd., 2006) ve kemikli balıklardaki CD8⁺ geni birçok balık türünde klonlanmıştır (Bernard vd., 2006). CD8⁺ hücresel işaretçisi olarak kullanılabilir. Picchietti vd. (2008)’nin yapmış oldukları çalışmada, Gökkuşluğu alabalığına fenotipik ve fonksiyonel özellik olarak benzerlik gösteren bağırsak intraepitelyal ve sistemik T hücrelerine normal alabalığın spesifik olmayan IEL TcRb repertuarı karşılaştırılmış ve spesifik olmadığı tespit edilmiştir. Çoğu çalışma CD8⁺’e karşı antikor hazırlamak için yapılmış fakat başarısız olunmuştur. Alternatif bir başlangıç olarak deniz levreklerinde ISH (situ hybridisation) kullanılarak CD8⁺ uyarım hücreleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada deniz levreklerinin ontogenesis boyunca sahip olduğu CD8⁺–uyarıcı hücrelerin ilk ortaya çıktığı yer olgunlaşmamış timusta bu molekülün hücresel uyarımında görülmüştür (Stet vd., 2003).

1.9.8.5. Yardımcı aktiviteler

1.9.8.5.1. MHC sınıf II

MHC molekülleri a ve b membran glukoproteinleri tarafından şekillendirilen heterodimerlerdir. Bunlar kendilerinden olmayan peptitleri T–hücrelerin yüzeyine sunarak bağlarlar. MHC–II peptitleri, CD4⁺ T yardımcı hücrelere bağlar ve buda A ve B isimli iki gen ile gerçekleşir.

Kemikli balıklarda MHC sınıf I ve II genleri çeşitli türlerde tespit edilmiştir ve sınıf I ve II farklı gruplarla bağlantı içerisinde (Sato vd., 2000; Buonocore vd., 2007). MHC sınıf II genleri deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) (Walker vd., 1994) gibi çeşitli balık

türlerinden, çizgili deniz levreği (*Morone saxatilis*) (Figueroa vd., 2000), çeşitli çiklitlerden (Miller ve Withler, 1996) salmonidlerden (Sultmann vd., 1993) ve farklı sazanlardan (Nuchtern vd., 1990) izole edilmiştir. Kemikli balıklardaki MHC II genleri aynı zamanda polimorfiktir (Çok şekilli) ve çeşitli çalışmalarda MHC çeşitliliği ile insan ve tavuklardan identifiye edilen virüs, bakterilerin oluşturduğu hastalıklara direnç sağlayan farklı genleri eksprese ettiği düşünülmektedir.

1.9.8.5.2. CD4⁺

CD4⁺ tek zincirli bir transmembranlı glukoproteindir ve hücre dışı antijenleri tespit eden T-hücrelerle birlikte çalışır. Yüzeydeki endozomal kısımlarda MHC sınıf II molekülleri yapışma sürecine benzer şekilde bir yapışma süreci vardır (Koskinen vd., 1999). CD4⁺, kuş ve memelilerdeki timositlerde ve yardımcı T hücrelerinde bulunur (Romano vd., 1999; Dijkstra vd., 2006) CD4⁺ proteini dört hücre dışı immünoglobülin (Ig)'nin bir transmembranın benzer bölgesine ve bir sitoplazmik kuyruğa sahiptir ki bu tirozin protein kinaz, p56lck ile ortak çalışır ve T hücre aktivasyonu içerir. İlk homolog ektotermik CD4⁺ CD4L-1'den dizayn edilmiştir. Çünkü CD4L-1, kemikli balıklardan fugu (*Takifugu rubripes*) ve alabalıktaki (*Oncorhynchus mykiss*) ikinci CD4L-2 genine benzer CD4⁺ geninden elde edilmiştir (Suetake vd., 2004). Memelilerdeki ve kuşlardaki CD4⁺'ün birbirine benzedikleri bilinmektedir. Fugu CD4L-1 molekülü de hücre dışı Ig'e benzer bölge, bir transmembranbölge ve bir sitoplazmik kuyruk içerir ki bu p56lck bölgesi ile korunmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda memelilerdeki hücre dışı Ig'lerden CD4⁺'e benzer bir yapı alabalıklarda da tespit edilmiştir. Oysa diğer iki tip (CD4REL) kodları iki Ig bölgesindedir. Amino asitlerin dizilimlerinin yapısal motifleri ki bu dörtlü CD4⁺ molekül bölgesinin kopyalandığı bölge, ilişkili geni, lenfosit aktivasyon işlevlerine sahiptir. Memelilerdeki homolog CD4⁺ molekülü ve kemikli balıklardaki CD4⁺ molekülünün her ikisi de CD4⁺ ailesinin üyeleridir ve lenfosit aktivasyonu gen-3, T-hücrelerinin aktivasyonunun işaretçileridir. Hiçbir antikor işaretçisi balıklardaki CD4⁺ molekülü kadar uygun değildir (Robertsen, 2006).

1.9.8.5.3. IFN- γ

İnterferonlar (IFNs), omurgalılarda hücre içinde gizlenmiş antiviral bir durumda ortaya çıkan proteinlerdir. İnterferonların memelilerde 3 tipi belirlenmiştir tip I IFN, tip II IFN ve IFN- λ 'dır. Gen yapıları, protein yapıları ve fonksiyonel özellikleriyle birbirinden

ayırt edilebilirler. Tip I IFNs, IFN- α ve IFN- β içerir. Bunlar virüslere karşı koymada ilk savunma hattını oluştururlar. Tip II IFN IFN- γ ile aynıdır ve mitojen ve antijenlere cevap oluşturan T yardımcı I hücreler tarafından üretilirler ve de edinsel bağışıklığın hücrel immünitesinde anahtar role sahiptirler (Schroder vd., 2004).

Tip-I IFN'ların aksine IFN- γ sadece bağışıklık sistemin hücreleri tarafından üretilir ve sonraki immün cevapta daha önemlidir (Biron ve Sen, 2001). Böylece kazanılmış hücrel immün yanıtta IFN- γ oynadığı esas rol olan CD4⁺ t yardımcı I (Th1) lenfositleri ve antijen sunan MHC'ye cevap sunan CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri (CTL) oluşturmaktır (Boehm vd., 1997). Doğumsal yanıt boyunca IFN- γ , IL-12 ve/veya IL-18 tarafından uyarılan NK hücreleri vasıtasıyla üretilir ki bunlar tek çekirdekli fagositlerce salgılanır bunlarda hücre içi patojenleri ile enfekte edilen hücrelere sunulan antijenleri tanır. Üstelik IFN- γ , antijen oluşum sürecindeki üyelerden MHC sınıf I ve MHC sınıf II moleküllerinin her ikisinin düzenleyici uyarımları vasıtasıyla peptit antijenini yükseltir (Graham ve Secombes, 1990). Sonuç olarak IFN- γ immün düzenleyici özelliklerin bir göstergesidir. Böylece IFN- γ monositik hücreleri, CXC kemokinleri üretmek üzere harekete geçirir. Kemokinler enfeksiyonlu bölgeye yönelen monositik asker hücrelerdir. Üstelik IFN- γ direkt olarak hücre tiğlerinin büyümesini, olgunlaşmasını ve farklılaşmasını etkiler. Bunlara ilaveten NK hücre aktivasyonunu artırır ve B hücre fonksiyonunu düzenler.

Son zamanlarda varsayılan IFN- γ geni dizilimine fugu (*Takifugu rubripes*) balığında, zebra balığında (*Danio rerio*) ve Atlantik salmonunda rastlanılmıştır. Atlantik salmonundan ve gökkuşağı alabalığından elde edilen balık IFN- γ genlerinin klonlama çalışmalarında Th1 immün yanıt düşük omurgalılardakine benzer. Üstelik önceki çalışmada gökkuşağı alabalığı lökositindeki uyarılmış mitojen, IFN- γ 'ye benzer özelliklerde bir makrofaj aktivasyonu göstermiştir (Graham ve Secombes, 1988; Inoue vd., 2004). IFN- γ , NOS2 proteini ve fagosit oksidazın alt kısımlarını uyarır. Bunlar, kemikli balıklardan klonlanmıştır (Saeij vd., 2000; Savan vd., 2003). Guanylate bağlı protein memelilerdeki esas antiviral IFN- γ 'dır. Bu protein son zamanlarda gökkuşağı alabalığı ve atlantik salmonlarından klonlanmıştır. Sonuç olarak balıklardan klonlanan IFN- γ CXC kemokinleri uyarır (Barnes vd., 1992). İlgi çekici noktası ise kemikli balıklardan elde edilen IFN- γ geni genlerin dizilimini düzenler. Balık IFN- γ geni için günümüzde hiçbir antikör işaretçisi yoktur.

1.9.8.6. Edinsel yanıttaki sitokinler

1.9.8.6.1. İnterlökin-2

Balık immün hücreleri sitokin benzeri üyeler üretir. Çoğu biyolojik yönden memelilerin sitokinlerine benzer. İmmünokimyasal karakterleri uygun ve önemli molekülleri popülasyonun yanıt veren üyeleri olarak bilinmekte. Lökositlerin in vitro mitojenlerle uyarımı omurgalılarıdaki sitokin benzeri moleküllerin çalışma prensibi ile aynıdır. Yayın balığında (Koumans vd., 1994), sazanda (Verburg vd., 1998; Siegl vd., 1995) ve alabalıkta (Caspi ve Avtallion, 1984) yapılan çalışmalarda immün hücre uyarımının özellikle mitojenlere ve lökositlerin alt popülasyonlarına bağlı olduğu görülmüştür. IgM hücreleri LPS ile uyarıldıkları zaman güçlü bir limfoproliferatif cevap (LPR) geliştirir. PHA uyarımından sonra bu cevap gelişmez. Yüksek omurgalılarıda, PHA ile balık lökositlerinin uyarımı IL-2 benzeri aktivite olarak büyüme hormonunun salınımı görülür (Blohm vd., 2003). Fakat bu uyarımın memelilerdeki T-hücrelerdeki gibi T hücreler tarafından gerçekleştirildiğine dair açık bir kanıt yoktur. Büyüme faktörüne benzeyen bir IL-2'nin ilk immünokimyasal karakteri, mitojenlerin supernatantlarıyla uyarılan IgM de bulunabilir. Üstelik bu büyüme faktörüne benzer IL-2'nin biyolojik aktivitesi naif alabalık lökositlerinin, alabalıktaki lökositlerin alt üyelerinin öncül uyarımının göstergesidir (Bird vd., 2005). Bu çalışmalar kemikli balıklarda IL-2'nin varlığının ilk kanıtıdır (Bird vd., 2004). Tespit edilen IL-2 dizilimi insan ve fugu (*Takifugu rubripes*) balığının genomlarının her ikisinde de bulunur. IL-2 homologundaki 149-amino asit IL-2 ailesinin ortak üyeleridir. Balıklarda keşfedilen IL-2 T-yardımcı hücre cevaplarının detaylı araştırılmalarının yolunu açmıştır. Balıklarda IL-2 tespiti için günümüzde hiçbir antikor işaretçisi yoktur.

1.9.8.6.2. İnterlökin-4 (IL-4)

İnterlökin-4 (IL-4), Th2 immün cevap sağlayıcı sitokin anahtarlarının biridir. İnterferon gama (IFN- γ), interlökin-1 (IL-1) ve TNF- α gibi çoğu sitokin immün yanıtları düzenler. IL-4 üzerinde yapılan birçok çalışma insan ve birkaç memelide yapılmıştır, balıklarda yapılan çalışma sayısı çok azdır. Son yapılan çalışmalarda yeşil benekli puffer balıklarından elde edilen cDNA da Th2 tip sitokin klonlanmıştır. Bu klonda 4 exon ve 3 intron kuşlardaki ve memelilerdeki Th2'ye benzer yapıdadır.

Th2 tipi sitokinler seçili dokuların hepsinde tespit edilmiştir. Bu dokular ön böbrek, dalak, karaciğer, beyin, solungaç, kas ve kalptir. Ön böbrek, dalak ve karaciğerde miktarları düşüktür. Th2 tipi sitokin immün sitokin düzenlemede etkin bir role sahiptir. Balıktaki immün cevabı ConA, PHA ve PMA ile birlikte ortak çalışarak sağlar. Çoğu dokuda bulunan Th2 tipi sitokinler mitojenler vasıtasıyla başlatılan immün iltihap yanıtında yer alırlar. Balıklarda IL-4 tespiti için günümüzde hiçbir antikör işaretçisi yoktur (Jaillon vd., 2004).

1.9.8.6.3. İnterlökin-10

İnterlökin-10 memelilerde sitokinleri düzenler, immün cevabı baskılar. IL-10; makrofajlar, T-yardımcı 2 (Th2) ve T-düzenleyici (TR) hücre alt kısımları tarafından üretilir (De Waal vd., 1993) ve makrofajların bazı iltihap engelleyici aktivitelerinde önemli bir role sahiptir (Savan vd., 2003). IL-10 geni fugu (*Takifugu rubripes*) genomunda ve farklı balık türlerinde cDNA klonlarında keşfedilmiştir (Buonocore vd., 2007; Miller vd., 1994). Kemikli balıklarda aşılmalarda ve immünostimulantların kullanımından sonra patojen ajanlara oluşan yanıtta ve enflamasyon önlemede ilk verilen yanıtta verilen ilk uyarımlarda IL-10'nun bulunması dikkat çekicidir. Balıklarda IL-10 tespiti için günümüzde hiçbir antikör işaretçisi yoktur.

1.9.8.6.4. İnterlökin-15

İnterlökin-15 (IL-15), omurgalılarda kazanılmış bağışıklık sistemin de önemli bir role sahiptir ve IL-2'nin aktivasyonuna benzer bir özellik gösterir. IL-15, insan ve diğer memelilerde geniş çapta çalışılmıştır fakat kemikli balıklar üzerinde bu konuda pek çalışılmamıştır. Günümüzde yapılan çalışmalarda IL-15 dizilimine benzer dizilimler Zebra balığı (*Danip rerio*), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Yeşil benekli puffer (*Tetraodon nigroviridis*) (Gunimaladevi vd., 2007; Jaillon vd., 2004) balıkların da tespit edilmiştir. Bu dizilim bazı tespit edilen IL-15'ler ile özdeşleşmektedir. Zebra ve fugu balıklarından elde edilen IL-15'e benzer iki homolog tespit edilmiştir. Bu dizilim gen yapısı, genomik yapı gibi çoğu yönüyle insandaki IL-15'e benzer. Balıkların lenfoid bağırsak dokularından, solungaçlarından, dalak, pankreas ve böbreklerinden elde edilen genler bağışıklık sisteminde IL15'in önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir.

1.9.8.6.5. İnterlökin-21

İnterlökin-21, IL-2 sitokin ailesinin bir üyesi olduğu yeni bir bulgudur. İnsan ve memelilerde, IL-21 Th1 ve Th2 hücreleri tarafından üretilmektedir onun üretimi birçok sayıda IL-6, IFN-a ve IL-21 içeren sitokinler tarafından ayarlanır. Son yıllarda IL-21'in; T ve B lenfositlerin, doğal öldürücü hücrelerin ve dendritik hücrelerin bağışıklık sistemindeki pleiotropik etkilerine sahip olduğu anlaşılmıştır. IL-21 uyarılmış B hücrelerin uygun olmayanlarının apoptosisini başlatabilir, IgG'nin üretimini düzenleyebilir ve IL-4 tarafından IgE sentezini engelleyebilir. IL-21 memelilerde tespit edilmelerine rağmen kemikli balıkların IL-21 immünolojik fonksiyonları ve IL-21 varlığı hakkında çok az bilgi vardır.

Fugu (*Takifugu rubripes*) balığındaki gen dizilimi gibi genomik karakterlerin karşılaştırmalarından fugu balıklarında IL-21'e benzer homolog bir yapı tespit edilmiştir. Bu durum balıktaki IL-21'in varlığının ilk kanıtıdır (Bei vd., 2006; Wang vd., 2006). IL-21 Yeşil benekli puffer (*Tetraodon nigroviridis*) balığında tespit edilmiş ve klonlanmıştır. Bu da IL-21'in balıklardaki başka bir kanıtıdır. Yeşil benekli pufferlarda IL-21 mRNAs üzerinde ki in vivo çalışmalarında, bunun sağlıklı balıkların bağırsak, solungaç ve gonadlar gibi sınırlı dokularında düşük seviyede koruyucu özelliği olduğu tespit edilmiştir. Bu dokularda ve böbrek, dalak, deride IL-21'in LPS'yi uyarımını artırdığı bununda IL-21'in balığın antibakteriyel savunmasıyla, iltihabi durumlarda ve stres durumuna bağlı olduğu tespit edilmiştir (Igawa vd., 2006).

1.9.8.6.6. İnterlökin-22 ve İnterlökin-26

İnsan ve balık genomik yapıların karşılaştırılmasında balıklardan izole edilmiş IL-22 ve IL-26 kromozom dizilimi temel alınmıştır. IL-22 ve IL-26 ilk olarak memelilerin dış yapısında, organizasyonlarında ve genomlarında sitokin kümelerinin evrimleri boyunca iyi korunduğu görülmüştür. Zebra (*Danio rerio*) balıklarından klonlanan IL-22 ve IL-26 homologları 161 ve 169-aa uzunluğundadır. Bu genlerin kodlama bölgeleri insan homologları ile aynı pozisyonda 5 exonda yayılmıştır. IL-22 ve IL-26 genlerinin analizlerinde bu genlerin balıkların immün yanıtında aktif rol aldığı tespit edilmiştir. IL-22 geni bağırsaklarda ve solungaçlarda tedavi edilen ve edilemeyen dokularda sürekli bulunur. Bu gen böbrek ve dalaktaki LPS, Poly I, C-tedavili dokularda yaygındır. IL-26, IL-22'nin aksine sadece Poly I ile tedavi edilen bağırsaklarda görülür ve diğer dokularda yapılan testlerde diğer dokularda etkili olmadığı tespit edilmiştir (Hardie vd., 1998).

1.9.8.6.7. Makrofaj–koloni uyarıcı faktör (M–CSF)

Hematopoiesis, olgun kan hücrelerinin oluşumu, gelişimi, canlılığı sürdürme, çoğalmaları, birleşmeleri ve olgunlaşmaları hakkında bilgiye ulaşmayı hedefler. Bu mekanizma hücrelerin yıkıma uğramış veya yok olmuş hücrelerin yerine yenilerinin geçerek hücresel dönüşümün normal nasıl gerçekleştiğini izah eder. Stres durumlarında hematopoietik mekanizmanın düzenlenmesi, homeostasis mekanizmasının ve patojenlerin istilasına karşı düzenli savunmanın kurulmasın da oldukça önemlidir. Hematopoietik çoğalma, sorumluluk, farklılaşma ve hayatta kalma olayları hücreler arası ve mikro çevre tarafından çevrelenmiş hücre dışı matriks bileşikleri ile koordine edilir. Sitokinler bağışıklık sisteminde, endokrin ve nöral sistemde homeostasisin sürdürülmesinde önemli bir role sahiptir. M–CSF (CSF–1) ilk olarak hematopoietik büyüme faktöründe, monositlerin, makrofajların ve kemik iliğinin canlılığını sürdürmesi, farklılaşması ve çoğalmasını uyarması ile tespit edilmiştir. Büyüme uyarıcısı olarak MCSF eksensel sitokinlerden biridir. Bu sitokin doğumsal immüniteyi özellikle hücrelerin enflamasyon durumlarında oluşan popülasyonunu sürdürmede kullanılır. Altın balığı makrofajları; olgun makrofajlardan gelişen klasik (MPS) ve orta monosit kısımlarından hızlıca gelişen yardımcı makrofajlar (AP–makrofajları) olmak üzere iki belirgin farklı gelişime sahiptir. AP–makrofajları büyüme hücrelerinin oluşturduğu tek yapıdır. Onların kendi kendine yenilenmeleri, endojen makrofaj büyüme faktörleri tarafından olmakta ve çözünebilir CSF–1R (sCSF–1R) vasıtasıyla da etkili bir kontrol mekanizması sağlamaktadır. Altın balıklarında CSF–1R (sCSF–1R)’in keşfi kemikli balıkların düzenli hematopoietik mekanizmanın kompleks miras içinde ortaya çıkmıştır (Manera vd., 2000).

1.9.8.6.8. Dönüşümlü büyüme faktörü β (TGF β)

TGF b bağışıklık sisteminde pleiotropik etkiye sahip, çevresel koşullara bağlı olarak oluşan hücre tiplerine göre değişen, sitokin ailesinin bir üyesidir. TGF β ’ların; lenfosit duyarlılığı, sitokin uyarımı ve lenfosit çoğalmasında negatif veya pozitif etkileri olabilir.

Balıklarda 3 farklı TGF β izoformalarının varlığı tespit edilmiştir. Gökkuşığı alabalığında (*O. mykiss*) (Harms vd., 2000) çizgili hibrid levreği (*Morone saxatilis*, *M. chrysops*) (Zhan ve Kwang, 2000) ve sazanda (*C. carpio*) (Laing vd., 1999) ki TGF β ’nin eş değeri TGF β 1’in ve sazandan izole edilen TGF β 2’nin cDNA dizilimleri aynıdır. Üstüne üstlük Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*), Gökkuşığı alabalığı ve Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) TGF β 3’nin dizilimleri de kısmen aynıdır (Daniels ve Secombes,

1999) TGF β geni gökkuşağı alabalığındaki dizilim ile karakterizedir (Baldwin ve Newton, 1996). Japon balığından (*Carassius auratus*) klonlanan β A ve β B aktivin genleri diğer TGF β ailesinin üyeleriyle ve zebra balıklarından (*Danio rerio*) izole edilen TGF süper ailesine maruz kalan farklı kemik morfogenetik proteinleri ve büyüme/değişim faktörleri ile ilişkilidir.

1.10. İmmünostimulantlar

İmmünostimulant, bağışıklık sistemini harekete geçirerek kuvvetlendiren, sentetik ve doğal bazı maddelerdir. Stimulant maddeler, spesifik olmayan savunma mekanizmalarını veya spesifik immün cevabı yükselten bir kimyasal madde, ilaç veya bitki yada bitkisel mamuller olarak nitelendirilebilir.

Balıkları birçok hastalıklardan korumak ve ölüm oranını azaltmak için immünostimulantlar kullanılır. Fakat immünostimulantlar balığı bütün hastalıklara karşı koruyamaz. Balıkların aldığı immünostimulantlar; *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida* ve *Streptococcus sp.* gibi bakteriyel, İnfeksiyöz hematopoietik nekrozis (IHN) ve yellow head baculovirus gibi viral enfeksiyonlar ve beyaz benek hastalığı gibi paraziter hastalıklara karşı balığın direncini artırdığını göstermiştir. İmmünostimulantların Viral hemorajik sepsis (VHS), IHN vb. viral enfeksiyonların çoğuna karşı pozitif etkisi vardır. Diğer yandan Cytophaga gibi bakteriyel etkenlere karşı olan etkisi de tespit edilmiştir. İmmünostimulantlar *Renibacterium salmoninarum*, *Pasteurella piscicida* veya *Edwardsiella ictaluri* etkenlerine karşı direnç artırmamıştır. Buradaki bakteriler fagosite olmaya dirençli ve makrofajlara karşı hayatta kalabilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Gutenberger vd., 1997; Kajita vd., 1990).

Düşük molekül ağırlığı L-amino asitler, nükleotidler ve bunlarla ilişkili diğer bileşikler birçok balık türü için kimyasal uyarıcı özelliğe sahiptir. Bu katkıların yem alımını artırmadığı ancak yem alımını uyararak daha hızlı yem tüketimi sağladığı için yemin dağılmadan alındığı ve böylece besin kaybının ortadan kalktığı bilinmektedir. Beslenme tepkisi oluşması için, çeşitli duyu hücrelerinin bu kimyasallar tarafından uyarılması gereklidir.

Bağışıklık sistemi uyarıcısı olarak bilinen kimyasal bileşiklerin pek çoğu bakteri, mantar ve mayaların yapılarında bulunurlar.

Balıkların sağlıklı gelişimleri için ön şart, besinsel faktörler açısından dengeli olan bir diyetle beslenmeleridir. Aksi takdirde balığın büyümesi, genel performansı ve

bağışıklık sistemi ile ilgili biyokimyasal olaylar olumsuz etkilenir. Bağışıklık sistemi uyarıcıları, beyaz kan hücrelerini (lökosit) aktif hale getirir ve böylece virüsler, bakteriler, mantar ve parazitlere karşı dayanıklı yapar. Farklı kimyasal yapıya sahip pek çok bileşiğin laboratuvar ortamında beyaz kan hücrelerini uyardığı bilinmektedir. Ancak bunların çoğunun, oldukça toksik olması ve işletme koşullarındaki etkilerinin tahmin edilememesi nedeni ile pratikte kullanımı uygun değildir (Vimerkati, 2003).

Balıklarda beslenme davranışları açısından araştırmacıların en çok dikkat çeken konu koklama ve tat alma duyusu ile ilgili uyarıcılardır. Yem belli bir mesafede görsel veya kimyasal olarak balık tarafından algılanabilir ancak, yemi yeme veya yememe davranışı tat alma duyusuna bağlı bir karardır. Çünkü yapılan bazı araştırmalarda balığın, içinde itici maddeler olan yemi ağzına aldıktan sonra reddettiği görülmüştür.

Genel olarak yurt dışı kaynaklı olmakla beraber ülkemizde de balık immünolojisi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Ancak bu çalışmaların geneli kimyasal maddeler üzerinedir: β -glukan etkisi, lizozimin, sodyum alginatın balıkların hümmoral ve hüccresel bağışıklığına etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmalar antibiyotiklerin balıkların immün sistemine baskılayıcı etkili olduğunu göstermektedir (Aakre vd., 1994).

İmmünostimulantların, gelecekte su ürünleri yetiştiriciliğindeki hastalıkların kontrol altına alınmasında önemli bir yöntem olabileceği düşünülmektedir.

1.10.1. İmmünostimulant kullanımının gerektiği durumlar

Hayvanın genel performansını zayıflatacak ve strese neden olacak sıcaklık ve çevre değişikliklerinde, larvalardaki yem geçişleri ve aktarma gibi dönemlerden önce, parazit ve patojenik mikroorganizmalara etkisinde kalma durumları oldukça artar. Hayvanların enfeksiyonlara daha hassas olduğu gelişim evrelerinden önce ve bu süre boyunca (Karides ve deniz balığı larva dönemi, seksüel erginleşme dönemi vb.) immünostimulantlar kullanılabilir (Magnadottir, 2006).

1.10.2. İmmünostimulantların yararları

İmmünostimulantların aşağıda belirlenmiş çeşitli yararları bulunmaktadır (Magnadottir, 2005).

- Enfeksiyon kaynaklı ölüm oranlarını düşürücü ve canlının genel performansını artırıcı,
- Patojen kaynaklı ölüm oranlarını düşürücü,

- Virüs kaynaklı hastalıkları önleyici,
- Hastalıklara karşı direnci artırıcı,
- Juvenil balıkların ölüm oranını düşürücü,
- Antimikrobiyal maddelerin etkisini artırıcı,
- Parazitlere karşı direnci artırıcı,
- Antibiyotiklerle sinerji oluşturucu ve böylece tedavi etkinliğini güçlendirici

gibi çeşitli yararları bulunmaktadır.

Ancak tek başına tedavi edici etkisi yoktur. Bu bileşikler esasen koruyucu olarak canlının genel savunma sistemini güçlendirmek ve böylece hastalık riskini düşürmek için kullanılır.

1.10.3. İmmünostimulantlarda aranan özellikler

İmmünostimulantlarda aranan özellikler şunlardır (Abbas ve Lichtman, 2007):

- 1- **Konakçıya veya vücuda yabancılık:** İmmünolojinin temeli konakçının kendinde olmayan antijenleri ayırt edebilmesidir. İmmün sistemi sağlıklı bir konakçada kendi dokularına veya kendi dokularına benzer özellikteki antijenlere reaksiyon göstermez. Bu duruma doğal tolerans denir.
- 2- **Molekül ağırlığı:** Bir maddenin immünojenik olabilmesi için moleküler ağırlığının 10.000 dalton'dan fazla olması gerekir. Bu değerden daha küçük yapılardaki maddeler ya zayıf immünojeniktirler (haptentik) veya immünojenik değildirler.
- 3- **Kimyasal ve yapısal komplekslilik ve stabilite:** Proteinler karbonhidratlara ve yağlara göre daha güçlü antijenite gösterirler. Başka bir ifadeyle iyi bir antijenin bütünlüğünün sağlamlığı vücutta daha uzun süre immün cevap oluşturmalarını ve dolayısıyla daha yüksek titrelerde antikor sentezini sağlar.
- 4- **Antijenik determinantlar (Epitoplar):** Epitoplar, antikor ile reaksiyona giren ve antikorların sentezini uyaran antijen molekülü üzerindeki küçük kimyasal gruplardır.
- 5- **Vücuda veriliş/ giriş yolu:** İmmünojenlerin veriliş yolları dikkate alındığında, en güçlü immünojeniteyi genellikle, aşağıdaki sıraya göre gösterirler: intravenöz, intraperitoneal, intramuskular, intradermal, subkutan ve besleme. Ancak bu durum immünojenin özel durumu ile yakından ilgilidir.

6- **İmmünojenin miktarı:** İmmün sistemi yeterli seviyedeki bir organizmanın, yeterli seviyede immün cevap oluşturabilmesi için verilen immünojenin de yeterli miktarlarda olması gerekir.

7- **Konakçının genetik durumu, yaşı ve cinsiyeti:** Konakçının filogenetik ilişkileri immün tepkinin derecesini etkilemektedir. Erişkin bir canlının herhangi bir antijene karşı göstereceği immün cevap, genç ya da yeni doğanlara nazaran daha güçlü olmaktadır. Ancak yaşlanmayla birlikte immün toleransın bozulması sonucunda T lenfositlerinin aktivitesinde bir azalma görülmektedir (Tafalla vd., 1999).

1.10.4. İmmünostimulantların veriliş yollarına göre etkileri

Balıklarda immünostimulantlar; yeme karıştırarak, suya karıştırarak yani banyo şeklinde, enjeksiyon ve balığın vücuduna sürme tarzında kullanılmaktadır.

1.10.4.1. Besleme

Yeme karıştırarak verilen immünostimulantların balıklarda uzun dönemde immün tepkiyi artırmamasının nedeni hala bilinmemesine rağmen balıkların bir fonksiyonu olarak negatif feedback (homeostatik dengenin sağlanması için gerekli olan mekanizma. ters yönde, başa tepkidir) bu şekilde kandaki karbondioksit miktarı indirgenmiş olur. Bunun ise bağışıklık sisteminden kaynaklandığı ve bu cevabında balığın immünostimulant verilmeden önceki durumuna geriye çevirdiği düşünülmektedir. Bu yüzden etkili yöntemin uygulama süresi her immünostimulant için araştırılmaktadır. Şimdiye kadar çeşitli immünostimulantlar değişik balık türlerinde kullanılmış ve değişik yöntemlerle uygulaması yapılmıştır.

Yoshida vd., (1995)'nin çalışmasında gökkuşağı alabalığının *Vibrio anguillarum* etkenine karşı yeme karıştırma yoluyla verilen peptidoglukan ile yapılan tedavide 28 gün boyunca koruma yapmasına karşın 56 gün sonunda bu korumanın ortadan kalktığını belirtmişlerdir.

Vervarcke vd., (2005)'nin çalışmasında Afrika yayın balığına yemle glukan ve oligosakkarit verilmesinden 30 gün sonra bile NBT pozitif hücre sayısını artırdığını buna karşın 45 gün sonra bu artmanın devam etmediğini tespit etmişlerdir.

1.10.4.2. Banyo

Banyo yönteminin immüno stimulant maddelerin uygulamasında kısmen etkili olduğu çoğu zaman ise etkisinin verilen maddenin yoğunluğunun ve uygulama süresinin azlığından kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Balıklarda bulunan patojenlerin tedavisinde immüno stimulantların kullanımında başarı elde etmenin anahtarı uygun doz ve zamanlamadır (Kumari ve Sahoo, 2006; David vd., 2001).

Guselle vd., (2006)'nin yaptıkları çalışmada, *A. salmonicida*'nın O-antijeninin β -1,3/1,6-glukan kombinasyonu, gökkuşağı alabalığına 30 dakika immüno stimulantlı suya daldırma ve aşılama yöntemiyle uygulanmış ve sonuçta lökositler vasıtasıyla *A. salmonicida*'ya karşı antikor titrelerinin arttığı ve aşılama ile adjuvant etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Findlay ve Munday (2000), Atlantik salmonu (*Salmo salar* L.)' nunda yapmış oldukları banyo yönteminde yeterli uyarımı sağlamadığını tespit etmişlerdir.

Bunun yanı sıra Jeney ve Anderson (1993), sazanlarda levamisol solüsyonuna daldırarak banyo yöntemi (10 η g/ml) kullanmışlardır. Bu işlemde; fagositik aktivite aktif hale geçmiş ve böbrek fagositlerindeki aktif oksijen üretimi ve *Aeromonas hydrophyla*'ya karşı korumanın arttığını ve bu koruyuculuğun iki hafta sürdüğünü tespit etmişlerdir.

Nikl vd., (1993)'nin yaptığı çalışmada gökkuşağı alabalığını kitosan ve glukan solüsyonlarıyla banyo işleminde *A. salmonicida*'ya karşı 3 gün uygulanmış ve bu hastalığa karşı korumanın arttığı gözlenmiştir. Fakat bu etki 14 gün sonra geçmiştir. İmmüno stimulantların banyo yöntemi ile ortaya çıkan adjuvant etkileri çoğu bilim adamı tarafından rapor edilmiştir. Adjuvantlar aşı antijenlerine karşı immün sisteminin cevabını artıran immün stimulan maddelerdir. İmmün sisteme antijen ve adjuvantların deriden uygulanabilmesi için, keratinize olan stratum korneumun geçirgen olması gerekmektedir (Azad ve Rojanasakul, 2006).

Anderson, (1992a)'nın yaptığı çalışmada *A. salmonicida*'ya karşı glukanın etkisini ortaya koymak için yeme karıştırma yoluyla (7 gün) uygulamasıyla (15 dakikalık) banyo yöntemleri karşılaştırılmıştır. Balıklarda yeme karıştırma yoluyla ve aşı yöntemiyle uygulamada adjuvant etkisinin artmasına karşın, banyo yönteminde adjuvant olmayan etkiler görülmüştür. İmmüno stimulantların daldırma yöntemi ile olan faydası birkaç bilim adamı tarafından da gösterilmiştir. Fakat dilüe edilmiş solüsyonlar ve etki oranlarının daha çok araştırılması gerekmektedir.

1.10.4.3. Enjeksiyon

Sakai, (1999)'nin yapmış olduğu çalışmada gökkuşağı alabalığının solungaçlarına yapışarak balıklarda solunum güçlüğü ve mortaliteye neden olan *Loma salmonae*'e karşı β -1,3 ve β -1,6 glukan maddelerinin etkisini araştırmış ve i. p. enjeksiyon ile verilen bu immünostimulantların balığın bu patojene karşı bağışıklık sisteminin güçlendiğini tespit etmiştir.

Antikor üretimi çoğu immünostimulant tarafından artırılabilir. Kanal yayın balığına glukan mayasının enjeksiyonundan sonra *Edwardsiella ictaluri*'nin immünizasyonun da antikor seviyesinin, kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı tespit edilmiştir. Kitao vd., (1987)'nin yaptıkları çalışmada Atlantik salmonuna *Aeromonas salmonicida* bakterisi ve glukan mayası karışımı enjekte edilmiş bunun da antikor üretimini artırdığı görülmüştür. *A. salmonicida* bakterisine karşı C vitamini (Alberto vd., 2005) ve FK-565 (Suzuki vd., 2006) kullanımında antikor üretiminin arttığı belirlenmiştir

Tamamlayıcı aktivite (kompleman) çeşitli immünostimulantlar vasıtasıyla aktif hale getirilebilir. Yapılan bir çalışmada C vitamininin intraperitoneal enjeksiyonla balıklara verilmesiyle kompleman sisteminin güçlendiği tespit edilmiştir (Jorgensen vd., 1993a).

Atlantik salmonuna glukan enjekte edilmesiyle tamamlayıcı aktivitenin arttığı görülmüştür (Kajita vd., 1990; Aakre vd., 1994).

Chen ve Ainsworth, (1992)'nin yapmış oldukları çalışmada bir tür yılan baş balığına (*Ictalurus punctatus*) epizootik ülser sendromu etkeni intraperitoneal yolla enjekte edilmiş ve bu balıklara bazı immünostimulantlar (Salar-bec, Vitamin A karışımı, Ergosan, bir alginat ve kontrol olarak BPS) enjekte edilerek hayatta kalma, etkenin gelişme ve büyümeye etkilerini gözlemlemişlerdir. Beş immünostimulantdan salar-bec'in yüksek oranda mortaliteyi durdurduğunu, hastalık etkeninin gelişme ve çoğalma aşamalarını yavaşlattığını ve durdurduğunu tespit etmişlerdir

1.10.4.4. Sürme

Çeşitli kobay gruplarında deriye sürme uygulamalarında çörekotu yağının deri tabakalarından geçiş ve etkileri hesap edilerek uygulanmıştır. Deri su seven (hidrofilik) ve su sevmeyen (hidrofobik) tabakalardan oluşmaktadır. Sürülen yağın deriden geçişi epidermisten geçişi oldukça hızlı olmaktadır. En üst tabaka pullar ve bunların altındaki deri tabakası sekresyonu salgılayan hücrelerin olması ve bunların yağdan oluşan bir yapılarının olması dışarıdan verilen yağın deriden geçişi için büyük bir kolaylıktır. Diğer bir etken ise

deri üzerinde ki geçiş bölgelerinin, molekül büyüklüğü 500 kd'a kadar olan moleküllere izin vermesidir. Verilen yağdaki uyarıcı maddelerin toplam molekül ağırlıklarının 500 kd'dan az olmaları (ortalama 12-16 kD) geçişin doğal olarak gerçekleşeceğini de göstergesidir. Balıklarda ki mukusun içinde bulunan IgM ve antibiyotik özellikteki maddeler epidermis ve dermisdeki salgı hücreleri vasıtasıyla salgılanmaktadır (Kearn, 1976).

1.11. Balıklarda kullanılan kimyasal ve bitkisel immünostimulantlar

Balıklarda günümüze kadar çoğu kimyasal olmak üzere çeşitli immünostimulant maddelerin bağışıklık sistemi hücreleri üzerine etkileri araştırılmıştır (Tablo 1.11.1).

Balıklarda yapılan immünolojik araştırmalarda kullanılan immünostimulant maddeler kimyasal ve bitkisel maddeler olarak ikiye ayrılır.

Tablo 1.11.1. Balıklarda kullanılan bitkisel ve hayvansal immünostimulantlar (Selvaraj vd., 2006; Siwicki vd., 1998).

İmmünostimulant	Balık	Uygulama Yöntemi	Sonuç	Verildiği etken
Tunicate	Yılan balığı	İp	Fagositoz +	<i>A. hydrophila</i> +
Abalone	G. Alabalığı	İp	CL +, Fagositoz +, NK +	<i>E. ictaluri</i> +
Firefly squid	G. Alabalığı	İp	NBT +, mitojen +, öldürme +	
Acid peptide fraksiyon balık proteinlerden hydrolysate	Salmon	İn vitro	NBT +	
Quil A saponin				
Glycyrrhizin				
Levamisole	Sarıkuyruk	Besleme	Lökosit göçü +	
FK-565	Sarıkuyruk	Besleme	Kompleman +	<i>E. seriolocida</i> +
MDP	Sazan	İp	Fagositoz +	<i>V. anguillarum</i> +
FCA	Sazan	İp	Fagositoz +	<i>A. salmonicida</i> +
Vibrio bakterisi	Sazan	İp	Fagositoz +CL +	<i>V. anguillarum</i> +
C. Butyricum	Coho	İp		<i>A. salmonicida</i> +
A. stenohalis	Sazan	İm.		<i>A. salmonicida</i> +
Kitin	Sazan	Besleme	Fagositoz +, NBT +	<i>V. anguillarum</i> +
Kitosan	Char	İp	CL +, kompleman +	<i>A. salmonicida</i> +
EF-203	Sazan	İp	Fagositoz +, lizozim +	<i>V. anguillarum</i> +
Soya fasulyesi proteini	Sazan	Besleme	NBT +, fagositoz +	<i>A. salmonicida</i> +
PS-K	Sazan	Besleme	Fagositoz +, CL +	<i>Streptococcus sp.</i> +
Oligosakkarit	Sazan	Besleme	NBT +, fagositoz +, öldürme+	
Spirulina	Tilapia	Besleme	Fagositoz +	<i>E. tarda</i> +
Glukan	Yayın	Besleme	NBT +	
Glukan+Vitamin C	Yayın	Besleme	CL +, antikor +	<i>E. ictaluri</i> +
Vitasim	Salmon	İp		<i>V. anguillarum</i> +
Peptidoglukan	G. alabalığı	Besleme	CL +Kompleman+, lizozim +	
Lentinan	Coho	İp, besleme		<i>A. salmonicida</i> +
Skleroglukan	G. alabalığı	Besleme		<i>V. anguillarum</i> +
Schizophyllan	Sazan	İp		<i>E. tarda</i> +
Poliglukoz	Sazan	İp	Fagositoz +	<i>A. hydrophila</i> +
	Sarıkuyruk	İp		<i>E. seriolocida</i> +
Glukan (Sigma)	Salmon	İn vitro	Kompleman+	
			NBT+, Pinositoz+, Asidfosfat+	
	G. alabalığı	İm, İp	Fagositoz +, NBT +	

1.11.1. Balıklarda kullanılan kimyasal immüno­stimulantlar

İmmüno­stimulantlar balığın vücudunun spesifik olan ve olmayan mekanizmalarını yükselten maddelerdir. Büyüme hormonu, glukon plus, vitamin C ve levamisol gibi medikal bitkiler bu immüno­stimulantlardan bazılarıdır (Gatesoupe, 1999; Sakai, 1999). Probiotikler de özellikle memeli hayvanlarda hazım problemlerinde kullanılagelen mikrobiyal organizmalardır. Hem immüno­stimulantlar hem de probiotikler antibiyotiklere olan ihtiyacı azaltmaktadır (Raa vd., 1992).

İmmüno­stimulantlar balık hastalıklarının kontrolü için ve kültür balıkçılığında kullanımı önemli görülmektedir. İmmüno­stimulant olarak kimyasal ajanlar, bakteriyel bileşikler, polisakkaritler, hayvansal veya bitkisel ekstraktlar, besleyici maddeler ve sitokinler kullanılabilir. Çoğu immüno­stimulant, doğal öldürücü (NK) hücreleri, lizozim ve balıklarda antikor oluşumunu uyarabilir (Anderson, 1992a). Doğal öldürücü hücreler büyüme hormonu ve levamisol tarafından aktif hale getirilebilir (Thompson vd., 1993). İmmüno­stimulantlar, patojenlerin yıkımında bazı enzimlerin üretimindeki hücreleri aktif hale geçiren fagosit ve lenfositlerin hücre yüzeylerindeki spesifik reseptörlere bağlanırlar. Üstelik immüno­stimulantlar bazı kimyasal taşıyıcıların (interferon, interlökinler ve kompleman proteinleri) üretimini artırır. Bu taşıyıcılarda bağışıklık sisteminin diğer bireylerini uyarır ve T ve B lenfositlerin aktivitesini artırır (Kitao ve Yoshida, 1986).

Genellikle balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan glukon (Sakai vd. 1993; Kajita vd., 1990); laktoferrin: (Kitao ve Yoshida, 1986); levamisol: (Sakai vd., 1992); FK-565: (Yoshida vd., 1993); kitin: (Sakai vd., 1995e); EF-203 gibi stimulantların fagositik hücre aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir (Kajita vd., 1990).

1.11.2. Balıklarda kullanılan bitkisel immüno­stimulantlar

Bitkiler dünyası bize sınırsız bir renkler ve biçimler zenginliği sunar. Ama yalnızca bununla kalmaz, yaşamımızı sürdürebilmemiz için gerekli olan oksijeni, besinleri sağlar ve sağlığını korur. Yani bitkiler ve insanlar arasında, insanlık tarihi kadar eski olan, çok yakın bir ilişki vardır. Günümüzden binlerce yıl önce insan, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için ondan yararlanıldığını belirtmiştir (Delaquis vd., 2002).

İnsanlarda alternatif tıp adı altında uygulanan bitkilerle tedavi, günümüzde hayvan hastalıklarının tedavisinde de uygulanmaktadır (Abdul-Ghani vd., 1987,). Bunun yanı sıra hayvanlarda üretimin artırılması, daha kaliteli verim elde edilmesi, yem rasyonlarının

hazırlanması gibi konularda bitkisel ürünlerin tercih edilmesi söz konusudur. Bu tercih yapılırken moleküler seviyede incelenen bitkilerin daha iyi sonuçlar sağladığı da tespit edilmiştir (Ramakrishna vd., 2003).

Bitkisel ilaca ilginin yeniden canlanmasının ana kaynağı, kimyasal ilaçların her hastalığı tedavi etme yeteneğine sahip olamayışı, birçok yan etkilerinin bulunuşu ve çok pahalı oluşudur. Bitkisel preparatların yan etkisinin hemen hemen hiç bulunmaması bazen bunların sentetik ilaçlara tercihinin bile sağlamaktadır (Güler, vd., 2005).

Günümüzde Avrupa ve Amerika'da, veteriner ilaçları olarak da üretilmeye başlayan bitkisel mamüller, hayvanlarda özellikle koruma ve gelişimi artırma bakımından tercih edilen yan etkisiz maddeler olarak görülmektedir. Hayvanlarda görülen hastalıklara uygulanan geniş spektrumlu ilaçların hayvanların bünyelerinde birikim yaparak bunları tüketen insanları da etkilediği tespit edilmiştir. Bu etki hayvansal besinin içerdiği kimyasalların, insanların bağışıklık sistemini olumsuz etkisi olarak belirtilmiştir (Arda vd., 2002; Tanrıkul, 1995; Haney vd., 1992.).

Balık üretim tesislerinde sorun olabilecek bakteriyel etkenlerin varlığında kullanılabilecek olan antibiyotik ve sulfonamid grubu ilaçların yeme karıştırma yoluyla verilmesinin en doğru yaklaşım olduğu bilinmektedir. Ancak bu şekildeki bir uygulamada ilaca çok fazla ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca balıkların bireysel olarak yem tüketiminin değişmesi dozda belirsizliklere neden olmaktadır. Ağız yoluyla verilen ilaçlar ya mide ve bağırsağın ön kısmında sindirim sıvılarının etkisiyle bağışıklık sisteminin bir parçası olan bağırsağın aşağı kısmına gelmeden yıkımlanmakta ya da bağırsaktan rezorbe edilememektedir (Rijkers vd., 1980).

Su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinin hızlı geliştiği yerlerde hastalıklar patlak verir ve ekonomiyi etkiler fakat onların kontrol altına alınması zor olabilir (Aoki, 1992). Bu yüzden balıkların hastalıklara karşı direncini ve bağışıklık sisteminin gücünü yükseltmede etkili olan immüностimulantlar kullanılır (Düğenci vd., 2003).

Son yirmi yıldır balık yetiştiriciliğinde karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde çeşitli kemoterapötikler kullanılmaktadır. Fakat bu süreç sonunda ilaca dirençli bakterilerin gelişmesi gibi büyük bir problem ortaya çıkmıştır (Rodriguez vd., 2003).

İmmüностimulant fonksiyonunun zamanlama yönetiminin etkisi çok önemli bir konudur. Genellikle antibiyotiklerin en etkili kullanıldığı an hastalıkların ortaya çıktığı andır ve bunlar ilaca dirençli bakterilerin gelişebileceği nedeniyle koruma amaçlı sık sık verilemez

Bitkisel kaynaklı ilaç ve korumaya yönelik bitki veya bitki karışımlarının etkileri günümüze kadar fazla araştırılmamıştır. Özellikle su ürünlerinde bağışıklık sistemi üzerine hayvansal kökenli immünostimulantların belirli sayıda kullanılmasına rağmen, bitkilerin kullanımı ile ilgili çalışma yok denecek kadar az sayıdadır.

Misva vd., (2006)'nin çalışmalarında 10, 20, 30 ve 40 $\eta\text{g/g}$ *Allium sativum* ve kloramfenikol (15, 20, 30 ve 40 mg/kg) maddesini besleme yoluyla vermişlerdir. 30 $\eta\text{g/g}$ *Allium sativum* ve 30 mg/kg kloramfenikol oranlarında verilen besleme yöntemlerinde en iyi büyüme oranını tespit etmişlerdir. Kan parametreleri, eritrosit sayısı, hemoglobin oranlarında da 40 $\eta\text{g/g}$ *Allium sativum*, 40 mg/kg kloramfenikolün diğer oranlarından daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir. Total yağ, AST, ALT seviyelerinde de önemli derecede azalma tespit etmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada keven kökünün tilapia'nın (*Astragalus radix*) spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkisi araştırılmıştır. Keven kökleri belirli dozlarda yeme karıştırılarak 4 hafta süresince verilmiştir. Fagositoz özelliğini ve solunum patlaması aktivitesini artırdığı ve antibakteriyel bir özellik olan lizozim aktivitesini de artırdığını tespit etmişlerdir (Guojun vd., 2005).

Hayvanlarda yapılan bazı bitkisel kaynaklı tedavilerde çeşitli yanlış uygulamalar yapılmıştır. Bunlar gerek şimdiye kadar uygulanan yöntemlerin yetersizliği, gerekse yöntemlerin yanlış uygulanması elde edilen verilerin yanlış değerlendirilmesine neden olmuştur. Yanlış değerlendirmelerin nedenleri arasında: Bitkinin içerisindeki etken maddelerin bilinmemesi, bu etken maddelerin organizmadaki işlevlerinin tam olarak anlaşılmaması, kullanılan bitkinin ne oranda kullanılacağı, bitkilerin hasta organizmaya veya ortama hangi amaçla ne oranda verileceği (örneğin; koruma, dezenfeksiyon, antibiyotik, antifungal vs.) gibi konulardır. Bu konular daha yeni anlaşılmaya ve uygulanmaya başlanmıştır (Delaquis vd., 2002). Ayrıca bitkilerle tedavilerde elde edilen sonuçların değerlendirilmesindeki hatalardan en büyüğü bitkiyi sadece bir madde olarak görme yanlılığına düşülmesi ve etkinin tamamının o maddeyle ilişkili olduğunun yanlılığıdır. Nedenine gelince bitkiler sadece bir değil onlarca etken madde ihtiva edebilmektedirler. İçerisindeki maddelerin etkilerini tek yönlü düşünmek mümkün değildir. Bunları birleştirilmiş bir vitamin, mineral, antibiyotik vs.den oluşmuş bir kapsül olarak düşünmek gerekir. İçerisinde bazı etken maddelerin diğerlerine oranla yüksek oluşu o maddenin etkisinin vücutta daha güçlü olacağını göstermiştir.

1.12. Bitkisel immüностimulantların kimyasal immüностimulantlardan farkı

Bağışıklık sistemlerinin güçlendirilmelerinde bitkisel kaynaklıların kimyasal kaynaklılara göre tercih edilmelerinin çeşitli nedenleri vardır (Poppenga, 2002).

- 1) Bitkisel immüностimulantlar vücut tarafından kolay absorbe edilerek vücut bariyerlerine takılmadan büyük oranda emilirler.
- 2) Bitkisel immüностimulantlar tek bir maddeden oluşmayıp destekleyici maddeler, vitaminler, eser elementler, antibiyotikler, antioksidanlar ve besleyici maddeler içerirler.
- 3) Bitkisel, kimyasallar gibi kalıntı bırakmadıkları gibi vücuttan atımı kolay ve hızlı olmaktadır.
- 4) Bitkilerdeki immüностimulantların molekül ağırlıkları hücre tarafından emilebilecek molekül ağırlığına sahiptir.

Yalnız bitkilerin etki gösterebilmeleri bir kimyasala göre uzun sürer. Çünkü sentetik hazırlanan immüностimulantlar yoğun olduğu için etkisi hızlı olur fakat buna bağlı olarak yan etkileri ve birikimi görülmektedir. Bu da özellikle insanların beslenmesinde kullanılan balıklarda istenmeyen bir özelliktir.

1.13. Esas immüнологik fonksiyon

İmmüностimulantların esas immüнологik fonksiyonlarının artışı fagositik hücrelerin aktivitesi ile ilişkilidir. Fakat makrofaj dirençli bakteriler, aktif makrofajlardan kaçabilirler ve böylece bu durumda immüностimulantlara karşı yetersiz olabilir.

1.14. Dozlar

İmmün yanıtı ve patojenlere karşı korumayı artıran immüностimulantlar doza bağlı soruları artırmıştır.

Roberts vd., (1994)'nın çalışmalarında gökkuşağı alabalıklarında fagositik hücrelerinin kemiluminesens etkileri levamisolun enjeksiyonuyla (0,1 ve 0,5 mg/kg) artırılmıştır. Fakat levamisolun 5 mg/kg'nın enjeksiyonuyla immüностimulant etkisi üretilmediğini rapor etmişlerdir.

Kitao vd., (1987)'nin çalışmasında glukan tedavisi uygulanan makrofajların solunumsal patlama aktivitesinin artışı 0,1–1 ng/ml konsantrasyonlarında en üst seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın 10 ng/ml'de hiçbir etki görülmediği ve

50 ng/ml glukanda inhibe olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar lenfositlerin gözlemlenmeleriyle karşılaştırılmıştır.

Matsuo ve Miyazano, (1993)'nin çalışmasında FK-565'in yüksek dozlarında *Yersinia ruckeri*'ye karşı oluşan plağa yapışan (sabitlenen) hücre sayısının artırmadığını buna rağmen optimum doz olan (5 ng/kg)'da PFC (plaque-forming cells) arttığını rapor etmiştir. Bu yüzden immüностimulantların etkileri dolaylı olarak verilen doza bağlıdır ve yüksek doz immün cevabı artıramayabileceği gibi engelleyebileceği de anlaşılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Uygulama Yeri ve Balık

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Araştırmada ortalama ağırlığı 102,30 g (84,2–121,1 g) olan 900 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Balıklar Elazığ yakınlarındaki yerel bir işletmeden temin edildi ve araştırmanın yürütüldüğü Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne canlı olarak oksijen tüpü monteli tankların bulunduğu bir kamyonetle getirildi. Balıklar 80 x 75 x 90 cm ebatlarında 540 litrelik fiberglas 4 tankda stoklandı (Şekil 2.1.1.1). Tanklar çalışma öncesi dezenfekte edildi ve sonrasında dezenfektanın temizliği yapılarak içerisine su koyularak olası dezenfektan kalıntılarının temizlenmesi sağlandı. Temizlenen boş tanklara, su doldurularak hava motoruyla 24 saat boyunca O₂ verildi. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan bu ortamda 15 gün süreyle bekletilerek ortama adaptasyonları gerçekleştirildi. Adaptasyon süresince balıklara günde iki kere ticari bir alabalık yemi verildi.



Şekil 2.1.1.1. Deneylerde kullanılan tankların ve balıkların genel görünüşü.

2.1.2. Çörekotu Materyali

Deneysel çalışmada kullanılan çörekotu (*Nigella sativa L.*) yağı soğuk basınçta saf olarak elde edilmiş olup 9 yıldır ticari olarak iç ve dış piyasada satılmaktadır. Deneyde kullanılan çörekotu yağının içeriği İngiliz RSSL (Radiation Safety Services, Inc.) şirketi tarafından 14-01-1998 tarihinde aşağıdaki gibi tespit edilmiştir (Tablo 2.1.2.1, 2.1.2.2, 2.1.2.3, 2.1.2.4, 2.1.2.5).

Tablo 2.1.2.1. Çörekotu yağının amino asit değerleri.

Amino asit oranları	(50 µl çörekotu yağında, % miktarları)
Aspartik asit	6.6
Treonin	0.8
Serin	6.9
Glutamik asit	11
Pirolin	1.6
Glisin	4.4
Alanin	2.0
Siyatein	<1
Valin	2.3
Metiyonin	<1
Izolösin	2.8
Lösin	2.5
Tirosin	<1
Fenilalanin	5.0
Hiskadin	12
Lisin	3.6
Arginin	1.9

Tablo 2.1.2.2. Çörekotu yağının yağ asitleri değerleri.

Yağ asitlerinin isimleri	(50 µl çörekotu yağında, % miktarları)
Miristik asit	0.2
Pentadekanoik asit	<0.1
Palmitik asit	12.5
Palmitoleik asit	0.2
Heptadekanoik asit	0.1
Sitearik asit	3.3
Oleik asit + izomeri	24.0
Linoleik asit	55.1
A-Linolenik asit	0.3
Araşidik asit	0.2
Bikosenoik asit	0.4
Bikosadienoik asit	2.9

Tablo 2.1.2.3. Çörekotu yağındaki eser element değerleri.

Eser elementler	ppp
Kurşun	0.0016
Kadmiyum	0.0003
Cıva	<0.001
Alüminyum	0.17
Krom	2.3
Kobalt	0.98
Bakır	21.4
Demir	1726
İyot	122
Manganez	2.6
Molibden	0.18
Selenyum	48.5
Vanadiyum	0.16
Çinko	126.8

Tablo 2.1.2.4. Çörekotu yağının içindeki mineraller.

Mineral ve eser elementler	(mg/kg) ppm
Kalsiyum	% 1.81
Magnezyum	% 0.38
Potasyum	% 0.48

Tablo 2.1.2.5. Çörekotu yağının vitamin değerleri.

Vitamin A (IU/g)	16.8
Vitamin B1 (µg/g)	6.8
Vitamin B2 (µg/g)	3.2
Niasin (µg/g)	65.8
Vitamin C (µg/g)	87.2

Bu tespitlerde çörekotu yağında, doymuş yağ asitleri: % 15.8, tekli doymuş yağ asitleri: % 23.6, Çoklu doymuş yağ asitleri: %56.2 oranlarında bulunmuştur.

2.1.3. Su Kalitesi

Araştırma süresince düzenli olarak, 0,1 hassasiyetli termometre ile suyun sıcaklığı, 0,003 hassasiyetli dijital pH metre ile pH'sı ve 0,01 hassasiyetli oksijen metre ile çözünmüş oksijen seviyeleri ölçüldü.

2.1.4. Yem

Tüm çalışma boyunca balıklar ticari bir alabalık yemi ile sabah ve akşam olmak üzere günde iki kere yemle beslendi. Yemleme günlük olarak balıkların canlı ağırlıklarının ortalama % 2'si oranında uygulandı.

2.2. Metot

2.2.1. Uygulama materyalinin hazırlanışı

Uygulamada çörekotu yağı ve ayçiçek yağı kullanıldı. Uygulanacak çörekotu yağı ve ayçiçek yağı otoklavda 121 C°'de 30 dakika bekletilerek, steril edildi (Ben-Hod vd., 1991). Steril çörekotu yağı % 0.1, 1.0 ve 10 oranlarında püskürtülerek (100 g. bir tanka verilecek yem miktarı) yeme karıştırıldı. Yemler ağzı kapalı bir poşette yağın emilmesi için 24 saat buzdolabında bekletildi ve bu işlem her grup için ayrı ayrı yapıldı. Yeme karıştırma ve diğer uygulamalarda verilecek yemler bir gün önceden tartılarak kilitli poşetlerde numara verilerek saklandı. Böylece hem zamandan istifade hemde hangi gruba hangi yemin verileceği konusunda ortaya çıkabilecek karışıklık önlenmiş oldu.

İntraperitoneal enjeksiyon ve sürme için kullanılan çörekotu yağı, ayçiçek yağı ile belirtilen solüsyonları dilüe edildikten sonra steril hale getirildi.

Balıklara çörekotu yağının sürülmesinde kullanılan fırça, her grup uygulaması öncesi ve sonrası ticari bir mutfak temizleme jeli ile dezenfekte edildi ve olası bu maddenin kalıntı bırakmaması için distile suda bekletildi.

2.2.2. Çörekotu Yağı Letal Dozları

Çörekotu yağının yeme karıştırma uygulaması Dörücü vd., (2008)'ne göre yapıldı.. Çörekotu yağının yeme ilavesi için kullanılacak yemlere steril çörekotu yağı % 0.1, 1.0 ve 10 oranlarında hazırlandı. Yemler 100 g. alabalık yemine 0.1 ml. çörekotu yağı, 100 g. alabalık yemine 1 ml. çörekotu yağı, 100 g. alabalık yemine 10 ml. çörekotu yağı püskürtülerek ağzı kapalı bir poşette yağın emilmesi için 24 saat buzdolabında bekletildi. Bu şekilde hazırlanan yemler balık ağırlıkları hesap edilerek vücut ağırlıklarının % 2'si kadar günde iki kez verilmiştir.

Çörekotu yağının i.p. enjeksiyonu için yapılan ön çalışmalarda saf olarak verilen çörekotu yağının alabalıklarda gözlemsel olarak herhangi bir yan etki ve mortalite oluşturmadığı tespit edildi. 20-500 g. ağırlığındaki alabalıklara i. p. enjeksiyon ile verilen aşı miktarı genel olarak 0.1 ml.'dir (Arda vd., 2002). Çörekotu yağının % 0.1, 1.0 ve 10 oranlarında solüsyonlar hazırlandı. 0.1, 1, 10 ml. çörekotu yağı 100 ml.'ye ayçiçek yağı ile tamamlanarak solüsyonlar hazırlandı. Enjeksiyonlar 1 kez uygulandı.

Deriden sürme için % 0.1, 1.0 ve 10 çörekotu yağı uygulandı. 0.1, 1, 10 ml. çörekotu yağı, 100 ml. ayçiçek yağına tamamlanarak solüsyonlar hazırlandı. Bu solüsyonlar

bayıltılan ve derisi kurutulan balıklara steril hale getirilmiş bir boya fırçası ile sürüldü. Fırçanın balığa sürülen miktarı 0.75 g.'dır. Sürme işlemi 3 gün boyunca her sabah uygulandı. Kimyasal keratonisitlerin farelerde deriden sürülmesinin ardından 24 saat sonra gerekli uyarımlar sağlanmaktadır (Albanesi vd., 2005). Bitkisel bir mamül kullanmamız ve bitkisel bir kimyasala göre daha az fakat doğal immün sistemi uyarıcı maddeleri içermesi ve balıkların soğuk kanlı olmalarından dolayı sürme uygulaması 3 kez ard arda tekrar edildi.

2.2.3. Deneysel Plan ve Çörekotu Yağının Balıklara Uygulanması

Bu çalışmada ticari olarak satın alınan çörekotu (*Nigella sativa* L.) yağı gökkuşağı alabalıklarına (*Oncorhynchus mykiss*) üç ayrı şekilde uygulandı. Yeme karıştırma, i. p. enjeksiyon ve deriden sürme öncesi ve kan alma işlemleri öncesi balıklara bir anestezi madde (50 mg L⁻¹, Benzokain) uygulandı. Üç farklı doz ve kontrol gruplarına, yeme karıştırılmış yem ile besleme, i. p. enjeksiyon ve deriden sürme sırayla farklı balık gruplarına uygulandı. Her üç uygulama için ayrı ayrı aşağıdaki deneme grupları oluşturuldu (Tablo 2.2.3.1).

Tablo 2.2.3.1. Deneme grupları.

Gruplar	Deneme grupları
Yeme çörekotu yağı karıştırma kontrol grubu.	
	1- % 0.1'lik çörekotu yağı yeme karıştırma grubu.
	2- % 1.0'lik çörekotu yağı yeme karıştırma grubu.
	3- % 10'luk çörekotu yağı yeme karıştırma grubu.
İ. p. enjeksiyon kontrol grubu	
	1- Yağsız i. p. enjeksiyon kontrol grubu
	2- % 0.1'lik çörekotu yağı i. p. enjeksiyon grubu
	3- % 1.0'lik çörekotu yağı i. p. enjeksiyon grubu
	4- % 10'luk çörekotu yağı i. p. enjeksiyon grubu
Ayçiçek yağı ve çörekotuna batırılmadan deriye fırça sürülen kontrol grubu.	
	1- Ayçiçek yağına batırılarak deriye fırça sürülen kontrol grubu.
	2- % 0.1'lik deriden sürüldüğü grup.
	3- % 1.0'lik deriden sürüldüğü grup
	4- % 10'luk deriden sürüldüğü grup

2.2.3.1. Yeme karıştırma

Yeme karıştırma işleminde dört tanktan birine kontrol grubu balıklar, diğer üç tanka ise deney grubu balıkları eşit sayıda bırakıldı. Her tanka 50 balık bırakıldı. Numune balıklar 3-7-14 ve 21. günlerde alındı. Uygulanacak karışımlar % 0.1, 1.0, 10 oranlarında 100 gr. alabalık yemine 0.1 ml., 1 ml. ve 10 ml. çörekotu yağı, yeme püskürtülerek karıştırıldı. Her seferinde bir gün önceden yem verileceği günün yemi hazırlandı ve poşetlere konuldu. Elde edilen karışım yemler 21 gün boyunca günde 2 defa verildi (Şekil 2.2.3.1.1.). 3–7–14–21. gün sonra 50 mg L⁻¹, Benzokain ile bayıltılan balıklardan kuyruk yüzgeçlerinin kesilmesi ile alınan kan örneklerinden hematokrit, lökosit, lökosit, eritrosit, NBT, Total protein, Total Ig aktiviteleri tespit edildi.



Şekil 2.2.3.1.1. Çörekotu yağının yeme karıştırma ile uygulanışı

2.2.3.2. İntraperitoneal Enjeksiyon

İ. P. Enjeksiyonda dört tanktan birine kontrol grubu balıklar, diğer üç tanka ise deney grubu balıkları eşit sayıda bırakıldı. Her tanka 50 adet balık bırakıldı. Numune balıklar 3-7-14 ve 21. günlerde alındı. İ. p. enjeksiyon uygulamalarında 2. kontrol haricinde sadece yeme karıştırma uygulanan kontrol grubundan da 1. kontrol olarak örnekler alınarak istatistiksel analize tabi tutuldu. Uygulanacak i. p. enjeksiyonlar % 0.1, 1.0, 10 oranlarında hazırlandı. Verilen çörekotu yağı solusyonları hazırlanırken sulandırma işleminde ayçiçek yağı kullanıldı. İ. p. enjeksiyonlar gökkuşağı alabalıklarının intraperitoneal bölgelerine 0.1

ml oranında uygulandı (Şekil 2.2.3.2.1.). İ. p. enjeksiyonun oluşturulmasından itibaren 3–7–14–21 gün sonra 50 mg L⁻¹, Benzokain ile bayıltılan balıklardan kuyruk yüzgeçlerinin kesilmesi ile alınan kan örneklerinden hematokrit, lökokrit, lökosit, eritrosit, NBT, total protein, total Ig aktiviteleri tespit edildi.



Şekil 2.2.3.2.1. Çörekotu yağının balıklara intraperitoneal (ip) enjeksiyonla uygulanışı

2.2.3.3. Çörekotu Yağının Sürülmesi

Çörekotu yağının alabalıklara sürülmesi için dört tanktan birine kontrol grubu balıklar, diğer üç tanka ise deney grubu balıkları eşit sayıda bırakıldı. Her tanka 50 balık bırakıldı. Numune balıklar 3-7-14 ve 21. günlerde alındı. Çörekotu yağının alabalıklara sürülmesinde solüsyonların hazırlanmasında kullanılan ayçiçek yağı deriden sürme kontrol grubu (2. kontrol) haricinde sadece yemle beslenen ve fırçanın sürülmesine tabi tutulan balıkların oluşturduğu grupta 1. kontrol grubu olarak değerlendirmeye tabi tutuldu. Uygulanacak deriden sürme solüsyonları % 0.1, 1.0, 10 oranlarında hazırlandı. Deriden sürme, üç gün ard arda, her sabah alabalıklara anestezi uygulandıktan sonra, yanal çizgileri boyunca baş kısmından kuyruk kısımlarına doğru bir kere sürülmek suretiyle, çörekotu yağına batırılan yumuşak uçlu fırçanın sürülmesiyle yapıldı (Şekil 2.2.3.3.1.). Bu işlemde bir balığın iki yanına sürülen toplam çörekotu yağı miktarı 0,75 g. 'dır. Çörekotu yağının alabalıklara sürülmesinden, 3–7–14–21 gün sonra 50 mg L⁻¹, Benzokain ile bayıltılan balıklardan kuyruk yüzgeçlerinin kesilmesi ile alınan kan örneklerinden hematokrit, lökokrit, lökosit, eritrosit, NBT, total protein, total Ig aktiviteleri tespit edildi.



Şekil 2.2.3.3.1. Çörekotu yağının balıklara sürülmesi.

2.2.4. Kan örneklerinin hazırlanması

Kan alma işlemi yapılacak balıklardan besleme yapılmadan sabah kan alındı. Anestezik bir madde (50 mg L^{-1} , Benzokain) ile balıklar bayıltıldı. Balıkların kuyrukları kesilerek EDTA'lı tüplere (Şekil 2.2.4.1.) ve cam deney tüplerine konuldu. Bu şekilde elde edilen plazmanın; hematokrit, lökokrit, toplam Ig, toplam protein seviyelerine bakıldı. Kan aktarılan deney tüpleri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletildi. Daha sonra $2500 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edilerek serum elde edildi (Konuk, 1981). Serumlar, kullanılabilecek kadar -20°C 'deki bir derin dondurucuda saklandı. Serumlar; lökosit, eritrosit, NBT testlerinde kullanıldı.



Şekil 2.2.4.1. Çörekotu yağı uygulanmış balıklardan kan alınışı.

2.2.4.1 Hematokrit (Ht) Düzeyi

Kanlar heparinli hematokrit kapillar tüplere 2/3 oranında doldurularak ve hematokrit santrifüjde 12500 devirde 5 dakika santrifüj edilerek hematokrit değerleri skalada belirlendi.

2.2.4.2 Lökosit (Lt) Düzeyi

Hematokritli tüplerde mevcut olan skalaya bakılarak lökosit seviyesi tespit edildi.

2.2.4.3. Eritrosit ve Lökosit Düzeyi

Çalışmada kullanılan balıkların kanlarından eritrosit pipetinin 0,5 işaretine kadar, 101 işaretine kadar ise Natt–Herrick çözeltisinden çekildi. Hazırlanmış olan karışımdan bir damla hücre sayma kamarasına (Thoma lamında) damlatıldı ve dağılması beklendi. Sonra beş büyük kare (80 küçük kare içindeki eritrositler ile tüm küçük karelerdeki lökositler sayıldı. Belirlenen eritrosit sayısı 10.000 ile lökosit sayısı ise 1000 ile çarpılarak bir milimetreküp kandaki eritrosit ve lökosit miktarı belirlendi (İmren ve Turan, 1985; Siwicki ve Anderson, 1993).

2.2.4.4. Nitroblue Tetrazolium (NBT) aktivitesi

Mikrotiter tabaklara 0,1 ml % 0,2 ml NBT solüsyonu konuldu ve üzerine eşit miktarda kan ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu süspansiyondan 0.05 ml alınarak 1ml N, N–dimetyhl formamid içeren cam tüplere ilave edildi. 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek üstteki tabaka 1 ml.’lik kuvartz küvette 540 nm’deki spektrofotometrede okundu (Kwapinski, 1965).

2.2.4.5. Protein Düzeyi

Spektrofotometrik tüplere 0.9 ml distile su konuldu. Üzerine 0.1 ml serum ilave edildi. Bunların üzerine 4 ml Biüret ayırıcı konuldu ve yarım saat karanlıkta beklendikten sonra 540 nm’de okundu (Abdul–Ghani vd., 1987).

2.2.4.6. Toplam İmmunoglobulin Miktarı

Plazmada toplam immünoglobülin analizi, aminoasitlerde azot miktarını belirleyen Biüret metoduna dayandırılarak yapıldı. Ancak metodu uygularken, ilk olarak immünoglobülinler, polietilen glikol ile çöktürülerek plazmadan ayrıldı ve geriye kalan üst kısım okundu. Bu değerden, toplam immünoglobülini bulmak için toplam protein çıkarıldı. Kan 5 dakika 1000 rpm’de santrifüj edildi. Mikrotiter tabaklara 0.1 ml plazma konuldu. Üzerine, deiyonize suda bekletilen % 12’lik polietilen glikol’dan 0.1 ml ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı. 5000 rpm’de 10 dakika santrifüjü müteakip üstte kalan tabaka alındı ve mikrometod için inkübasyon ile 2 kere seyreltilmiş 10 µl protein solüsyonu kullanıldı. Protein konsantrasyonu belirlendi. Süpernatanttan okunan protein polietilen glikol ile absorbe edilen protein miktarını verdi (Ramakrishna vd., 2003).

2.2.5. İstatistik Analizleri

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde rutin istatistiksel metotlar ve SPSS istatistik programı kullanıldı. Balıklara çörekotu yağı değişik oranlarda farklı yöntemlerle verildikten sonra elde edilen immünolojik ve hematolojik verilerin değerlendirilmesi 0.05 güven aralığında one way anova testi ile yapıldı ve microsoft excel programı ile grafikler çizildi.

3. BULGULAR

Çalışma sırasında su sıcaklığı 15 ± 1 °C (14–16 °C), pH 7,1 ile 7,4 ve oksijen seviyesi ise 8,23 ile 9,44 mg/L arasında tespit edildi. Araştırma boyunca belirlenen değerlerde düzenli ölçümler sonucunda önemli bir değişim kaydedilmedi.

3.1. Çörekotu yağı uygulanan grupların lökosit değerleri

İ. P. Enjeksiyon ve deriden sürme gruplarında solüsyonlar da ayçiçeği yağı kullanıldı. Kontrol gruplarında ise sadece ayçiçeği yağı kullanıldı.

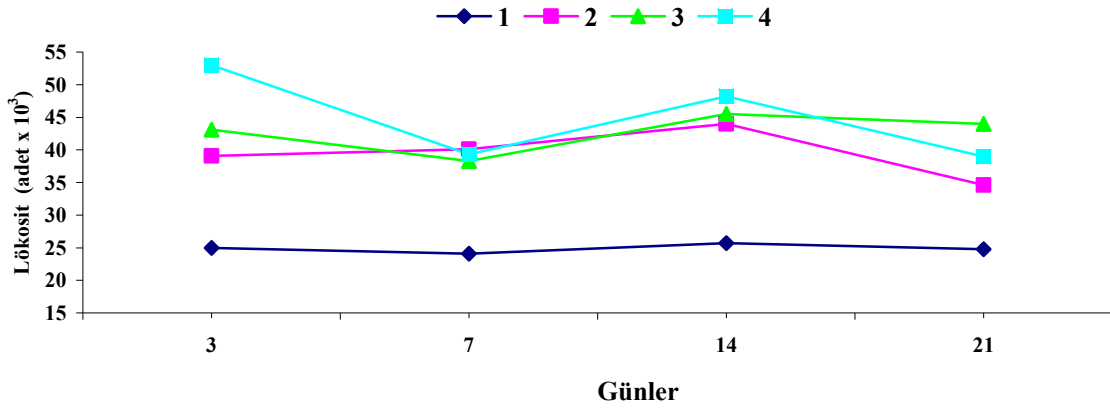
3.1.1. Yeme karıştırılan çörekotu yağının uygulandığı balıkların lökosit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 oranlarındaki dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle balıkların lökosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.1.1.1, Şekil 3.1.1.1).

Tablo 3.1.1.1. Yeme karıştırma yoluyla çörekotu (*Nigella sativa* L.) yağı uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	25,0 ± 1,62	24,1 ± 1,73	25,7 ± 1,20	24,8 ± 1,02
2	39,1 ± 3,07 ^{1a}	40,1 ± 4,72 ^{1b}	44,0 ± 3,25 ^{1c}	34,6 ± 2,66
3	43,1 ± 4,79 ^{1a}	38,3 ± 3,16 ^{1b}	45,5 ± 4,57 ^{1c}	44,0 ± 5,43 ^{1d}
4	53,0 ± 1,62 ^{1,2a}	39,3 ± 2,51 ^{4a,1b}	48,2 ± 5,55 ^{1c}	39,0 ± 1,10 ^{4a,1d}

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.1.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca lökosit aktivitesi en düşük seviyesi 7. günde $24,1 \pm 1,73$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 14. günde $25,7 \pm 1,20$ mg/ml arasında belirlendi.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $34,6 \pm 2,66$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $44,0 \pm 3,25$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 7. günde $38,3 \pm 3,16$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $44,0 \pm 3,25$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $39,0 \pm 1,10$ mg/ml, en yüksek oran 3. günde $53,0 \pm 1,62$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde $53,0 \pm 1,62$ olarak tespit edildi ki bu sayı bu gruplar içerisinde tespit edilen en yüksek orandır. Araştırmanın 21. gününde bu sayı $39,0 \pm 1,10$ 'e indi. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların lökosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

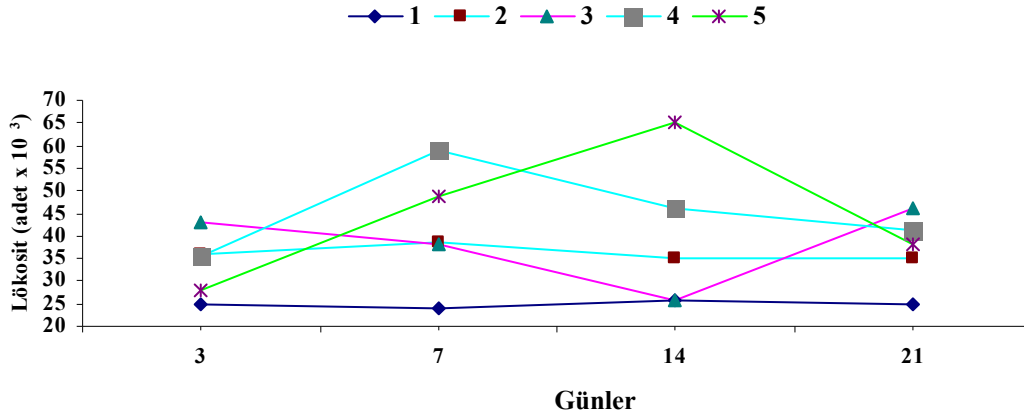
3.1.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların lökosit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 oranlarında i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların lökosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi. Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde lökosit hücre sayısı $35,9 \pm 1,31$, $38,8 \pm 4,47$, $35,0 \pm 0,97$, $35,0 \pm 0,97$ arasında belirlendi (Tablo 3.1.2.1, Şekil 3.1.2.1).

Tablo 3.1.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	25,0 ± 1,62	24,1 ± 1,73	25,7 ± 1,20	24,8 ± 1,02
2	35,9 ± 1,31 ^{1a}	38,8 ± 4,47 ^{1,5a,1b}	35,0 ± 0,97 ^{1a,1,4,5b,1c}	35,0 ± 0,97 ^{1a,1,4,5b,1,4,5c,1d}
3	43,1 ± 3,79 ^{1a}	38,0 ± 4,26 ^{1,5a,1b}	25,9 ± 1,34 ^{2,3,4a,2,3,4,5b}	45,9 ± 1,97 ^{1,2,4,5a,1,4b,1,2,3,5c,1,2d}
4	35,7 ± 1,84 ^{1a}	58,8 ± 4,86 ^{1,2,3,4,5a,1,2,3b,}	46,0 ± 4,30 ^{1,2,4,5a,1,4b,1,2,3c}	41,2 ± 1,56 ^{1,5a,1,4b,1,3,5c,1d}
5	28,1 ± 1,26 ^{3a}	48,9 ± 5,37 ^{1,2,4,5a,1,2,3,4b}	65,2 ± 5,79 ^{1,2,3,4,5a,1,2,3,5b,2,3,4c}	38,3 ± 6,23 ^{1,5a,1,4,5b,1,3,5c,1d}

1:Kontrol, 2: Ayçiçek yağı enjekte edilmiş grup, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.1.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

İ. P. Enjeksiyonla çörekotu yağının % 0.1 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde 43,1 ± 3,79 iken araştırmanın 21. gününde bu değer 45,9 ± 1,97 olarak saptandı.

İ. P. Enjeksiyonla çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde 35,7 ± 1,84 iken araştırmanın 21. gününde bu değer 41,2 ± 1,56 olarak saptandı.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde 28,1 ± 1,26 olarak tespit edildi. Ayrıca bu grubun 14. gününde tespit edilen değer gruplar arasındaki en yüksek değer olarak 65,2 ± 5,79 bulundu ve 21. günde 38,3 ± 6,23'e indi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların lökosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi (p<0,05).

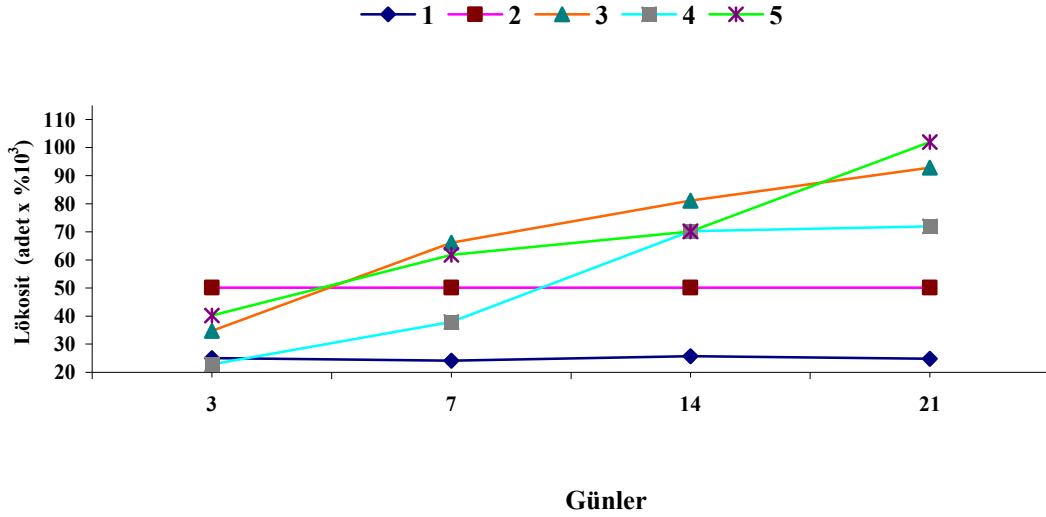
3.1.3. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen lökosit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların lökosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi. Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde lökosit hücre sayısı $50,2 \pm 5,96$, $51,2 \pm 3,76$, $50,8 \pm 3,46$, $53,2 \pm 4,36$ arasında belirlendi (Tablo 3.1.3.1, Şekil 3.1.3.1).

Tablo 3.1.3.1. Sürerek çörekotu (*Nigella sativa* L.) yağı uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$25,0 \pm 1,62$	$24,1 \pm 1,73$	$25,7 \pm 1,20$	$24,8 \pm 1,02$
2	$50,2 \pm 5,96$	$51,2 \pm 3,76^{3,4a,1b}$	$50,8 \pm 3,46^{3,4a,1,3,4,5b,1c}$	$53,2 \pm 4,36^{3,4a,1,3,4,5b,1,3,4,5c,1d}$
3	$34,7 \pm 3,82^{1a}$	$66,1 \pm 4,18^{1,3,4,5a,1,2b}$	$81,1 \pm 6,13^{1,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2c}$	$92,9 \pm 2,46^{1,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2d}$
4	$22,8 \pm 1,42^{1,3a}$	$37,9 \pm 2,19^{1,4a,1,2,3b}$	$70,2 \pm 3,26^{1,2,4,5a,1,2,4b,1,2c}$	$72,0 \pm 4,20^{1,3,4,5a,1,2,4b,1,2c,1,2,3d}$
5	$40,2 \pm 2,61^{4a}$	$61,8 \pm 4,73^{1,3,4,5a,1,2,4b}$	$70,1 \pm 3,79^{1,3,4,5a,1,2,4b,1,2c}$	$102,0 \pm 5,16^{1,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2,3d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.1.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı lökosit değerleri.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 0.1 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde $34,7 \pm 3,82$ iken araştırmanın 21. gününde $92,9 \pm 2,46$ 'e yükseldi.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde $22,8 \pm 1,42$ iken araştırmanın 21. gününde $72,0 \pm 4,20$ 'ye yükseldi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun verildiği balıklarda lökosit hücre sayısı 3. günde $40,2 \pm 2,61$ olarak tespit edildi. Ayrıca bu grubun 21. gününde tespit edilen değer gruplar arasındaki en yüksek değer olarak $102,0 \pm 5,16$ bulundu.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun deriden sürülmesiyle verilen balıkların lökosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Lökosit değerlerinin kıyaslanmasında:

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş gruplardaki lökosit değerlerinin kontrol grubunun üstünde olmasına karşın birbirine yakın değerler saptandığı,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki lökosit seviyelerinden % 10 grubunda seviyenin en üst seviyede olduğu,
- Çörekotu yağının deriden sürüldüğü grupların tamamında özellikle 14. ve 21. günlerde yükselerek kontrol grubuna oranla oldukça yüksek değerlere çıktığı, tespit edildi.
- Uygulama yöntemleri arasında en yüksek lökosit değerleri sürme grubunda elde edildi.

3.2. Çörekotu yağı uygulanan grupların eritrosit değerlerinin tespiti

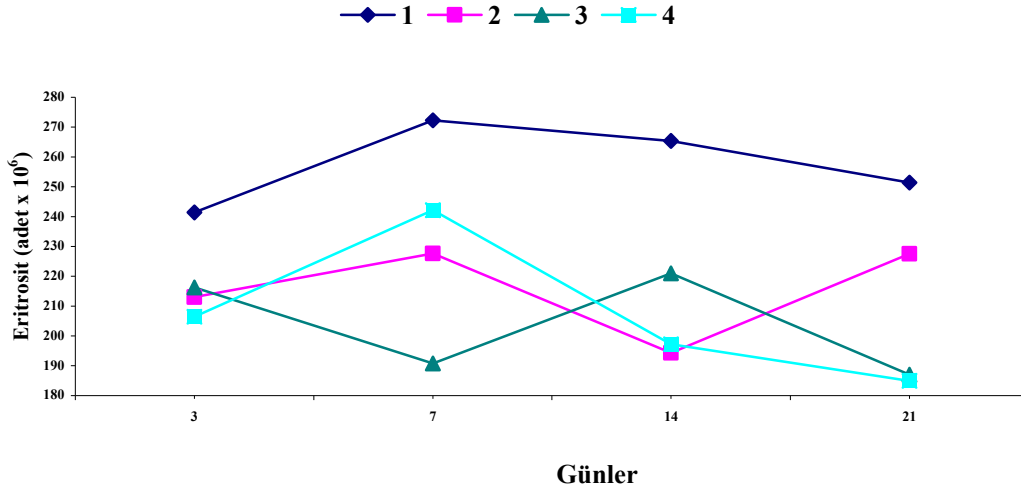
3.2.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grupların eritrosit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle eritrosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.2.1.1, Şekil 3.2.1.1).

Tablo 3.2.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$271,4 \pm 11,49$	$269,3 \pm 14,23$	$270,4 \pm 12,54$	$272,3 \pm 12,48$
2	$213,0 \pm 23,04^{1a}$	$227,6 \pm 12,23^{1b}$	$194,3 \pm 9,95^{1c}$	$227,5 \pm 14,60^{1d}$
3	$216,2 \pm 23,82^{1a}$	$190,7 \pm 6,12^{1b}$	$221,0 \pm 16,06^{1c}$	$187,0 \pm 12,98^{1d}$
4	$206,5 \pm 18,35^{1a}$	$242,1 \pm 11,44^{3b}$	$197,2 \pm 9,99^{4b,1c}$	$184,9 \pm 7,22^{4b,1d}$

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.2.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca eritrosit aktivitesi en düşük seviyesi 7. günde $269,3 \pm 14,23$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 21. günde $272,3 \pm 12,48$ mg/ml arasında belirlendi.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 14. günde $194,3 \pm 9,95$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $227,6 \pm 12,23$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grupta en düşük oran 7. günde $190,7 \pm 6,12$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $221,0 \pm 16,06$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grupta en düşük oran 21. günde $184,9 \pm 7,22$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $242,1 \pm 11,44$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 gruplarının hepsinde kontrol gruplarına oranla düşüşlerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların eritrosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

3.2.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların eritrosit değerleri

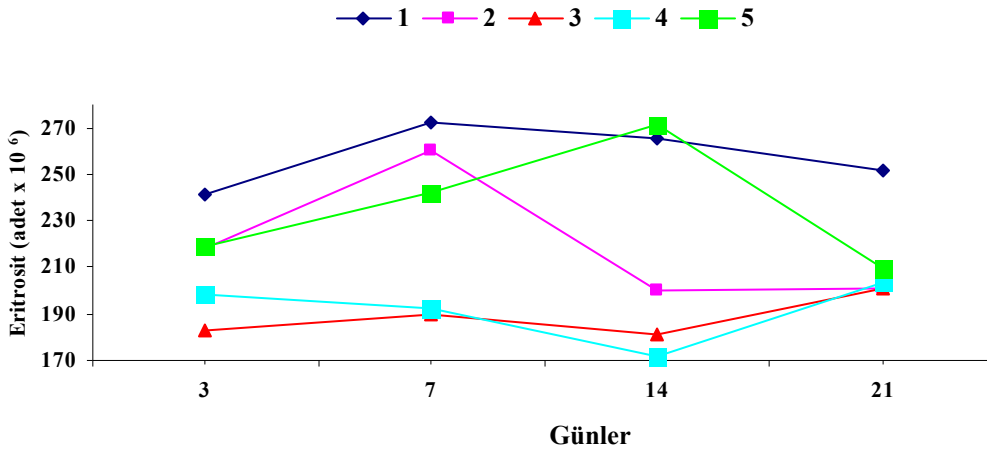
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların eritrosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde eritrosit hücre sayısı $218,1 \pm 10,57$, $260,1 \pm 32,37$, $200,0 \pm 12,48$, $201,2 \pm 10,00$ arasında belirlendi (Tablo 3.2.2.1, Şekil 3.2.2.1).

Tablo 3.2.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	271,4 ± 11,49	269,3 ± 14,23	270,4 ± 12,54	272,3 ± 12,48
2	218,1 ± 10,57	260,1 ± 32,37	200,0 ± 12,48	201,2 ± 10,00
3	183,1 ± 16,31	190,1 ± 9,01 ^{2a,1b}	181,3 ± 5,60 ^{2b,1c}	200,7 ± 19,10 ^{2b,1d}
4	198,4 ± 131,9	192,2 ± 6,53 ^{2b}	172,1 ± 9,43 ^{1c}	203,8 ± 11,81 ^{1d}
5	219,3 ± 12,15	242,3 ± 5,40 ^{2b}	271,4 ± 16,48 ^{4a,1c}	209,5 ± 3,93 ^{1d}

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı i. p. enjeksiyon grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.2.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde 183,1 ± 16,31 iken araştırmanın 21. gününde 200,7 ± 19,10'a yükseldi.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde 198,4 ± 131,9 iken ki gruplar içinde 3. günde tespit edilen en yüksek değerdir. Araştırmanın 21. gününde bu sayı 203,8 ± 11,81 değerine yükseldi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde 219,3 ± 12,15 iken 14. günde gruplar içindeki en yüksek değer olan 271,4 ± 16,48'e yükseldiği tespit edildi. Araştırmanın 21. gününde bu sayı 209,5 ± 3,93 değerine indi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların eritrosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p<0,05$).

3.2.3. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen eritrosit değerleri

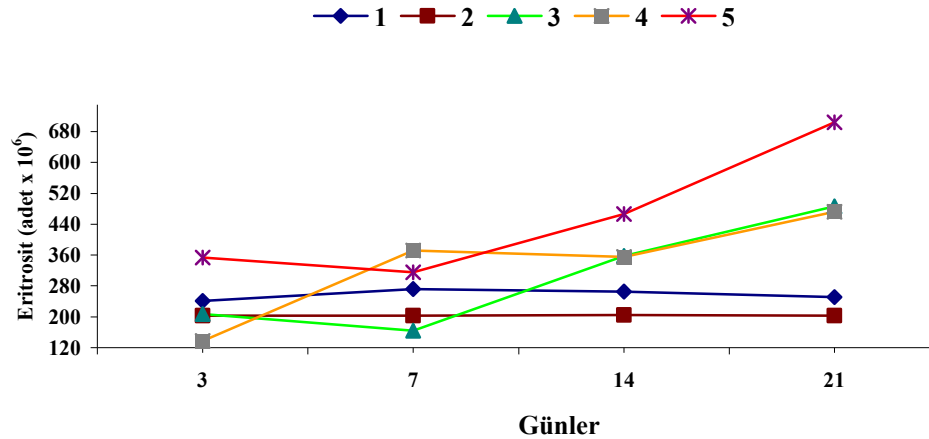
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların eritrosit hücre sayılarında aşağıdaki değerler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde eritrosit hücre sayısı $202,8 \pm 18,94$, $200,93 \pm 13,04$, $201,2 \pm 13,94$, $200,82 \pm 15,44$ arasında belirlendi (Tablo 3.2.3.1, Şekil 3.2.3.1).

Tablo 3.2.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$271,4 \pm 11,49$	$269,3 \pm 14,23$	$270,4 \pm 12,54$	$272,3 \pm 12,48$
2	$202,8 \pm 18,94^{1a}$	$200,93 \pm 13,04^{4,5a,1b}$	$201,2 \pm 13,94^{4,5a,1,4,5b,1c}$	$200,82 \pm 15,44^{4,5a,1,4,5b,1,3,4,5c,1d}$
3	$206,9 \pm 8,68$	$163,9 \pm 9,78^{4,5a,1b}$	$357,8 \pm 21,64^{1,2,3,4,5a,1,2,3b,1,2c}$	$486,9 \pm 17,95^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4c,1,2d}$
4	$137,8 \pm 5,57^{1,2,3a}$	$372,0 \pm 15,28^{1,2,3,4a,1,2,3b}$	$355,0 \pm 17,33^{1,2,3,4,5a,1,2,3b,1,2,4c}$	$472,1 \pm 35,69^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4c,1,2d}$
5	$353,8 \pm 8,10^{1,2,3,4a}$	$315,1 \pm 23,60^{1,2,3,4a,2,3b}$	$466,9 \pm 31,30^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4c}$	$704,1 \pm 2,10^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2,3,4d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.2.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı eritrosit değerleri.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 0.1 dozunun verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde $206,9 \pm 8,68$ iken araştırmanın 21. gününde $486,9 \pm 17,95$ 'e yükseldi. Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde $137,8 \pm 5,57$ iken araştırmanın 21. gününde bu değer $472,1 \pm 35,69$ 'e yükseldi.

Çörekotu yağının deriden sürmeyle % 10 dozunun verildiği balıklarda eritrosit hücre sayısı 3. günde $353,8 \pm 8,10$ olarak tespit edildi. Ayrıca bu grubun 21. gününde tespit edilen değer gruplar arasındaki en yüksek değer olarak $704,1 \pm 2,10$ bulundu. Ayrıca % 0.1'lik grubumuzda 3. günler arasında en yüksek değer $353,8 \pm 8,10$ ve 14. günler arasında ki en yüksek değer $466,9 \pm 31,30$ bu grup içinde tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun deriden sürmeyle verildiği balıkların eritrosit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Eritrosit değerlerinin kıyaslanmasında

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenme uygulanan gruplardaki eritrosit değerlerinin kontrol grubunun altında olduğu,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki eritrosit seviyelerinden sadece %10 grubunun kontrol grubuna göre 14. günde bir artış gösterip sonra tekrar bir düşüş gösterdiği, buna karşın diğer grupların kontrol grubundan alt seviyelere sahip olduğu,
- Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen verilerin özellikle 14. ve 21. günlerde atağa geçerek kontrol grubuna oranla oldukça yüksek değerlere ulaştığı tespit edildi.
- Uygulamalar arasında en yüksek eritrosit sayıları deriden sürmeyle elde edildi.

3.3. Çörekotu yağı uygulanan grupların lökosit ve hematokrit değerleri

Deney gruplarının lökosit seviyelerinde kayda değer bir değişiklik tespit edilmedi.

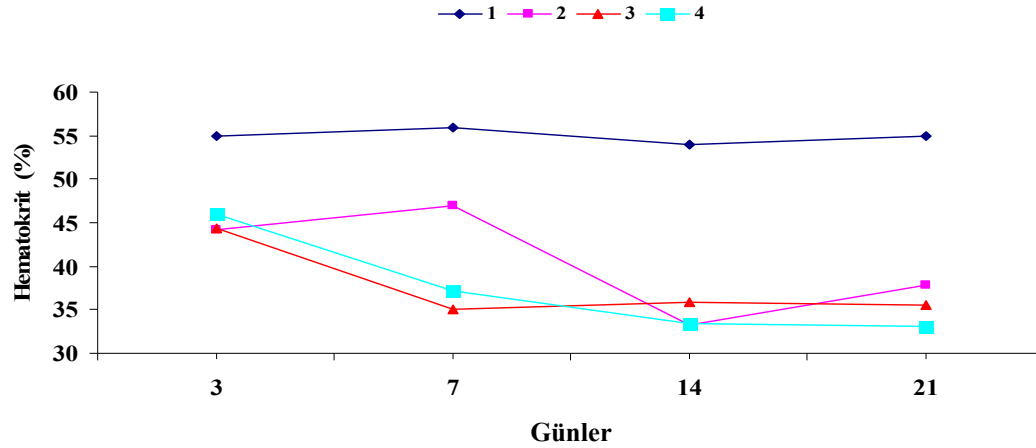
3.3.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan grupların hematokrit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle balıkların hematokrit seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.3.1.1, Şekil 3.3.1.1).

Tablo 3.3.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	55,0 ± 0,98	56,0 ± 0,75	54,0 ± 0,78	55,0 ± 0,65
2	44,2 ± 0,96 ^{1a}	47,0 ± 1,13 ^{1b}	33,3 ± 0,97 ^{2a,2b,1c}	37,9 ± 1,70 ^{2a,2b,2c,1d}
3	44,3 ± 2,06 ^{1a}	35,0 ± 0,84 ^{3a,1,2b}	35,8 ± 0,33 ^{3a,1c}	35,6 ± 0,79 ^{3a,1d}
4	45,9 ± 1,02 ^{1a}	37,1 ± 1,02 ^{4a,1,2b}	33,5 ± 0,61 ^{4a,4b,1c}	33,1 ± 0,60 ^{4a,4b,1,2d}

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.3.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca hematokrit aktivitesi en düşük seviyesi 14. günde $54,0 \pm 0,78$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 7. günde $56,0 \pm 0,75$ mg/ml arasında belirlendi.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan grubun en düşük oranı 14. günde $33,3 \pm 0,97$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $47,0 \pm 1,13$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan grubun en düşük oranı 7. günde $35,0 \pm 0,84$ mg/ml, en yüksek oran 3. günde $44,3 \pm 2,06$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan grubun en düşük oranı 21. günde $33,1 \pm 0,60$ mg/ml, en yüksek oran 3. günde $45,9 \pm 1,02$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 gruplarının hepsinde kontrol gruplarına oranla düşüşlerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu

yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların hematokrit hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p<0,05$).

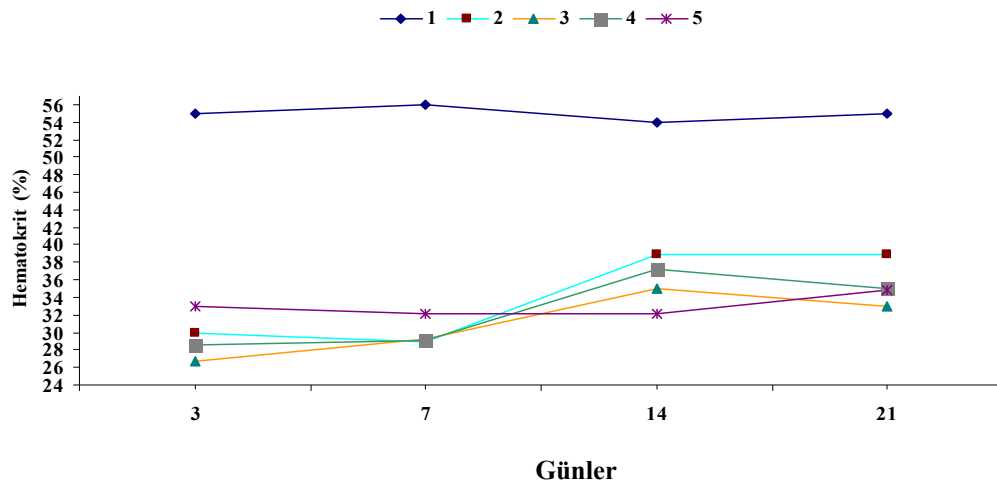
3.3.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların hematokrit değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların hematokrit seviyeleri aşağıdaki gibi tespit edildi. Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde hematokrit seviyeleri $29,9 \pm 0,56$, $28,9 \pm 0,69$, $38,9 \pm 0,60$, $39,01 \pm 0,80$ arasında belirlendi (Tablo 3.3.2.1, Şekil 3.3.2.1).

Tablo 3.3.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$55,0 \pm 0,98$	$56,0 \pm 0,75$	$54,0 \pm 0,78$	$55,0 \pm 0,65$
2	$29,9 \pm 0,56^{1a}$	$28,9 \pm 0,69^{1,5a,1b}$	$38,9 \pm 0,60^{1,2,3,4,5a,1,2,3,5b,1c}$	$39,01 \pm 0,80^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,3,5c,1d}$
3	$26,7 \pm 0,71^{1,2a}$	$29,2 \pm 1,0^{1,5a,1b}$	$35,0 \pm 0,77^{1,2,3,4a,1,2,3,5b,1,2c}$	$32,9 \pm 0,56^{1,2,3,4a,1,2,3,4b,1,2,4c,1,2d}$
4	$28,6 \pm 1,20^{1a}$	$29,0 \pm 0,63^{1,5a,1b}$	$37,2 \pm 0,74^{1,2,3,4,5a,1,2,3,5b,1c}$	$35,0 \pm 2,20^{1,2,3,4a,1,2,3,4,5b,1,2,5c,1,2d}$
5	$32,9 \pm 0,94^{1,2,3,4a}$	$32,1 \pm 0,40^{1,3,4a,1,2,3,4b}$	$32,1 \pm 0,60^{1,2,3,4a,1,2,3b,1,2,3,4c}$	$34,9 \pm 0,84^{1,2,3,4a,1,2,3,4,5b,1,2,5c,1,2d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı enjeksiyon grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.3.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $26,7 \pm 0,71$ iken araştırmanın 21. gününde bu değer $32,9 \pm 0,56$ 'ya yükseldi.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $28,6 \pm 1,20$ iken ki gruplar içinde 3. günde tespit edilen en yüksek değerdir. Araştırmanın 21. gününde bu sayı $35,0 \pm 2,20$ 'ye yükseldi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $32,9 \pm 0,94$ iken araştırmanın 21. gününde $34,9 \pm 0,84$ 'e yükseldi. Kontrol grubuna göre bütün gruplar da belli oranda bir düşüş saptandı.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların hematokrit seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

3.3.3. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen hematokrit değerleri

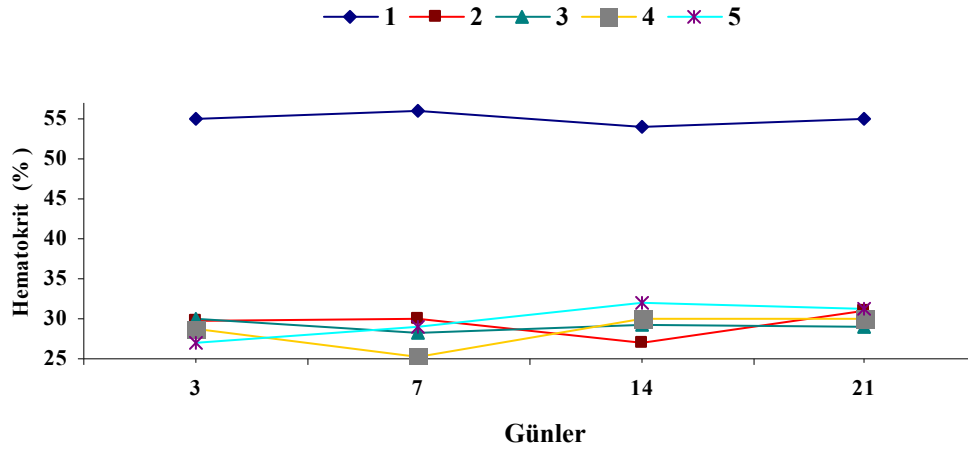
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların hematokrit değerleri aşağıdaki gibi tespit edildi..

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde hematokrit seviyeleri $29,7 \pm 0,73$, $30,2 \pm 0,65$, $29,2 \pm 0,33$, $30,7 \pm 0,54$ arasında belirlendi (Tablo 3.3.3.1, Şekil 3.3.3.1).

Tablo 3.3.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$55,0 \pm 0,98$	$56,0 \pm 0,75$	$54,0 \pm 0,78$	$55,0 \pm 0,65$
2	$29,7 \pm 0,73^{1a}$	$30,2 \pm 0,65^{1,5a,1b}$	$29,2 \pm 0,33^{1,5a,1,4b,1c}$	$30,7 \pm 0,54^{1,5a,1,4b,1,5c,1d}$
3	$29,9 \pm 0,72^{1a}$	$28,2 \pm 0,48^{1,2a}$	$29,2 \pm 0,24^{1,5a,1,4b,1c}$	$29,1 \pm 0,58^{1,5a,1,3,4b,1,5c,1d}$
4	$28,8 \pm 0,29^{1a}$	$25,2 \pm 0,38^{1,2,3,4a,1,2,3b}$	$30,1 \pm 0,40^{1,5a,1,3,4b,1c}$	$30,1 \pm 0,62^{3b}$
5	$27,0 \pm 0,97^{1,2,3a}$	$29,1 \pm 0,17^{1,5a,1,4b}$	$32,1 \pm 0,17^{1,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4c}$	$31,2 \pm 0,44^{1,4,5a,1,3,4,5b,1,3c,1,3d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.3.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı hematokrit değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun deriden sürüldüğü balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $29,9 \pm 0,72$ iken araştırmanın 21. gününde $29,1 \pm 0,58$ 'e düştü.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun deriden sürüldüğü balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $28,8 \pm 0,29$ iken araştırmanın 21. gününde $30,1 \pm 0,62$ 'ye yükseldi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun deriden sürüldüğü balıklarda hematokrit seviyeleri 3. günde $27,0 \pm 0,97$ olarak tespit edilirken 21. gününde $31,2 \pm 0,44$ 'e yükseldi.

Gruplar arasında 14. günden sonra kontrol gruplarına göre artış tespit edildi. Hematokrit seviyesinin kontrol grubuna göre yükseldiği tek grup deriden sürme grubu olarak tespit edildi. Özellikle % 10'luk grubunda çörekotu yağının deriden sürülmesi 14. günde tespit edilen en yüksek seviyeye ulaştı.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen hematokrit seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Hematokrit değerlerinin kıyaslanmasında:

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarındaki hematokrit değerlerinin kontrol grubunun altında olduğu,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki hematokrit seviyelerinde kontrol altında olduğu,
- Çörekotu yağının deriden sürülen gruplardaki hematokrit seviyelerinde 14. günlerde kontrol grubuna oranla bir artış olmasına rağmen 21. günlerde kontrol grubunun altına düştüğü tespit edildi.

3.4. Çörekotu yağı uygulanan grupların NBT değerleri

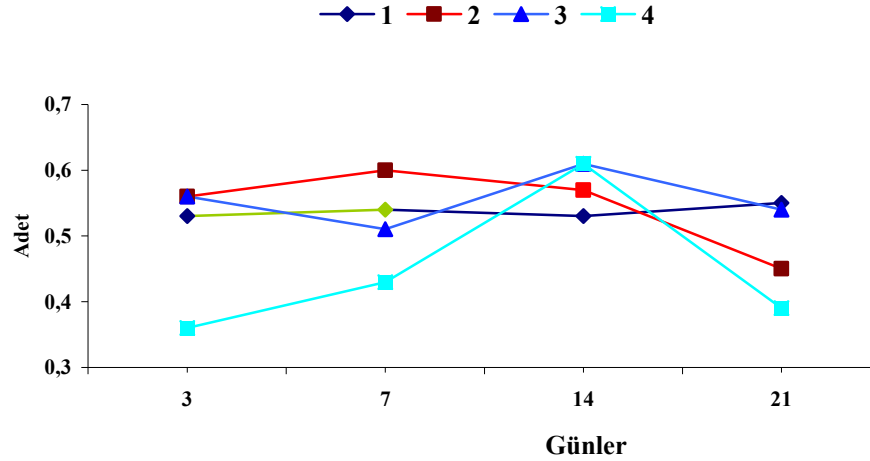
3.4.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarının NBT değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle balıkların NBT seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.4.1.1, Şekil 3.4.1.1).

Tablo 3.4.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yemi uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	0,53 ± 0,039	0,51 ± 0,087	0,52 ± 0,076	0,51 ± 0,069
2	0,56 ± 0,037	0,60 ± 0,036	0,57 ± 0,028	0,45 ± 0,026 ^{2a,2b,2c}
3	0,56 ± 0,029	0,51 ± 0,210	0,61 ± 0,044 ^{3b}	0,54 ± 0,023
4	0,36 ± 0,023 ^{1,2,3a}	0,43 ± 0,045 ^{2b}	0,61 ± 0,066 ^{4a,4b}	0,39 ± 0,022 ^{4c,1,3d}

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.4.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yemi uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Çörekotu yağı karıştırılmış yemi uygulanan kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca NBT aktivitesi en düşük seviyesi 21. günde $0,51 \pm 0,069$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 3. günde $0,53 \pm 0,039$ mg/ml arasında belirlendi.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $0,45 \pm 0,026$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $0,60 \pm 0,036$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 7. günde $0,51 \pm 0,210$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $0,61 \pm 0,044$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 3. günde $0,36 \pm 0,023$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $0,61 \pm 0,066$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 gruplarının hepsinde kontrol gruplarına oranla artışların meydana geldiği tespit edilmiştir. En yüksek artış 14. günde $0,61 \pm 0,066$ mg/ml olarak % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda tespit edildi Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların NBT hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

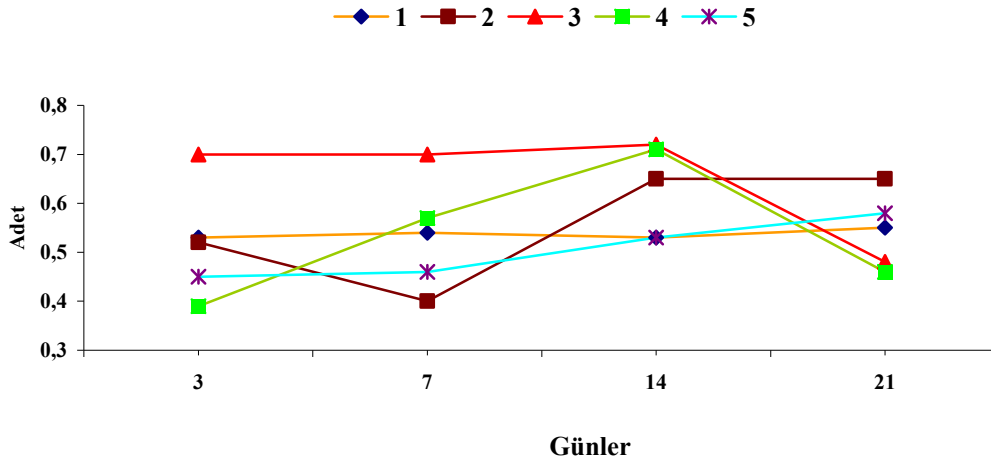
3.4.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların NBT değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların NBT seviyeleri aşağıdaki gibi tespit edildi. Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde NBT seviyeleri $0,52 \pm 0,019$, $0,40 \pm 0,026$, $0,65 \pm 0,034$, $0,67 \pm 0,082$ arasında belirlendi (Tablo 3.4.2.1, Şekil 3.4.2.1).

Tablo 3.4.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$0,53 \pm 0,039$	$0,51 \pm 0,087$	$0,52 \pm 0,076$	$0,51 \pm 0,069$
2	$0,52 \pm 0,019$	$0,40 \pm 0,026^{1,2,3a,1b}$	$0,65 \pm 0,03^{1,2,4,5a,1,2,5b,1c}$	$0,67 \pm 0,082^{1,2,4,5a,1,2,5b,1,5c,1d}$
3	$0,70 \pm 0,066^{1,2a}$	$0,70 \pm 0,030^{1,2,4,5a,1,2b}$	$0,72 \pm 0,038^{1,2,4,5a,1,2,4,5b,1c}$	$0,48 \pm 0,032^{3a,3b,2,3,4c,2d}$
4	$0,39 \pm 0,023^{2,3a}$	$0,57 \pm 0,038^{3,4,5a,2,3b}$	$0,71 \pm 0,033^{1,2,4,5a,1,2,4,5b,1c}$	$0,46 \pm 0,077^{3a,3b,2,3,4c,2d}$
5	$0,45 \pm 0,017^{3a}$	$0,46 \pm 0,024^{3a,3b}$	$0,53 \pm 0,036^{3,4a,2,3b,2,3,4c}$	$0,58 \pm 0,038^{3,4,5a,2,3,5b,3,4c,4d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı İ. P. enjeksiyon grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.4.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,70 \pm 0,066$ iken araştırmanın 21. gününde $0,48 \pm 0,032$ 'ye indi.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,39 \pm 0,023$ iken araştırmanın 21. gününde $0,46 \pm 0,077$ 'ye yükseldi.

Çörekotu yağının % 10 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,45 \pm 0,017$ iken araştırmanın 21. gününde $0,58 \pm 0,038$ 'e yükseldi.

En yüksek değerler % 0.1 grubu içinde tespit edildi, 14. gününde elde edilen $0,71 \pm 0,033$ değer gruplar içindeki en yüksek oran olarak bulundu. Bütün gruplarda 21. günde seviyeler düşüşe geçtiği tespit edildi. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların NBT seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

3.4.3. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen NBT değerleri

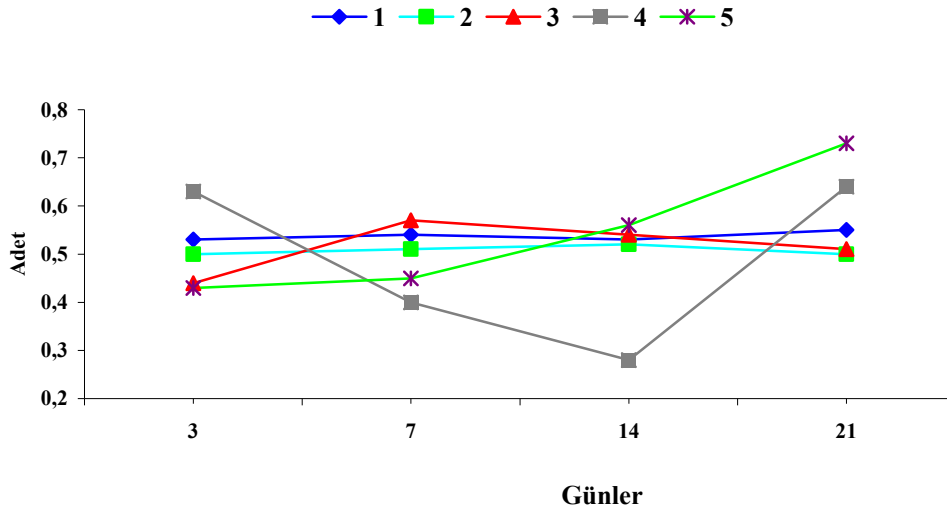
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların NBT değerleri aşağıdaki gibi tespit edildi..

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde NBT seviyeleri $0,50 \pm 0,020$, $0,52 \pm 0,033$, $0,51 \pm 0,032$, $0,50 \pm 0,035$ arasında belirlendi (Tablo 3.4.3.1, Şekil 3.4.3.1).

Tablo 3.4.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	0,53 ± 0,039	0,51 ± 0,087	0,52 ± 0,076	0,51 ± 0,069
2	0,50 ± 0,020	0,52 ± 0,033	0,51 ± 0,032 ^{4a,4b}	0,50 ± 0,035 ^{4a,4b,4c}
3	0,44 ± 0,027	0,57 ± 0,038 ^{5a}	0,54 ± 0,020 ^{3,4,5a,4,5b}	0,51 ± 0,028 ^{4a,4b,4c}
4	0,63 ± 0,023 ^{1,2,3a}	0,40 ± 0,028 ^{1,2,5a,1,3b}	0,28 ± 0,020 ^{1,2,3,4,5a,1,3,4,5b,1,2,3c}	0,64 ± 0,027 ^{1,2,3,5a,1,3,4,5b,1,2,3,4c,1,2,3d}
5	0,43 ± 0,028 ^{1,4a}	0,45 ± 0,023 ^{1,5a,1b}	0,56 ± 0,021 ^{3,4a,4,5b,4c}	0,73 ± 0,052 ^{1,2,3,4,5a,1,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2,3,4d}

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.4.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı NBT değerleri.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 0.1 dozunun verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,44 \pm 0,027$ iken araştırmanın 21. gününde $0,51 \pm 0,028$ 'e indi.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,63 \pm 0,023$ iken araştırmanın 21. gününde $0,64 \pm 0,027$ 'e yükseldi.

Çörekotu yağının deriden sürülerek % 10 dozunun verildiği balıklarda NBT seviyeleri 3. günde $0,43 \pm 0,028$ olarak tespit edilirken 21. gününde $0,73 \pm 0,052$ 'e yükseldiği tespit edildi ki bu değer gruplar içinde tespit edilen en yüksek değerdir.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen NBT seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p<0,05$).

NBT değerlerinin kıyaslanmasında:

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan gruplardaki NBT değerlerinin kontrol grubunun altında olmasına rağmen, bütün grupların 14. gününde bir artış gösterdiği,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki NBT seviyeleri % 0.1 ve 1.0 gruplarının 14. günde kontrol grubunun üstünde görüldüğü ve daha sonra düşüşe geçtiği,
- Çörekotu yağının deriden sürülmesi gruplarındaki NBT seviyelerinde % 10'luk grubun 14. ve 21. günlerde kontrol grubuna oranla bir artış gösterdiği,
- Bütün uygulamalar arasında sürme grubunun % 10 grubunun değerlerinin en yüksek değerlere sahip olduğu, tespit edildi.

3.5. Çörekotu yağı uygulanan grupların toplam protein değerleri

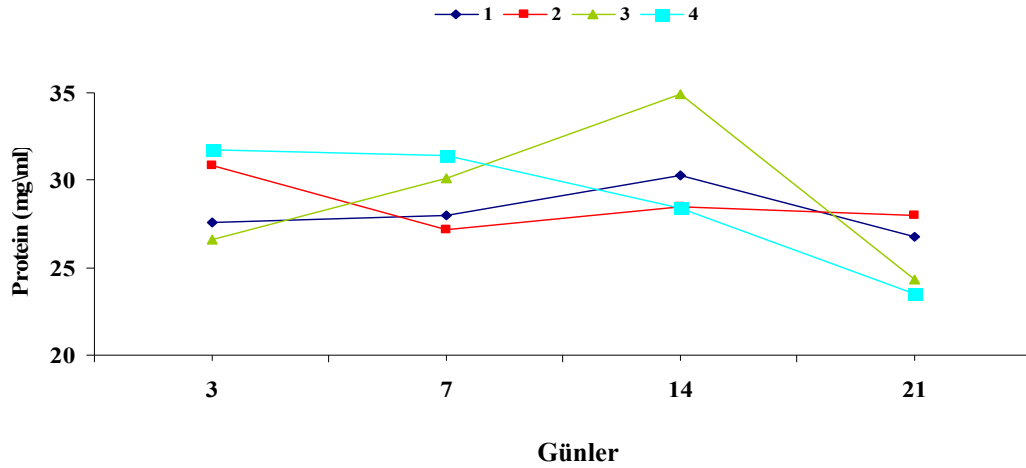
3.5.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarının toplam protein değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle balıkların toplam protein seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.5.1.1, Şekil 3.5.1.1).

Tablo 3.5.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	27,62 ± 0,58	27,95 ± 0,95	30,24 ± 1,01	26,77 ± 0,94
2	30,81 ± 1,16 ^{1a}	27,21 ± 0,33 ^{2a}	28,5 ± 0,58 ^{2a}	27,96 ± 0,30
3	26,6 ± 0,86 ^{2a}	30,11 ± 0,78 ^{3a,2b}	34,88 ± 1,50 ^{3a,3b,1,2c}	24,34 ± 0,39 ^{3b,3c,1,2d}
4	31,76 ± 0,98 ^{1,3a}	31,42 ± 0,83 ^{2,3b}	28,37 ± 1,05 ^{4a,4b,3c}	23,51 ± 0,44 ^{4a,4b,4c,1,2d}

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.5.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca toplam protein aktivitesi en düşük seviyesi 21. günde $26,77 \pm 0,94$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 14. günde $30,24 \pm 1,01$ mg/ml arasında belirlendi.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 7. günde $27,21 \pm 0,33$ mg/ml, en yüksek oran 3. günde $30,81 \pm 1,16$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $24,34 \pm 0,39$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $34,88 \pm 1,50$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $23,51 \pm 0,44$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $31,42 \pm 0,83$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 gruplarının hepsinde kontrol gruplarına oranla artışların meydana geldiği tespit edilmiştir. En yüksek artış 14. günde $34,88 \pm 1,50$ mg/ml olarak % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda tespit edildi. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların toplam protein hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

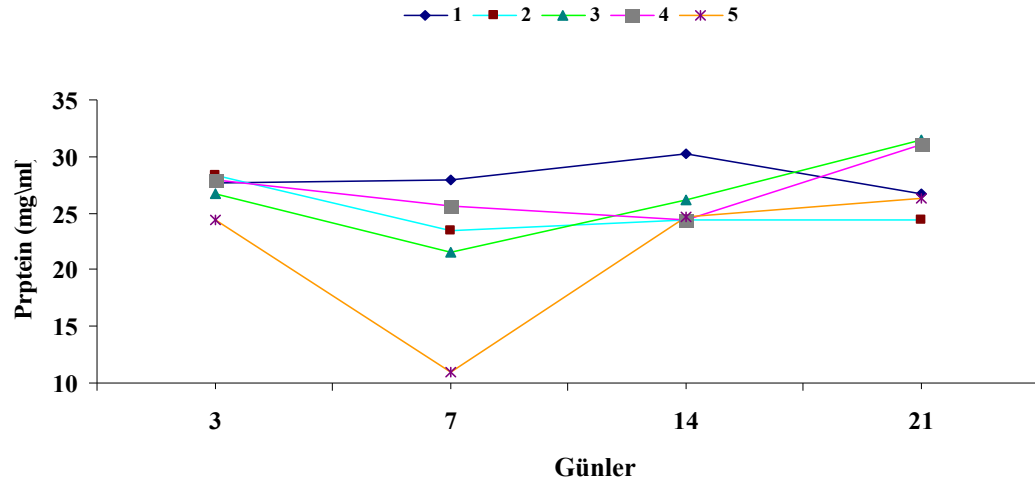
3.5.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların toplam protein değerleri

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların toplam protein seviyeleri aşağıdaki gibi tespit edildi. Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde protein seviyeleri $28,37 \pm 1,05$, $23,51 \pm 0,44$, $24,35 \pm 1,31$, $25,65 \pm 1,78$ arasında belirlendi (Tablo 3.5.2.1., Şekil 3.5.2.1.).

Tablo 3.5.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	27,62 ± 0,58	27,95 ± 0,95	30,24 ± 1,01	26,77 ± 0,94
2	28,37 ± 1,05	23,51 ± 0,44 ^{1,2,3,4a,1b}	24,35 ± 1,31 ^{1,2,3,4a,1,3,5b,1c}	25,65 ± 1,78 ^{1,2,3,4a,1,3,5b,1c,1d}
3	26,77 ± 0,94	21,53 ± 0,80 ^{1,2,3,4,5a,1b}	26,14 ± 1,05 ^{2,3,5b,1c}	31,5 ± 0,75 ^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,2,3,4,5c,1,2d}
4	27,96 ± 0,30	25,56 ± 0,68 ^{2,4a,1,3b}	24,43 ± 0,46 ^{2,3,5b,1c}	31,09 ± 0,66 ^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,2,3,4,5c,1,2d}
5	24,34 ± 0,39 ^{1,2,3,4a}	10,96 ± 0,52 ^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4b}	24,70 ± 1,16 ^{2,4a,1,3,5b,1c}	26,30 ± 0,44 ^{2,3,5b,1c,3,4d}

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı i. p. enjeksiyon grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.5.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde 26,77 ± 0,94 iken araştırmanın 21. gününde 31,5 ± 0,75'e yükseldi.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde 27,96 ± 0,30 iken araştırmanın 21. gününde 31,09 ± 0,66'ya yükseldi ki bu değer gruplar arasında tespit edilen en yüksek değerdir.

Çörekotu yağının % 10 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde 24,34 ± 0,39 iken araştırmanın 21. gününde 26,30 ± 0,44'e yükseldi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların protein seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi (p<0,05).

3.5.3. Çörekotu yağının deriden sürüldüğü grupların toplam protein değerleri

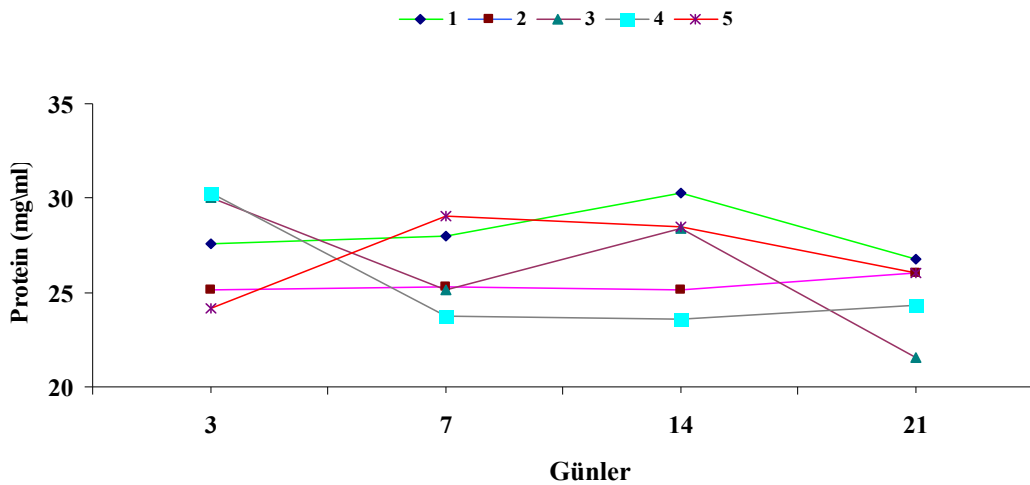
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların toplam protein değerleri aşağıdaki gibi tespit edildi..

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde protein seviyeleri $25,14 \pm 0,42$, $26,76 \pm 0,78$, $25,56 \pm 0,49$, $25,14 \pm 0,46$ arasında belirlendi (Tablo 3.5.3.1, Şekil 3.5.3.1).

Tablo 3.5.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$27,62 \pm 0,58$	$27,95 \pm 0,95$	$30,24 \pm 1,01$	$26,77 \pm 0,94$
2	$25,14 \pm 0,42^{1a}$	$26,76 \pm 0,78^{1,3,4a,1b}$	$25,56 \pm 0,49^{1,3,4a,1,5b,1c}$	$25,14 \pm 0,46^{1,3,4a,1,5b,1,3,5c}$
3	$30,06 \pm 1,41^{1,2a}$	$25,16 \pm 0,33^{1,3,4a,1b}$	$28,38 \pm 0,61^{2,3,5a,2,3,4b,2c}$	$21,53 \pm 0,62^{1,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,5c,1,2d}$
4	$30,26 \pm 1,23^{1a}$	$23,62 \pm 0,61^{1,3,4a,1b}$	$23,57 \pm 0,63^{1,3,4a,1,5b,1,3c}$	$24,28 \pm 0,56^{1,2,3,4a,1,5b,1,3,5c,1,3d}$
5	$24,19 \pm 0,73^{1,3,4a}$	$29,02 \pm 0,64^{2,5a,2,3,4b}$	$28,49 \pm 0,62^{2,3,5a,2,3,4b,2,4c}$	$26,05 \pm 0,22^{3,4a,4,5b,3,4,5c,3d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.5.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam protein değerleri.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 0.1 dozunun verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde $30,06 \pm 1,41$ iken araştırmanın 21. gününde $21,53 \pm 0,62$ 'ye indi.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde $30,26 \pm 1,23$ olarak tespit edildi ki bu değer gruplar arasında tespit edilen en yüksek değerdir. Araştırmanın 21. gününde bu değer $24,28 \pm 0,56$ 'ye indi.

Çörekotu yağının deriden sürmeyle % 10 dozunun verildiği balıklarda protein seviyeleri 3. günde $24,19 \pm 0,73$ olarak tespit edilirken 21. gününde $26,05 \pm 0,22$ 'e yükseldi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle balıkların protein seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Protein değerlerinin kıyaslanmasında:

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem gruplarındaki protein değerlerinin kontrol grubu ve diğer gruplar arasında en yüksek değere ulaştığı,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki protein seviyeleri 14. ve 21. günden itibaren kontrol gruplarına göre artış gösterdikleri,
- Çörekotu yağının deriden sürüldüğü gruplardaki protein seviyelerinde 21. günler de kontrol grubu seviyesine ulaştığı veya altına düştüğü, tespit edildi.

3.6. Çörekotu yağı uygulanan grupların toplam Ig değerleri

3.6.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yemi gruplarının toplam Ig değerleri

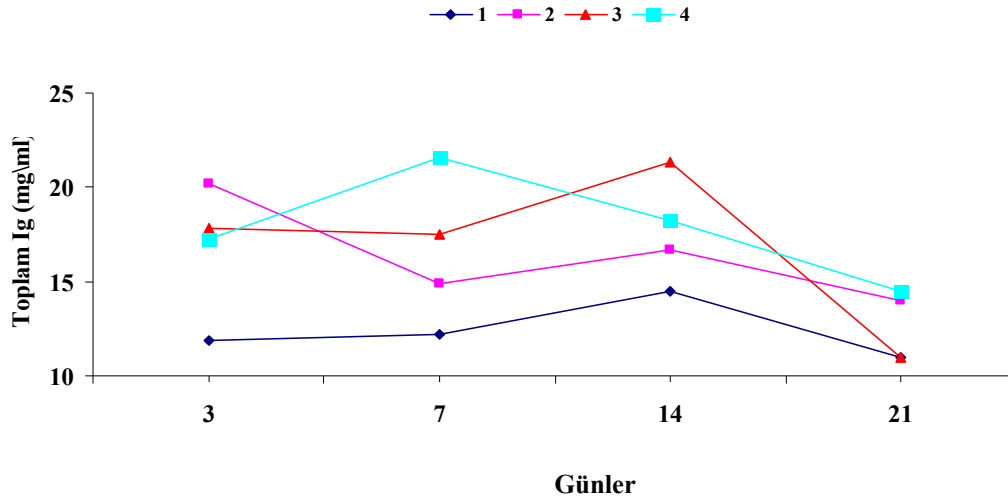
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme ilave edilerek 21 gün süreyle balıklara verilmesiyle balıkların toplam Ig seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.6.1.1, Şekil 3.6.1.1).

Çörekotu yağı karıştırılmış yem grubundan kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca toplam Ig aktivitesi en düşük seviyesi 21. günde $10,99 \pm 1,11$ mg/ml, en yüksek seviyesi ise 14. günde $14,47 \pm 1,22$ mg/ml arasında belirlendi.

Tablo 3.6.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	11,84 ± 0,62	12,18 ± 1,09	14,47 ± 1,22	10,99 ± 1,11
2	20,16 ± 0,77 ^{1a}	14,93 ± 0,93 ^{2a,1b}	16,69 ± 0,59 ^{2a}	13,97 ± 0,64 ^{2a,2c,1d}
3	17,86 ± 1,36 ^{1a}	17,53 ± 0,39 ^{1b}	21,31 ± 0,59 ^{3a,3b,1,2c}	10,99 ± 0,61 ^{3a,3b,3c,2d}
4	17,23 ± 0,93 ^{1,2a}	21,57 ± 0,92 ^{4a,1,2,3b}	18,27 ± 1,16 ^{4b,1,3c}	14,46 ± 0,69 ^{4a,4b,4c,1,3d}

1: Kontrol, 2: % 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 3: % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup, 4: % 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem ile beslenmiş grup. a: 3. gün, b: 7. gün, c: 14. gün, d: 21. gün.



Şekil 3.6.1.1. Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

% 0.1 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $13,97 \pm 0,64$ mg/ml, en yüksek oran 3. günde $20,16 \pm 0,77$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $10,99 \pm 0,61$ mg/ml, en yüksek oran 14. günde $21,31 \pm 0,59$ mg/ml olarak tespit edildi.

% 10 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda en düşük oran 21. günde $14,46 \pm 0,69$ mg/ml, en yüksek oran 7. günde $21,57 \pm 0,92$ mg/ml olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 gruplarının hepsinde kontrol gruplarına oranla artışların meydana geldiği tespit edilmiştir. En yüksek artış 7. günde $21,57 \pm 0,92$ mg/ml olarak % 1.0 çörekotu yağı karıştırılmış yem grubunda tespit edildi. Toplam Ig değerlerindeki değişimlerin gerçekleştiği günler ve oranlar toplam proteinin değişim

gösterdiği değerlerle aynı zamanlarda değişim göstermesi dikkat çekti. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun yemle verildiği balıkların toplam Ig hücre sayıları arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p<0,05$).

3.6.2. İ. P. Enjeksiyon uygulanan grupların toplam Ig değerleri

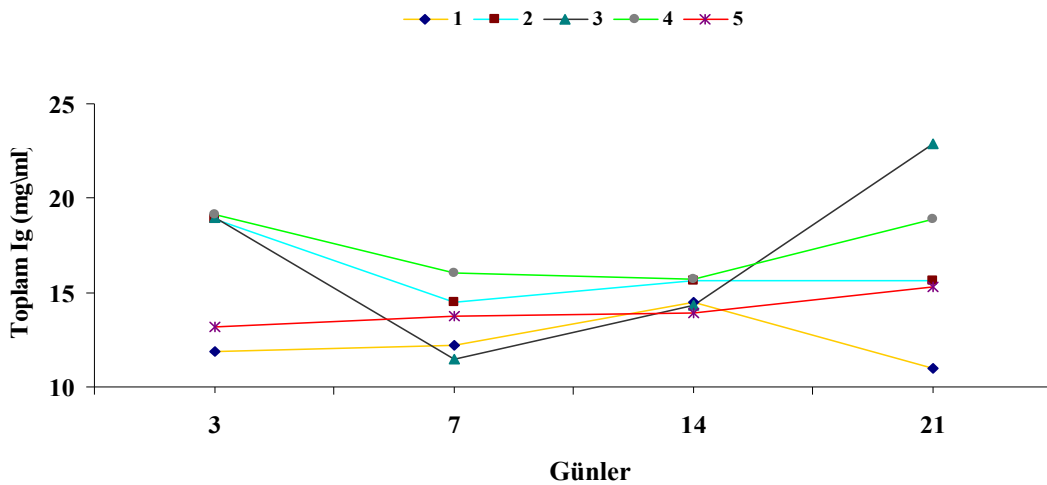
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının i. p. enjeksiyonunu takip eden 21 gün süreyle balıkların toplam Ig seviyeleri aşağıdaki gibi tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde toplam Ig seviyeleri $18,90 \pm 0,88$, $14,46 \pm 0,40$, $15,59 \pm 1,06$, $16,78 \pm 1,98$ arasında belirlendi (Tablo 3.6.2.1, Şekil 3.6.2.1).

Tablo 3.6.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$11,84 \pm 0,62$	$12,18 \pm 1,09$	$14,47 \pm 1,22$	$10,99 \pm 1,11$
2	$18,90 \pm 0,88^{1a}$	$14,46 \pm 0,40^{1,2,3,4a}$	$15,59 \pm 1,06^{1,2,3,4a,1,3,5b}$	$16,78 \pm 1,98^{1,2,3,4a,1,3,5b,1d}$
3	$18,95 \pm 1,12^{1a}$	$11,47 \pm 0,88^{2,3,4a,2b}$	$14,35 \pm 1,26^{2,3,4a,3,5b}$	$22,85 \pm 0,75^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2d}$
4	$19,17 \pm 0,62^{1a}$	$16,07 \pm 0,67^{1,2,3,4,5a,1,3b}$	$15,69 \pm 0,96^{1,2,3,4a,1,3,5b}$	$18,87 \pm 1,13^{1,5a,1,2,3,4,5b,1,2,3,4,5c,1,2,3d}$
5	$13,17 \pm 0,30^{2,3,4a}$	$13,74 \pm 0,21^{1,2,3,4,5a,1,2,3,4b}$	$13,94 \pm 1,23^{2,3,4a,5b}$	$15,26 \pm 0,86^{1,2,3,4a,1,3,5b,1,3,4d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı i. p. enjeksiyon grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 4: % 1.0 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup, 5: % 10 çörekotu yağı enjekte edilmiş grup.



Şekil 3.6.2.1. İ. P. Enjeksiyon uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

Çörekotu yağının % 0.1 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $18,95 \pm 1,12$ iken araştırmanın 21. gününde $22,85 \pm 0,75$ 'e yükseldi ki bu değer gruplar arasındaki en yüksek değer olarak tespit edildi.

Çörekotu yağının % 1.0 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $19,17 \pm 0,62$ iken araştırmanın 21. gününde $18,87 \pm 1,13$ 'e indi ki bu değer gruplar arasında tespit edilen en yüksek değerdir.

Çörekotu yağının % 10 dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $13,17 \pm 0,30$ iken araştırmanın 21. gününde $15,26 \pm 0,86$ 'ya indi.

Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun i. p. enjeksiyonla verildiği balıkların toplam Ig seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

3.6.3. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen toplam Ig değerleri

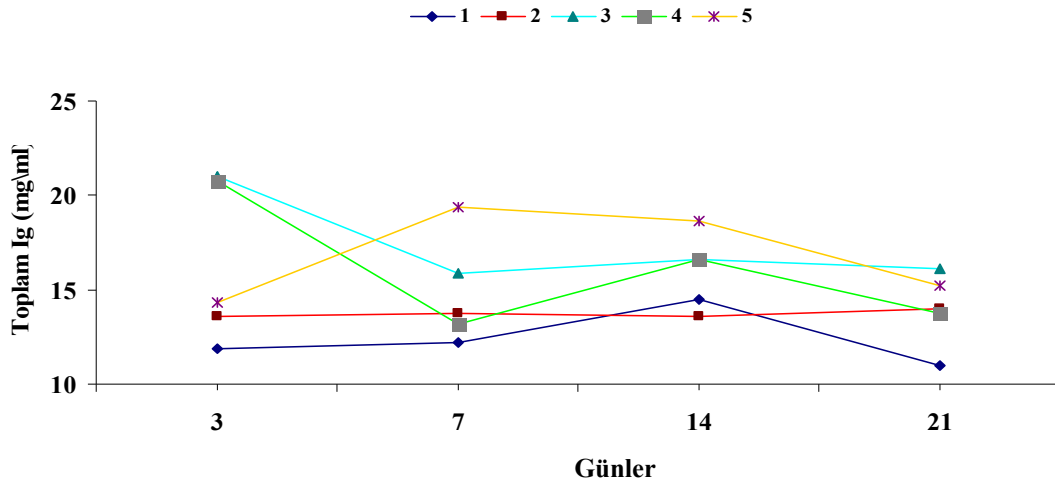
Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının sürülmesini takip eden 21 gün süreyle balıkların toplam Ig değerleri aşağıdaki gibi tespit edildi..

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14. ve 21. günlerde toplam Ig seviyeleri $13,58 \pm 0,54$, $14,08 \pm 0,74$, $14,57 \pm 0,76$, $13,04 \pm 0,98$ arasında belirlendi (Tablo 3.6.3.1, Şekil 3.6.3.1).

Tablo 3.6.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

Gruplar	GÜNLER			
	3	7	14	21
1	$11,84 \pm 0,62$	$12,18 \pm 1,09$	$14,47 \pm 1,22$	$10,99 \pm 1,11$
2	$13,58 \pm 0,54$	$14,08 \pm 0,74^{3a}$	$14,57 \pm 0,76^{3,4a,3,5b}$	$13,04 \pm 0,98^{3,4a,3,5b,3,5c,1d}$
3	$21,04 \pm 1,51^{1,2a}$	$15,83 \pm 0,46^{1,2,3,4a,1,2b}$	$16,57 \pm 0,77^{1,2,3,4,5a,1,2,4,5b,2c}$	$16,13 \pm 0,65^{1,2,3,4a,1,2,4,5b,2,5c,1,2d}$
4	$20,75 \pm 1,12^{1,2a}$	$13,17 \pm 0,30^{3,4a,3b}$	$16,64 \pm 0,40^{1,2,3,4,5a,1,2,4,5b,1,2c}$	$13,76 \pm 0,59^{3,4a,5b,3,4,5c,1,3d}$
5	$14,31 \pm 0,58^{1,3,4a}$	$19,41 \pm 0,28^{1,2,5a,1,2,4b}$	$18,63 \pm 0,58^{2,3,5a,1,2,3,4b,1,2c}$	$15,23 \pm 0,43^{1,3,4a,1,5b,5c,1d}$

1: Kontrol, 2: Ayçiçek yağı sürme grubu, 3: % 0.1 çörekotu yağı sürme grubu, 4: % 1.0 çörekotu yağı sürme grubu, 5: % 10 çörekotu yağı sürme grubu.



Şekil 3.6.3.1. Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle elde edilen deney ve kontrol grubu balıklarında zamana bağlı toplam Ig değerleri.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 0.1 dozun verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $21,04 \pm 1,51$ olarak tespit edildi ki bu değer gruplara arasında tespit edilen en yüksek değerdir. Araştırmanın 21. gününde $16,13 \pm 0,65$ 'e indi.

Deriden sürmeyle çörekotu yağının % 1.0 dozunun verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $20,75 \pm 1,12$ olarak tespit edilirken araştırmanın 21. gününde $13,76 \pm 0,59$ 'e indi.

Çörekotu yağının deriden sürülmesiyle % 10'luk dozun verildiği balıklarda toplam Ig seviyeleri 3. günde $14,31 \pm 0,58$ olarak tespit edilirken 21. gününde $15,23 \pm 0,43$ 'e indi. Kontrol grubu balıklarına göre çörekotu yağının her üç dozunun deriden sürmeyle verildiği balıkların Toplam Ig seviyeleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Toplam Ig değerlerinin kıyaslanmasında:

- Çörekotu yağı karıştırılmış yem uygulanan gruplardaki toplam Ig değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek değerlere sahip olduğu,
- İ. P. Enjeksiyon uygulanan gruplardaki toplam Ig seviyeleri diğer uygulamalara göre en yüksek seviyeler gösterdiği,
- Çörekotu yağının i.p. enjeksiyon grubunda toplam Ig seviyelerinin hızlı bir artış gösterip, 21. günlere doğru düşüşe geçtiği, deriden sürme grubunda ise yavaş yavaş bir artış ve düşüş görülmüştür ki, bir immüno stimulantdan beklenen düzenli ve parabolik bir çizgi izlediği tespit edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Balıklarda kullanılan çörekotu yağının etkileşiminin değerlendirilmesi

4.1.1. Lökosit değerlerinin incelenmesi

Çoğu araştırmacı (Guselle vd., 2006; Shalaby vd., 2006; Guojun vd., 2005) immünostimulantların lökosit fonksiyonunu artırdığını ve patojenlere karşı koruduğunu rapor etmişlerdir. Kullanılan uygulamalardan i. p. enjeksiyon 15 g. dan küçük balıklarda etkili olmadığı, besleme veya daldırma işlemlerinin bu ağırlıktaki balıklarda daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra deriden sürme, stressiz ve balık boyutuna bakılmaksızın, uygun teknolojiyle desteklenerek el değmeden, büyük miktarda balığa uygulanabilecek bir işlemdir.

Yapılan deneyde yeme karıştırma gruplarındaki lökosit değerlerinin kontrol grubunun üstünde olmasına karşın birbirine yakın değerler saptanmıştır. İ. P. Enjeksiyon gruplarındaki lökosit seviyelerinden % 10 grubunda seviyenin en üst düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Deriden çörekotu yağı sürülen grupların tamamında özellikle 14. ve 21. günlerde atağa geçerek kontrol grubuna oranla oldukça yüksek değerlere ulaştığı tespit edilmiştir.

Harikrishnan vd., (2005) sazanlarda (*Cyprinus carpio*), yaygın olarak görülen *Aeromonas hydrophila*'nın neden olduğu hastalığın tedavisinde yalancı tespih ağacı (*Azadirachta indica*) yaprakları ekstraktı ile yapmış oldukları çalışmada 6 güne kadar artış gösteren lökosit seviyesi 36 günde düşmüştür. Kaya vd. (2003)'in insanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmadaki çörekotunun lökosit seviyesinde gösterdiği artış, yapılan bu çalışmadaki lökosit artışı ile paralellik göstermektedir.

Yine Gökkuşluğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) spesifik olmayan immün sistemi üzerine *Sternbergia candida* Mathew & T.Baytop ekstraktının etkilerinin araştırılmasında Uluköy vd. (2008) lökosit seviyelerinde önemli bir artış olduğu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada Guojun vd., (2005) arpadan elde edilen β glukanın farklı dozları, *Labeo rohita* yavrularına verilmiştir. Dört farklı doz uygulanan balıklarda lökosit sayısı, fagositoz, lizozim aktivitesi, kompleman aktivitesi, serum bakteriyel aktivite gibi immün parametrelerine bakılmıştır ve önemli derecede farklılıklar kaydedilmiştir.

Uluköy vd. (2008) ve Guojun vd., (2005) lökosit değerlerindeki bu artışın çörekotu yağı uygulaması yapılan araştırmamızdaki lökosit artışıyla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çörekotu yağı uygulamasında herhangi bir hastalık etkeni kullanılmadığı gibi stres faktörlerini de en az seviyede tutmaya dikkat edilmiştir. Araştırmada total lökosit sayımlarına ilişkin bulgulara enfeksiyonun deriden çörekotu yağı sürülen grupların tamamında özellikle 14. ve 21. günlerde atağa geçerek karşılaştırma yapılan bitkisel çalışmalardakine benzer sonuçlar göstererek kontrol grubuna oranla oldukça yüksek değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Antioksidanlar Serbest oksijen radikalleri (SOR) tarafından etkilenme ve nötrofillerin aktivasyonu, lökosit ve monositlerin vasküler endotelial hücrelere adezyonu, mikrovasküler permeabilite ve trombozun artmasına neden olur. Kullanılan çörekotu yağının içerisinde bulunan antioksidanların lökosit seviyesini artırdığı düşünülmektedir (Kinkelin, vd., 1985; Ögüt, 2005; Quentel ve Aldrin, 1986).

4.1.2. Eritrosit değerlerinin incelenmesi

Balık kanında eritrosit (kırmızı kan hücreleri) yüzde hacmi hayvan sağlığı hakkında ipucu verir ve immünostimulantlardan kaynaklanan anomalileri açıklamaya yardım eder. Eritrosit yoğunluğunun azalması veya artması, herhangi bir akut stres sonrası belirlenebilir. Çörekotu yağının yeme karıştırıldığı gruplardaki eritrosit değerlerinin kontrol grubunun altında olduğu, i. p. enjeksiyon gruplarındaki eritrosit seviyelerinden sadece % 10'luk grubun kontrol grubuna göre 14. günde bir artış gösterip sonra tekrar bir düşüş gösterdiği, buna karşın deriden çörekotu yağı sürülen grupların özellikle 14. ve 21. günlerde atağa geçerek kontrol grubuna oranla oldukça yüksek değerlere ulaştığı, tespit edildi.

Wobeser (1973), 180 mg/kg balık hesabı ile Oxytetracyclin enjekte ettiği sazan da balıklarında 37 gün sonra eritrosit düzeyini deney grubu balıklarda kontrol grubuna göre daha düşük bulmuştur. Çalışmada i. p. enjeksiyon uygulanan gruplarda çörekotu yağının verildiği balıkların eritrosit düzeylerinin kontrol grubundan daha düşük çıkması, Oxytetracyclin ile yapılan çalışmanın sonuçlarıyla uyum içindedir.

Çalışmamızda yeme karıştırma ve i. p. enjeksiyon gruplarında eritrosit sayısının düşmesine buna karşın deriden çörekotu yağı sürülen balıkların eritrosit sayısında oluşan artışın stres faktörünü baskılayıcı yönde etkilediğini düşünmememizi sağlamıştır. Vasudeva ve Rina, (2005), bitkilerin içerisinde bulunan tanen gibi polifenolik bileşiklerin saf olarak elde edilerek alabalıklara (*Salmo irideus*) verilmesiyle eritrositlerde yıkıma neden

olarak sayılarında düşüş oluştuğunu tespit ederlerken, yapmış olduğumuz çalışmada da yeme karıştırma ve i. p. enjeksiyonla verilen çörekotu yağının mevcut doğal tanenlerin etkisiyle bir yıkıma neden olduğu, buna karşın deriden çörekotu yağı sürülen gruplarda bu etkinin tam tersi yönde bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Deriden çörekotu yağı sürülen gruplardaki yükselmenin çörekotu yağı içindeki uçucu yağların ki bunlar bağışıklık sistemini uyarıcı maddelerdir, derinin dermis ve epidermis tabakalarını geçerek özellikle immün sistem organlarını ve aynı zamanda eritrosit üretim merkezlerini uyardığı düşünülmektedir. Çoğu immüno stimulant madde yeme karıştırma ile verildiğinde uyarımı yapamamaktadır. Enjeksiyon ile verilen uyarıcı maddeler ise genellikle vücut içerisine herhangi bir yabancı madde olarak verildiği için yabancı antijenler olarak cevap verilmekte bu ise bir bakteri veya buna benzer yabancı bir madde olarak vücut tarafından tepki verilmektedir. Hayvansal veya bitkisel maddeler vücuda enjekte edilince spesifik antikor veya antitoksinlerin oluşumuna sebep olurlar (Anderson vd., 1995). Bu sebeplerden dolayı eritrosit seviyeleri düşmektedir. Yaptığımız i. p. enjeksiyon çalışmasındaki düşüşte bununla paralellik göstermektedir.

Deriden sürmeyle verilen çörekotu yağının eritrosit sayısını artırma sebebi olarak deri tarafından moleküler büyüklüklerine göre alt tabakalara kadar vücut bariyerlerine takılmadan geçebilen nigellon, nigellin gibi çörekotu yağında bulunan immüno stimulant maddelerin lenfoid organları uyarak hem kırmızı kan hücrelerini artırmayı tetiklediği hem de NBT ve Ig seviyelerini artırdığı düşünülmektedir.

4.1.3. Hematokrit değerlerinin incelenmesi

Gökkuşaklı alabalığı normal olarak % 30–50 arasında hematokrit düzeyine sahiptir, immüno stimulantlar nadiren bu parametreleri etkiler. Hematokrit düzeyleri değişimi aynı grup balıklarda oldukça geniştir, bu nedenle incelenecek balıklar aynı büyüklükte seçilmelidir. Anemik balıklarda hematokrit düzeyi % 10’a kadar düşer. Azalan hematokrit düzeyleri balığın yem almadığını, yemlerin düşük protein içerdiğini, balığın osmolarite problemleri olduğunu ve enfeksiyon mevcudiyetini gösterir.

Çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 oranlarında yeme karıştırılması ve i. p. enjeksiyonla verildiği balıklar ile kontrol grubu balıkların değerleri arasında önemli bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Yeme karıştırma, i. p. enjeksiyon ve deriden sürmeyle uygulandığı balıklarda hematokrit miktarlarında kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Çörekotu (*Nigella sativa* L.)’nun içerdiği maddelerden özellikle

timokininonun, insanda bulunan kanser hücreleri üzerindeki baskılayıcı özelliği ile benzer şekilde davranış göstererek hematokrit seviyesini düşürdüğü düşünülmektedir (Worthen vd., 1998). Houghton vd., (1995)'nin yapmış oldukları çalışmada da çörekotu yağının içerdiği antioksidan maddelerinin sitotoksik aktivitesinin çalışmamızda tespit edilen düşüşü etkileyerek benzer şekilde katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca Harikrishnan vd., (2003)'nin yapmış olduğu bir çalışmada da sazana (*Cyprinus carpio*) uygulanan bitkisel materyal (*Azadirachta indicab*) sonucunda hematokrit seviyesinde çalışmamıza benzer şekilde bir düşüş kaydedilmiştir. Hematokrit seviyesindeki düşüş oksijen oranındaki azalmayla ters orantılıdır. Hematokrit seviyesi düşüşü arzu edilen bir durumdur. Oksijen miktarı azlığında hematokrit seviyesi yükselir (Holeton vd., 1967; Wood ve Johansen, 1972; Swift ve Lloyd, 1974; Kirk, 1974).

Bütün gruplarda hematokrit değerlerinde geçici yükselme sonrasında bir düşüş ve önemli bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

4.1.4. Lökokrit değerleri incelenmesi

Araştırmacılar, lökokrit değerinin kandaki lökositlerin yüzde hacmini verdiğini ve balıkların sağlık durumları hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlayan bir parametre olduğunu vurgulamışlardır. Balık kanında belirlenen lökokrit ve hematokrit oranı balığın sağlığı hakkında ipuçları vermektedir. Lökokrit düzeyini pek çok faktör etkilemektedir (İspir vd., 2004). Sağlıklı balık popülasyonlarında lökokrit değerinin %1'den az olması gerektiği bilinmektedir. Ancak stres, lökokrit değerlerini artırabilmektedir (Caruso vd., 2002). Rijkers (1982), atlantik salmonlarına levamisol uyguladıktan sonra lökokrit düzeyinin kontrol grubu ile herhangi bir farklılık göstermediğini belirlemiştir.

Findlay ve Munday (2000), Atlantik salmonu (*Salmo salar* L.)' na tatlı su banyosu yoluyla 2,5 mg/L olarak levamisol uygulaması yapmışlardır. Levamisol uygulanan grup ile kontrol grubundaki lökokrit değerlerinin aynı olduğu belirlemişlerdir. Çörekotu yağından elde edilen sonuç, levamisol ile yapılan çalışmalardan elde edilen bulgularla paralellik göstermiştir. Çalışmada çörekotu yağının yeme karıştırma, i. p. enjeksiyon ve deriden sürmeyle verilen balıkların lökokrit düzeyinin kontrol grubundan farklı olmayarak, yüzde 1-2 arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

4.1.5. NBT değerlerinin incelenmesi

İmmünostimulantlar spesifik olmayan savunma mekanizmasını kendi başlarına aktif hale getirebilirler veya bir aşı yardımıyla da yönlendirebilirler. Bu da spesifik immün cevabın artmasına neden olur (Anderson ve Jeney, 1991). Hayvanlarda patojenik mikroorganizmalara ilk tepki spesifik olmayan bağışıklık sistemi ile olmaktadır (Logambal vd., 2000). Periferel kan nötrofillerinin, fikse olmuş NBT pozitif hücre aktivasyonu önemli bir spesifik olmayan savunma mekanizmasıdır. Bu aktivasyonun ölçülmesi balık sağlığı hakkında ipuçları vermektedir (Campbell vd., 1998). Patojen mikroorganizmaların yok edilmesinde, nötrofillerin aktivasyonunu kemil minezsens testi veya Nitroblue tetrazolium boyası kullanarak spektrofotometrik olarak reaktif oksijen türlerinin total miktarının tespiti ile mümkündür. Bu test nötrofillerin oksijen radikallerini üretme yeteneğini,   z nebilir NBT boyasını çözünmeyen formazana indirgemesi ile ortaya çıkar. NBT pozitif hücrelerde, nitroblue tetrazolium boyası, çözünmez mavi formazan içerisine O₂-yoluyla indirgenir (Anderson vd., 1992b). Enjeksiyon ile imm nizasyonda; sirküle kan nötrofillerinde, oksidatif nötrofillerin ve fikse olmuş NBT pozitif hücrelerinin aktivasyonunu artırabilir. Bu hücreler sorunlu dokularda kapillardan g    kolaylaştıran, birbirine yapışan proteinlerin üretimi ile doku hücresinin etrafını kaplayan yapışkan hücrelerdir.

Fagositoz spesifik olmayan savunma sisteminin en önemli parçasıdır. Patojen etkisi olacağı tespit edilen tüm partiküller fagosit hücreleri tarafından fagosome edilerek yok edilir. Balıklardaki fagositoz memelilerdekine benzer şekilde respiratory burst aktivitesine sahiptir. Bu mekanizmada reaktif oksijen vasıtasıyla fagosome edilen madde yok edilir. Bu işlem sonucunda O₂ açığa çıkar. Bu oksijenin ölçülmesinde iki metot kullanılır. Biri ferrisitokrom C'nin indirgenmesi diğeri ise nitroblue tetrazolium (NBT) tespitidir (Sakai vd., 1996).

Hastalıklara karşı kullanılan bitkilerin, hastalık nedeniyle NBT seviyelerinde ki düşüşü yükselttiği tespit edilmiştir. Örneğin Ard  vd. (2008)'nin yaptıkları çalışmada *Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica* bitkilerinin tilapiada (*Oreochromis niloticus*) *Aeromonas hydrophila*'ya karşı etkilerini araştırmışlardır.

Shalaby vd., (2006)'nin çalışmalarında propolisi intraperitoneal ve yeme karıştırmayla seabream (*Sparus aurata* L.)'e 6 hafta boyunca uygulamışlardır. H moral immünite (alternatif kompleman aktivitesi ve peroksidaz içeriği) ve Hücresel immünite (lökosit, peroksidaz, fagositoz, sitotoksinite ve respiratory burst aktivitesi) parametrelerine

de bakılmış, intraperitoneal enjeksiyonun, yeme karıştırmaya göre daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Gopalakannan ve Arul, (2006) yapmış oldukları çalışmada kitin, kitosan ve levamisole karşı sazanın büyüme ve immün cevap etkileri tespit etmişleridir. *Aeromonas hydrophila*'nın neden olduğu hastalık balıklara verilen immüno stimulantların hastalığı 45. günden itibaren baskılayarak büyüme oranlarını artırdığını tespit etmişlerdir. İmmün parametrelerinden lizozim, NBT, WBC (akyuvar sayısı) değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bulunduğunu ve kitosan, levamisol, kitinin en yüksek RPS'e (göreceli hayatta kalma yüzdesi) ve büyüme oranlarına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Bu iki çalışmadaki NBT ve respiratory burst aktivitesindeki artış verilen çörekotu yağının NBT değerlerini artırmasıyla aynı etkiyi gösterdiği anlaşılmıştır.

Yeme karıştırma gruplardaki NBT değerlerinin kontrol grubunun altında olmasına rağmen, bütün grupların 14. gününde bir artış gösterdiği, i. p. enjeksiyon gruplarındaki NBT seviyeleri % 0.1 ve 1.0 gruplarında 14. günde kontrol grubunun üstünde görüldüğü ve daha sonra düşüşe geçtiği, çörekotu yağının deriden sürüldüğü gruplardaki NBT seviyelerinde % 10'luk gruba 14. ve 21. günlerde kontrol grubuna oranla bir artış gösterdiği, Bütün uygulamalar arasında deriden sürme grubunun % 10'luk grubunun en yüksek değerlere sahip olduğu, tespit edilmiştir.

Epizootik ülseratif sendromunun tedavisinde ve tropik tatlı su balık yetiştiriciliğinde görülen trichodinosis, argulosis gibi bazı parazitik hastalıkların tedavisinde bitki ekstraktlarını içeren doğal ürünlerin kullanımı mevcuttur. *Ocimum sanctum*'un düşük konsantrasyonlarda bile immüno stimulant etki gösterdiği tespit edilmiştir (Hardie vd., 1990; Leeder vd., 1991). Çalışmada kullanılan çörekotu yağının da *O. sanctum* gibi bir tepki vererek NBT seviyesini artırdığı tespit edilmiştir. Özellikle deriden sürme gruplarında ki artışın yüksek seyretmesi ve diğer uygulamalara göre kalıcılığının daha uzun sürmesi deri tabakalarından emilen nigellin ve nigellon gibi immüno stimulant maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.6. Protein değerlerinin incelenmesi

Proteinler vücuda ağızdan alınarak mide ve barsaklarda emilimi gerçekleştirildikten sonra amino asit yapılarına dönüştürülerek kullanılır. Bu nedenden dolayı protein seviyesi, protein emilim mekanizması ile ilişkili olarak yeme karıştırmada en yüksek seviyede olmak zorundadır. Çörekotu yağı enjekte edilen ve sürülen gruplarda doğal olarak toplam

protein seviyeleri düşük olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yeme karıştırma gruplarındaki protein değerlerinin kontrol grubu ve diğer gruplar arasında en yüksek değere ulaştığı tespit edilmiştir. İ. p. enjeksiyon gruplarındaki protein seviyeleri 14. ve 21. gününden itibaren kontrol gruplarına göre artış gösterdikleri tespit edilmiştir. Deriden sürme gruplarındaki protein seviyelerinde 21. günlerde kontrol seviyesi veya altına düştüğü tespit edilmiştir.

Toplam plazma proteini spesifik olmayan bağışıklık sisteminin hümmoral unsuru olarak kabul edilmektedir (Blazer ve Wolke, 1984). Keleş vd. (2002), yapmış oldukları çalışmada α -tokoferolün gökkuşuğı alabalığının spesifik ve spesifik olmayan immün parametrelerindeki değışikliklerini incelemişlerdir. Yemleme ile verilen α -tokoferolün spesifik immün parametrelerini etkilediğı ve spesifik olmayan parametrelerden total proteini ve total Ig miktarını artırdığını tespit etmişlerdir.

Ahmed vd., (2001); çeşitli bitkisel ekstraktlarının gökkuşuğı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık sistemindeki spesifik olmayan immün parametreleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Devediken, ısırgan ve zencefil bitkilerinin ekstraktlarını % 0.1, 1, 2 oranlarında (vücut ağırlığı) yeme karıştırarak üç hafta boyunca vermişlerdir. Total protein seviyelerinin en yüksek oranı % 0.1'lik zencefil grubunda, plazma proteininde en yüksek oran % 1'lik zencefil grubunda, respiratory burst aktivitesi, spesifik büyüme oranı (SGRs) ve kondisyon durumu (CFs) ölçümünde zencefil gruplarında en yüksek değerleri elde etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada yeme karıştırma grubunun protein seviyeleri en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu iki çalışmanın sonuçları çörekotu yağı çalışmasında elde edilen sonuçlarla paralellik arz etmiştir.

Harikrishnan vd. (2003)'nin yapmış oldukları çalışmada *Azadirachta indica* yapraklarından hazırlanan ekstrakta sazanların daldırma işlemi uygulanmış 10, 20 ve 30. günlerde toplam protein seviyelerinde çörekotu yağı çalışmasında olduğu gibi artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Vasudeva ve Rina, (2005)'nin yapmış oldukları çalışmada *Catla catla* bitkisinin tohumlarının sazanlarda yeme ilavesiyle verilmesi ile toplam protein seviyelerinde yapılan çörekotu deneyine benzer şekilde artışlar gözlemlenmiştir.

Bu verilerin ışığı altında çalışmada kullanılan çörekotu yağının protein seviyesini diğer uygulamalara göre daha iyi artırdığı ve bu artışın şimdiye kadar yapılan çalışmalarla da paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.1.7. Toplam Ig değerlerinin incelenmesi

Bu çalışmada da besleme uygulanan gruplardaki toplam Ig değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek değerlere sahip olduğu enjeksiyon uygulanan gruplardaki toplam Ig seviyelerinin diğer uygulamalara göre en yüksek seviyelere ulaştığı görülmüştür. Ancak bu yükselme düzenli bir artış ve azalış şeklinde olmamıştır (Rieder vd., 1992a; Rieder vd., 1992b; Kaya vd., 1997; Sisson vd., 1997).

Punitha vd., (2008)'nin yapmış oldukları çalışmada *Cynodon dactylon*, *Piper longum*, *Phyllanthus niruri*, *Tridax procumbens*, ve *Zingiber officinalis* gibi bitkilerin alkol ekstraksiyonları yeme ilave ederek verilmiş ve % 0.1 grubunun toplam Ig seviyelerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Yeme karıştırma uygulama grubunun kontrol grubuna göre yüksek değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra i. p. enjeksiyonda en yüksek değerlerin görüldüğü fakat ani düşüş ve yükselişlerin olduğu, deriden sürme gruplarında ise düzenli bir artış ve düşüşün gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Deriden sürme gruplarındaki toplam Ig seviyelerinden özellikle % 10'luk grubunda verilen çörekotu yağının epidermisten geçerek mukus salgı hücrelerini dolayısıyla Ig'leri uyardığı ve bu uyarının arzu edildiği gibi parabolik bir çizgi izlediği tespit edilmiştir. Toplam immünoglobülin miktarında zamana bağlı olarak bir düşüş görülmesi çörekotu yağının lenfosit tepkisinde oluşturduğu baskılamadan olabileceği düşünülmektedir (Fischer vd., 2003).

5. ÖNERİLER

Günümüze kadar hasta balıkların tedavisinde, profilaksisinde alışlagelmiş yöntemler (yeme karıştırma, enjeksiyon ve banyo) kullanılmıştır. Bu uygulamalardan yeme karıştırma immünostimulantların veya antibiyotiklerin kullanımında oldukça sınırlılık göstermektedir. Aralarında en çok kullanılan genellikle enjeksiyon ve banyo olmuştur. Ancak bu uygulamaların ise işçilik masrafları, oluşturduğu stres ve dolayısıyla maliyeti yüksek olmaktadır.

Yapılan çalışmada alternatif olarak bir stimulan uygulama şekli sunulmuştur. Bu 3 uygulamanın en etkilisi deriden sürme olarak tespit edilmiştir. NBT, eritrosit, lökosit, hematokrit değerlerinde ki değişiklikler çarpıcı şekilde sürme işleminde, diğerlerine oranla üstünlük sağlamıştır.

Hastalıklar patojen mikroorganizmaların belirli bir yoğunluğa ulaşmasıyla açığa çıkmaktadır. Bağışıklık sistemi elemanlarının güçlü bir yapıya ve yoğunluğa sahip olmaları patojen mikroorganizmaların hastalık oluşturmalarına izin vermemektedir. Yapılan çalışmada yüksek NBT ve toplam Ig seviyeleri olası hastalıklara karşı yüksek direnç sağlayarak hastalığın oluşumunun önüne geçmektedir.

Bitkisel immünostimulantlar vücut bariyerlerine takılmadan tamamen emilebilen maddeler içermektedir. Çörekotunun immün dengeleyici (uyarıcı ve baskılayıcıların) maddeleri bir arada bulundurması bu bitkinin uygulanmasını tercih etme nedeni olmuştur. İşletmelerde tercih edilen sentetik stimulantların balıklarda ve dolayısıyla insan vücudunda kalıntı yapma olasılığı yüksek maddelerdir. Bu nedenle su ürünlerinin, veteriner ve ziraat gibi doğal, organik tarıma yönelik mamullerin üretimine yönelmesi gerekmektedir. Buda ancak besleme ve tedavilerde bitkisel kaynakların kullanımı ile mümkün olmaktadır.

Yapmış olduğumuz çalışmada 21 gün süreyle çörekotu yağının % 0.1, 1.0, 10 dozlarının yeme karıştırma, i. p. enjeksiyon ve deriden sürme gruplarında balıkların immünolojik ve hematolojik değerlerinde önemli değişimler saptanmıştır.

Çalışma sonuçlarına göre, çörekotu yağı uygulanan balıkların bağışıklık sisteminde ve eritrosit sayısı, lökosit sayısı, hematokrit seviyesi, NBT seviyesi, toplam protein ve toplam Ig parametrelerinde önemli değişimler tespit edilmiştir. Ancak bu değişimlere rağmen 21. gün sonunda bu birikimin etkileri azalmakla beraber balıkların bağışıklık

sistemini güçlendirdiğini ve düzenli ve belirli oranlarda kullanılacak çörekotu yağının balıkların bağışıklık sistemlerini oldukça yüksek seviyede tutacağı tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler:

1. Deriden sürme ilk defa denenmiş ve bu uygulama diğer uygulamalara oranla daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.
2. Deriden sürme uygulamasında lökosit ve eritrosit seviyelerinde, 21. günlere kadar düzenli bir artış ve diğer uygulamalardan daha yüksek seviyeler tespit edilmiştir.
3. Lökosit seviyelerinde kayda değer bir gelişme gözlemlenmemiştir.
4. Deriden sürme gruplarında NBT değerleri diğer uygulamalarla kıyaslanmasında en yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.
5. Toplam protein seviyeleri ölçümlerinde yeme karıştırma gruplarında en yüksek değerler elde edilmiştir. Deriden sürme uygulamasında toplam protein seviyesinin 3 yöntem arasında en düşük seviyelere sahip olduğu tespit edilmiştir.
6. Toplam Ig seviyeleri incelemelerinde en yüksek değerler i. p. enjeksiyon uygulamasında elde edilmiş fakat parabolik bir çizgi izlememiştir, deriden sürme uygulamasında parabolik bir artış ve 21. günde yine düzenli bir azalma tespit edilmiştir.
7. Özellikle deriden sürme uygulamasında NBT, eritrosit ve lökosit değerlerinin en yüksek seviyelerinde olması bağışıklık sistemini uyarmakla kalmayıp diğer uygulamalardan bağışıklık sistemini uyarımda daha üstün olduğunu ispatlamıştır.
8. Çörekotu yağının yeme karıştırılarak verildiği gruplarda ise çörekotu yağının besleyici özelliklerinin minimum oranlarda bile kullanıldığında protein seviyelerini yükseltecek kadar etkili olduğunu göstermiştir.
9. Bu sonuçlar ışığında bize çörekotu yağının balığın deri tabakasından geçerek bağışıklık sistemini uyardığını göstermiştir. Özellikle deriden sürme uygulamasıyla NBT, eritrosit ve lökosit değerlerinin yükselmesi bağışıklık sisteminin uyarıldığını ispatlamıştır.

Elde edilen veriler doğrultusunda bu çalışmayla:

- Çörekotu yağının gökkuşığı alabalığında farklı yöntemler denenerek uygulanmasıyla bazı immünolojik ve hematolojik parametrelerde oluşan farklılıkları tespit edilmiş ve böylece diğer bitkisel çalışmalarda uygulanması gereken yönteme öncülük etmiştir.

- Alışlagelmiş yöntemlerden (Banyo, enjeksiyon, yeme karıştırma), daha etkili olabilecek farklı yöntemlerin ve uygulama şekillerinin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

- İmmün sistemin güçlendirilmesinde yan etkili kimyasallardansa bitkisellerin tercih edilmesinin beklenenden daha güçlü bir tepki oluşturacağı anlaşılmıştır.

- Deriden sürme uygulamasıyla diğer uygulamalardan üstünlük veya eksikliklerinin tespiti (stres, maliyet, işçilik) konusunda daha detaylı çalışma gerekliliği anlaşılmıştır.

- Bitkilerin ve mamullerinin doğal olmalarından dolayı vücut bariyerlerine takılmadan deri tabakalarından geçerek bağışıklık sistemini etkileyip etkilemeyeceği gibi konuların aydınlığa kavuşması amaçlanmıştır.

Sonuçta; bu başlıkların daha detaylı ve çeşitli bitkilerde de denenmesi kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aakre, R., Wergeland, H. I., Aasjord, P. M., Endersen, C.,** 1994. Enhanced antibody response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to *Aeromonas salmonicida* cell wall antigens using a bacterin containing, β -1, 3-M-glucan as adjuvant. *Fish Shellfish Immunol.* **4**, 47–61 pp.
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H.,** 2007. *Temel İmmünoloji*, İstanbul Medikal Yayıncılık, Editörler: Prof. Dr. Yıldız Camcıoğlu, Prof. Dr. Günnur Deniz. 1–223 s.
- Abdul-Ela, E.,** 2002. Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. *Mutat Res.* **51**, 11–17 pp.
- Abdul-Ghani, A.S., El-lati, S.G., Sacaan, A.I. and Suleiman, M.S.,** 1987. Anticonvulsant effects of some Arab medicinal plants. *International Journal of Crude Drug Research* **25**, 39–43 pp.
- Agrawal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R.,** 1979. Antimicrobial and antihelminthic activities of the essential oil of *Nigella sativa* L. *Indian J. Exp. Biol.* **17**, 1264–1265 pp.
- Ahmed, S. D., Salah, M. A., George, J., Yaser, M. A. and Mohamed, F. M.,** 2001. Effect of Some Local Immunostimulants on the Survival, Growth Performance and challenge infection of *Oreochromis niloticus*. *Central Lab for Aquaculture Research*. Abbassa, AbuHammad, sharkia, Egypt. World Fish Center, Abbassa, Abu-Hammad, Sharkia 44662, EGYPT.
- Akaylı, T.,** 2001. Kültür Çipura Balıklarında (*Sparus auratus*, L 1758) Vibriosis'in ELISA ve Bakteriyolojik Yöntemlerle Teşhisi. *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı (Hastalıklar Bilim Dalı). Doktora Tezi.
- Albanesi C., Scarponi C., Giustizieri ML.,** 2005. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* **4**:329–334 pp.
- Alberto, C., Alejandro, R., Angeles, E., Jose, M.,** 2005. In vivo effects of propolis, a honey bee product, on gill head seabream innate immune responses *Fish & Shellfish Immunology* **18**, 71–80pp.
- Al-Ghamdi M.S.,** 2001. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *J. Ethnopharmacol.* **76**, 45–48 pp.
- Ali, B. H. and Blunden, G.,**2003. Pharmacological and toxicological Properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research.* **17**, 299–306 pp.

- Altınterim, Ö.**, 2003. Çörekotunun Biyokimya dansı poster sunumu. 2. *Biyokimya Kongresi*, Veteriner Fakültesi, Fırat Üniversitesi. Elazığ.
- Anderson, D. P.**, 1974. Fish Immunology in Diseases of Fishes, *T. F. H. Pub.* 62–73 pp.
- Anderson, D. P. and Jeney, G.**, 1991. Response to *in vitro* and *in vivo* immunizaions with *Aeromonas salmonicida* O antigen bacterins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* **1**, 251–260 pp.
- Anderson, D. P.**, 1992a. Immunostimulants, adjuvants and receive carriers in fish: applications to aquaculture. *Ann. Rev. Fish Dis.* **2**, 281–307 pp.
- Anderson, D. P., Moritoma, T. and de Grooth, R.**, 1992b. Neutrophil, glass adherent, nitroblue tetrazolium assay gives early indication of immunization effectiveness in rainbow trout. *Vet. Immunol, Immunopathol.*, **30**, 419–429 pp.
- Anderson, D.P., Siwicki, A.K., Rumsey, G.L.**, 1995. Injection or immersion delivery of selected immunostimulants to trout demonstrate enhancement of nonspecific defense mechanisms and protective immunity. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. Eds., *Diseases in Asian Aquaculture* Vol. 11. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 413–426 pp.
- Anonim 1, Agrina Livestock Consultants Ltd. WDC World Development Consultants S.A. Agrisystemsna Led Konsorsiyumu Üye Şirketi**, 2006. Belirli Tarım Ürünleri için Sektör Analizi Raporlarının Hazırlanması EuropeAid Çerçeve Sözleşme LOT 1. Kırsal Kalkınma ve Gıda Güvenliği Talep N: Turkey Altun/SaraptırARAP/TR 0406.01/FWC/022.
- Anonim 2, AOAC (Association of Analytical Communities)**, 1990. *Official Methods of Analysis (15th edn.) Association of Official chemists*, Artington, VA. USA.
- Aoki, T.**, 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. *Diseases in Asian Aquaculture*, vol. 1. Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 519 – 529 pp.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M.**, 2002. Balık Hastalıkları, Medisan Yayınevi, Ankara, 1-36 s.
- Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G.**, 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* **275**, 26–33 pp.
- Atta–ur–Rahman, M. S., Choudhary M.I., Rahman, H.**, 1985a. Nigellimine–N–oxide–a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Heterocycles.* **23**, 953–955 pp.

- Atta-ur-Rahman, M. S., Cun-heng, H., Clardy, J., 1985b.** Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett.* **23**, 2759–2762 pp.
- Atta-ur-Rahman, M. S., Zaman, K., 1992.** Nigellemine, a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *J. Nat. Prod.* **55**, 676–678 pp.
- Atta-ur-Rahman, M. S., Hasan, S.S., Choudhary, M.I., Ni, C.Z., Clardy, J., 1995.** Nigellidine, a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Lett.* **36**, 1993–1996 pp.
- Azad, N, Rojanasakul, Y., 2006.** Vaccine delivery current trends and future. *Curr Drug Deliv.* **3**, 137–146 pp.
- Babbitt, BP, Allen, PM, Matsueda, G., Haber, E., Unanue, ER., 1985.** Binding of immunogenic peptides to Ia histocompatibility molecules. *Nature.* **317**, 359–361 pp.
- Badary, OA., Nagi, MN., Al-Shabab, OA., Al-Shawaf, HA., Al-Sohaibani, MO., Al-Bekairi, AM., 1997.** Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor activity. *Cancer J. Physiol. Pharmacol.* **75**, 1356–1361 pp.
- Badary, OA., Al-Shabanah, OA., Nagi, MN., Al-Bekairi, AM., Almazar, MMA., 1998.** Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Develop Res.* **44**, 56–61 pp.
- Badary, OA., Gamal, AM., 2001.** Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. *Cancer Detect Prev.* **25**, 362–368 pp.
- Baldwin, T.J., Newton, J.C., 1996.** Pathogenesis of enteric septicemia of channel catfish, caused by *Edwardsiella ictaluri*: bacteriological and light and electron microscope findings. *J. Aquat. Anim. Health.* **5**, 189–198 pp.
- Barnes, PF., Chatterjee, D., Abrams, JS., Lu, S., Wang, E., Yamamura, M., 1992.** Cytokine production induced by *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan. Relationship to chemical structure. *J Immunol.* **149**, 541–547 pp.
- Bei, JX, Suetake, H, Araki, K, Kikuchi, K, Yoshiura, Y, Lin, HR., 2006.** Two interleukin (IL)–15 homologues in fish from two distinct origins. *Mol. Immunol.* **43**, 860–869 pp.
- Ben-Hod, G., Losner, D., Joel, D.M., Mayer, A.M., 1991.** In vitro culture of *Orobancha aegyptica*. *Annals of Botany.* **68**, 413–416 pp.
- Bennani, N., Schmid-Alliana, A., Lafaurie, M., 1995.** Evaluation of phagocytic activity in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax*. *Fish Shellfish Immunol.* **5**, 237–46 pp.

- Bernard, D., Six, A., Rigottier-Gois, L., Messiaen, S., Chilmonczyk, S., Quillet, E.,** 2006. et al. Phenotypic and functional similarity of gut intraepithelial and systemic T cells in a teleost fish. *J Immunol.* **176**, 3942–3949 pp.
- Beyenbach, K. W.,** 2000. Renal handling of magnesium in fish: from whole animal to brush border membrane esicles. *Frontiers in Bioscience.* **5**, 712-719 pp.
- Bird, S, Zou, J, Kono, T, Sakai, M, Dijkstra, JM., Secombes, C.,** 2005. Characterisation and expression analysis of interleukin 2 (IL-2) and IL-21 homologues in the Japanese pufferfish, (*Fugu rubripes*), following their discovery by synteny. *Immunogenetics.* **56**, 909–923 pp.
- Biron, CA., Sen, GC.,** 2001. Interferons and other cytokines. In: Knipe DM, editor. Fields virology. Philadelphia: Lippincott–Raven. 321–351 pp.
- Blazer, V.S. and Wolke, R.E.,** 1984. The Effects of α -Tocopherol on The Immune Response and Non-specific resistance factors of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Aquaculture*, **37**, 1–9 pp.
- Blohm, U., Siegl, E., Kollner B.,** 2003. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sIgM-leucocytes secrete an interleukin-2 like growth factor after mitogenic stimulation in vitro. *Fish Shellfish Immunol.* **14**, 449–65 pp.
- Boehm, U., Klamp, T., Groot M, Howard JC.,** 1997. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu. Rev. Immunol.* **15**, 749–795 pp.
- Boonyaratpalin, M. And Wanakowat, J.,** 1991. Effect of thiamine, riboflavin, pantothenic acid and inositol on growth, feed efficiency and mortality of juvenile seabass. In: IV. *International Symposium on Fish Nutrition and Feeding*, Biarritz, France, 24-27 pp.
- Boonyaratpalin, S., Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K., Toride, Y.,** 1995. Effects of peptidoglycan_PG on growth, survival, immune responses, and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Diseases in Asian Aquaculture Vol. 11. Fish Health Section, *Asian Fisheries Society*, Manila, Philippines. 469–477 pp.
- Boshra, H., Bosh, N., Sunyer, JO.,** 2001. Purification, generation of antibodies and functional characterization of trout C3-1, C3-3, C3-4, C4-1, C4-2, C5, factor B and factor D complement molecules. In: *Proceedings of the 5th Nordic Symposium on Fish Immunology*, Sundvollen Norway. 29 p.
- Buonocore, F., Randelli, E., Bird, S., Secombes, CJ., Facchiano, A., Costantini, S.,** 2007. Interleukin-10 expression by real-time PCR and homology modelling analysis in the European sea bass (*Dicentrarchus Labrax* L.). *Aquaculture.* **270**, 512–522 pp.

- Buonocore, F., Randelli, E., Casani, D., Costantini, S., Facchiano, A., Scapigliati, G.,** 2007. Molecular cloning, differential expression and 3D structural analysis of the MHC class-II b chain from sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L). *Fish Shellfish Immunol.* **23**, 853–866 pp.
- Burits, M., Bucar, F.,** 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* **14**, 323–328 pp.
- Campbell, R. E., Lilley J. H. & Richards, R. H.,** 1998. the use of natural products in the treatment of EUS (Epizootic Ulcerative Syndrome). In Kane, A. S. & S. L. Poynton (eds), *Proceeding of the international Symposium on Aquatic Animal Health*. Baltimore, U.S.A.: 114 p.
- Caruso, D., Schulumberger, O., Dahm, C., and Proteau, J.P.,** 2002. Plasma lysozyme levels in sheatfish, *Silurus glanis* subjected to stress and experimental infection with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research.* **33**, 999–1008 pp.
- Caspi, RR., Avtallion, RR.,** 1984. Evidence for the existence of an IL–2 like lymphocyte growth factor in a bony fish, (*Cyprinus carpio* L.). *Dev Comp Immunol.* **8**, 51–60 pp.
- Chakraborty, C. & Chattopadhyay, A. K.,** 1998. Turmeric (*Curcuma longa*) and neem leaf (*Azadirachia indica*) extract in the management of bacterial infection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Fishing Chimes.* **18**, 17 p.
- Chen, D., Ainsworth, A. J.,** 1992. Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Rafneque. *J. Fish Dis.* **15**, 295–304 pp.
- Collet, B., Secombes, C.J.,** 2002. Type I–interferon signalling in fish. *Fish Shellfish Immunol.* **12**, 389–397 pp.
- Coeugniet, E., Kuhnast, R.,** 1986. Recurrent candidiasis. Adjuvant immunotherapy with different formulations of Echinacea. *Therapiwoche.* **36**, 3352–3358 pp.
- Daniels, GD., Secombes, C.J.,** 1999. Genomic organisation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* TGF– β . *Dev. Comp. Immunol.* **23**, 139–147 pp.
- Danilova, N., Bussmann, J., Jekosch, K., Szteiner, LA.,** 2005. The immunoglobulin heavy–chain locus in zebrafish: identification and expression of a previously unknown isotype, immunoglobulin Z. *Nat. Immunol.* **6**, 295–302 pp.
- Darson, M.,** 1981. Role and characterization of fish antibody. *Developmental Biological Standardisation.* **49**, 307–319 pp.
- Das, BK., Nayak, KK., Fourrier, M., Collet, B., Snow, M., Ellis, AE.,** 2007. Expression of Mx protein in tissues of Atlantic salmon postsmoltse an immunohistochemical study. *Fish Shellfish Immunol.* **23**, 1209–1217 pp.

- David, J. C., Miles, J. P., James H. L., Somkiat, K., Kim, D., Thompson, A. A., 2001. Immunostimulation of striped snakehead *Channa striata* epizootic ulcerative syndrome. *Aquaculture* **195**, 1–15 pp.
- De Waal M. R., Yssel, H., De Vries, JE., 1993. Direct effects of IL–10 on subsets of human CD4⁺T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL–2 production and proliferation. *J. Immunol.* **150**, 4754–4765 pp.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, black cumin and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* **25**, 74(1–2), 101–109 pp.
- Dey, R. K., 1997. On the use of Herbal materials for managing disease and health conditions of fish during sustainable aquaculture practices. Abstract, *National workshop on fish and shellfish health management*, CIFA, Bhubaneswar, India.
- Dijkstra, JM., Somamoto, T., Moore, L., Hordvik, I., Ototake, M., Fischer, U., 2006. Identification and characterization of a second CD4–like gene in teleost fish. *Mol. Immunol.* **43**, 410–419 pp.
- Dörücü, M., Özese Ç. S., İspir, Ü., Altınterim, B., Celayir, Y., 2008. The effect of black cumin seeds (*Nigella sativa*) on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Wealth Research Conference*. Cairo, Egypt.
- Dubick, M. A., 1986. Historical perspectives on the use of herbal preparations to promote Health. *J. Nutr.* **116**, 1348–1354 pp.
- Dügenci, S. K., Arda, N., Candan, A., 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology.* **88**, 99–106 pp.
- El Daly, Es., 1998. Protective effect cysteine and vitamine E., *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin–induced toxicity in rats. *J. Pharm. Bel.* **53**, 87–95 pp.
- El–Dakhakhny, M., Barakat, M., Abd El–Halim, M., Aly, SM., 2000a. Effect of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J. Ethnopharmacol.* **72**, 299–304 pp.
- El–Dakhakhny, M., Mady, NI., Halim, MA., 2000b. *Nigella sativa* L. protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforsch.* **50**, 832–836 pp.
- El–Kadi, A., Kandil, O., 1987. The Black Seed (*Nigella sativa*) and immunity: its effect on human T cell subset. *Fed. Proc.* **46**, 1222 p.
- Ellis, A. E., 1981, Non–specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes. *Developmental Biological Standardization.* **49**, 337 – 352 pp.
- El–Tahir, KE., Ashour, MM., Al–Harbi, MM., 1993b. The cardiovascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in rats: elacidation of mechanism of action. *Gen. Pharmacol.* **24**, 1123–1131 pp.

- Engstad, R. E., Robertsen, B., Frivold, E.,** 1992. Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantik salmon blood. *Fish Shellfish Immunol.* **2**, 287–297 pp.
- Enomoto, S., Asano, R., Iwahori, Y.,** 2001. Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biol. Pharm Bull.* **24**, 307–310 pp.
- Erganiş, O., İstanbulluoğlu, E.,** 1993. İmmünoloji. 17–54 s.
- Etlinger, HM., Hodgins, HO., Chiller, JM.,** 1976. Evolution of the lymphoid system. Evidence for lymphocyte heterogeneity in rainbow trout revealed by the organ distribution of mitogenic responses. *J. Immunol.* **116**, 1547–1553 pp.
- Evans, D. H., Carrier, J. C. and Bogan, M.B.,** 1974. The effect of external potassium ions on the electrical potential measured across the gills of the teleost, dormitator maculatus. *J. Exp. Biol.* **6**, 277–283 pp.
- Evans, DL., Graves, SS., Cobb, D., Dawe, DL.,** 1984. Nonspecific cytotoxic cells in fish (*Ictalurus punctatus*). II. Parameters of target cell lysis and specificity. *Dev. Comp. Immunol.* **8**, 303–312 pp.
- Evans, DL., Leary, JH., Jaso–Friedmann, L.,** 1999. An antigen receptor (NCCRP–1) on nonspecific cytotoxic cells is a phosphoprotein associated with the JAK–STAT activation pathway. *Cell Signal.* **11**, 287–292 pp.
- Figueroa, F., Mayer, WE., Sultmann, H., O’huigin, C., Tichy, H., Sata, Y.,** 2000. MHC class II B gene evolution in East African cichlid fishes. *Immunogenetics.* **51**, 556–575 pp.
- Findlay, V. L. and Munday, B. L.,** 2000, Immunomodulatory effects of levamisole on the nonspecific immune system of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases.* **23**, 369 – 378 pp.
- Fischer, U., Utke, K., Ototake, M., Dijkstra, JM., Kollner, B.,** 2003. Adaptive cell-mediated cytotoxicity against allogeneic targets by CD8⁺-positive lymphocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Dev. Comp. Immunol.* **27**, 323–337 pp.
- Franchini, S., Zarkadis, IK., Sfyroera, G., Sahu, A., Moore, WT., Mastellos, D.,** 2001. Cloning and purification of the rainbow trout fifth component of complement (C5). *Dev. Comp. Immunol.* **25**, 419–430 pp.
- Gad, A. M., El-dakhakhny, M., Hassan, M.,** 1983. Studies on the chemical constitution of Egyptian *Nigella sativa* L. oil. *Planta Med.* **11**, 134–138 pp.
- Gatesoupe, FJ.,** 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture.* **180**, 147–165 pp.

- Gopalakannan, A., Arul, V., 2006.** Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*. **255**, 179–187 pp.
- Graham, S., Secombes, C.J., 1988.** The production of a macrophageactivating factor from rainbow trout (*Salmo gairdneri*) leucocytes. *Immunology*. **65**, 293–297 pp.
- Graham, S., Secombes, C.J., 1990.** Do fish lymphocytes secrete interferon–gamma? *J. Fish Biol.* **36**, 563–573 pp.
- Grondel, J. L., Nouws., J. F. M. and Van Muiswinkel, W. B., 1987.** The influence of antibiotics on the immun system: immunopharmakokinetic investigations on the primary anti–SRBC response in carp *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. *Journal Fish Diseases*. **10**, 35–43 pp.
- Gunimaladevi, I., Savan, R., Sato, K., Yamaguchi, R., Sakai, M., 2007.** Characterization of an interleukin–15 like (IL–15L) gene from zebrafish (*Danio rerio*). *Fish Shellfish Immunol.* **22**, 351–362 pp.
- Guojun Yin, Galina Jeney, Timea Racz, Pao Xu, Xie Jun and Zsigmond Jeney, 2006.** *Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences*. Quitang 1, Wuxi, 214081, China. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. **253**, 39–47 pp.
- Guselle, N. J., Markham, R. J. F. and Speare, D. J., 2006.** Intraperitoneal afministration of β –1,3/1,6–glucan to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), protects against *Loma salmonae*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **29**, 375–381 pp.
- Gutenberger, S.K., Duimstra, J.R., Rohovec, J.S., Fryer, J.L., 1997.** Intracellular survival of *Renibacterium salmoninarum* in trout mononuclear phagocytes. *Dis. Aquat. Org.* **28**, 93–106 pp.
- Güler, T., Dalkılıç B., Ertaş O.N., Çiftçi M., 2005,** The effect of anise oil (*Pimpinella anisum* L.) on broiler performance, Department of Animal Nutrition, Veterinary Faculty, University of Fırat, 23119 Elazığ, Turkey. *International journal of Poultry Science*. **4 (11)**, 851–855 pp.
- Hadden, J. W., 1993.** Immunostimulants, immunology Today. Pharmacology and uses of some highland medicinal plants. *In Amruth the magazine on medicinal plants*. **1**, 7 p.
- Hamed, R. H., Takruri M., Dameh, A. F., 1998.** Study of the Nutritional Value of Black Cumin Seed (*Nigella sativa* L.). *J. Set Food Agric*. **76**, 404–410 pp.
- Hanafy, M. S. M., Hatem, M. E., 1991.** Studies on the antimicrobial activity of (black cumin). *J. Ethnopharmacol.* **34**, 275–278 pp.

- Haney, D. C., Hursh, D. A., Mix, M. C., Winton J. R.,** 1992. Phsiological and hematological changes in chum salmon artificially infected with erythrocytic necrosis virus. *J. Aquat. Anim. Health.* **4**, 48–57 pp.
- Hansen, JD., Kaattari, SL.,** 1995. The recombination activation gene 1(RAG1) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): cloning, expression, and phylogenetic analysis. *Immunogenetics.* **42**, 188–195 pp.
- Hansen, JD., Kaattari, SL.,** 1996. The recombination activating gene 2 (RAG2) of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Immunogenetics.* **44**, 203–211 pp.
- Hansen, JD., Landis, ED., Phillips, RB.,** 2005. Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish. *Proc. Natl. Acad Sci. USA.* **102**, 6919–6924 pp.
- Haq, A., Lobo, P., Al-Tufail, M., Rama N., Al-Sedairy, ST.,** 1999. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion Exchange chromatography. *Int. J. Immunopharmacol.* **21**, 283–295 pp.
- Hardie, L. J., Fletcher, T. C. and Secombes, C. J.,** 1990. The Effect of Vitamin E on the Immune Response of the Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture.* **87**, 1–13 pp.
- Hardie, L. J., Fletcher, T. C., Secombes, C. J.,** 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of Atlantic salmon (*salmo salar*). *Aquaculture.* **95**, 201–214 pp.
- Hardie, LJ., Laing, KJ., Daniels, GD., Grabowski, PS., Cunningham, C., Secombes, CJ.,** 1998. Isolation of the first piscine transforming growth factor b gene: analysis reveals tissue specific expression and a potential regulatory sequence in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biomed.* **10**, 555–563 pp.
- Harikrishnan, R., Nisha, R. M., Balasundaram, C.,** 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture.* **221**, 41–50 pp.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Bhuraneswari, R.,** 2005. Restorative effect of *Azadirachta indicab* aqueous leaf extract dip treatment on heaematological parameter changes in *Cyprinus carpio* (L.) expermentally infected with *Aphanomyces invadans* fungus. *J. Appl. Ichthyol.* **21**, 410–413 pp.
- Harms, CA., Kennedy–Stoskopf, S., Horne, WA., Fuller, FJ., Tompkins, WAF.,** 2000. Cloning and sequencing hybrid striped bass (*Morone saxatilis* _ *M. chrysops*) transforming growth factor b (TGF b), and development of a reverse transcription quantitative competitive polymerase chain reaction (RT–qcPCR) assay to measure TGF b mRNA in teleost fish. *Fish Shellfish Immunol.* **10**, 61–85 pp.
- Hasan, C. M., Ahsan, M., Islam, N.,** 1989. In vitro antibacterial screening of the oils of *Nigella sativa* seeds. *Bangladesh J. Bot.* **18**, 171–174 pp.

- Hibiya, T.**, 1982. *An Atlas of Fish Histology Normal and pathological Features*. Kodansha Ltd. Tokyo. 143 pp.
- Holeton, G.F. and Randall, D.J.**, 1967. The effect of hypoxia upon the partial pressure of gasses in the blood and water afferent and efferent to the gills of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* **46**, 317–327 pp.
- Hong, S., Zou, J., Collet, B., Bols, NC., Secombes, CJ.**, 2004. Analysis and characterisation of IL–1b processing in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* **16**, 453–459 pp.
- Hoşsu, B., Korkut, A. Y., and Fırat, A.**, 2001. Fish Feeding and Feed Technology I (*Fish Feeding Physiology and Biochemistry*), II. Baskı, Ege Üni. Su Ür. Fak. Yay. No: 50, Ders Kit. Diz. No: 19, Ege Üni. Basımevi, Bornova, İzmir. 237-264 pp.
- Houghton, P.J., Zarka, R., De las Heras, B., Hoult, JRS.**, 1995. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* **61**, 33–36 pp.
- Hughes, S. G., Rumsey, G. L. And Nickum, J. G.**, 1981. Riboflavin requirement of fingerling rainbow trout. *Prog. Fish-Cult.* **43**, 127-133 pp.
- Hussein, A. S. M.**, 1990. Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic Plants. *Planta Med.* **56**, 644–645 pp.
- Igawa, D., Sakai, M., Savan, R.**, 2006. An unexpected discovery of two interferon gamma–like genes along with interleukin (IL)–22 and –26 from teleost: IL–22 and IL–26 genes have been described for the first time outside mammals. *Mol. Immunol.* **43**, 999–1009 pp.
- Inoue, Y., Suenaga, Y., Yoshiura, Y., Moritomo, T., Ototake, M., Nakanishi, T.**, 2004. Molecular cloning and sequencing of Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) NADPH oxidase cDNAs. *Dev. Comp. Immunol.* **28**, 911–925 pp.
- İmren, H. ve Turan, O.**, 1985. *Klinik Tanıda Laboratuvar*. Beta Yayım Dağıtım A.Ş. 845 s.
- Islam, N. SK., Begum, P., Ahsan, T., Huque, S. and Ahsan, M.**, 2004. Immunosuppressive and Cytotoxic Properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research.* **18**, 395–398 pp.
- İspir, Ü., Şeker, E. & Sarıeyyüpoğlu M.**, 2004. *Yersinia ruckeri* ile infekte edilen Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*, W, 1792) oluşan immünolojik değişimlerin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, Elazığ.* **16 (2)**, 393–400 s.
- Jaillon, O., Aury, JM., Brunet, F., Petit, JL., Stange–Thomann, N., Mauceli, E.**, 2004. Genome duplication in the teleost fish *Tetraodon nigroviridis* reveals the early vertebrate protokaryotype. *Pubmed.* **431**, 946–957 pp.

- Jansson, E., Gronvik, KO., Johannisson, A., Na slund, K., Westergren, E., Pilstro, L.,** 2003. Monoclonal antibodies to lymphocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* **14**, 239–257 pp.
- Jeney, G., Anderson, D.P.,** 1993. Enhanced immune response and protection in rainbow trout to *Aeromonas salmonicida* bacterin following prior immersion in immunostimulants. *Fish Shellfish Immunol.* **3**, 51–58 pp.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z., Anderson, D. P.,** 1997, Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture.* **154**, 1–15 pp.
- Jensen, I., Albuquerque, A., Sommer, AI., Robertsen, B.,** 2002. Effect of poly I:C on the expression of Mx proteins and resistance against infection by infectious salmon anaemia virus in Atlantic salmon. *Fish Shellfish Immunol.* **13**, 311–326 pp.
- Jorgensen, J. B., Lunde, H., Robertsen, B.,** 1993a. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar*, L. *J. Fish Dis.* **16**, 313–325 pp.
- Kajita, Y., Sakai, M., Atsuta, S., Kobayashi, M.,** 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Pathol.* **25**, 93–98 pp.
- Karabulut, H.A., Balta, F., Yandı, İ., Kayış, Ş., Serezli, R.,** 2005. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth, condition, feed conversion ratio, survival rate and meat composition of brook trout (*Salvelinus fontinalis*), (in Turkish). Ulusal Su Günleri 2005. *Den.Bil. ve Tek.Ens., Türk Sucul Yaşam Dergisi*, Yıl:3. **4**, 418–423 pp.
- Kaya, S., Pirinçci, İ. ve Bilgili, A.,** 1997. Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Cilt 2 Meadisan Yayınevi, Ankara, 790 s.
- Kaya, M. S., Kara, M.,  zbek, H.,** 2003.  rek otu (*Nigella sativa*) tohumunun insan hücresel bağışıklık sisteminin CD3+, CD4+, CD8+ hücreleri ve toplam lökosit sayısı üzerine etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Farmakoloji Anabilim Dallar , Van. *Genel Tıp Dergisi* 2003. **13(3)**, 109–112 s.
- Kazantzi, A., Sfyroera, G., Holland, MC., Lambris, JD., Zarkadis, IK.,** 2003. Molecular cloning of the beta subunit of complement component eight of rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* **27**, 167–174 pp.
- Kearn, G. C.,** 1976. Body surface of fishes. In: Ecological aspects of parasitology. (Ed. Kennedy, C. R.). Amsterdam, The Netherlands: *North-Holland Publishing Company*. 185–208 pp.

- Keleş, O., Candan, A., Bakurel, T., Karataş, S., 2002.** Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Zeranol'ün Anabolik Etkinliği ve spesifik olmayan İmmün sisteme Yönelik Etkisinin İncelenmesi. *Türk J. Vet. Anim. Sci.* **26**, 925–931 s.
- Khanna, T., Zaidi, FA., Dandiya, PC., 1993.** CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. *Fitoterapia*. **5**, 407–410 pp.
- Kinkelin, P., Dorson, M., 1973.** Interferon production in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) experimentally infected with Egtved virus. *J. Gen. Virol.* **19**, 125–127 pp.
- Kinkelin, P., Michel, C. and Ghittino, P., 1985.** “Precis de Pathologie des Poissons”, *OIE.*, Paris, 348 p.
- Kirk, W.L., 1974.** The effects of hypoxia on certain blood and tissue electrolytes of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Trans. Am. Fish. Soc.* **103**, 593–600 pp.
- Kitao, O. T., Yoshida, T., 1986.** Effect of an immunopotentiator on *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Vet. Immunol. Immunopathol.* **12**, 287–291 pp.
- Kitao, T., Yoshida, T., Anderson D. P., Dixon, O. W., Blanch, A., 1987.** Immunostimulation of antibody-producing cells and humoral antibody to fish bacterin by a biological response modifier. *J. Fish Biol.* **31**, 87–91pp.
- Konuk, T., 1981.** Pratik fizyoloji, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 378, Ankara, 250 s.
- Koskinen, R., Lamminmaki, U., Tregaskes, CA., Salomonsen, J., Young, JR., Vainio, O., 1999.** Cloning and modeling of the first nonmammalian CD4⁺. *J. Immunol.* **162**, 4115–4121 pp.
- Koumans, D. JCE., Harmsen, EGM., Rombout, JHWM., 1994.** Immunocytochemical analysis of mitogen responses of carp (*Cyprinus carpio* L.) peripheral blood leukocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **42**, 209–219 pp.
- Korkut, A. Y., Hoşsu, B., Gültepe, N., 2002.** Balıklarda Beslenmeye Bağlı Hastalıklar. *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences.* **19**, 555–564 s.
- Kökdil, G., Tamer, L., Ercan, B., Çelik, M. and Atik, U., 2006.** Effects of *Nigella orientalis* and *N. segetalis* Fixed oils on Blood Biochemistry in Rats. *Phytotherapy Research.* **20**, 71–75 pp.
- Knox, D., Cowey, C. B. And Adron J. W., 1981.** Studies on the nutrition of salmonid fish. The magnesium requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *British Journal of Nutrition.* **45**, 137–148 pp.

- Kruiswijk, CP., Hermesen, TT., Westphal, AH., Savelkoul, HF., Stet, RJ., 2002.** A novel functional class I lineage in zebrafish (*Danio rerio*), carp (*Cyprinus carpio*), and large barbus (*Barbus intermedius*) showing an unusual conservation of the peptide binding domains. *J. Immunol.* **169**, 1936–1947 pp.
- Kwapinski, J. B., 1965.** *Methods of Serological Research*. John Wiley & Sons Inc., New York, 526 p.
- Kumari, J., Sahoo, P. K., 2006.** Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias batrachus*) to several immunostimulants. *Aquaculture*. **255**, 133–141 pp.
- Laing, KJ., Pilstrom, L., Cunningham, C., Secombes, CJ., 1999.** TGF b3 exists in bony fish. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **72**, 45–53 pp.
- Lautenbacher, LM., 1997.** Schwarzkümmelöl, *Dtsch Apoth Ztg.* **137**, 68–69 pp.
- Leeder, N. S., Nakhoda, A., Spielberg, S.P., Dosch, H.M., 1991.** Cellular toxicity of sulfomethoxazole reactive metabolites–II– inhibition of natural killer cell activity in human peripheral blood mononuclear cells. *Biochemical Pharmacology.* **41**, 575–583 pp.
- Lemly, A. D., 1993.** Guidelines for evaluating selenium data from aquatic monitoring and assessment studies. *Environmental Monitoring and Assessment.* **28**, 83–100 pp.
- Leong, JC., Trobridge, GD., Kim CH, Johnson M, Simon B., 1998.** Interferon-inducible Mx proteins in fish. *Immunol. Rev.* **166**, 349–363 pp.
- Li, Y., Lovell, R. T., 1985.** Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. *Nutr.* **115**, 123–131 pp.
- Lim, C., Leamaster, B. and Brock, J. A., 1991.** Thiamin requirement of red hybrid tilapia grown on sea water. *22nd Annual Conference & Exposition, World Aquaculture Society*, San Juan, Puert Rico, June. 16–20 pp.
- Linditsch, J., 1997.** The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Journal of the Pakistan Medical Association.* **41**, 185–187 pp.
- Littman, DR., Thomas, Y., Maddon, PJ., Chess, L., Axel, R., 1985.** The isolation and sequence of the gene encoding T8: a molecule defining functional classes of T lymphocytes. *Cell. Pubmed.* **40**, 237–246 pp.
- Logambal, S. M., Venkatalakshmi, S., Dinakaran, M. Z. R., 2000.** Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum Sanctum*, L. in *Oreochromis mossambicus* (Peter). *Hydrobiologia.* **430**, 113–120 pp.
- Lovell, R. T. and Nuston, J. C., 1984.** Biotin supplementation of practical diets for channel catfish. *J. Nutr.* **144**, 1092–1096 pp.

- Lunden, T., Bylund, G., 2002.** Effect of sulfadiazine and trimethoprim on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **65**, 1–10 pp.
- MacDougall, KC., Mericko, PA., Burnett, KG., 1999.** Antigen receptor-mediated activation of extracellular related kinase (ERK) in B lymphocytes of teleost fishes. *Dev. Comp. Immunol.* **23**, 221–230 pp.
- Magnadottir, B., Lange, S., Gudmundsdottir, S., Bøgwald, J., Dalmo, RA., 2005.** Ontogeny of humoral immune parameters in fish. *Fish Shellfish Immunol.* **19**, 429–439 pp.
- Magnadottir, B., 2006.** Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. **20**, 37–151 pp.
- Mahmoud, MR., El- Abhar, HS., Saleh, S., 2002.** The effects of *Nigella sativa* oil against the bliver damage induced by *Schistosoma mansoni* in mice. *J. Ethnopharmacol.* **79**, 1–11pp.
- Manera, M., Serra, R., Isaný, G., Carpena, E., 2000.** Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed copper, iron and zinc enriched diets. *Journal of Fish Biology*. **57**, 457–465 pp.
- Matsuo, K., Miyazano, I., 1993.** The influence of long-term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. **59**, 1377–1379 pp.
- Mccormic, S. D., Hasegawa, S., Hirano T., 1992.** Calcium uptake in the skin of a freshwater teleost. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **89**, 3635–3838 pp.
- Meral, I., Yener, Z., Kahtaman, T. and Mert, N., 2001.** Effect of *Nigella sativa* on Glucose Concentration, Lipid Peroxidation, Anti-Oxidant Defence System and Liver Damage in Experimentally Induced Diabetic Rabbits. *J. Vet. Med. A*. **48**, 593–599 pp.
- Miller, NW., Ryczyn, MA., Stuge, TW., Luft, JC., Wilson, MR., Bly, JE., 1994.** In vitro culture approaches for studying immune cell function(s) in ectothermic vertebrates. *Dev. Comp. Immunol.* **18**, 132–141 pp.
- Miller, KM., Withler, RE., 1996.** Sequence analysis of a polymorphic MHC class II gene in Pacific salmon. *Immunogenetics*. **43**, 337–351 pp.
- Misva, C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P., 2006.** Effect of multiple injections of β -glucan on non-specific immune response and disease resistance in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*. **20**, 305–319 pp.

- Morrison, RN., Zou, J., Secombes, CJ., Scapigliati, G., Adams, MB., Nowak, BF.,** 2007. Molecular cloning and expression analysis of tumour necrosis factor- α in amoebic gill disease (AGD)- affected Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Shellfish Immunol.* **23**, 1015–1031 pp.
- Muinswinkel, W. B.,** 1997. The Piscine Immun System: Innate and Acquired Immunity. 732–749 pp. *Fish Vaccination Training Course.* 14–17 pp.
- Nadkarni, AK.,** 1976. *Indian Materia Medica.* Popular Parkishan: Bombay, India, 854 p.
- Nagarajan, UM., O’Connell, C., Rank, RG.,** 2004. Molecular characterisation of guinea-pig (*Cavia porcellus*) CD8^a and CD8^b cDNA. *Tissue Antigens.* **63**, 184–189 pp.
- Nakanishi, T., Ototake, M.,** 1999. The graft-versus-host reaction (GVHR) in the ginbuna crucian carp, (*Carassius auratus langsdorffii*). *Dev. Comp. Immunol.* **23**, 15–26 pp.
- Nikl, L., Evelyn, T.P.T., Albright, L.J.,** 1993. Trials with an orally and immersion-administrated b-1, 3 glucan as an immunoprophylactic against *Aeromonas salmonicida* in juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Dis. Aquat. Org.* **17**, 191–196 pp.
- Nuchtern, JG., Biddison, WE., Klausner, RD.,** 1990. Class II MHC molecules can use the endogenous pathway of antigen presentation. *Nature.* **343**, 74–76 pp.
- Öğüt, H.,** 2005. Balıklarda Stres, Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, (Editör: M., Karataş), Nobel Yayıncılık, *Sümae Yunus Araştırma Bülteni.* **8**, 498 s.
- Pancer, Z., Amemiya, CT., Ehrhardt, GR., Ceitlin, J., Gartland, GL., Cooper, MD.,** 2004. Somatic diversification of variable lymphocyte receptors in the agnathan sea lamprey. *Nature.* **430**, 174–180 pp.
- Parnes, JR.,** 1989. Molecular biology and function of CD4⁺ and CD8⁺. *Adv. Immunol.* **44**, 265–311 pp.
- Picchiatti, S., Scapigliati, G., Fanelli, M., Barbato, F., Canese, S., Mastrolia, L.,** 2002. Sex-related variation in serum immunoglobulins during reproduction in gilthead seabream and evidence for a transfer from the female to the eggs. *J. Fish Biol.* **59**, 1503–1511 pp.
- Picchiatti, S., Taddei, AR., Scapigliati, G., Buonocore, F., Fausto, AM., Romano, N.,** 2004. Immunoglobulin protein and gene transcripts in ovarian follicles throughout oogenesis in the teleost *Dicentrarchus labrax*. *Cell Tissue Res.* **315**, 259–270 pp.
- Picchiatti, S., Abelli, L., Buonocore, F., Randelli, E., Fausto, AM., Scapigliati, G.,** 2006. Immunoglobulin protein and gene transcripts in sea bream (*Sparus aurata* L.) oocytes. *Fish Shellfish Immunol.* **20**, 398–404 pp.

- Picchietti, S., Guerra, L., Selleri, L., Buonocore, F., Abelli, L., Scapigliati, G., 2008.** Compartmentalisation of T cells expressing CD8⁺α and TCR β in developing thymus of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Dev. Comp. Immunol.* **32**, 92–99 pp.
- Pinto, RD., Nascimento, DS., Dos Santos, NM., 2006.** Molecular cloning and characterization of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) CD8⁺α. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **110**, 169–177 pp.
- Poppenga, R. H., 2002.** Herbal medicine: Potential for intoxication and interaction with conventional drugs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* **17**, 6–18 pp.
- Post, G., 1987.** Textbook of Fish Health. *T. F. H. Publications. Inc.*, Neptune City, USA. 388 p.
- Poston, H. A., Combs, G. F., Leibovitz, L., 1976.** Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical signs. *J. Nutr.* **106**, 892-904 pp.
- Poston, H. G. And Page, J. W., 1982.** Gross and histological signs of dietary deficiencies of biotin and pantothenic acid in lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Cornell Vet.* **72**, 242-261 pp.
- Punitha, S. M. J., Babu, A. M. M., Sivaram, A. V., Shankar, A. V. S., Dhas, A. S. A., Mahesh, A. T. C., Immanuel, A. G., Citarasu, A. T., 2008.** Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture Int.* **16**, 511–523 pp.
- Quentel, C. and Aldrin, C. F., 1986.** Modifications sanguines consecutives a inoculation intraperitoneale de *Yersinia ruckeri* chez des truites Arcenciel, *Salmo gairdneri*. Catheterisees. *Aquaculture.* **53**, 169 –185 pp.
- Raa, R., Robertson, B. and Sung, H., 1992.** The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: Diseases in Asian Aquaculture. *Asian Fisheries Society*, Manila, Philippines. 39–50 pp.
- Ramakrishna, RR. Platel, K. and Srinivasan, K., 2003.** In vitro influence of species and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. *Molecular Nutrition & Food Research.* **47(6)**, 408–412 pp.
- Randelli, E., Buonocore, F., Scapigliati, G., 2008.** Cell markers and determinants in fish immunology. *Fish & Shellfish Immunology.* **25**, 326 p.
- Randhawa, M. A., Al-Ghamdi, M. S., 2002.** REVIEW ARTICLE. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. Department of Pharmacology, College of Medicine, King Faisal University, Dammam, Saudi Arabia. Pakistan. *J. Med. Res.* Vol.**41**, No.2.

- Rath, R. K.**, 1993. *Freshwater Aquaculture*. Scientific Publishers, Jodhpur, India: 282–312 pp.
- Rieder, M. J., Mask, M., Bird, I.A.**, 1992a. Production of tumour necrosis factor by cells exposed to sulphonamide reactive metabolites. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. **70**, 719–722 pp.
- Rieder, M. J., Sisson, E., Bird, I.A., Almawi, Y.**, 1992b. Suppression of T lymphocyte proliferation by sulphonamide hydroxylamines. *International Journal of Immunopharmacology*. **14**, 1175–1180 pp.
- Rijkers, G. T., Teunissen, A. G., Van Oosterom, R. and Van Muiswinkel, W.B.**, 1980. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp. *Aquaculture*. **19**, 177–189 pp.
- Rijkers, G. T.**, 1982. Non-lymphoid defense mechanisms in fish. *Dev. Comp. Immunol.* **6**, 1–13 pp.
- Robertsen, B., Ehgstad, R.E., Jørgensen, J.B.**, 1994. beta-glucan as immunostimulants in fish. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C._Eds., *Modulators of Fish Immune Responses*. **1**, 83–99 pp.
- Robertsen B.**, 2006. The interferon system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol.* **20**, 172–191 pp.
- Rodriguez, A., Cuesta, A., Ortuno, J., Esteban, M. A., Meseguer, J.**, 2003. Immunostimulant properties of cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabem (*Sparus aurorata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*.
- Romano, N., Abelli, L., Mastrolia, L., Scapigliati, G.**, 1997. Immunocytochemical detection and cytomorphology of lymphocyte subpopulations in a teleost fish *Dicentrarchus labrax* L. *Cell Tissue Res.* **289**, 163–171 pp.
- Romano, T.A., Ridgway, S.H., Felten, D.L., Quaranta, V.**, 1999. Molecular cloning and characterization of CD4⁺ in an aquatic mammal, the white whale *Delphinapterus leucas*. *Immunogenetics*. **49**, 376–383 pp.
- Rombout, J.H., Joosten, P.H., Engelsma, M.Y., Vos, A.P., Tarvene, N., Taverne-Thiele, J.J.**, 1998. Indications for a distinct putative T cell population in mucosal tissue of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Dev. Comp. Immunol.* **22**, 63–77 pp.
- Rouchou, S. C., Besbes, S., Hentat, B., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H.**, 2007. *Nigella sativa* L. Chemical composition and physicochemical characteristic of lipid fraction. *Food chemistry*. **101**, 673–681 pp.
- Sadey, M. D.**, 1980. Traditional medicine in health care. *J. Ethno pharmacol.* **2**, 19–22 pp.

- Saeij, JP., Stet, RJ., Groeneveld, A., Verburg–van Kemenade, LB., Van Muiswinkel, WB., Wiegertjes, GF., 2000.** Molecular and functional characterization of a fish inducible–type nitric oxide synthase. *Immunogenetics*. **51**, 339–346 pp.
- Sağlam, N., Yonar, M. E., 2009.** Fırat Üniversitesi. Sulfamerazinin gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, W.) immun sistemine etkisinin araştırılması. *Aquaculture Research*, **40**, 395–404 pp.
- Sakai, M., Kamiya, H., Ishii, S., Atsuta, S., Kobayashi M., 1992.** The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: Shariff, M., Subasighe, R. P., Arthur, J. R. (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section. *Asian Fisheries Society*. Manila, Philippines, 413–417 pp.
- Sakai, M., Otubo, T., Atsuta, S. Kobayashi, M., 1993.** Enhancement of resistance to bacterial infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) by oral administration of bovine lactoferrin. *J. Fish Dis.* **16**, 239–247 pp.
- Sakai, M., Atsuta, S., Kobayashi, M., 1995.** The activation of leucocytes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by oral administration of *Clostridium butyricum* bacterin. In: Shariff, M., Subasighe, R. P., Arthur, J. R. (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture Vol. 11. Fish Health Section. *Asian Fisheries Society*. Manila, Philippines, 433–437 pp.
- Sakai, M., Kobayashi, M., Kawauchi, H., 1996.** In vitro activation of fish phagocytic cells by GH, prolactin and somatolactin. *J. Endocrinol.* **151**, 113–118 pp.
- Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. **172**, 63–92 pp.
- Salem, M. L., 2005.** Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*. **5**, 1747–1770 pp.
- Salomi, N. J., Nair, S. C., Jayawardhanan, K. K., Vanghese, C. D., Panikkar, K. R., 1992.** Antitumor Principles from *Nigella sativa* seeds. *Canc. Lett.* **63**, 41–46 pp.
- Sambrook, JG., Campbell, RD., Elgar, G., 2003.** Characterisation of a gene cluster in Fugu rubripes containing the complement component C4 gene. *Gene*. **312**, 73–83 pp.
- Sasaki, Y., Maita, M., Okamoto, N., 2002.** Rainbow trout neutrophils are responsible for non–specific cytotoxicity. *Fish Shellfish Immunol.* **12**, 243–252 pp.
- Sato, A., Figueroa, F., Murray, BW., Malaga–Trillo, E., Zaleska–Rutczynska, Z., Sultmann, H., 2000.** Nonlinkage of major histocompatibility complex class I and class II loci in bony fishes. *Immunogenetics*. **51**, 108–116 pp.

- Savan, R., Igawa, D., Sakai, M., 2003.** Cloning, characterization and expression analysis of interleukin-10 from the common carp, (*Cyprinus carpio* L.). *Eur. J. Biochem.* **270**, 4647–4654 pp.
- Savan, R., Kono, T., Aman, A., Sakai, M., 2003.** Isolation and characterization of a novel CXC chemokine in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Mol. Immunol.* **39**, 829–834 pp.
- Savina, A., Amigorena, S., 2007.** Phagocytosis and antigen presentation in dendritic cells. *Immunol Rev.* **219**, 143–156 pp.
- Scapigliati, G., Mazzini, M., Mastrolia, L., Romano, N., Abelli, L., 1995.** Production and characterisation of a monoclonal antibody against the thymocytes of the sea bass *Dicentrarchus labrax* L. (Teleostea, Percichthyidae). *Fish Shellfish Immunol.* **5**, 393–405 pp.
- Scapigliati, G., Romano, N., Abelli, L., 1999.** Monoclonal antibodies in teleost fish immunology: identification, ontogeny and activity of T- and B-lymphocytes. *Aquaculture.* **172**, 3–28 pp.
- Scapigliati, G., Romano, N., Abelli, L., Meloni, S., Ficca, AG., Buonocore, F., 2000.** Immunopurification of T-cells from sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Fish Shellfish Immunol.* **10**, 329–341 pp.
- Schleicher, P., Saleh, M., und Wagner, H., 1996.** Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants. Natürlich heilen mit Schwarzkümmelöl. Südwestverlag GmbH und Co. KG, München. *Oxford J.* 96 p.
- Schroder, K., Hertzog, PJ., Ravasi, T., Hume, DA., 2004.** Interferongamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* **75**, 163–189 pp.
- Selvaraj, V., Sampath, K., Sekar, V., 2006.** Adjuvant and immunostimulatory effects of β -glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* **114**, 15–24 pp.
- Shalaby, A. M., Khattab, Y. A., Abdel Rahman, A. M., 2006.** Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* Vol. **12** no.2.
- Shim, K. F. And Tan, C. H., 1989.** The dietary requirement of vitamin A in guppy (*Poecilia reticulata*, Peters). *Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish.* Toba, Japan. 133-140 pp.
- Siegl, E., Hlawka, A., Blunk, H., Blohm, U., Albrecht, S., 1995.** Pronephros and spleen cells from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in vitro: growth factors produced under the influence of mitogens. *Comp. Haemat Int.* **5**, 261–267 pp.

- Singh, G., Marimuthu, P., Heluani, C. S., 2005.** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **85**, 2297–2306 pp.
- Sisson, E. M., Rieder, M. J., Bird, I. A., and Almaw, W. Y., 1997.** Suppression of pokeweed mitogen–driven human IgM and IgG responses by the Hydroxylamine of sulfamethoxazole. *International Journal of Immunopharmacology*. **19(5)**, 299–304 pp.
- Siwicki, A. K. and Anderson, D. P., 1993.** Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. *Symposium on Fish Immunology*. Lysekil, Sweden, 24 p.
- Siwicki, A. K., Anderson D. P. & Ramsey G. L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects non–specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **41**, 125–139 pp.
- Siwicki, A. K., Miyazaki, T., Komatsu, I., Matsuzato, T., 1996.** In vitro influence of heat extract from firefly squid *Watasenia scintillans* on the phagocyte and lymphocyte activities in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathol.* **31**, 17 p.
- Siwicki, A. K., Klein, P., Morand, M., Kiczka, W., Studnicka, M., 1998.** Immunostimulatory effects of dimerized (KLP–602) on the nonspecific defense mechanisms and protection against furunculosis in salmonids. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **61**, 369–378 pp.
- Sizemore, RG., Miller, NW., Cuchens, MA., Lobb, CJ., Clem, LW., 1984.** Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for in vitro mitogenic responses of channel catfish leukocytes. *J Immunol.* **133**, 2920–2924 pp.
- Stenvik, J., Jorgensen, TO., 2000.** Immunoglobulin D (IgD) of Atlantic cod has a unique structure. *Immunogenetics*. **51**, 452–461 pp.
- Stet, RJM., Kruiswijk, CP., Dixon, B., 2003.** Major histocompatibility lineages and immune gene function in teleost fishes: the road not taken. *Crit. Rev. Immunol.* **23**, 441–471 pp.
- Stoskopf, M. K., 1993.** *Fish Medicine*. W. B. Saunders Company, USA. ISBN 0–7216–2629–7.
- Suetake, H., Arakia, K., Suzuki, Y., 2004.** Cloning, expression, and characterization of fugu CD4⁺, the first ectothermic animal CD4⁺. *Immunogenetics*. **56**, 368–374 pp.
- Sullivan, JP., Lundberg, JG., Hardman, M., 2006.** A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. *Mol. Phylogenet Evol.* **41**, 636–662 pp.

- Sultmann, H., Mayer, WE., Figueroa, F., O'huigin, C., Klein, J.,** 1993. Zebrafish MHC class II a chain-encoding genes: polymorphism, expression, and function. *Immunogenetics*. **38**, 408–420 pp.
- Sunyer, JO., Zarkadis, IK., Sahu, A., Lambris, JD.,** 1996. Multiple forms of complement C3 in trout that differ in binding to complement activators. *Proc. Natl Acad Sci. U S A*. **93**, 8546–8551 pp.
- Suzuki, K., Misaka, N., Sakai, D. K.,** 2006. Efficacy of green tea extract on removal of the ectoparasitic flagellate. *Ichthyobodo necator* from chum salmon, *Oncorhynchus keta*, and *Masu* salmon, *O. masou*. *Aquaculture*. **259**, 17–27 pp.
- Swamy, S. M. K., Tan, B. K. H.,** 2000. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. seeds. *Journal of Ethnopharmacology*. **70**, 1–7 pp.
- Swift, D.J. and Lloyd, R.,** 1974. Changes in urine flow rate and hematocrit value of rainbow trout *Salmo gairdneri* (Richardson) exposed to hypoxia. *J. Fish Biol.* **6**, 379–388 pp.
- Şahin A., Yener, Z., Dağoğlu, G., Dede, S., Oto, G., Alkan, M.,** 2003. Karbontetraklorid (CCl₄) ile Deneysel Olarak Karaciğer Nekrozu Oluşturulan Ratlarda Vitamin E + Selenyum ve *Nigella sativa* (Çörekotu)'nın Karaciğer Yıkımını Engelleyici Etkileri. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* **27**, 141–152 s.
- Tafalla, C., Novoa, B., Alvarez, J. M., and Figueras, A.,** 1999. *In vivo* and *in vitro* effect of oxytetracycline treatment on the immune response of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Journal of Fish Diseases*. **22**, 271–276 pp.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M.,** 1998. Farmasötik Botanik. Ankara. 228 s.
- Tanrıkul, T.,** 1995. Bakteriyel Balık Aşıları ve Aşılama Yöntemleri, *Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, **19**, (33), 1–8 s.
- Thompson, I., White, A., Fletcher, T. C., Houlihan, D. F., Secombers, C. J.,** 1993. The effect of stress on the immune responses of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. *Aquaculture*. **114**, 1–18 pp.
- Timmusk, S., Jansson, E., Pilstrom, L.,** 2003. The generation of monoclonal antibodies by genetic immunisation: antibodies against trout TCR alpha and IgL isotypes. *Fish Shellfish Immunol.* **14**, 187–206 pp.
- Uluköy, G., Kubilay, A., Ekici, S., Altun, S., Kabak, T., Dullu, A., Didinen, B.I., Diler, Ö., Mammadov, R.,** 2008. Gökkuşığı Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Spesifik Olmayan İmmün Sistemi Üzerine *Sternbergia candida* Mathew & T.Baytop Ekstraktının Etkilerinin Araştırılması. *I. Ulusal Alabalık Sempozyumu*. Isparta.

- Uno, K., Aoki, T. and Ueno, R.**, 1993, Pharmacokinetics of sulphamonomethoxine and sulphadimethoxine following oral administration to cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. **115**, 209–219 pp.
- URL 1**, www.bahce.biz/bitki/baharat/baharatlar/corekotu.htm. 10 Haziran 2005.
- Van Ginkel, FW., Miller, NW., Cuchens, MA., Clem, LW.**, 1994. Activation of channel catfish B cells by membrane immunoglobulin cross-linking. *Dev. Comp. Immunol.* **18**, 97–107 pp.
- Vasudeva, R. Y. and Rina, C.**, 2005. Stimulation of immunity in Indian major carp *Catla catla* with herbal feed ingredients. *Fish & Shellfish Immunology*. **18**, 327–334 pp.
- Verburg, BML., Saeij, JP., Flik, G., Willems, PH.**, 1998. Ca² signals during early lymphocyte activation in carp *Cyprinus carpio*, L. *J. Exp Biol.* **201**, 591–598 pp.
- Vervarcke, S., Ollevier, F., Kinget, R. And Michoel, A.**, 2005, Mucosal response in African catfish after administration of *Vibrio anguillarum* O2 antigens via different routes. *Fish and Shellfish Immunology*. **18**, 125–133 pp.
- Vimerkati, A.**, 2003. Present conditions of coastal aquaculture: are we moving toward a sustainable resource. Ocean 503, *Aquatic pollution*. Outline 1. Introduction 2.
- Walker, RB., McConnell, TJ., Walker, RA.**, 1994. Variability in a MHC Mosa class II beta chain-encoding gene in striped bass (*Morone saxatilis*). *Dev. Comp. Immunol.* **18**, 325–342 pp.
- Wang, HJ., Xiang, LX., Shao, JZ., Jia, S.**, 2006. Molecular cloning, characterization and expression analysis of an IL-21 homologue from Tetraodon nigroviridis. *Immunogenetics*. **35**, 126–134 pp.
- Watanabe T., Kiron V., Satoh S.**, 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture*. **151**, 185–207 pp.
- Waterstrat, P. R., Brazil, J., Ainsworth, A. J.**, 1991. Use of an Elisa-based assay for the detection of antibody-secreting cells in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Journal of Fish Diseases*. **14**, 669–675 pp.
- Willett, CE., Cherry, JJ., Steiner, LA.**, 1997. Characterization and expression of the recombination activating genes (rag1 and rag2) of zebrafish. *Immunogenetics*. **45**, 394–404 pp.
- Wilson, M., Bengten, E., Miller, NW., Clem, LW., Du Pasquier, L., Warr, GW.. A.**, 1997. novel chimeric Ig heavy chain from a teleost fish shares similarities to IgD. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **94**, 4593–4597 pp.
- Wobeser, G.**, 1973. An outbreak of Redmouth Diseases in Rainbow trout, (*Salmo gairdneri*) in Saskatchewan. *J. Fish Res. Bd. Canada*. **30**, 571 – 575 pp.

- Wood, S.C. and Johansen, K.**, 1972. Adaption to hypoxia by increased HbO₂ affinity and decreased red cell ATP concentration. *Nat. New Biol.* **237**, 278–279pp.
- Worthen, D. R., Ghosheh, O., Crooks, P.A.**, 1998. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of black-seed, *Nigella sativa*. *Anticancer Res.* **18**, 1527–1532 pp.
- Yano, T., Mangindaan, R.E.P., Matsuyama, H.**, 1989. Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some β -1, 3-glucans. *Nippon Suisan Gakkaishi*. **55**, 1815–1819 pp.
- Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Xu, P., Jun, X. and Jeney, Z.**, 2006. Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences. Quitang 1, Wuxi, 214081, China. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. **253**, 39-47 pp.
- Yoshida, T., Sakai, M., Kitao, T., Khlil, S. M., Araki, S., Saitoh, R., Inemo, T., Inglis, V.**, 1993. Immunomodulatory effects of the fermented products of chicken egg, EF203, on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. **109**, 207–214 pp.
- Yoshida, T., Kruger, R., Inglis, V.**, 1995. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell., by the long-term oral administration of immunostimulants. *J. Fish Dis.* **18**, 195–198 pp.
- Yunxia, Q., Jianzhong S. and Guoliang W.**, 2001. A review of principal bacterial diseases of mariculture fish. *Transactions of Oceanology and Limnology*, **2**, 78–87 pp.
- Zarkadis, I.K., Duraj, S., Chondrou, M.**, 2005. Molecular cloning of the seventh component of complement in rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* **29**, 95–102 pp.
- Zhan, Y., Kwang, J.**, 2000. Molecular isolation and characterisation of carp transforming growth factor b1 from activated leucocytes. *Fish Shellfish Immunol.* **10**, 309–318 pp.
- Zou J., Peddie, S., Scapigliati, G., Zhang, Y., Bols, N.C., Ellis, A.E.**, 2003a. Functional characterisation of the recombinant tumor necrosis factors in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Dev. Comp. Immunol.* **27**, 813–822 pp.

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ ilinde 1976 yılında doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladıktan sonra 1994 yılında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesine kayıt yaptırđım ve 2000 yılında mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. 2003 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra aynı Anabilim Dalı'nın Hastalıklar Bilim Dalı'nın doktora programına kayıt yaptırđım. Halen bu öğrenimime devam etmekteyim.

Başar ALTINTERİM