

Yüksek sıcaklıkla oksidatif strese maruz bırakılan Gökkuşluğu Alabalığına (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), Karayemiş yaprağı (*Laurocerasus officinalis* Roem.) ekstraktının büyüme, yaşama oranı ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkisi

The effect of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) leaf extract on the growth, survival and some antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to oxidative stress induced by high temperature

Ayşe Parlak Akyüz¹  • Seval Dernekbaşı^{2*}  • İsmihan Karayücel² 

¹ Kuzey Su Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti. Bafra, Samsun, Turkey

² Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Akliman, Sinop, Turkey

* Corresponding author: sevalyaman@hotmail.com

Received date: 13.02.2017

Accepted date: 09.03.2018

How to cite this paper:

Parlak Akyüz, A., Dernekbaşı, S. & Karayücel, İ. (2018). The effect of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* roem.) leaf extract on the growth, survival and some antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* walbaum, 1792) exposed to oxidative stress induced by high temperature. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(2), 131-139. DOI:10.12714/egejfas.2018.35.2.05

Öz: Bu çalışmada, yüksek sıcaklıkla oksidatif strese maruz bırakılan gökkuşluğu alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*), karayemiş yaprağı (*Laurocerasus officinalis*) ekstraktının büyüme parametreleri, yaşama oranı ve bazı antioksidan enzimler [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx)] üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, biri ön deneme olmak üzere iki çalışma yürütülmüştür. Ön denemede yeme çeşitli konsantrasyonlarda (1, 5, 10 ve 15 g ekstrakt/kg) katılan karayemiş yaprağı ekstraktının büyüme, yaşama oranı, kanda ve solungaçta antioksidan enzimler üzerine etkileri incelenerek, uygun karayemiş yaprağı ekstraktı konsantrasyonu 15 g/kg yem olarak belirlenmiştir. Diğer denemede ise 15, 19 ve 21°C olmak üzere 3 sıcaklık uygulaması ile oksidatif stres oluşturulan juvenil gökkuşluğu alabalığına 15 g/kg konsantrasyonunda yeme ilave edilen karayemiş yaprağı ekstraktının büyüme, yaşama oranı, yem tüketimi, biyokimyasal kompozisyon ve karaciğerde antioksidan enzimler üzerine etkileri incelenmiştir. Kullanılan karayemiş ekstraktının büyümeyi 15 °C'de geriletmediği, 21 °C'de ise olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Ayrıca 19 ve 21 °C'de karayemiş ilaveli yemle beslenen gruplarda, yaşama oranının kontrol gruplarına göre önemli oranda arttığı belirlenmiştir (p<0.05). Enzim analizleri bakımından her iki çalışmadaki gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Çalışmanın sonunda elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, karayemişin stres altında yaşama oranını arttırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak ekonomik ve kolay bulunan bir bitki olan karayemişin, su ürünleri yetiştiriciliğinde yaz aylarındaki sıcaklık artışı süresince yeme ilave edilerek yaşanan kayıpları engelleyen yeni bir antioksidan madde olma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Karayemiş, oksidatif stres, gökkuşluğu alabalığı, yaşama oranı, büyüme, antioksidan enzim

Abstract: In this study, the effects of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis*) leaf extract on the growth parameters, survival rate and some antioxidant enzymes [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx)] of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in oxidative stress induced by high temperature were investigated. For this purpose, two trials, one of which was a preliminary trial, were conducted. In the preliminary study, the effect of cherry leaf extract supplemented to the diet with different concentrations (1, 5, 10, 15 g extract/kg) on growth, survival rate and antioxidant enzymes in blood and gill tissue were examined and the optimum concentration was determined as 15 g/kg. In the other study, the effect of supplementation of cherry laurel leaf extract with a concentration of 15 g/kg food to the diet on growth, survival rate, feed consumption, biochemical composition and antioxidant enzymes in the liver were investigated in juvenile trout induced by three temperature applications of 15, 19 and 21°C. The used cherry laurel leaf extract caused growth retardation in 15°C but showed a positive effect on growth in 21 °C. Also, survival rate increased significantly in the groups fed with cherry laurel supplemented diets in 19 and 21°C (p<0.05). In terms of antioxidant enzymes, there were no significant difference between the groups (p>0.05). Considering the results obtained at the end of the study, it was determined that cherry laurel increased the survival rate of trout under stress. As a result, it can be said that cherry laurel which is economic and easily found plant have a potency to become a new antioxidant substance that prevent losses by adding to the trout diet during the summer heat increase in aquaculture production.

Keywords: Cherry laurel, oxidative stress, rainbow trout, survival, growth, antioxidant enzyme

GİRİŞ

Yetiştiricilik ortamında, elleme, taşıma, aşırı stoklama, uygun olmayan su koşulları gibi birçok stres etkeni bulunmaktadır ve su sıcaklığındaki değişiklikler balık için en önemli etkenlerden biridir (Newman, 2000). Sıcaklık değişimi, canlıların ölümüne neden olabilir, balığa dolaylı olarak zarar verebilir, metabolizma hızını ve gelişimi etkileyebilir, aktiviteyi ve dağılımı sınırlayabilir, diğer çevresel faktörlerle etkileşime girerek onların potansiyel etkilerini maskeleyebilir ve duyuşsal algıyı uyarabilir (Coutant, 1976). Özellikle salmonidler için yetiştiricilik ortamında su sıcaklığının yükselmesi yem alımında azalma, büyümede gerileme, hastalık görülme sıklığında artış ve yaşama oranında azalma ile sonuçlanabilir.

Son yıllarda araştırmacılar ve yetiştiriciler hastalıkları önlemek, büyüme performansını artırmak ve bağışıklık sistemini güçlendirmek amacıyla antioksidan özellik gösteren bitkisel katkı maddelerine yönelmeye başlamıştır. Araştırmalar, bu maddelerin oldukça yararlı etkilerinin olduğunu göstermiştir. Bitkisel katkı maddesi kullanımının en büyük avantajı, bu maddelerin doğal içerikli olması ve balık, insan ya da çevreye zarar vermemeleridir (Gabor vd., 2012). Tıbbi bitkiler insanlar tarafından binlerce yıl boyunca ilaç ve bağışıklık güçlendirici olarak kullanılmıştır. Bu bitkiler balıklarda spesifik olmayan savunma mekanizmalarını erken aktive ederek immunostimulant olarak görev yapabilir (Govind vd., 2012).

Herhangi bir stres etkeni nedeniyle, canlıda prooksidan-antioksidan dengesinin bozulması sonucunda ortaya çıkan oksidatif stresin etkileri, antioksidan savunma sistemini güçlendiren antioksidan maddeler yardımıyla ortadan kaldırılabılır. Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir (Mehta ve Gowder, 2015). Enzimatik antioksidanların başlıcaları olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerindeki değişimler oksidatif stresin göstergesi olarak kullanılabilir (Ekambaram vd., 2014).

Karayemiş (*Laurocerasus officinalis*), antioksidan özelliği kanıtlanmış tıbbi bitkiler arasında yer almaktadır ve yıllar boyu Doğu Karadeniz'in yerel halkı tarafından egzama, boğaz ağrısı, astım, öksürük gibi hastalık ve sorunların tedavisinde kullanılmaktadır (Kolaylı vd., 2003; Liyana-Pathirana vd., 2006; Karahalil ve Şahin, 2011; Demir vd., 2017). Ayrıca, oksidatif hasara karşı hücrelerin korunmasını sağlayan fenolik bileşikler bakımından oldukça zengin bir bitki olup yaprak, meyve ve çekirdekleri yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir (Engin, 2007). Bu bakımdan karayemiş balıklarda stresin oluşturduğu etkiyi azaltarak, yaşama oranını artırabilir ancak daha önce herhangi bir balık türü üzerinde antioksidan olarak kullanımına rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, karayemiş yaprağı ekstraktının gökkuşuğu alabalığı üzerinde büyüme, yaşama oranı, biyokimyasal kompozisyon ve bazı antioksidan enzimler üzerine [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx)] etkisini belirlemek amacıyla biri ön deneme olmak üzere iki çalışma yürütülmüştür. Buna göre ön denemede yeme çeşitli

konsantrasyonlarda katılan karayemiş yaprağı ekstraktının alabalıklarda büyüme, yaşama oranı, kanda ve solungaçta antioksidan enzimler bakımından etkileri incelenerek çalışmada kullanılacak olan konsantrasyon tespiti yapılmıştır. Diğer denemede 15, 19 ve 21°C olmak üzere 3 sıcaklık uygulaması ile oksidatif stres oluşturulan juvenil gökkuşuğu alabalığında yeme ilave edilen karayemiş yaprağı ekstraktının büyüme parametreleri, yaşama oranı, biyokimyasal kompozisyon ve karaciğer dokusunda bazı antioksidan enzimler üzerine olan etkileri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Akvaryum sistemi

Araştırmalar, Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yürütülmüştür. Çalışmanın yürütülmesi amacıyla 18 adet akvaryum ve 6 adet sump filtre sisteminden oluşan kapalı devre sistemler kurulmuştur. Daimi su sirkülasyonu ve sump filtre sisteminde yer alan filtre malzemeleri sayesinde, mekanik, kimyasal ve biyolojik filtrasyon sağlanmıştır. Havalandırma, sump filtre sistemine yerleştirilen iki adet hava taşı vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir.

Yemlerinin hazırlanması ve balıkların beslenmesi

Sinop ili Karakum mevkiinden toplanan karayemiş yaprakları temizlenip tartıldıktan sonra, yapraklardaki nemin daha hızlı uçması için ağız açık etüvde 72 saat süresince 45°C'de kurutularak, öğütücüde toz haline getirilmiştir. 50 gram toz yaprak 1000 ml'lik erlene konulmuş ve üzerine 500 ml metanol ilave edilerek erlenin tamamı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. 24 saat karanlıkta manyetik karıştırıcıda karıştırılan çözelti filtre kağıdıyla (Whatman No.1) süzülerek, metanol rotary evaporatörde 45°C'de vakumla uçurularak ekstrakt hazırlanmıştır (Gökçe vd., 2007).

Denemelerde protein oranı %54 ve yağ oranı %20 olan ticari alabalık yemi kullanılmıştır. Ön denemede ticari alabalık yemi öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir. Elde edilen ekstrakt saf su ile çözündürülerek 1, 5, 10 ve 15 g karayemiş yaprağı ekstraktı/kg yem konsantrasyonlarında yemlere ilave edilmiş, yem tekrar karıştırılmış ve pelet makinesinden geçirilmiştir. Pelet haline getirilen yemler etüve yerleştirilerek 18 saat kurutulmuştur. Ön denemede sözü edilen konsantrasyonlardaki karayemiş yaprağı ekstraktı içeren yemlerle beslenen gruplar sırasıyla; KY1, KY5, KY10 ve KY15 olarak isimlendirilmiş ve KY0 ise kontrol grubunu oluşturarak herhangi bir ekstrakt kullanılmamıştır.

Diğer denemede ise balıkların daha küçük olmasından dolayı ve pelet yöntemiyle daha küçük yem elde edilememesi nedeniyle yemler püskürtme yöntemine göre hazırlanmıştır. Buna göre, elde edilen ekstrakt saf su içerisinde çözündürülerek ticari alabalık yemi üzerine püskürtülmüş (Lee vd., 2012) ve etüvde 18 saat kurutulmuştur. Kurutulan deneme yemleri poşetlenerek +4°C'de muhafaza edilmiştir. Bu işlem her iki

deneme süresince bitki ekstraktının etkinliğinin korunması amacıyla haftalık olarak tekrarlanmıştır.

Balıklar, denemeler süresince 08:00-16:00 saatlerinde, günde iki kez olmak üzere haftanın yedi günü, bütün balıkların yem almasına özen gösterilerek görülebilir doygunluk sınırına ulaşıncaya kadar yemlenmiştir. Balıklar tarafından tüketilen yem her öğünde belirlenerek kayıt altına alınmıştır.

Balık materyali ve deneme düzeni

Denemelerde kullanılan gökkuşuğu alabalıkları özel bir firmadan (Kuzey Su Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti., Bafra, Samsun) temin edilmiştir. Yürütülen her iki deneme için getirilen balıklar, 4000 lt hacimli fibreglas tanka stoklanmıştır. 15 gün süreyle günde iki kere ticari alabalık yemi ile beslenen balıkların ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Ön deneme, üç tekerrürlü beş grup halinde oluşturulmuş ve 15 günde tamamlanmıştır. Ortalama ağırlığı 49.3±0.38 g olan 75 adet gökkuşuğu alabalığı stok tankından rastgele seçilip her bir akvaryuma 5'er adet stoklanmıştır. Ön deneme başında stok tankından 14 adet balığın biyometrik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Deneme süresince ortalama su sıcaklığı 13.86±0.03°C olarak tespit edilmiştir. Deneme sonunda, her bir akvaryumdan 3'er adet balık solungaç örnekleme için alınmış ve tüm balıklar büyüme parametrelerinin ve etteki biyokimyasal kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla örneklendirilmiştir.

Diğer deneme, üç tekerrürlü altı grup halinde planlanmış ve 52 gün süre ile yürütülmüştür. Ortalama ağırlığı 6.05±0.03 g olan 540 adet gökkuşuğu alabalığı rastgele seçilip her bir akvaryuma 30'ar adet stoklanmıştır. Deneme başında stok tankından 10 adet balığın biyometrik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Gökkuşuğu alabalığı için optimum büyüme sıcaklık aralığı 13-17°C olarak bildirilmesinden dolayı (Çelikkale, 1994), denemede kullanılmak üzere, optimum sıcaklık değeri ortalama 15°C, optimum üstü sıcaklık derecesi ise 19°C olarak seçilmiştir. Balıkların sıcaklık stresine girip aynı zamanda halen yem tüketebilmesini sağlamak amacıyla 21°C yüksek sıcaklık olarak belirlenmiştir (Boyd ve Tucker, 1998). Su sıcaklığı 15, 19 ve 21°C'ye ayarlanan 6 gruptan 3 tanesi karayemiş yaprağı ekstraktı ilaveli yemle beslenirken (D15, D19, D21) diğer 3 grup karayemiş yaprağı ekstraktı ilavesi yapılmamış ticari yemle (C15, C19, C21) beslenmiş ve kontrol grupları olarak nitelendirilmiştir. Deneme süresince su sıcaklığı ve çözünmüş oksijen günde 2 kez, pH haftada 1 kez ölçülmüştür. Deneme sonunda, ortalama su sıcaklığı, çözünmüş oksijen ve pH sırasıyla C15, C19 ve C21 grupları için 14.70, 19.02 ve 21.14°C; 8.21, 7.78 ve 7.30 mgL⁻¹; 8.18, 8.18 ve 8.11, D15, D19 ve D21 grupları için 14.88, 19.05 ve 21.22°C; 8.20, 7.66 ve 7.32 mgL⁻¹; 8.22, 8.30 ve 8.30 olarak belirlenmiştir. Deneme, büyüme parametreleri ve biyokimyasal kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla tüm balıkların örnekleme yapılarak sonlandırılmıştır.

Kan örneklerinin alınması

Ön denemede ilk kan alımı, balıkların deneme yemleriyle beslenmeye başlanmasından 4 gün sonra gerçekleştirilmiştir.

Her akvaryumdan rastgele 1 balık seçilerek 30 mg/L konsantrasyonda karanfil yağı içeren suda bayılmaları sağlanmıştır (Metin vd., 2015). Beş ml'lik enjektör kullanılarak kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan santrifüj tüpüne aktararak 25°C'de 30 dakika boyunca pıhtılaşması için bekletilmiştir. Bu süre sonunda kan örnekleri 15 dakika boyunca 4 °C'de 2000 x g devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımda ortaya çıkan sarı faz otomatik pipet yardımıyla alınmıştır. Serum örnekleri ependorf tüplerine konularak analize kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Ön denemede kandan elde edilen serum miktarının, her üç antioksidan enzim analizini (SOD, CAT, GPx) gerçekleştirmek için yeterli olmaması nedeniyle, yalnızca SOD ve CAT enzim analizleri gerçekleştirilmiştir. Kan örnekleme yalnızca ön denemede gerçekleştirilmiştir.

Doku örneklerinin alınması

Antioksidan enzim analizlerinin gerçekleştirilmesi amacıyla, ön denemede solungaç dokusu örnekleme gerçekleştirilmiş olup sonrasında incelenen literatür ışığında, yapılan diğer denemede karaciğer dokusu örnekleme yapılmıştır.

Denemede ilk doku örnekleme, su sıcaklıklarının, planlanan deneme sıcaklığına ulaşması sonrasında gerçekleştirilmiştir. İlk örneklemede her akvaryumdan rastgele 3 balık, 30 mg/L konsantrasyonda karanfil yağı ile bayılmıştır (Metin vd., 2015). Her bireyin boy ve ağırlık ölçümü yapılmıştır. Balıkların karaciğer dokusu kesilerek çıkarılmış ve -80 °C'lik dondurucuda muhafaza edilmiştir. 15, 30 ve 45. gün örnekleme de aynı şekilde gerçekleştirilmiş olup her akvaryumdan 5'er adet balık örnekleme karaciğeri alınmıştır.

Biyokimyasal analizler

Besin madde bileşenleri analizi (Nem, ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK) için homojenizatörde homojen hale getirilen balık etleri, analizler yapılmaya kadar -80° C'de saklanmıştır. Analizler (AOAC, 1995) standart metoda göre yapılmıştır. Enzim analizleri yapılmak üzere alınan örnekler kuru buz ile (-80 °C) özel bir laboratuvara (Bilim Sağ. ve Lab. Hiz. Tic. Ltd. Şti., İstanbul) gönderilmiştir.

Verilerin hesaplanması

Denemeden elde edilen veriler, aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

CAA (Canlı Ağırlık Artışı, g)= Deneme sonu vücut ağırlığı (g) – Deneme başı vücut ağırlığı (g)

SBO (Spesifik Büyüme Oranı, %)= $\frac{\ln(\text{Deneme sonu ağırlık (g)}) - \ln(\text{Deneme başı ağırlık (g)})}{\text{Deneme süresi}} \times 100$

OBO (Oransal Büyüme Oranı, %)= $\frac{[\text{Deneme sonu ağırlık (g)} - \text{Deneme başı ağırlık (g)}]}{\text{Deneme başı ağırlık (g)}} \times 100$

YO (Yaşama Oranı, %)= $\frac{\text{Deneme sonu canlı balık sayısı}}{\text{Deneme başı balık sayısı}} \times 100$

YDS (Yem değerlendirme sayısı)= $\frac{\text{Tüketilen yem miktarı (g)}}{\text{Toplam canlı ağırlık artışı (g)}}$

İstatistiksel değerlendirme

Her iki denemede gruplardan elde edilen verilerin normaliteleri Shapiro-Wilk normalite testi ile grupların varyans eşitliği ise Levene's testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA, $p<0.05$) ile değerlendirilmiştir. Grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında örneklemelerin eşit olması durumunda Tukey, örneklemelerin eşit olmaması durumunda ise Dunnett Post hoc test istatistiği kullanılmıştır. Normalite ve grupların varyans eşitliğinin sağlanmadığı verilerde non-

parametrik test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Yüzde olarak verilen verilerde arcsin transformasyonu yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde SPSS-21 paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Ön çalışmaya ait bulgular

Denemede CAA, en yüksek KY15 grubunda 15.73 ± 0.81 g olarak tespit edilmişken, bu değeri 13.88 ± 2.36 ile KY1 grubu izlemiş, ancak iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Ön çalışmaya ait büyüme parametrelerine ilişkin bulgular
Table 1. Growth parameters of the preliminary study

	KY0	KY1 (1g/kg)	KY5 (5 g/kg)	KY10 (10 g/kg)	KY15 (15 g/kg)
Deneme başı	49.20±0.20	49.20±0.12	49.47±0.07	49.60±0.23	49.27±0.18
Deneme sonu	57.04±1.71 ^a	63.08±2.32 ^{ab}	61.14±1.47 ^{ab}	59.22±0.99 ^{ab}	64.99±0.96 ^b
CAA	8.04±1.71 ^a	13.88±2.36 ^{ab}	11.64±1.37 ^{ab}	9.62±1.20 ^{ab}	15.73±0.81 ^b
YO (%)	93.33±6.67 ^a	93.33±6.67 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a	100.00±0.0 ^a
SBO (%)	0.76±0.15 ^a	1.24±0.19 ^{ab}	1.05±0.11 ^{ab}	0.88±0.11 ^{ab}	1.38±0.06 ^b
OBO (%)	16.42±3.49 ^a	28.22±4.83 ^{ab}	23.51±2.72 ^{ab}	19.42±2.49 ^{ab}	31.91±1.55 ^b
KF	1.10±0.06 ^a	1.16±0.03 ^a	1.13±0.01 ^a	1.07±0.02 ^a	1.12±0.01 ^a

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı satırda farklı üssel harflerle (a, b, c) ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

En düşük canlı ağırlık artışı 8.04 ± 1.71 g ile KY0 grubunda belirlenmiştir. Deneme süresince yalnızca KY0 ve KY1 gruplarında ölüm gerçekleşmiştir, ancak YO bakımından gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Deneme sonunda en yüksek SBO değeri KY15 grubunda (1.38 ± 0.06) tespit edilmiş ve KY0 grubu ile KY15 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Deneme sonunda en yüksek OBO değeri KY15 grubunda (31.91 ± 1.55), en düşük değer ise KY0 grubunda (16.42 ± 3.49) tespit edilmiştir ve bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Ön denemede 15. gün örneklenen kan serumundaki SOD miktarı incelendiğinde ise en yüksek değer 6.22 ± 0.32 U/ml ile KY5 grubunda, en düşük değer ise 5.14 ± 0.74 U/ml ile KY0 grubunda tespit edilmiştir. SOD miktarı bakımından gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). 15. gün alınan kanda SOD değeri 4. güne oranla tüm gruplarda artış göstermiştir (Tablo 2).

15. gün örneklenen solungaçtaki SOD miktarında en yüksek değer 1.12 ± 0.14 U/ml ile KY5 grubunda, en düşük değer ise 0.39 ± 0.08 U/ml ile KY10 grubunda tespit edilmiş olup, KY1 ve KY10 grupları ile KY0 ve KY5 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Solungaç dokusundaki CAT miktarında en yüksek değer KY1 (35.91 ± 1.22 mol/min/ml), en düşük değer ise KY10 (24.58 ± 3.51 mol/min/ml) gruplarında tespit edilmiştir. GPx miktarında en yüksek değer 38.48 ± 3.68 nmol/min/ml ile KY1,

en düşük değer ise 33.39 ± 0.79 nmol/min/ml ile KY10 gruplarında tespit edilmiş olup, KY1 ve KY10 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Ön deneme sonucunda yeme katılan karayemiş yaprağı ekstraktının gökkuşacağı alabalığı üzerinde herhangi bir toksik etkiye sebep olmadığı tespit edilmiştir. En yüksek canlı ağırlık artışı KY15 gruplarında belirlenmiştir. Ayrıca KY15 grubunda ölüm meydana gelmemiştir. Ön denem sonucunda elde edilen verilere dayanılarak gerçekleştirilen bir sonraki denemede, yeme 15 g/kg yem oranında karayemiş yaprağı ekstraktı ilavesi yapılması uygun görülmüştür.

Denemeye ilişkin bulgular

Deneme sonunda ortalama canlı ağırlık değeri en yüksek 24.79 ± 0.85 g ile C15 grubunda, en düşük değer ise 12.81 ± 0.62 g ile C21 grubunda tespit edilmiştir (Tablo 3). Deneme sonu ortalama canlı ağırlıklar bakımından C15 ve C21 grupları ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). YO ise 96.67 ± 0.00 ile en yüksek C15 grubunda belirlenmiştir. Deneme sonunda en yüksek yem tüketimi 290.55 ± 8.67 g ile C15 grubunda tespit edilmiş, buna paralel olarak en iyi YDS de C15 grubunda belirlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4).

Balık etindeki ham protein ve ham yağ oranlarının, deneme başı hariç, deneme grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Tablo 5). SOD, CAT ve GPx enzim miktarları deneme başında (0.gün), 15, 30 ve 45.

günlerde örneklenen karaciğer dokusunda tespit edilmiş ve sonra ölüm gözlemlendiği için bu gruplar için veri elde edilememiştir. C19 ve C21 gruplarında 15. günden

Tablo 2. Ön çalışma sonucunda kandaki süperoksit dismutaz enzimi (SOD, U/ml) ve katalaz enzimi miktarları (CAT, nmol/min/ml), solungaçtaki süperoksit dismutaz enzimi (SOD, U/ml), katalaz enzimi (CAT, nmol/min/ml) ve glutatyon peroksidaz enzimi miktarları (GPx, nmol/min/ml) **Table 2.** Superoxide dismutase enzyme (SOD, U/ml) and catalase enzyme amounts (CAT, nmol/min/ml) in the blood, superoxide dismutase enzyme (SOD, U/ml), catalase enzyme (CAT, nmol/min/ml) and glutathione peroxidase enzymes amounts (GPx, nmol/min/ml) in the gills in the preliminary study

	4.gün (Kan)		15. gün (Kan)		15.gün (Solungaç)		
	SOD (U/ml)	CAT (nmol/min/ml)	SOD (U/ml)	CAT (nmol/min/ml)	SOD (U/ml)	CAT (nmol/min/ml)	GPx (nmol/min/ml)
KY0	4.92±0.97 ^{ab}	284.94±33.82 ^a	5.14±0.74 ^a	242.62±28.15 ^a	0.89±0.12 ^b	27.04±2.12 ^{ac}	35.37±1.63 ^{ab}
KY1	5.72±0.50 ^b	234.06±11.47 ^a	6.02±0.51 ^a	208.87±10.73 ^a	0.42±0.03 ^a	35.91±1.22 ^b	38.48±3.68 ^b
KY5	5.67±1.32 ^{ab}	234.61±30.78 ^a	6.22±0.32 ^a	203.07±7.00 ^a	1.12±0.14 ^b	32.03±3.80 ^{bc}	34.52±1.48 ^{ab}
KY10	3.56±0.57 ^a	245.39±27.97 ^a	6.19±1.57 ^a	243.05±15.42 ^a	0.39±0.08 ^a	24.58±3.51 ^{bc}	33.39±0.79 ^a
KY15	3.55±0.62 ^a	231.35±25.70 ^a	5.56±0.80 ^a	257.31±14.88 ^a	0.74±0.11 ^{ab}	25.01±1.32 ^a	35.23±3.77 ^{ab}

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı sütunda farklı üssel harflerle (a, b, c) ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05). SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutatyon peroksidaz

Tablo 3. Denemeye ait büyüme parametrelerine ilişkin bulgular **Table 3.** Growth parameters of the experiment

Deneme Grupları	Canlı Ağırlık (g)		CAA (g)	SBO (%)	OBO (%)	YO (%)
	Deneme Başı	Deneme Sonu				
C15	6.05±0.00	24.79±0.85 ^d	18.74±0.85 ^d	3.06±0.07 ^c	309.65±13.94 ^c	96.67±0.00 ^d
D15	6.05±0.00	18.83±1.04 ^{bc}	12.78±1.04 ^{bc}	2.46±0.12 ^b	211.20±17.18 ^{bc}	91.11±2.22 ^c
C19	6.05±0.00	17.37±0.22 ^b	11.32±0.22 ^b	2.24±0.03 ^b	187.071±3.68 ^b	74.44±2.94 ^b
D19	6.05±0.00	15.61±1.35 ^{bc}	9.56±1.35 ^{bc}	2.00±0.18 ^{ab}	157.95±22.34 ^{ab}	73.33±1.93 ^b
C21	6.05±0.00	12.81±0.62 ^a	6.76±0.62 ^a	1.47±0.09 ^a	111.63±10.26 ^a	75.56±7.78 ^{ab}
D21	6.05±0.00	19.23±1.27 ^c	13.17±1.27 ^c	2.26±0.13 ^b	217.62±21.00 ^{bc}	65.56±1.11 ^a

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı sütunda farklı üssel harflerle ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 4. Denemeye ait yem tüketimi (g) ve yem değerlendirme sayısına (YDS) ilişkin bulgular **Table 4.** Feed consumption (g) and Feed Conversion Rate (FCR) of the experiment

Deneme Grupları	Yem Tüketimi (g)	YDS
C15	290.55±8.67 ^c	0.77±0.02 ^a
D15	201.26±7.08 ^b	0.90±0.05 ^{bc}
C19	205.85±8.11 ^b	0.93±0.01 ^b
D19	136.90±10.38 ^a	1.02±0.02 ^{cd}
C21	141.89±21.55 ^a	1.18±0.04 ^e
D21	140.14±7.89 ^a	1.11±0.03 ^{de}

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı sütunda farklı üssel harflerle (a, b, c, d, e) ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 5. Denemeye ait balık etinin biyokimyasal kompozisyonu **Table 5.** Biochemical composition of fish meat of the experiment

Grup	Ham Protein	Ham yağ	Ham kül	Nem
Deneme Başı	16.31±0.03 ^a	3.64±0.09 ^a	1.58±0.06 ^a	76.49±0.12 ^b
C15	19.26±0.22 ^b	4.24±0.09 ^a	1.90±0.07 ^b	76.46±0.14 ^b
D15	19.23±0.26 ^b	4.00±0.13 ^a	1.99±0.47 ^{abd}	76.09±0.41 ^{bc}
C19	18.47±0.12 ^b	4.82±0.48 ^a	2.00±0.23 ^{ab}	74.57±0.44 ^a
D19	18.76±0.13 ^b	4.59±0.39 ^a	2.14±0.25 ^{bc}	74.54±0.06 ^a
C21	19.17±0.31 ^b	3.59±0.30 ^a	2.81±0.03 ^d	74.04±0.91 ^{ac}
D21	18.38±0.16 ^b	3.69±0.26 ^a	2.59±0.11 ^{cd}	74.17±0.31 ^a

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı sütun farklı üssel harflerle (a, b, c, d) ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tablo 6. Deneme gruplarının süperoksit dismutaz enzim miktarı (U/ml), katalaz enzim miktarı (CAT, nmol/min/ml) ve glutatyon peroksidaz enzim miktarının (GPx, nmol/min/ml) örnekleme günü ve gruplara göre değişimi**Table 6.** The change of superoxide dismutase (U/ml), catalase (CAT, nmol/min/ml) and glutathione peroxidase enzymes (GPx, nmol/min/ml) amount by sampling day and the groups in the experiment

SOD	Örnekleme günleri			
	0.gün	15.gün	30.gün	45.gün
C15	0.65±0.10abBC	0.65±0.01bB	0.69±0.02abB	0.56±0.04aA
D15	0.42±0.02aA	0.67±0.07aAB	0.55±0.06aB	0.69±0.10aA
C19	0.56±0.02aB	0.72±0.03bB	-	-
D19	0.65±0.04bBC	0.72±0.07bB	0.34±0.05aA	0.53±0.01abA
C21	0.57±0.06aC	0.67±0.02bB	-	-
D21	0.59±0.07bcBC	0.58±0.01cA	0.31±0.05aA	0.52±0.00bA
CAT				
C15	22.16±1.14aA	33.14±6.09bA	26.66±2.45abA	28.52±0.61bA
D15	29.00±2.76aA	27.72±2.82aA	35.21±0.98bA	27.87±2.82aA
C19	27.01±3.60aA	26.89±2.84aA	-	-
D19	39.53±2.18bA	27.29±2.92aA	29.03±1.97aA	29.98±0.58aA
C21	29.72±3.38bA	23.91±2.54aA	-	-
D21	32.71±1.94aA	26.20±0.53aA	30.04±3.15aA	28.66±1.64aA
GPx				
C15	34.01±2.02aA	31.67±3.22aA	33.12±0.99aA	32.00±0.80aA
D15	30.94±0.45aA	31.10±1.03aA	35.15±1.36aA	27.11±0.84aA
C19	32.74±0.48aA	30.97±1.31aA	-	-
D19	33.11±2.16aA	31.13±0.59aA	32.66±0.75aA	30.29±1.81aA
C21	31.09±0.40bA	29.68±1.42aA	-	-
D21	31.76±0.79aA	30.02±2.02aA	30.62±0.94aA	30.31±0.93aA

Her değer ortalama±standart hatayı ifade etmektedir. Aynı satırda farklı üssel (a, b, c) harflerle ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05). Aynı sütunda farklı üssel (A, B, C) harflerle ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05). SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutatyon peroksidaz

TARTIŞMA

Bitkisel katkı maddelerinin su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarında, stresi azaltıcı, büyümede artış ve immün sistemi geliştirici özellikler gösterdiği bildirilmiştir (Lee vd., 2012). Sıcaklık (Hisar vd., 2012), stok yoğunluğu (Şahin vd., 2014), düşük oksijen çözünürlüğü (Keleştemur, 2009) gibi pek çok stres etkeninin varlığında, birçok katkı maddesinin (probiyotikler, yem enzimleri, organik asitler, bitkiler) balık üzerindeki olumlu etkileri bilinmektedir (Roohi vd., 2017). Bununla birlikte bitkiler içeriklerindeki bazı etken maddeler nedeniyle balık üzerinde olumsuz etkilere de sebep olabilir (Sönmez vd., 2015).

Samsun ilinde gökkuşuğu alabalığı yetiştiriciliğinin önemli bir kısmı baraj göllerinde, ağ kafeslerde gerçekleştirilmektedir. Ancak yaz aylarında (temmuz-ağustos) su sıcaklığının yükselmesiyle birlikte, gökkuşuğu alabalığı strese girmekte, hastalık gözlenmekte, yem alımı azalmakta ve yetiştiriciler yoğun balık ölümleriyle karşı karşıya kalmaktadır.

Bu çalışmada, halk arasında yüzyıllardır tıbbi amaçlı olarak kullanılan bir bitki olan karayemiş yaprağı, yüksek antioksidan içeriği (Engin, 2007) ve Karadeniz Bölgesi'nde bol bulunması nedeniyle tercih edilmiştir. Karayemiş yaprağının sıcaklık stresi altındaki gökkuşuğu alabalığında büyüme, yaşama oranı ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, biri ön deneme olmak üzere akvaryum ortamında iki farklı deneme yürütülmüştür.

Ön denemede, farklı konsantrasyonlarda (0, 1, 5, 10, 15 g/kg) yeme katılarak kullanılan karayemiş yaprağı ekstraktının alabalıklar üzerinde toksik etkisi olmadığı ve 15 g/kg yem karayemiş yaprağı ekstraktının en uygun konsantrasyon olduğu belirlenmiştir. Diğer denemede, yeme püskürtülerek kullanılan karayemiş yaprağı ekstraktının (15 g/kg) farklı sıcaklıklarda (15, 19, 21°C) alabalıklarda büyüme, yaşama oranı ve antioksidan enzimler üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

YO bakımından elde edilen sonuçlar incelendiğinde C15 (%96.67±0.00) ve D15 (%91.11±2.22) grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir (p<0.05). Sönmez vd. (2015)'nin gökkuşuğu alabalığında nane yağının büyüme ve YO'ya etkilerini inceledikleri çalışmaları sonucunda, nane yağının YO'yu önemli oranda azalttığı bildirilmiştir. Karayemiş yapraklarının, siyanojenik glikozit adı verilen prunasin ve amigdalin maddelerini içerdiği bildirilmiştir. Bu maddeler, bileşimlerinde bulunan siyanürü hidrosiyanik asit (HCN) olarak açığa çıkarmaktadır (Dursun, 2010). HCN kandaki oksijeni dokulara taşıyan enzimleri engellemektedir (Anonim, 2017). Karayemiş yaprağı yiyen koyun ve sığırlarda ani ölümler meydana geldiği bildirilmiştir (Long, 1924).

Denemede sıcaklık stresi altında bulunan C19 ve C21 gruplarındaki tüm bireylerde ölüm gözlenmiştir. Bununla birlikte karayemiş yaprağı ekstraktı ilaveli yemle beslenmiş olan D19 (73.33±1.93) ve D21 (65.56±1.11) grupları ise bu durumu daha iyi tolere etmişlerdir. Buna göre, karayemiş yaprağı ekstraktının D19 ve D21 gruplarında direnci ve dolayısıyla YO'yu arttırdığı

söylenbilir. Liu vd. (2012)'nin önce yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılmış, sonrasında *Aeromonas hydrophila* enjekte edilmiş olan *Megalobrama amblycephala* fingerlinglerinde yürüttükleri çalışmaları sonucunda, ravent ekstraktı ilaveli yemlerle beslenen gruplarda YO'nun kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Nya ve Austin (2009)'nin yeme ilave edilen zencefilin, *A. hydrophila* patojenine karşı gökkuşuğu alabalığında hastalık direncini inceledikleri çalışmaları sonucunda, zencefil ilaveli yemle beslenen grupta YO'nun önemli oranda artış gösterdiği bildirilmiştir. Park ve Choi (2012)'nin Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) fingerlinglerinde yeme ilave edilen ökseotunun, *A. hydrophila* patojenine karşı hastalık direncini inceledikleri çalışma sonucunda ökse otu ilaveli yemle beslenen gruplarda YO'da önemli oranda artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Denemenin YO bakımından bulguları, Liu vd. (2012), Nya ve Austin (2009) ve Park ve Choi (2012)'nin çalışmalarında elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir.

Ön denemede en yüksek SBO değerinin, KY15 grubunda tespit edilmesi, karayemiş ekstraktının büyümeyi olumlu yönde etkilediğini gösterebilir. Shalaby vd. (2006)'nin Nil tilapyasında yeme çeşitli konsantrasyonlarda (0, 10, 20, 30,40 g/kg yem) sarımsak ilavesinin büyüme performansı, biyokimyasal kompozisyon ve YO üzerine etkilerini inceledikleri, 90 gün süren çalışmalarında, sarımsak ilaveli yemle beslenen grupların SBO değerlerinin kontrol grubuna oranla önemli oranda artış gösterdiği bildirilmiştir. Devakumar ve Chinnasamy (2017)'nin *Cissus quadrangularis* ekstraktının farklı konsantrasyonlarının (0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 g/kg yem) Asya deniz levreğinde (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) büyüme performansı ve hastalık direnci üzerine yaptıkları 60 gün süreli çalışmalarında, SBO'nun deneme gruplarında kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Mevcut çalışmamızda elde edilen bulgular, Shalaby vd. (2006) ve Devakumar ve Chinnasamy (2017)'nin çalışmalarından elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Ön çalışma 15 gün gibi kısa bir sürede tamamlanmıştır. Karayemiş ekstraktı ilavesinin uzun süreli kullanımının SBO'ya olan etkisi diğer denemede ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Elli iki gün süren diğer denemede SBO bakımından, D15 grubunda C15'e oranla azalma gözlenmiştir. Gabriel vd. (2015)'nin Nil tilapyası üzerinde 5 farklı konsantrasyonda (0, 0.5, 1, 2, 4 g/100 g yem) yeme ilave edilen *Aloe vera* bitkisinin *Streptococcus iniae* patojenine karşı direnç ve büyümeye etkisini inceledikleri çalışmaları sonucunda, 0.5, 1 ve 2 g/100 g *Aloe vera* ilaveli yemle beslenen grupların SBO'larının, kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu ancak *Aloe vera*'nın 4 g/100 g konsantrasyonunda kullanıldığı grupta SBO'nun diğer deneme gruplarına oranla azaldığı bildirilmiştir. Gabriel vd. (2015)'nin bulgularına benzer olarak, SBO'nun en yüksek konsantrasyon grubunda azalması, eklenen bitkinin miktarındaki artışın büyümede gerilemeye yol açabileceği sonucunu verebilir. Ayrıca, tıbbi bitkilerde bulunan saponin ve tanen gibi biyoaktif bileşenler, özellikle yüksek konsantrasyonlarda hayvanlar için toksik etki göstermektedir.

Bu bileşenler yeme acı bir tat vererek yem alma isteğini azaltır ve sonuç olarak büyüme negatif olarak etkilenir (Gabriel vd., 2015). Karayemiş yapraklarının da yüksek miktarda tanen içerdiği bildirilmiştir (Robinson, 1929). Bu durum, mevcut çalışmada SBO'nun D15 grubunda azalmasını açıklayabilir.

Deneme YDS bakımından incelendiğinde, C15 (0.77±0.02) ve D15 (0.90±0.05) grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Sönmez vd. (2015)'nin juvenil gökkuşuğu alabalığında 500, 1000 ve 1500 mg/kg yem konsantrasyonunda yeme katılan adaçayı, nane ve bahçe kekiği yağlarının antioksidan enzimler ve büyüme parametreleri üzerine etkilerini inceledikleri 60 gün süreli çalışmaları sonucunda, kontrol gruplarında YDS 0.94±0.02 olarak tespit edilmiş olup, adaçayı ve bahçe kekiği yağlarının YDS'yi azalttığı bildirilmiştir. Ancak nane yağı ilaveli yemlerle beslenen gruplarda YDS'nin kontrol ve diğer gruplara göre önemli oranda arttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte mevcut çalışmamızda D15 grubunda elde edilen YDS'nin, Sönmez vd. (2015)'nin çalışmalarında, kontrol grubunda elde edilen YDS'den daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak YDS'nin D15'te C15'e oranla yüksek bulunması, karayemiş yaprağı ekstraktının yem değerlendirmeyi negatif olarak etkilediğini gösterebilir. Abdel-Tawwab (2010)'in çeşitli konsantrasyonlarda (0, 0.125, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 g/kg yem) yeme ilave edilen yeşil çay bitkisinin Nil tilapyasında, *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı direnç ve büyüme üzerine etkisini inceledikleri çalışmaları sonucunda, yalnızca 0.50 g/kg konsantrasyonunda YDS'de azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca Sivaram vd. (2004)'nin çeşitli konsantrasyonlarda (100, 200, 400, 800 mg/kg yem) yeme ilave edilen kutsal fesleğen (*Ocimum sanctum*), mor salkım (*Withania somnifera*) ve Hindistan cevizi (*Myristica fragrans*) bitkilerinin lahozda (*Epinephelus tauvina*), *Vibrio harveyi* enfeksiyonuna karşı direnç ve büyümeye olan etkisini inceledikleri çalışmaları sonucunda, 100 ve 200 mg/kg yem kutsal fesleğen ve 100, 200, 400 mg/kg yem mor salkım ilaveli yemle beslenen gruplarda YDS'nin kontrol grubuna oranla yüksek olduğu bildirilmiştir. Abdel-Tawwab vd. (2010) ve Sivaram vd. (2004)'nin çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre, YDS'nin bitkinin konsantrasyonuna bağlı olabileceği ve karayemiş bitkisi için de optimum bir konsantrasyon belirlenmesi gerektiği söylenebilir.

YDS bakımından, 19°C ve 21°C gruplarında istatistiksel olarak fark gözlenmemiş ancak sıcaklık yükseldikçe YDS artış göstermiştir (15°C <19°C <21°C). Pitaksong vd. (2012)'nin termal ve asidik stres altındaki hibrid kanal balığında C ve E vitaminlerinin büyüme üzerine etkilerini inceledikleri çalışmaları sonucunda, antioksidan özelliğe sahip bu vitaminlerin ilave edildiği yemlerle beslenen gruplarda, YDS bakımından önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir ($p>0.05$). Mevcut çalışmamızda elde edilen bulgular bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) vücuttaki radikalleri süpürerek canlılığın enzimatik antioksidatif savunmasına katkıda bulunurlar (Nakano vd., 2014). Eğer organizma antioksidan savunma sistemini hızlı bir şekilde

harekete geçiremiyorsa bu durum balığın sağlığının bozulmasına sebep olabilir. Türlerle göre balıkların sıcak ya da soğuk suya maruz kalmaları yüksek miktarda antioksidan ihtiyacını beraberinde getirir. Birçok bilimsel çalışma sonucunda termal stres oluşturulan balıklarda, yeme ilave edilen antioksidan maddelerin oksidatif hasarı azalttığı bildirilmiştir (Beaulieu vd., 2014). Araştırmada incelenen antioksidan enzimler gerek ön denemede gerekse denemede açık ve net bir artış ya da azalış eğilimi göstermemiştir. Ancak ön çalışma sonucunda SOD, CAT ve GPx aktivitesine baktığımızda en yüksek değerlerin karayemiş ekstraktının kullanıldığı yemlerle beslenen gruplarda gözlemlendiğini söyleyebiliriz. Deneme gruplarına baktığımızda ise 15°C'de 45. günde SOD aktivitesinin, 19 ve 21°C'de 15. günde ve 15°C'de 30. günde GPx aktivitesinin kendi kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Yine kontrol grupları olan C19 ve C21 gruplarında 15. günden sonra ölüm gözlenmesine rağmen aynı sıcaklık değerlerinde bulunan deneme gruplarında (D15 ve D21) ölüm gözlenmemesi, karayemiş ekstraktının gerek sıcaklık gerekse akvaryum koşullarının oluşturduğu stres altındaki gökkuşaağı alabalıklarının oksidatif stresten koruduğunu gösterebilir.

Mevcut çalışmaya benzer şekilde, antioksidan enzim aktivitelerinde görülen bu artma, azalma ya da herhangi bir değişim göstermeme eğilimi diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir. Lygren vd. (2000)'nin hiperoksi stresi altındaki Atlantik somonu (*Salmo salar*) smoltlarında yeme çeşitli konsantrasyonlarda (0.04, 0.3, 1.1 g/kg yem) ilave edilen all-rac- α -tokoferil asetatın SOD, CAT ve GPx enzimleri üzerine etkilerini inceledikleri 12 hafta süren çalışmaları sonucunda, bu maddenin bu koşullar altında antioksidan enzimlere herhangi bir etkisinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca El-Gawad vd. (2016)'nin farklı konsantrasyonlarda (%0, 1, 2 ve 3)

fruktooligosakkarit (bazı bitkilerde doğal olarak bulunan bir karbonhidrat) ilaveli yemlerle beslenen Nil tilapularında antioksidan enzim aktivitelerini inceledikleri 6 hafta süren çalışmaları sonucunda, SOD aktivitesinin azaldığı, CAT aktivitesinde değişim gözlenmediği ve GPx aktivitesinde azalma gözlemlendiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, Metwally (2009)'nin Nil tilapularında yeme ilave edilen sarımsağın antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisini inceledikleri çalışma sonucunda SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin kontrol grubuna oranla önemli miktarda artış gösterdiği bildirilmiştir.

Antioksidan enzim aktiviteleri açısından elde ettiğimiz bu sonuçlar dikkate alındığında, ilerde yapılacak daha detaylı çalışmalar ile yemlere ilave edilebilen karayemiş ekstraktının, stres altında olan yalnızca gökkuşaağı alabalığı değil diğer farklı türlerde de antioksidan etkileri değerlendirilebilir. Aynı şekilde, çeşitli konsantrasyonlarda yeme katılan karayemiş yaprağı ekstraktının, ticari yetiştiricilik ortamında daha yüksek stok yoğunluğuna sahip ağ kafeslerde gökkuşaağı alabalığının yaşama oranı, büyüme performansı ve antioksidan enzimler üzerine etkileri araştırılabilir. Böylece, yaz aylarında yükselen su sıcaklığıyla birlikte, yüksek stok yoğunluğunun ikinci bir stres etkeni olduğu yetiştiricilik ortamında, karayemiş yaprağı ekstraktının kullanılabilirliği değerlendirilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Ayşe PARLAK AKYÜZ'ün Doktora Tezinden üretilmiş olup, Sinop Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü (BAP) tarafından SÜF-1901-14-03 proje numarası ile desteklenmiştir. Denemelerde kullanılan balıkların temininde Kuzey Su Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti. sahibi Osman PARLAK ve enzim analizlerini yapan Bilim Sağ. ve Lab. Hiz. Tic. Ltd. Şti.'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

- Abdel-Tawwab, M.A. (2010). Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(2), 203-213. DOI: [10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x)
- Anonim, (2017). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015796.pdf (Erişim tarihi: 15.05.2017)
- AOAC, (1995). Animal Feed. W. Horwitz (Ed.). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists, 13th Edition 7:125. USA
- Beaulieu, M., Haas, A. & Schaefer, H.M. (2014). Self-supplementation and effects of dietary antioxidants during acute thermal stress. *The Journal of Experimental Biology*, 217, 370-375. DOI: [10.1242/jeb.092825](https://doi.org/10.1242/jeb.092825)
- Boyd, C.E. & Tucker, C.S. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Springer Science+Business Media New York, 699s.
- Coutant, C. (1976). *Thermal effects on fish ecology*. In: Encyclopedia of Environmental Science and Engineering. NY: Gordon and Breach Publishers. 1976, 891-896.
- Çelikkale, M.S. (1994). *İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği*. Cilt 1, 2. Baskı. Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi, Trabzon.
- Demir, S., Turan, İ., Demir, F., Ayazoğlu Demir, E. & Aliyazıcıoğlu, A. (2017). Cytotoxic effect of *Laurocerasus officinalis* extract on human cancer cell lines. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 121-126. DOI: [10.12991/manupj.259889](https://doi.org/10.12991/manupj.259889)
- Devakumar, C. & Chinnasamy, A. (2017). Dietary administration of natural immunostimulants on growth performance, haematological, biochemical parameters and disease resistance of Asian Sea bass *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Aquaculture Research*, 48, 41131-4145. DOI: [10.1111/are.12955](https://doi.org/10.1111/are.12955)
- Dursun, S. (2010). Karayemişte (*Prunus laurocerasus* L.) siyanür içerikli amigdalin ve prunasın miktarlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu Üniversitesi.
- Ekambaram, P., Narayanan, M. & Jayachandran, T. (2014). Changes in oxidative stress and antioxidant status in stressed fish brain. *International Journal of Science and Research*, 3(5), 164-170.
- El-Gawad, E.A.A., El-Latif, A.M.A. & Shourbela, R.M. (2016). Enhancement of antioxidant activity, non-specific immunity and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* by dietary fructooligosaccharide. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 7, 427. DOI: [10.4172/2155-9546.1000427](https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000427)
- Engin, M.S. (2007). Taflan (*Laurocerasus officinalis* Roem.) bitkisinin meyve, çekirdek ve yapraklarının mevsim değişikliğine göre antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik tayini. Yüksek Lisans Tezi,

- Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Gabor, E.F., Ichim, O. & Şuteu, M. (2012). Phyto-additives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) nutrition. *Bihorean Biologist*, 6 (2), 134-139.
- Gabriel, N.N., Qiang, J., He, J., Ma, X.Y., Kpundeh, M.D. & Xu, P. (2015). Dietary *Aloe vera* supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish & Shellfish Immunology*, 44, 504-514. DOI: [10.1016/j.fsi.2015.03.002](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.002)
- Govind, P., Madhuri, S. & Mandloi, A.K. (2012). Immunostimulant effect of medicinal plants on fish. *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (3), 112-114.
- Göççe, A., Whalon, M.E., Çam, H., Yanar, Y., Demirtaş, İ. & Gören, N. (2007). Contact and residual toxicities of 30 plant extracts to Colorado potato beetle larvae. *Archives Of Phytopathology and Plant Protection*, 40, 441-450. DOI: [10.1080/03235400600628013](https://doi.org/10.1080/03235400600628013)
- Hisar, O., Yanık, T., Kocaman, E.M., Arslan, M., Slukvin, A. & Goncharova, R. (2012). Effects of diludine supplementation on growth performance, liver antioxidant enzyme activities and muscular trace elements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles at low water temperature. *Aquaculture Nutrition*, 18, 211-219. DOI: [10.1111/j.1365-2095.2011.00890.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00890.x)
- Karahalil, F.Y. & Şahin, H. (2011). Phenolic composition and antioxidant capacity of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) sampled from Trabzon region, Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10(72), 16293-9. DOI: [10.5897/AJB11.1929](https://doi.org/10.5897/AJB11.1929)
- Keleştemur, G.T. (2009). Oksijen stresi altındaki gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) yavrularının büyüme, yem değerlendirme ve bazı dokularına "A" ve "E" vitaminlerinin etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 85 s.
- Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F. & Dinçer, B. (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry Laurel) fruit grown in the Black Sea Region. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 7489-7494. DOI: [10.1021/jf0344486](https://doi.org/10.1021/jf0344486)
- Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K. & Kim, J.D. (2012). Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 25(4), 577-583. DOI: [10.5713/ajas.2014.14087](https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14087)
- Liu, B., Xie, J., Ge, X., Xu, P., Miao, L., Zhou, Q., Pan, L. & Chen, R. (2012). Comparison study of the effects of anthraquinone extract and emodin from *Rheum officinale* Bail on the physiological response, disease resistance of *Megalobrama amblycephala* under high temperature stress. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 905-916. DOI: [10.4194/1303-2712-v12_4_18](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v12_4_18)
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F. & Alasalvar, C. (2006). Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, 99, 121-128. DOI: [10.1016/j.foodchem.2005.06.046](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.046)
- Long, H.C. (1924). *Plants Poisonous to Live Stock*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lygren, B., Hamre, K. & Waagbo, R. (2000). Effect of induced hyperoxia on the antioxidant status of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed three different levels of dietary vitamin E. *Aquaculture Research*, 31, 401-407.
- Mehta, S.K. & Gowder, S.J.T. (2015). Members of antioxidant machinery and their functions. IntechOpen. DOI: [10.5772/61884](https://doi.org/10.5772/61884)
- Metin, S., Didinen, B. I., Kubilay, A., Pala, M. & Aker, İ. (2015). Bazı tıbbi bitkilerin gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) üzerinde anestezi etkilerinin belirlenmesi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 1(1), 37-42.
- Metwally, M.A.A. (2009). Effects of garlic (*Allium sativum*) on some antioxidant activities in *Tilapia nilotica*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1, 56-64.
- Nakano, T., Kameda, M., Shoji, Y., Hayashi, S. & Yamaguchi, T. (2014). Effect of severe environmental thermal stress on redox state in salmon. *Redox Biology*, 2, 772-776. DOI: [10.1016/j.redox.2014.05.007](https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.05.007)
- Newman, S.G. (2000). Management and prevention of stress in aquaculture with a focus on farmed shrimp. *Fourth Latin American Aquaculture Congress and Seafood Trade Show*, Oct 25-28, 2000.
- Nya, E.J. & Austin, B. (2009). Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 32(11), 971-9. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2009.01101](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01101)
- Park, K.H. & Choi, S.H. (2012). The effect of mistletoe, *Viscum album coloratum*, extract on innate immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 32, 1016-1021.
- Pitaksong, T., Kupittayanant, P. & Boonanuntanasarn, S. (2012). The effects of vitamins C and E on the growth, tissue accumulation and prophylactic response to thermal and acidic stress of hybrid catfish. *Aquaculture Nutrition*, 19 (2), 148-162. DOI: [10.1111/j.1365-2095.2012.00950.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00950.x)
- Robinson, M.E. (1929). Methods for the determination of the nitrogenous constituents of a cyanoporic plant: *Prunus laurocerasus*. *Biochemical Journal*, 23(5), 1099-1113.
- Roohi, Z., Imanpoor, M.R., Jafari, V. & Taghizadeh, V. (2017). The use of fenugreek seed meal in fish diets: growth performance, haematological and biochemical parameters, survival and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*, 48, 1209-1215. DOI: [10.1111/are.12962](https://doi.org/10.1111/are.12962)
- 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.*, 12(2), 172-201.
- Sivaram, V., Babu, M.M., Immanuel, G., Murugadas, S., Citarasu, T. & Marian, M.P. (2004). Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture*, 237, 9-20. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2004.03.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.014)
- Sönmez, A.Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T. & Biswas, G. (2015). Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish. Physiol. Biochem.*, 41, 165-175.
- Şahin, K., Yazlak, H., Orhan, C., Tuzcu, M., Akdemir, F. & Şahin, N. (2014). The effect of lycopene on antioxidant status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under high stocking density. *Aquaculture*, 418-419, 132-138. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2013.10.009](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.009)