

SU ÜRÜNLERİ

YETİŞTİRİCİLİĞİ VE HASTALIKLAR ALANINDA GÜNCEL ARAŞTIRMALAR

EDİTÖRLER
ARGUN AKİF ÖZAK
OĞUZ TAŞBOZAN

YAZARLAR
ALPER YANAR
ARGUN AKİF ÖZAK
CELAL ERBAŞ
FİLİZ ÖZCAN
İBRAHİM HALİL KENGER
MEHMET TAHİR HÜSUNET
OĞUZ TAŞBOZAN
SEVKAN ÖZÜTOK
SEYİT ALİ KAMANLI
ŞEFİK SURHAN TABAKOĞLU

Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • C. Cansın Selin Temana

Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Serüven Yayınevi

Birinci Basım / First Edition • © Aralık 2023

ISBN • 978-625-6760-47-9

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Serüven Yayınevi'ne aittir.

Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz. The right to publish this book belongs to Serüven Publishing.

Citation can not be shown without the source, reproduced in any way without permission.

Serüven Yayınevi / Serüven Publishing

Türkiye Adres / Turkey Address: Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak Ümit

Apt No: 22/A Çankaya/ANKARA

Telefon / Phone: 05437675765

web: www.seruvenyayinevi.com

e-mail: seruvenyayinevi@gmail.com

Baskı & Cilt / Printing & Volume

Sertifika / Certificate No: 47083

SU ÜRÜNLERİ

YETİŞTİRİCİLİĞİ VE HASTALIKLAR ALANINDA GÜNCEL ARAŞTIRMALAR

EDİTÖRLER

ARGUN AKİF ÖZAK
OĞUZ TAŞBOZAN

YAZARLAR

ALPER YANAR
ARGUN AKİF ÖZAK
CELAL ERBAŞ
FİLİZ ÖZCAN
İBRAHİM HALİL KENGER
MEHMET TAHİR HÜSUNET
OĞUZ TAŞBOZAN
SEVKAN ÖZÜTOK
SEYİT ALİ KAMANLI
ŞEFİK SURHAN TABAKOĞLU

İÇİNDEKİLER

Bölüm 1

TATLI SU BALIKLARINDA HERPES VİRÜS TEHDİDİ

Alper YANAR, Seyit Ali KAMANLI, Argun Akif ÖZAK.....1

Bölüm 2

BALIK BESLEMEDE PROPOLİS KULLANIMI

Oğuz TAŞBOZAN.....19

Bölüm 3

BALIKLARDA GÖRÜLEN PARAZİTİK HASTALIKLARIN TEŞHİSİNDE LAZER TARAMALI KONFOKAL MİKROSKOP (LTKM) KULLANIMI

Seyit Ali KAMANLI.....33

Bölüm 4

BALIK HASTALIKLARINDA ÖN İNCELEMELER

Filiz ÖZCAN49

Bölüm 5

BALIKLARDA SPERM KALİTESİNİN BELİRLENMESİ

Şefik Surhan TABAKOĞLU57

Bölüm 6

BALIK BESLEMEDE BİTKİSEL YAĞ VE EKSTRAKTLARININ KULLANIMI VE ETKİ MEKANİZMASI

Celal ERBAŞ.....69

Bölüm 7

BALIKLARDA GEN MODİFİKASYONLARI

Mehmet Tahir HÜSUNET, İbrahim Halil KENGER, Celal ERBAŞ87

Bölüm 8

SUCUL MİKROORGANİZMALARDA BİYOFİLM OLUŞUM MEKANİZMASI

Sevkan ÖZÜTOK.....95

Bölüm 1

TATLI SU BALIKLARINDA HERPES VİRÜS TEHDİDİ

Alper YANAR¹, Seyit Ali KAMANLI², Argun Akif ÖZAK³

1 İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Deniz Bilimleri Bölümü, Deniz Bilimleri ABD, İskenderun, Hatay-Türkiye

2 Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji ABD, Burdur-Türkiye

3 Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, Sarıçam-Adana, Türkiye

Giriş

Ülkemiz iç sularında avcılığı ve yetiştiriciliği yapılan tatlı su balıkları içerisinde alabalığın (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) üretimi her ne kadar diğer türlere oranlara daha fazla yapılıyor olsa da, ekonomimize katkısı göz ardı edilemeyecek diğer bir tatlı su balığı da sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) ve çeşitli (aynalı sazan, pullu sazan, çıplak sazan vb) varyeteleridir. İç sularımızda 2022 yılı itibariyle 293 ton sazan üretimi yapılmış olup, avcılıktan elde edilen sazan miktarı ise 3359 ton olarak belirlenmiştir (TÜİK, 2022). Sazan sadece ülkemizde değil, özellikle Orta Doğu ülkelerinde de tüketilen bir balık türü olduğu için bu durum, ekonomik değeri açısından onu çok daha önemli bir noktaya getirmektedir. Orta Doğu ülkelerinde sazan üretimi oldukça fazla olmasına rağmen üretim miktarı talep miktarını karşılayamamaktadır (Saygı ve ark., 2018). Ülkemizde özellikle baraj göllerinde ağ kafeslerde yetiştiriciliği yapılan sazan, birçok baraj gölünde uygun mevsimlerde alabalık ile polikültür olarak da üretilmektedir. Üretim dışında, sazan avcılığı hemen hemen tüm iç sularımızda yapılmakta ve ülkemiz insanların önemli gelir kaynakları arasında yer almaktadır. Aynı zamanda sazan türleri iç sulardaki biyo-çeşitliliğimizin en önemli türlerinden biri olması nedeniyle de ayrı bir öneme sahiptir. İlave olarak bir sazan varyetesi olan koi sazanı da renkleri ve estetik görünümü nedeniyle ekonomik öneme sahip olup, görsel amaçlı olarak süs havuzları ve akvaryumlarda sergilenmek üzere yetiştiriciliği yapılan türler arasında yer almaktadır.

Ne var ki, üretimi yapılan birçok balık türünde olduğu gibi sazan üretiminin önündeki en büyük engeller listesinin ilk sıralarında hastalıklar yer almaktadır. Balıklarda görülen hastalıkların birçoğu sağaltılabilir nitelikte olmasına rağmen, sağaltımı yapılamayan viral hastalıklar nedeniyle hem üretim ve avcılık sektörümüz, hem de doğal balık stoklarımız tehdit altında kalabilmektedir.

Dolayısıyla, ülkemiz sularında ekonomik değere sahip balık türlerinin yetiştiriciliği ve avcılığının karşısındaki bu tehditleri önceden bilmek, bildirmek, koruma amaçlı gerekli ön yasal düzenlemeleri yapmak ve sürdürülebilir hastalık izleme programlarının geliştirilmesine katkı sağlayacak temel bilgileri sunmak zorunlu hâle gelmiştir. Bu amaçla, kitabın bu bölümünde, ülkemiz tatlı su balıkları üretiminin vazgeçilmez türlerinden, sazanın ülkemizdeki üretimini, avcılığını ve doğal stoklarını tehdit edebilecek, ihbarı zorunlu bir viral hastalık olan Koi Herpes Virus (KHV) enfeksiyonunun tanıtılması hedeflenmiştir.

Etiyoloji

Hastalık etkeni olan Koi Herpes Virüs (KHV), Herpesvirus familyasının altında yer alan *Alloherpesvirus* genusunda Cyprinid Herpes Virus-3

(CyHV-3) türü olarak sınıflandırılmaktadır. KHV küresel veya pleomorfik bir zarfa sahip olup, 180–200 nm çapında ve partikül büyüklüğündedir (Bergmann ve ark., 2020). Etken genetik ve morfolojik olarak, cyprinidlerde görülen CyHV-1 (Sazan Çiçek Virüsü) ve CyHV-2 (Japon Balığı Nekrozis Virüsü) virusleri ile yakın ilişkili olup, IcHV-1 (Kanal Kedibalığı Virüsü) ve RaHV-1 (Kurbağa Herpes Virüsü) ile farklılık göstermektedir (Waltzek ve ark., 2005). KHV'nin Asya ve Avrupa olmak üzere 2 ana varyantı bulunmakla birlikte, bu varyantların primer olarak Asya hattından köken almış olmasının muhtemel olduğu rapor edilmiştir (Klafack ve ark., 2017; 2019).

Coğrafi Dağılım

1998 yılında İsrail'de ve Amerika'da sazanlarda yüksek mortalite ile seyreden salgınlar ve kitlesel ölümler görülmesi üzerine hastalık etkeni izole edilerek, Koi Herpes Virüsü (CyHV 3) olarak tanımlanmıştır (Pokorova ve ark., 2005). KHV'nin bu ilk bildiriminden ardından önceki yıllarda; 1996'da Birleşik Krallık'ta, 1997 ve 1998 yıllarında Almanya'da görülen kitlesel sazan ölümlerinin de KHV kaynaklı olduğu anlaşılmıştır (Bretzinger ve ark., 1999; Perelberg ve ark., 2003; Pokorova ve ark., 2005).

Sonraki yıllarda ise Avrupa'da Avusturya, Belçika, Danimarka, Fransa, İtalya, Lüksemburg, Hollanda, İsviçre, Polonya (Haenen ve ark., 2004), Çekya, İrlanda, Slovenya, İsveç (Haenen ve Olesen, 2009), İspanya, Romanya (Gotesman ve ark., 2013), Asya 'da Japonya, Çin, Tayland, Filipinler, Singapur, Güney Kore, Malezya, Tayvan, Endonezya (Dishon ve ark., 2014), Hindistan (Badhusha ve ark., 2022), başta olmak üzere 30'dan fazla ülkeden hem doğal popülasyonlardan hem de akuakültür ortamlarından KHV salgınları rapor edilmiştir. Salgınların, birçok ülkeye kontrolsüz koi ve sazan ticareti nedeniyle yayıldığı bilinmektedir (WOAH, 2021). Ayrıca görülen salgınların münferit olmayıp, ülkelerdeki doğal ve yetiştiricilik stoklarının çok büyük bir bölümünü etkilediği rapor edilmiştir. Örneğin; Almanya'da 2007 yılında 231 vaka, 2008 yılında sırasıyla 173 vaka bildirilmiştir (Haenen ve Olesen, 2009). Günümüzde Avusturalya hariç birçok ülkede KHV salgınları görülmektedir. (AGDAWE, 2020).

Türkiye'den henüz KHV'nin izole edildiğine dair bir rapor yayınlanmamıştır. Ancak son yıllarda komşu ülkeler İran (Rahmati-Holasoo ve ark., 2016; Ahmadivand ve ark., 2020) ve Irak (Ababneh ve ark., 2020; Al-Salih ve ark., 2020)'ta çok sayıda KHV salgını rapor edilmektedir. İlave olarak, diğer yakın komşumuz Suriye'de uzun süredir devam eden savaş nedeniyle durum belirsizdir. Ancak bu ülkelerle devam eden balık ticaretimiz ve ortak sınır sularımız bulunması, yakın gelecekte Türkiye'nin de bu hastalığın dağılım alanları arasında yer alması ihtimalini mümkün kılmaktadır. Ayrıca Koi Herpes Virüsü hastalığı Türkiye'de ihbarı zorunlu hastalıklar listesinde yer almaktadır (Resmî Gazete, 1986; 2011).

Hastalığa Duyarlı Türler

Adi sazan (*Cyprinus carpio*), koi sazanı, ot sazanı ve koi-ot sazanı melezi olan hayalet sazan (*Cyprinus carpio goi*) ve japon balığı-sazan melezi (*Carrassius auratus x Cyprinus carpio*) morbidite ve mortalitenin en yüksek seyrettiği, hastalığa en duyarlı türlerdir (Agdawe, 2020; Woah, 2021). Bu türlerde semptomlar enfeksiyonun 3–9. günleri arasında ortaya çıkmaktadır (Bergmann ve ark., 2020).

Sazan larvalarının KHV'ye dirençli olduğu (Ito ve ark., 2007), ancak diğer yaş gruplarının tamamının KHV'den etkilendiği (Bretzinger ve ark., 1999; Sano ve ark., 2004) takip eden juvenil ve fingerling aşamalarının (2,5–6 g) yetişkinlere (230 g) göre daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Perelberg ve ark., 2003).

Sazan haricindeki diğer bazı balık türlerinde de KHV tespit edildiği rapor edilmiş, bu türlerin KHV taşımalarına rağmen semptom göstermediği, hastalığın yayılmasında vektör ve rezervuar konak olarak rol oynadığı belirlenmiştir. KHV'nin yayılmasına neden olduğu rapor edilen balık türleri Tablo 1'de verilmiştir.

Ayrıca, plankton (Minamoto ve ark., 2011), balıkçıl kuşlar (Torres-Meza ve ark., 2020), parazitler (WOAH, 2021) ve sucul omurgasız (Kielpinski ve ark., 2010; Panicz ve ark., 2020) türlerin de hastalığın taşınmasına neden olabileceği rapor edilmiştir.

Tablo 1: Koi Herpes Virüs potansiyel taşıyıcı balık türleri

Vektörel Konaklar		
Taşıyan Tür	Taşınan Tür	Kaynak
<i>Carassius auratus</i> (L., 1758)	<i>C. carpio</i>	(Bergmann ve ark., 2010; El-Matbouli ve Soliman, 2011; Radosavljevic ve ark., 2012)
<i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782)	<i>C. carpio</i>	(Radosavljevic ve ark., 2012)
<i>Ctenopharyngodon idella</i> (Valenciennes, 1844)	<i>C. carpio</i>	(Kempter ve ark., 2012; Radosavljevic ve ark., 2012)
<i>Gymnocephalus cernua</i> (L., 1758)	<i>C. carpio</i>	(Kempter ve ark., 2012)
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (Valenciennes, 1844)	<i>C. carpio</i>	(Kempter ve ark., 2012)
<i>Rutilus rutilus</i> (L., 1758)	<i>C. carpio</i>	(Kempter ve ark., 2012)
<i>Tinca tinca</i> (L., 1758)	<i>C. carpio</i>	(Kempter ve ark., 2012; Radosavljevic ve ark., 2012)
Rezervuar Konaklar		Kaynak
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt & Ratzeburg, 1833		(Kempter ve ark., 2009)
<i>Acipenser oxyrinchus</i> Mitchill, 1815		(Kempter ve ark., 2009)

<i>Acipenser ruthenus</i> (L., 1758) x <i>Huso huso</i> (L., 1758)	(Pospichal ve ark., 2016)
<i>Ameiurus nebulosis</i> (Lesueur, 1819)	(Matras ve ark., 2019)
<i>Ancistrus</i> sp.	(Bergmann ve ark., 2009)
<i>Barbatula barbatula</i> (L., 1758)	(Pospichal ve ark., 2016)
<i>Gasterosteus aculeatus</i> (L., 1758)	(Fabian ve ark., 2012)
<i>Leuciscus idus</i> (L., 1758)	(AGDAWE, 2020)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792)	(Bergmann ve ark., 2016)
<i>Oreochromis niloticus</i> (L., 1758)	(Wahidi ve ark., 2019)
<i>Perca fluviatilis</i> L., 1758	(Fabian ve ark., 2012)
<i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck & Schlegel, 1846)	(Pospichal ve ark., 2018)
<i>Rutilus rutilus</i> (L., 1758)	(Fabian ve ark., 2012)
<i>Scardinius erythrophthalmus</i> (L., 1758)	(Fabian ve ark., 2012)
<i>Tinca tinca</i> (L., 1758)	(Fabian ve ark., 2012)

Epizootiyoloji

KHV hastalığının yayılımı, salgınların görülmesi, semptomların şiddeti ve hastalığın seyri açısından su sıcaklığı oldukça önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Salgınlar genellikle su sıcaklığı aralığının 16–25°C olduğu ilkbahar ve sonbahar aylarında ortaya çıkmaktadır. Semptomlarının en yoğun olduğu ve mortalitenin en yüksek görüldüğü sıcaklık ise KHV için optimum sıcaklık olan 23–25°C aralığında gerçekleşmektedir (WOAH, 2021). Bu sıcaklık aralığında mortalite %90–%100 oranlarında görülebilmektedir. Su sıcaklığının 13°C'ye düştüğü dönemlerde ise balıklar enfekte olmasına rağmen semptomlar ortadan kalkmakta ve mortalite durmaktadır. Bu durumda enfekte balıklar rezervuar konaklara dönüşmekte ve hastalığın yayılmasında rol oynamaktadır (Gilad ve ark., 2003; Ilouze ve ark., 2011). Su sıcaklığının yeniden optimum değerlere yaklaşması durumunda ise semptomlar yeniden görülmekte ve mortalite yeniden yükselmektedir. Deneysel çalışmalarda mortalite oranlarının 18°C'de %85; 23°C'de %95; 28°C'de %89 oranında olduğu rapor edilmiştir. Su sıcaklığının 30°C'nin üzerine çıkması durumunda ise mortalite görülmediği bildirilmiştir (Gilad ve ark., 2003).

Su sıcaklığına bağlı olarak balıklarda semptomların ve mortalitenin ortadan kalkması durumunda dahi; virüsün sebep olduğu mukozal döküntüler, feçes, vücut sıvıları, virüs replikasyonunun gerçekleştiği deri ve solungaçlar virüsün suya yayılmasına neden olmaktadır (Dishon ve ark., 2005; Denham, 2006). Virüs doğada veya ekstantif yetiştiricilik alanlarındaki su ortamında 23–25°C 'de 5–21 saat, 15°C'de 3 güne kadar enfektivitesi (bulaşabilme yetisi)'ni koruyabilmektedir (Perelberg ve ark., 2003). Ancak, yapılan çalışmalar; aynı sıcaklık koşulları altında, filtrasyon ve/veya ultraviyole sisteminden geçirilerek bakteriyel yükü azaltılmış sularda (yetiştiricilik ortamlarında) virüsün enfektivitesini 7 güne kadar koruyabildiği rapor edilmiştir (Shimizu ve ark., 2006). Bu durum sudaki bakte-

riler ve/veya diğer mikroorganizmaların anti-viral faaliyet göstererek virüsün ortamdaki enfektivitesinin azalmasına katkıda bulunduğuna işaret etmektedir (WOAH, 2021).

KHV'nin balıklara bulaşma mekanizmaları ile ilgili yapılan çalışmalarda, bulaşmanın daha çok balıktan balığa, diğer vektörlerden balığa ve sudan balığa horizontal olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (Gilad ve ark., 2004; Pikarsky ve ark., 2004). KHV'nin enfekte bireylerden yumurtalara geçtiğine (vertikal bulaşma) dair bir veriye rastlanmamıştır (WOAH, 2021). Ayrıca KHV'nin zoonoz bir hastalık olmadığı rapor edilmiştir (Crane ve ark., 2004; Özkan-Özyer, 2007).

Hastalığın yayılımı ve seyrini etkileyen en önemli parametre sıcaklık olmakla birlikte, virüsün virülensi, konsantrasyonu, genetik hattı, mevsim, balıkların yaşı ve kondüsyon durumu, popülasyon yoğunluğu, stres faktörü (transfer, üreme dönemi, su kalitesi), sudaki mikroorganizma yoğunluğu ve yetiştiricilik koşulları da büyük önem taşımaktadır.

Prognoz ve Patoloji

KHV'nin tanımlanmasını izleyen yıllarda yapılan ilk çalışmalarda, virüsün vücuda solungaçlar (Gilad ve ark., 2004; Pikarsky ve ark., 2004) ve deri yolu ile girdiği; deri ve yüzgeçlerin primer replikasyonun başladığı yer olabileceği rapor edilmiştir (Costes ve ark., 2009). Ancak sonraki yıllarda gerçekleştirilen deneysel çalışmalar, virüsün primer replikasyonunun önce solungaçlarda sonra hücrelerde ve daha sonra ise bağırsak dokusunda gerçekleştiğini, derinin ve yüzgeçlerin virüsün vücuda girmesinde bir rolü olmadığını açıkça göstermiştir (Monaghan ve ark., 2015).

Virüsün vücuda girmesini takip eden 4–6 saat içinde solungaçlar ve bağırsak dokusunda replikasyon başlar ve virüs inkübasyon süresince bu dokulardaki beyaz kan hücreleri aracılığıyla tüm organlara taşınır (Monaghan ve ark., 2015). İnkübasyon süresinin su sıcaklığına bağlı olarak değişmekle birlikte 7–21 gün arasında olduğu rapor edilmiştir (Bretzinger ve ark., 1999; Hedrick ve ark., 2006). İnkübasyon periyodunun tamamlanmasından sonra böbrek hedef organ konumuna gelir ve virüsün üremesi açısından önem arz eder (Gray ve ark., 2002). Enfeksiyonun 2–4. günlerinde böbrek interstityumunda çok büyük bir hızla çoğalan virüs kan dolaşımı ile vücuda yayılmaya devam ederken; solungaçlarda enflamasyon, hücre infiltrasyonu ve solungaç lamellerinin bir kısmında kayıplar gözlemlenir (Haenen ve ark., 2004; Pikarsky ve ark., 2004). Bu dönemde solungaçlarda ve vücut yüzeyinde aşırı mukus salgısı ve bu durumun bir sonucu olarak mukusun zımpara kâğıdı görüntüsü alması dikkat çekicidir (Bergmann ve ark., 2020). Enfeksiyonun 5–8. günlerinde deri, bağırsak ve solungaçlarda replikasyon sonucu üretilen virüs hem balık vücuduna hem de çevreye hızla yayılmaya devam ederken, kanda tespit edilebilir düze-

ye ulaşır ve beyindeki kan damarlarında bulunan endotelial hücrelere de yerleşir (Haenen ve ark., 2004; Bergmann ve ark., 2020). Bu evrede şiddetli enflamasyon sebebiyle solungaç dokusu tamamen bozulup nekroze odaklar oluşur ve solungaç epitelinde poliferasyon, intranükleer inklüzyon cisimcikleri, nekroze odaklar gözlemlenebilir. Böbrekte, ağır intersitisyel infiltrasyon ile birlikte, nefronların tübül epitelyumunda yağ dejenerasyonları ortaya çıkar ve karaciğer ile beyinde enflamasyon görülür (Perelberg ve ark., 2003; Pikarsky ve ark., 2004; Pokorova ve ark., 2005; Ronen ve ark., 2005). Enfeksiyonun 5–7. günlerinden itibaren ağırlaşan bu tablo akut balık ölümlerinin başlamasına sebep olur. Akut mortalite enfeksiyonun 10–14. günlerinde pik noktaya ulaşır (Perelberg ve ark., 2003).

Enfeksiyonun su sıcaklığına bağlı olarak %70–%100 arasında mortaliteye neden olabileceği bilinmektedir (Haenen ve ark., 2004; Bergmann ve ark., 2010). Enfeksiyonun başlamasından sonra su sıcaklığının 13°C civarına düşürülmesi, enfeksiyon şiddetini önemli ölçüde hafifletse de, bir kez enfekte olmuş bireyler persiste enfekte kalırlar. Bu nedenle yaşadıkları süre boyunca semptom göstermeseler dahi rezervuar konak olarak virüsün sürekli olarak ortama yayılmasına ve yeni stoklara bulaşmasına neden olurlar (Bergmann ve ark., 2020).

Semptomlar (Belirtiler)

Koi Herpes Virüs hastalığı, spesifik semptomlar göstermediğinden, semptomlardan yola çıkılarak teşhis konulması güvenilir kabul edilmektedir (WOAH, 2021). Virüsün balık vücudundaki inkübasyon periyodunu tamamlamasının ardından:

- Yem alımının azalması,
- Disoryantasyon, yüzme bozuklukları (bazen hiperaktivite),
- Solunum güçlüğü ve yüzeye çıkma,
- Belirtilerin ortaya çıkmasını takip eden 1–2 gün içerisinde ani ölümlerin görülmesi,
- Şiddetli solungaç lezyonları ve solungaçlarda kırmızı-beyaz lekelenmeler,
- Deride nekroze alanlar ve peteşial hemarojiler,
- Aşırı mukus salgılanması ve buna bağlı olarak deri ve yüzgeçlerin zımpara kağıdı görünümü alması,
- Gözlerin içe çökmesi,
- Yüzgeçlerde erozyon,
- Abdominal kavitede yapışmalar,

- İç organlarda renk bozuklukları,
- Böbrek ve karaciğerde büyüme

ve benzeri semptomların görüldüğü bildirilmiştir (AGDAWE, 2020; Bergmann ark. 2020; WOAHA 2021). Görülen semptomlar *Aeromonas salmonicida*, *Aphanomyces invadans* ve SVC (Sazanların Bahar Viremisi) enfeksiyonları ile benzerlik göstermektedir (AGDAWE, 2020).

Şiddetli seyreden enfeksiyon bağışıklık sistemini olumsuz etkilediğinden, bu dönemde sekonder bakteriyel ve paraziter hastalıklar görülebilmektedir. Bu durum mortalitenin artmasına yol açabildiği gibi aynı zamanda KHV'nin sebep olduğu belirtileri maskeleyerek etkenin bakteriyel yada parazitik olduğunun düşünülmesine ve semptomlara dayalı teşhiste hatalara sebep olabilmektedir (Haenen ve ark., 2004).

Tanı

Hastalığın identifikasyonu amacıyla PCR (Polimeraz Zincir reaksiyonu) ile gen frekanslarının belirlenmesi, elektron mikroskobu incelemesi, LAMB (loop-mediated isothermal amplification), in situ hibridizasyon, DNA restriksiyon fragment analizi, immuno floresan testler kullanılmaktadır (Dishon ve ark., 2005; Pokorova ve ark., 2005; Soliman ve El-Matbouli, 2005; WOAHA, 2021).

Ayrıca SVC (Sazanların bahar viremisi) ile benzer özellikler gösteren KHV'nin ayırımında hastalığın ortaya çıktığı sıcaklık aralığı değerlendirilebilmektedir. SVC su sıcaklığının 5–18°C civarında olduğu dönemlerde görülürken, KHV 16 –25°C aralığında ortaya çıkmaktadır. Bu durum karşılaşılan viral hastalığın ön değerlendirmesinde ipucu olabilmektedir.

Tedavi, Koruma ve Kontrol

Hastalığın bilinen bir tedavisi bulunmamaktadır. Ayrıca enfekte bireyler semptomlar ortadan kalksa bile ömür boyu enfekte kalmakta ve hastalığın yayılımına neden olmaktadır (WOAHA, 2021).

KHV ile en etkili mücadele yöntemi koruyucu tedbirler alınarak hastalığın bulaşmasının ve salgınların önlenmesidir. Hijyen ve biyogüvenlik uygulamaları, sertifikalı yumurta ve yavru alımı, yumurta dezenfeksiyonu, karantina uygulamaları, aşılama, dirençli soy hatlarının yetiştirilmesi ve eradikasyon uygulamalarıdır:

- Hastalık görülmeyen işletmelere alınacak yumurta ve yavruların yalnızca güvenilir kaynaklardan ve sertifikalı olarak alınması,
- Yumurta dezenfeksiyonu uygulamaları
- ✓ KHV için 15°C'de 200 mg/L/30 sn iyodofor uygulaması önerilmektedir (Kasai ve ark., 2005). Ayrıca klor çözeltileri, kuarterner

amonyum klorid bileşiklerinin çözeltileri ve sodyumhipoklorid kullanılabilir (Haenen ve ark., 2004),

- Yeni balıklar işletmeye getirildiğinde karantina tedbirleri uygulanması; 23–28°C arasında 3–4 hafta süreyle ayrı bir bölümde tutulması, karantina bölümünde bulunan ekipman ve gereçlerin diğer bölümlerde kullanılmaması,
- Tesis ya da yetiştiricilik alanlarındaki diğer potansiyel taşıyıcı balık ve omurgasızların kontrol altına alınması,
- Stoklardaki balıkların KHV salgınlarına karşı aşılması,
- ✓ KHV salgınlarına karşı geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam eden farklı aşı uygulamaları bulunmaktadır:
 - Ticari olarak lisans almış ve kullanıma sunulmuş KV 3 (KoVax Ltd./Phibro Animal Health Corp.) isimli attenué aşı İsrail’de yaygın olarak kullanılmaktadır. (Ronen ve ark., 2003; Perelberg ve ark., 2005). Bu aşının 8 ay süre ile koruma sağladığı rapor edilmiştir (Ilouze ve ark., 2011),
 - Almanya ve Endonezya’da otojen inaktive aşılar KHV salgınlarından korunmak amacıyla uygulanmaktadır (Bergmann ve ark., 2020; Lusiastuti ve ark., 2021),
 - Geliştirme çalışmaları devam eden rekombinant, DNA ve diğer aşı tipleri bulunmaktadır (Rosenkranz ve ark., 2008; Zhou ve ark., 2014; Boutier ve ark., 2015; Klafack ve ark., 2019; Schröder ve ark., 2019),
 - Ayrıca *Arthrospira platensis* (*cyanobacter*) türü bakteriden elde edilen ekzopolisakkarid (EPS)’nin KHV salgınından 4–6 hafta önce su ya da yeme uygulanması durumunda salgınları önleyebileceği rapor edilmiştir (Reichert ve ark., 2017).
- KHV’ye dirençli sazan ve koi melezlerinin kullanılması
- ✓ Sazan varyantlarının KHV direncini arttırmak üzere yapılan melezleme çalışmaları, belirli varyantların çaprazlanmasıyla %42,9 ile %64 arasında KHV’ye dirençli melez türlerin yetiştirilebilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir (Shapira ve ark., 2005; Dixon ve ark., 2009),
- Stoklarda önemli oranda ani kayıplar ve mortalite gözlemlendiği durumlarda laboratuvar muayenelerinin yaptırılması,
- Taşıyıcı balıkların kontrolü için PCR tekniği kullanılması,

- Salgınların görülmesi durumunda stokların imha edilerek, havuzların alet ve ekipmanların dezenfekte edilmesi; kontamine sulara klor uygulanması.

Sonuç ve Öneriler

Türkiye, iç sularının bolluğu ve verimliliği ile uygun iklim koşullarına sahip olmasından dolayı, sazan ve sazanğiller gibi türler için büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle, bu türler genellikle göl, gölet, akarsu ve sulak alan gibi ekosistemlerin balıklandırılmasında en çok tercih edilen türlerdir.

Türkiye genelinde, yaklaşık 500–700 adet farklı ekosisteme her yıl yaklaşık 6.000.000 adet sazan yavrusu bırakılarak balıklandırma çalışmaları yapılmaktadır (Yılmaz, 2019). Bu nedenle, ülkenin sucul ekosistemlerinin büyük bir bölümünde sazan ve sazanğiller bulunmakta ve avcılığı da yapılmaktadır. Ayrıca sazan, omnivor bir tür olması, düşük proteinli yemlere ihtiyaç duyması ve çeşitli çevresel koşullara dayanıklı olması nedeniyle iç su balıkları yetiştiriciliği açısından da büyük öneme sahiptir (Yılmaz, 2019).

Son yıllarda dünya genelinde 30'dan fazla ülkede görülen KHV salgınları, yetiştiricilik ve doğal ortamlardaki sazan popülasyonları için çok büyük bir tehdit oluşturmakta, ekolojik ve ekonomik olarak çok ciddi kayıplara sebep olmaktadır (WOAH, 2021).

KHV salgınlarının tehlikeli kabul edilmesinin nedenleri:

- KHV'nin inkübasyon süresi uzundur (7–21 gün). Dolayısıyla bu süre boyunca hiçbir belirti vermeden doğal ortamda ve yetiştiricilik ortamında çok fazla bireye bulaşabilmektedir.
- Balıklarda hastalık belirtileri ortaya çıkmaya başladıktan 24–48 saat sonra akut ölümler başlamaktadır.
- Mortalite çok yüksek olup (%70–%100), 14 gün içinde tüm popülasyonun yok olma noktasına gelmesine sebep olabilmektedir.
- Hastalığın tedavisi bulunmamaktadır.
- Hastalıktan sağ kurtulan bireyler ömür boyu enfekte kalabilmekte ve hastalığı yeni stoklara bulaştırabilmektedirler.
- Virüs sazan dışındaki taşıyıcı balık türleri, kuşlar ve omurgasız canlılara bulaşarak, hiçbir belirti vermeden bu canlılarla birlikte çok uzak noktalara taşınabilmektedir.
- KHV salgınının bir defa bir bölgede görülmesi, virüsün sazan ve sazan haricindeki diğer canlıların vücutlarında rezerv oluşturarak o

bölgeye yerleşmesi ve salgınların gelecekte sürekli tekrarlanması riskini barındırmaktadır.

Dünyada birçok ülkede KHV salgınları görülmesine rağmen henüz Türkiye’den KHV izole edildiğine dair bir bildirim bulunmamaktadır. Ancak farklı tarihlerde 15 Avrupa ülkesi ve yakın zamanda komşu ülkeler İran’da ve Irak’ta art arda çok sayıda KHV salgını rapor edilmiştir.

Türkiye–İran arasında (Aras ve Sarısu Nehri); Türkiye–Irak arasında (Dicle ve Fırat Nehri, Büyük Zap Suyu, Drahini Deresi ve Hezil Çayı) her iki ülkenin kıyıdaş olduğu sınıraşan ortak akarsular bulunmaktadır. İran’da ve Irak’ta patlak veren KHV salgınlarının önemli bölümü bu ortak akarsular üzerindeki Sazan üretim çiftliklerinde gerçekleşmiştir.

Bu ülkelerle devam eden balık ticaretimiz ve ortak sınıraşan sularımız bulunması, Türkiye’nin de KHV salgınları riskiyle karşı karşıya olduğu anlamına gelmektedir. Bu nedenle KHV salgınlarına karşı devlet otoritesi tarafından alınabilecek tedbirler ile etkenin ülke sınırlarından geçişinin önlenmesi hem ekolojik hem de ekonomik kayıpların önüne geçilmesini sağlayacaktır.

Devlet otoritesi tarafından alınabilecek tedbirler:

- Canlı balık ve diğer su ürünleri ithalatında PCR testlerinin yasal olarak zorunlu tutulması,
- Çevre ülkelerde salgınların görülmesi durumunda geçici/dönemsel/tür bazlı ithalat kısıtlamaları getirilmesi,
- Yasal olmayan su ürünleri ticareti ile ilgili gerekli tedbirlerin artırılması,
- İthal edilen su ürünleri ve ithalat yapan işletmelerin hayvan sağlığı yönünden belirli aralıklarla “tekrar denetimleri”nin yapılması,
- Canlı su ürünleri ithalatı yapan işletmelerde karantina uygulamalarının yasal olarak zorunlu hâle getirilmesi,
- Çevre ülkelerde salgınların görülmesi durumunda sınıraşan sular üzerinde bulunan balık geçişine izin veren yapıların balık geçişlerine dönemsel/geçici olarak kapatılması.

Yukarıda bahsedilen otoriter tedbirlere ek olarak Türkiye’de bulunan üreticilerin alabilecekleri tedbirler de bulunmaktadır:

- Yumurta ve yavru temininin yalnızca güvenilir kaynaklardan ve sertifikalı olarak sağlanması,
- Yumurta dezenfeksiyonu uygulamaları,

- Yeni balıklar işletmeye getirildiğinde karantina tedbirleri uygulanması,
- Tesis ya da yetiştiricilik alanlarındaki diğer potansiyel taşıyıcı balık ve omurgasızların kontrol altına alınması,
 - Stoklardaki balıkların KHV salgınlarına karşı aşılınması,
 - Stoklarda önemli oranda ani kayıplar ve mortalite gözleendiği durumlarda laboratuvar muayenelerinin yaptırılması,
 - Taşıyıcı balıkların kontrolü için PCR tekniği kullanılması,
 - Salgınların görülmesi durumunda stokların imha edilerek, havuzların alet ve ekipmanların dezenfekte edilmesi; kontamine sulara klor uygulanması,
 - Ekzopolisakkarid (EPS)'nin yem katkı maddesi olarak kullanılması.

KAYNAKLAR

- Ababneh, M., Hananeh, W. and Alzghoul, M. (2020). Mass mortality associated with koi herpesvirus in common carp in Iraq. *Heliyon*, 6(8), e04827.
- AGDAWE (Australian Government Department of Agriculture, Water and the Environment) (2020) *Aquatic animal diseases significant to Australia: identification field guide*. Canberra.
- Ahmadivand, S., Soltani, M., Shokrpour, S., Rahmati-Holasoo, H., El-Matbouli, M. and Taheri-Mirghaed, A. (2020). Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3) transmission and outbreaks in Iran: Detection and characterization in farmed common carp. *Microbial Pathogenesis*, 149, 104321.
- Al-Salih, H., Kane, A., Al-Dabhawi, A., Al-Rufaii, H., Mansour, O. and Samaka, H. (2020). Koi herpesvirus disease outbreak in Iraq. *Eurasian Journal of Biosciences*, 14, 1965-1971.
- Badhusha, A., Nafeez Ahmed, A., Suryakodi, S., Abdul Wazith, M.J., Mithra, S., Kanimozhi, K., Abdul Majeed, S., Taju, G. and Sahul Hameed, A.S. (2022). First report on the occurrence of cyprinid herpesvirus 3 in koi carp (*Cyprinus carpio koi*) in India. *Journal of Fish Diseases*, 45(8), 1087-1098.
- Bergmann, S. M., Cieslak, M., Fichtner, D., Dabels, J., Monaghan, S. J., Wang, Q., Zeng, W. and Kempter, J. (2016). Is there any species specificity in infections with aquatic animal herpesviruses? –The Koi herpesvirus (KHV): An Alloherpesvirus Model. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 7(2), 2-6.
- Bergmann, S. M., Jin, Y., Franzke, K., Grunow, B., Wang, Q. and Klafack, S. (2020). Koi herpesvirus (KHV) and KHV disease (KHVD) – a recently updated overview. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1), 98-103.
- Bergmann, S.M., Lutze, P., Schütze, H., Fischer, U., Dauber, M., Fichtner, D. and Kempter, J. (2010). Goldfish (*Carassius auratus auratus*) is a susceptible species for koi herpesvirus (KHV) but not for KHV disease (KHVD). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 30, 74-84.
- Bergmann, S. M., Schütze, H., Fischer, U., Fichtner, D., Riechardt, M., Meyer, K., Schrudde, D. and Kempter, J. (2009). Detection of koi herpes virus (KHV) genome in apparently healthy fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 29(5), 145-152.
- Boutier, M., Ronsmans, M., Ouyang, P., Fournier, G., Reschner, A., Rakus, K., Wilkie, G.S., Farnir, F., Bayrou, C., Lieffrig, F., Li, H., Desmecht, D., Davison, A.J. and Vanderplasschen, A. (2015). Rational development of an attenuated recombinant Cyprinid herpesvirus 3 vaccine using prokaryotic mutagenesis and in vivo bioluminescent imaging. *PLOS Pathogens*. Editör L. Hutt-Fletcher, 11(2), e1004690.

- Bretzinger, A., Fischer-Scherl, T., Oumouna, M., Hoffmann, R.W. and Truyen, U. (1999). Mass mortalities in Koi carp, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease. *Bulletin of The European Association of Fish Pathologists*, 19(5), 182-185.
- Costes, B., Raj, V. S., Michel, B., Fournier, G., Thirion, M., Gillet, L., Mast, J., Lieffrig, F., Bremont, M. and Vanderplasschen, A. (2009). The major portal of entry of Koi Herpesvirus in *Cyprinus carpio* is the skin. *Journal of Virology*, 83(7), 2819-2830.
- Crane, M., Sano, M. and Komar, C. (2004). Infection with koi herpesvirus-disease card. *Developed to support the NACA/FAO/OIE regional quarterly aquatic animal disease (QAAD) reporting system in the Asia-Pacific*. Bangkok, Thailand.
- Denham, K. (2006). CEFAS perspective on koi herpesvirus (KHV)&Goldfish herpesvirus (GHV). *Working together to control disease*. Weymouth.
- Dishon, A., Ashoulin, O., Scott Weber Iii, E. and Kotler, M. (2014). Vaccination against Koi Herpesvirus Disease. Gudding, R., Lillehaug, A., and Even- sen, Ø. (eds) *Fish Vaccination*. 1. bs, 321-333.
- Dishon, A., Perelberg, A., Bishara-Shieban, J., Ilouze, M., Davidovich, M., Werker, S. and Kotler, M. (2005). Detection of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus in fish droppings. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 7285-7291.
- Dixon, P.F., Joiner, C.L., Way, K., Reese, R.A., Jeney, G. and Jeney, Z. (2009). Comparison of the resistance of selected families of common carp, *Cyprinus carpio* L., to koi herpesvirus: preliminary study. *Journal of Fish Diseases*, 32(12), 1035-1039.
- El-Matbouli, M. and Soliman, H. (2011). Transmission of Cyprinid herpesvirus-3 (CyHV-3) from goldfish to native common carp by cohabitation. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 536-539.
- Fabian, M., Baumer, A. and Steinhagen, D. (2012). Do wild fish species contribute to the transmission of koi herpesvirus to carp in hatchery ponds?. *Journal of fish diseases*, 36(5), 505-514.
- Gilad, O., Yun, S., Adkison, M.A., Way, K., Willits, N.H., Bercovier, H. and Hedrick, R.P. (2003). Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of General Virology*, 84(10), 2661-2667.
- Gilad, O., Yun, S., Zagmutt-Vergara, F., Leutenegger, C., Bercovier, H. and Hedrick, R. (2004). Concentrations of a Koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally-infected *Cyprinus carpio* koi as assessed by real-time Taq-Man PCR. *Diseases of Aquatic Organisms*, 60(3), 179-187.

- Gotesman, M., Kattlun, J., Bergmann, S. and El-Matbouli, M. (2013). CyHV-3: the third cyprinid herpesvirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105(2), 163-174.
- Gray, W.L., Mullis, L., LaPatra, S.E., Groff, J.M. and Goodwin, A. (2002). Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *Journal of Fish Diseases*, 25(3), 171-178.
- Haenen, O.L.M., Way, K., Bergmann, S.M. and Ariel, E. (2004). The emergence of koi herpesvirus and its significance to European aquaculture. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 24(6), 293-307.
- Haenen, O. and Olesen, N.J. (2009). P-001: Koi herpes virus world wide: results of the global KHV questionnaire 2007-2009". *Poster session presented at 14th EAFP International Conference on Diseases of Fish and Shellfish*, Prague, Czech Republic.
- Hedrick, R.P., Waltzek, T.B. and McDowell, T.S. (2006). Susceptibility of koi carp, common carp, goldfish, and goldfish × common carp hybrids to cyprinid Herpesvirus-2 and Herpesvirus-3. *Journal of Aquatic Animal Health*, 18(1), 26-34.
- Ilouze, M., Davidovich, M., Diamant, A., Kotler, M. and Dishon, A. (2011). The outbreak of carp disease caused by CyHV-3 as a model for new emerging viral diseases in aquaculture: a review. *Ecological Research*, 26(5), 885-892.
- Ito, T., Sano, M., Kurita, J., Yuasa, K. and Iida, T. (2007). Carp larvae are not susceptible to koi herpesvirus. *Fish Pathology*, 42(2), 107-109.
- Kasai, H., Muto, Y. and Yoshimizu, M. (2005). Virucidal effects of ultraviolet, heat treatment and disinfectants against koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathology*, 40(3), 137-138.
- Kempton, J.M.K., Panicz, R., Sadowski, J., Bartosz, M. and Bergmann, S.M. (2012). Horizontal transmission of koi herpes virus (KHV) from potential vector species to common carp. *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 32, 212-219.
- Kempton, J., Sadowski, J., Schütze, H., Fischer, U., Dauber, M., Fichtner, D., Panicz, R. and Bergmann, S.M. (2009). Koi Herpes Virus: Do acipenserid restitution programs pose a threat to carp farms in the disease-free zones? *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 39(2), 119-126.
- Kielpinski, M., Kempton, J., Panicz, R., Sadowski, J.H.S., Leimbach, S. and Bergmann, S.M. (2010). Detection of KHV in freshwater mussels and Crustaceans from ponds with KHV history in Common Carp (. *The Israeli journal of aquaculture = Bamidgeh*, 62(1), 28-37.
- Klafack, S., Fiston-Lavier, A.-S., Bergmann, S., Hammoumi, S., Schröder, L., Fuchs, W., Lusastuti, A., Lee, P.-Y., Heredia, S., Master student consortium, Gosselin-Grenet, A.-S. and Avarre, J.-C. (2019). Cyprinid herpesvirus 3

evolves in vitro through an assemblage of haplotypes that alternatively become dominant or under-represented. *Viruses*, 11(8), 754.

Klafack, S., Wang, Q., Zeng, W., Wang, Y., Li, Y., Zheng, S., Kempter, J., Lee, P.-Y., Matras, M. and Bergmann, S.M. (2017). Genetic variability of koi herpesvirus in vitro—A natural event?. *Frontiers in Microbiology*, 8, 982.

Lusiastuti, A.M., Novita, H., Gardenia, L., Taukhid, T. and Bergmann, H.S.M. (2021). Combination vaccines against koiherpes virus and aeromonas hydrophila Co-infection in koi and common carp. *Indonesian Aquaculture Journal*, 15(2), 93.

Matras, M., Stachnik, M., Borzym, E., Maj-Paluch, J. and Reichert, M. (2019). Potential role of different fish species as vectors of koi herpesvirus (CyHV-3) infection. *Journal of Veterinary Research*, 63(4), 507-511.

Minamoto, T., Honjo, M.N., Yamanaka, H., Tanaka, N., Itayama, T. and Kawabata, Z. (2011). Detection of cyprinid herpesvirus-3 DNA in lake plankton. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 530-532.

Monaghan, S.J., Thompson, K.D., Adams, A., Kempter, J. and Bergmann, S.M. (2015). Examination of the early infection stages of koi herpesvirus (KHV) in experimentally infected carp, *Cyprinus carpio* L. using in situ hybridization. *Journal of Fish Diseases*, 38(5), 477-489.

Özkan-Özyer, B. (2007). Koi Herpesvirus Hastalığı. *Bornova Veteriner Kontrol and Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 29(43), 43-47.

Panicz, R., Eljasik, P., Śmietana, N., Sadowski, J. and Biernaczyk, M. (2020). New invertebrate species as potential CyHV-3 reservoirs: A case study of common carp mortalities in hyperthermal conditions. *Journal of Fish Diseases*, 43(7), 821-824.

Perelberg, A., Ronen, A., Hutoran, M., Smith, Y. and Kotler, M. (2005). Protection of cultured *Cyprinus carpio* against a lethal viral disease by an attenuated virus vaccine. *Vaccine*, 23(26), 3396-3403.

Perelberg, A., Smirnov, M., Hutoran, M., Diamant, A., Bejerano, Y. and Kotler, M. (2003). Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Israeli Journal of Aquaculture-bamidgeh*, 55, 5-12.

Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavi-Sivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Perelberg, A., Soffer, D. and Kotler, M. (2004). Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology*, 78(17), 9544-9551.

Pokorova, D., Vesely, T., Piackova, V., Reschova, S. and Hulova, J. (2005). Current knowledge on koi herpesvirus (KHV) - a review. *Veterinárni medicína*, 50(4), 139-148.

Pospíchal, A., Piackova, V., Pokorova, D. and Vesely, T. (2016). Susceptibility of stone loach (*Barbatula barbatula*) and hybrids between sterlet (*Acipenser*

- ruthenus*) and beluga (*Huso huso*) to cyprinid herpesvirus 3. *Veterinárni Medicína*, 61, 249-255.
- Pospichal, A., Pokorova, D., Vesely, T. and Piackova, V. (2018). Susceptibility of the topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*) to CyHV-3 under no-stress and stress conditions. *Veterinárni medicína*, 63(5), 229-239.
- Radosavljevic, V., Jeremic, S., Cirkovic, M., Lako, B., Milicevic, V., Potkonjak, A. and Nikolin, V. (2012). Common fish species in polyculture with carp as cyprinid herpes virus 3 carriers. *Acta veterinaria*, 62(5-6), 675-681.
- Rahmati-Holasoo, H., Zargar, A., Ahmadivand, S., Shokrpoo, S., Ezhari, S. and Ebrahimzadeh Mousavi, H. A. (2016). First detection of koi herpesvirus from koi, *Cyprinus carpio* L. experiencing mass mortalities in Iran: clinical, histopathological and molecular study. *Journal of Fish Diseases*, 39(10), 1153-1163.
- Reichert, M., Bergmann, S. M., Hwang, J., Buchholz, R. and Lindenberger, C. (2017). Antiviral activity of exopolysaccharides from *Arthrospira platensis* against koi herpesvirus. *Journal of Fish Diseases*, 40(10), 1441-1450.
- Resmî Gazete (1986). *Hayvan Sağlığı and Zabıtası Kanunu, Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu*.
- Resmî Gazete (2011). *İhbarı mecburi hayvan hastalıkları ve bildirimine ilişkin yönetmelik, İhbarı mecburi hayvan hastalıkları ve bildirimine ilişkin yönetmelik*.
- Ronen, A., Perelberg, A., Abramowitz, J., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M. and Kotler, M. (2003). Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine*, 21(32), 4677-4684.
- Ronen, A., Perelberg, A., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Sivan, B., Pikarsky, E. and Kotler, M. (2005). Prevention of a mortal disease of carps induced by the carp interstitial and gill necrosis virus (CNGV) in Israel. *Bull Fish Agen Suppl*, 2, 9-11.
- Rosenkranz, D., Klupp, B.G., Teifke, J.P., Granzow, H., Fichtner, D., Mettenleiter, T.C. and Fuchs, W. (2008). Identification of envelope protein pORF81 of koi herpesvirus. *Journal of General Virology*, 89(4), 896-900.
- Sano, M., Ito, T., Kurita, J., Yanai, T., Watanabe, N., Miwa, S. and Iida, T. (2004). First detection of Koi Herpesvirus in cultured common carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Fish Pathology*, 39(3), 165-167.
- Saygı, H., Kop, A., Tekoğul, H. and Altan, Ö. (2018). Orta Doğu ülkelerinin su ürünleri üretimi. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 6(10), 1422-1430.
- Schröder, L., Klafack, S., Bergmann, S.M., Fichtner, D., Jin, Y., Lee, P.-Y., Höper, D., Mettenleiter, T.C. and Fuchs, W. (2019). Generation of a potential koi

- herpesvirus live vaccine by simultaneous deletion of the viral thymidine kinase and dUTPase genes. *Journal of General Virology*, 100(4), 642-655.
- Shapira, Y., Magen, Y., Zak, T., Kotler, M., Hulata, G. and Levavi-Sivan, B. (2005). Differential resistance to koi herpes virus (KHV)/carp interstitial nephritis and gill necrosis virus (CNGV) among common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains and crossbreds. *Aquaculture*, 245(1-4), 1-11.
- Shimizu, T., Yoshida, N., Kasai, H. and Yoshimizu, M. (2006). Survival of Koi Herpesvirus (KHV) in environmental water. *Fish Pathology*, 41(4), 153-157.
- Soliman, H. and El-Matbouli, M. (2005). An inexpensive and rapid diagnostic method of Koi Herpesvirus (KHV) infection by loop-mediated isothermal amplification. *Virology Journal*, 2(1), 83.
- Torres-Meza, O. A., Loza-Rubio, E., Martínez-Maya, J.J. and García-Espinosa, G. (2020). The first detection of Koi Herpesvirus (CyHV 3) in migratory wild ducks in North America. *Journal of Aquatic Animal Health*, 32(1), 28-31.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) (2022). *Su Ürünleri İstatistikleri, Ankara, Türkiye*.
- Wahidi, B.R., Yanuhar, U., Mohamad Fadjar, M. and Andayani, S. (2019). Pathognomonic features and ultrastructural of Koi Herpesvirus infected *Oreochromis niloticus*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(2), 497-503.
- Waltzek, T.B., Kelley, G.O., Stone, D.M., Way, K., Hanson, L., Fukuda, H., Hiro-no, I., Aoki, T., Davison, A.J. and Hedrick, R.P. (2005). Koi herpesvirus represents a third cyprinid herpesvirus (CyHV-3) in the family Herpesviridae. *Journal of General Virology*, 86(6), 1659-1667.
- WOAH (World Organisation for Animal Health) (2021). Infection with koi herpes virus. *Manual of diagnostic tests for aquatic animals*. Eighth edition. Paris.
- Yılmaz, Ş.S. (2019) .Moleküler markör destekli soğukta hızlı büyüyen pullu sazan (*Cyprinus carpio*) ıslahı projesi. *Tam metin bildiri kitabı. Aktaş Gölü Biyoçeşitliliğin Korunması Ve Sürdürülebilir Gelişme Çalıştayı*, Ardahan, 29-40.
- Zhou, J., Xue, J., Wang, Q., Zhu, X., Li, X., Lv, W. and Zhang, D. (2014). Vaccination of plasmid DNA encoding ORF81 gene of CJ strains of KHV provides protection to immunized carp. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, 50(6), 489-495.

Bölüm 2

BALIK BESLEMEDE PROPOLİS KULLANIMI

Oğuz TAŞBOZAN¹

¹ Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, Yetiştiricilik ABD, 01250, Sarıçam, Adana-Türkiye,
e-mail: tasbozan@yahoo.com; tasbozan@cu.edu.tr

Giriş

Son yıllarda, su ürünleri yetiştiriciliği küresel ölçekte belirgin bir artış göstermiş ve bu gelişme, istihdamın artmasına ve yüksek kaliteli protein üretiminin insan tüketimine sağladığı önemli katkılarla birlikte gelmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliği, yüksek kaliteli protein içeriğine sahip ürünlerin öne çıkmasıyla cazip bir sektör haline getirmiştir. Ancak, üretim süreçlerinin iyileştirilmesine odaklanılması, özellikle bulaşıcı organizmaların kontrolü amacıyla, kimyasal bileşiklerin giderek daha fazla kullanılmasına neden olmuştur. Bu durum, çevresel etkileri nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğini endişe verici bir seviyeye taşımıştır. Bu kimyasal bileşiklerin çevresel zararları göz önüne alındığında, su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan bu kimyasal maddelerin, sentetik kimyasalların potansiyel tehlikelerini ve olumsuz etkilerini azaltmak için doğal bileşiklerle değiştirilmesi kaçınılmaz hale gelmiştir (Misso ve ark., 2014; Valladao ve ark., 2015; Alagawany ve ark., 2020a; 2020b; Dawood ve ark., 2020; Mahmoud ve ark., 2021).

Propolis, özellikle su ürünleri yetiştiriciliğinde umut vaat eden bir doğal bir bileşik olarak öne çıkmaktadır. Antiinflatuar, antioksidan, antibakteriyel, bakteriyostatik, antiseptik ve immunostimulan gibi farmakolojik özelliklere sahip olması nedeniyle büyüme teşvikçisi olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Ayrıca, yem katkı maddesi olarak kullanıldığında, çevresel etkileri minimumda tutarak su ürünleri yetiştiriciliği için etkili bir alternatif sunabilir. Bu doğal bileşik, sadece üretim verimliliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda çevresel sürdürülebilirliği de destekler (Burdock, 1998; Ramos ve Miranda, 2007; Abbas ve ark., 2012; El-Guendouz ve ark., 2019; Wolska ve ark., 2019). Bu nedenle, propolis gibi doğal bileşiklerin kullanımının sektörün geleceği için her anlamda fayda sağlayacağı kaçınılmaz olacaktır.

Bu bölümde, yemlerde katkı maddesi olarak kullanılan, doğal bir bileşik olan propolis ve daha önce yapılmış çalışmalar hakkında bilgiler sunulmuştur.

Propolis nedir? Yapısı ve özellikleri

Propolis kelimesi, Yunanca kökenli olup “pro-” (savunma için veya savunmada) ve “polis” (şehrin savunulması) kelimelerinden türemiştir (Ghisalberti, 1979). Arılar, kovanlarını termal yalıtkan olarak kapatmak, bakteri ve mantar gibi patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını kontrol etmek ve yabancı istilacıların girişini engellemek amacıyla propolisi kullanırlar (Marcucci, 1995; Burdock, 1998; Walgrave ve ark., 2005).

Çeşitli arı türleri, *Apis* (Orsi ve ark., 2006; Abdelnour ve ark., 2019, 2020), *Tetragonula* (massaro ve ark., 2014), *Trigona* (Margaretha ve ark.,

2012; Nur ve ark., 2017), *Melipona*, *Nannotrigona* ve *Tetragonisca* (Manrique ve Santana, 2008) gibi, propolis üretimi gerçekleştirmektedir. Propolis, rengi yeşilimsi sarıdan kahverengiye kadar değişen, mumsu viskon bir reçine olarak ortaya çıkar (Grange ve Davey, 1990; Burdock, 1998).

Propolis, fenoller, esterler, terpenler, hidrokarbonlar, şekerler ve mineral bileşenler içeren bir dizi biyomolekülden oluşur. Flavonlar, flavonoller, flavanoller, dihidroflavonol, flavanonlar ve toplam fenolikler gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içermekte ve bu bileşiklerin biyolojik aktivite ile güçlü bir ilişkisi bulunmaktadır (Bankova, 2005; Stan ve ark., 2011; Oruç ve ark., 2017). Ayrıca, propolisin sinamik asit, gallik asit, kafeik asit, galangin, luteolin, naringenin, pinocembrin, kaempferol, quercetin, rutin, p-kumarik asit, ferulik asit ve kafeik asit fenilettil ester gibi bireysel bileşenleri, biyolojik ve destekleyici özelliklere sahiptir.

Propolisin biyokimyasal yapısı coğrafi konuma, mevcut bitki örtüsüne, iklim bölgelerine ve toplama yöntemine bağlı olarak değişiklik gösterir. Ayrıca, sıcaklığın propolisin biyokimyasal bileşenleri üzerindeki etkisi ve toplama zamanı gibi faktörlere bağlı olarak da değişebilir [Salatino ve ark., 2005; Li ve ark., 2008; Lotti ve ark., 2010; Bankova ve ark., 2014; Wezgowiec ve ark., 2020)

Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Propolis Kullanımının Önemi

Propolisin su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımı ile çeşitli faydalar sağlanabileceği bilinmektedir. Antioksidan özellikleri sayesinde, sağlıklı ürünler yetiştirmeye destek olur. Aynı zamanda antibakteriyel ve antiviral etkileriyle, su ürünlerini hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterir. Ayrıca, propolis kullanımıyla kimyasal ilaçların kullanımının azaltılması ile birlikte hem çevre üzerinde olumlu etkiler yaratır ve sürdürülebilir yetiştiricilik uygulamalarına katkıda bulunur. Propolisin su ürünleri yetiştiriciliği ve balık besleme alanında ne amaçlarla kullanıldığı, hangi araştırmalar konu olduğu ve etkileri daha detaylı olarak alt başlıklarda açıklanmıştır.

Üreme ve gonad gelişimi üzerine etkisi

Su ürünleri yetiştiriciliğinde üretim sağlıklı anaç bireylerin kullanılması ile olmaktadır. Dolayısıyla anaçlarda gonad gelişimi ve üreme performansı üzerine yapılan çalışmalarda amaç sağlıklı larvaların elde edilmesi ve yüksek yaşama oranıdır.

Abbas ve ark., (2012), Nil tilapiyalarında yaptıkları çalışmada erkek ve dişi bireylerde yemlere eklenen propolis ve bal arısı poleni (BAP) etkisini incelemiştir. Yemlere %2,5 oranında eklenen bu katkı maddelerinin kullanılmasıyla dişi ve erkek bireylerde pozitif sonuçlar alınmıştır. Dişilerde olgunlaşmış yumurta miktarını arttırdığı, mikroskopik incele-

melerde ise ovaryumlardaki 4 mm üzerindeki oositlerin sayısının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Erkek bireylerde ise sperm kalitesi, testiküler ağırlık, gonad somatik indeks değerleri kontrol grubuna göre daha iyi bulunmuştur. Diğer taraftan propolis ilavesi yemle beslenen erkek bireylerin sperm baş kısmı anormallikleri diğer gruplara nispeten biraz daha yüksek bulunmuştur. Çalışma sonunda suda çözünmüş propolisin gonad gelişimi ve performansı üzerine pozitif sonuçlarının olduğu belirtilmiştir.

Santos ve ark., (2019) Nil tilapylarında larva ve juvenil aşamalarında yapmış oldukları çalışmada, 0, 1, 2, 3 ve 4g/kg oranında etanolde ekstrakte edilmiş propolis etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda 1g/kg oranında propolis içeren yemlerle beslenen juvenil bireylerde kondisyon faktörü, büyüme, besinsel kompozisyon değerlerindeki sonuçların diğer gruplara nazaran daha iyi olduğu ve bu sonuçların aynı zamanda iyi bir üreme performansını da sağlayacağı belirtilmiştir.

İmmün sistem üzerine etkisi

Balık sağlığı bilindiği üzere yetiştiricilik koşullarında dikkate edilmesi gereken konuların başında gelmektedir. Bu amaçla propolisin balık immün sistemi üzerine etkilerini içeren araştırmalar yapılmıştır (Rodriguez ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2009; Jaing ve ark., 2015).

Nil tilapyları üzerine yapılan bir araştırmada, yemlere 1% oranında ham (işlenmemiş ya da ekstrakte edilmemiş) propolis ve EEP (etanolde ekstrakte propolis) eklenmesinin balıkların lenfosit ve hematokrit seviyelerini önemli ölçüde iyileştirdiği ve EEP'in monosit oranını ve lizozim aktivitesini geliştirdiği saptanmıştır (Abd-El-Rhman, 2009). Diğer bir çalışmada ise, Deng ve ark., (2011), yemlere farklı oranlarda (1, 2 ve 4 g/kg) EEP eklenmesinin gökkuşağı alabalıklarında plazmasındaki lizozim aktivitesi, süperoksit dismutaz ve toplam antioksidan kapasitesi gibi adaptif bağışıklık değişkenlerini önemli ölçüde iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Yine alabalıklarda yapılan bir araştırma sonuçlarına göre, yemlere 0,5, 1 ve 2 g/kg oranlarında EEP ilavesi sonrası ilk 96 saat yemleme sonrasında plazma lizozim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını gözlemlenmiştir (Tukmechi ve ark., 2014).

Bazı çalışmalarda ise balıklara intraperitoneal enjeksiyon denenmiştir. *Carassius auratus gibelio* ile yapılan çalışmada *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilen balıklara (50 mg/mL) intraperitoneal uygulama yapılmış ve çalışma sonunda immün sistemdeki lökosit aktivitesinin arttığını, enfeksiyona verilen stres tepkilerini hafiflettiğini saptamışlardır (Chu, 2006). Çipuralarda ise hem periton (5 mg/mL) hem de yeme ilave uygulanmış (10 g/kg), peritona enjekte edilen gruplarda diğer gruplara nazaran daha yüksek bağışıklık verilerinin elde edildiği bildirilmiştir (Cuesta ve ark.,

2005). Zhang ve ark., (2012), kalkan balığı parametrelerin önemli ölçüde iyileştirdiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmaların yanı sıra, immün sistem üzerine yapılan birçok araştırmada, farklı ekstraksiyon metodlarıyla elde edilen propolis yine farklı balıklar üzerinde uygulanmış ve pozitif sonuçlar alınmıştır. *Anguilla japonica* ve *Myxocyprinus asiaticus* türlerinde 5-10 g/kg ham propolisin yemlere eklenmesi sonucunda her iki balık türünde de lizozim aktivitesi ve fagositoz seviyelerinin pozitif yönde etkilendiği saptanmıştır (Bae ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2009). Levrekler üzerine yapılan bir diğer araştırmada ise, balıklar düşük sıcaklıklaramaruz bırakılmışlar ve yemlerinde 2,5 g/kg suda ekstrakte edilmiş propolis eklenmiş. Çalışma sonunda (10 hafta) kandaki glikoz ve kortizol seviyelerinin azaldığı görülmüş ve propolisin olumlu yönde katkısının olduğu belirtilmiştir (Segvic-Bubic ve ark., 2013). Jaing ve ark., (2015), kanal yayın balığındaki (*Ictalurus punctatus*) *S. iniae* enfektesine karşı propolis enjektisi ve C5a peptidaz kombinasyonu denemişlerdir. Bu grubun kontrol grubuna nazaran daha yüksek antikor seviyeleri, artan lizozim aktivitesi ve yüksek hayatta kalma oranı ile hücrel ve humoral immün sistem tepkilerini uyardığını saptamışlardır.

Talas ve Gülhan (2009) yaptıkları araştırmada, alabalıkların, 20 veya 30 mg/L propolis ilave edilen yemlerle beslenmesi sonucunda, balıkların kanındaki toplam lökosit sayısının, trigliserit, toplam kolesterol, glikoz, üre nitrojeni, amilaz, gama glutamil transferaz ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Antimikrobiyal ve Anti-inflamatuar etkisi

Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde balıklar çevresel etkenlere maruz kalır ve farklı patojen kaynaklarının neden olduğu enfeksiyonlara karşı oldukça hassas olurlar. Patojenler balık popülasyonlarında kayda değer mortalite ve morbiditeye neden olarak üretim verimliliğinde düşüğe neden olur ve sonuçta balık çiftliklerinde yüksek ekonomik kayıplara neden olur. Bilindiği gibi bu olumsuz durumları kontrol altına almak amacıyla sentetik kimyasal bileşikler kullanılır. Fakat son yıllarda hem yemlerde katkı maddesi olarak hem de banyo tarzı ya da peritonal enjeksiyon yolu ile doğal bileşiklerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Propolisin bazı patojenik balık türlerine karşı antifungal, antibakteriyel ve antiparaziter etkileri gibi antimikrobiyal aktivitesi, propolisi popüler bir araştırma konusu haline getirmiştir (Vallado ve ark., 2015; Dawood ve ark., 2020; Hatha ve ark., 2005).

Nil tilapyaalarında *A. barbadensis* ve propolis ekstraktlarının karışımı (5 ve 10 g/kg) ile hazırlanan yemlerle beslendiğinde parazit sayılarının (*Scutogyrus longicornis*, *C. thurstonae*, *C. halli* ve *Cichlidogyrus sclerosus*) %83-85 oranında azaldığı bildirilmiştir (Dotta ve ark., 2015).

Propolisin, makrofajlar tarafından mikrobisidal bileşiklerin sentezini arttırdığı, dolayısıyla edinilen bağışıklık tepkisini pozitif etkilediği veya konakçı dokulardaki parazitlerin neden olduğu lezyonları azalttığı belirlenmiştir (Correa ve ark., 2020).

Su ürünleri yetiştiriciliği yemlerinde kullanılan propolis ürünleri antimikrobiyal aktivitelerine göre farklılık gösterir (Przybyłek ve Karpinski, 2019). Eter ekstraktı propolis ürünü *Aeromonas hydrophila* kolonilerine karşı kullanıldığında su ekstraktı propolise göre daha etkili bulunmuştur (Stratev ve ark., 2012).

Tukmechi ve ark., (2010), in vitro çalışmada eter ekstraktı propolisin *Streptococcus iniae*, *Yersinia ruckeri* ve *A. hydrophila* gibi çeşitli mikrobiyal patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) ve minimum bakteri öldürücü (MBC) konsantrasyonlara ulaşılmıştır.

Propolis ve sarımsak suyu ekstraktı karışımının, 6 ay boyunca 18 °C'de saklanan tilapia filetolarında mikrobiyal büyümede önemli bir azalmaya, daha yüksek lipid ve protein değerlerine ve gelişmiş organoleptik özelliklere neden olduğu saptanmıştır (Hassanin, ve El-Daly, 2013).

Velotto ve ark., (2010), %1 propolis ekstraktı kullanımının hem *Salmo trutta* hem de *O. mykiss* yumurtalarında mantar enfeksiyonlarından kaynaklanan ölüm oranını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Propolisin antiinflamatuvar etkilerinin moleküler mekanizmaları, onun NF- κ B aktivitesini inhibe etme yeteneğine bağlanmaktadır ve propolisin kronik inflamatuvar hastalıkların etkisinin azaltılmasında faydalı olabileceği belirtilmiştir (Woo ve ark., 2005; De Moura ve ark., 2011). Propolisin, metrifonat (Yonar ve ark., 2015), malathion (Yonar ve ark., 2014), arsenik (Talas ve ark., 2014), glifosat (Orun ve ark., 2013), krom (Yonar ve ark., 2012), klorpirifos (Yonar ve ark., 2012) ve oksitetrasiklin (Yonar ve ark., 2011), gibi farklı fiziksel stres faktörlerine maruz kalan balıklardaki tedavi edici etkileri ortaya konmuştur. Ayrıca, arı poleni ve propolis kullanımının malathiona maruz kalan Nil tilapyasında kromozom anormallikleri, DNA fragmantasyonu ve mikroküres yüzdesini azalttığı belirlenmiştir (Kandiel ve ark., 2014).

Yem kullanımı ve büyüme üzerine etkisi

Su ürünleri yetiştiriciliğinde suyun kalitesinin önemli olmasının yanı sıra, bir diğer önemli konu kullanılan yemlerdir (Özcan ve Taşbozan, 2022). Özellikle entansif yetiştiricilik koşullarında yem maliyeti toplam maliyetin %50'si veya daha fazlası olabilir (De la Cruz-Cervantes ve ark., 2018). Dolayısıyla yapılan araştırmalarda hem yemin efektif kullanımı ve hem de gelişmenin optimum seviyede sağlanması için ham madde ve katkı madde kaynakları yemlere ilave edilmektedir.

Propolis bileşiklerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin balıklarda bağırsak sağlığını dolayısıyla sindirimi ve emilimi iyileştirdiğine ve sonuçta büyüme performansını arttırdığı bazı çalışmalarda tespit edilmiştir (Denli ve ark., 2005; Seven, 2008; Deng ve ark., 2011; Bae ve ark., 2012; Farag ve ark., 2021). Buna ek olarak, propolis içinde bulunan esansiyel mineraller (Fe, Al, Mn) ve vitaminler (B1, C, E), sindirim kofaktörlerini ve enzim aktivitesini iyileştirerek, balıklarda ağırlık artışıyla birlikte besin maddelerinin daha iyi emilmesine ve sindirilmesine yardımcı olduğu belirlenmiştir. (Abd-El-Rhman, 2009).

Nil tilaplarında, yemlere eter ekstraktı propolis (4g/kg) eklenmesinin kontrol grubu balıklarına göre büyüme performansını, vücut kompozisyonunu, yem sindirilebilirliğini, immunolojik durumu ve ekonomik verimliliği önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir (Shahin ve ark., 2019). Yine aynı balıklarda yapılan çalışmada ürünün 10 g/kg oranında kullanılması ile yem in efektif kullanımı için alınan tüm verilerin kontrol grubuna göre daha olumlu sonuçlar gösterdiği saptanmıştır (Abd-El-Rhman, 2009). Ham propolisin 2,2 g/kg kullanımını juvenil *O.niloticus*'ta ağırlıkta önemli bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Meurer ve ark., 2009). Nil Tilapyası (6-7 aylık) yemlerine 25 g/kg su ekstraktı propolis ürünü kullanıldığında ortalama günlük büyüme, spesifik büyüme, ve yem kullanım değerlerinin önemli ölçüde daha iyi gözlemlenmiştir (Abbass ve ark., 2012). Yaklaşık 12 haftalık büyüklükte olan Nil tilaplarının yemlerine 5 g/kg eter ekstraktı propolis eklenmesi sonucunda, kondisyon faktörünü (K), protein verimlilik oranını, yem değerlendirme ve spesifik büyüme oranlarında pozitif sonuçlar alındığı belirlenmiştir (Wafaa ve ark., 2014).

Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*), diyetle 2 ve 4 g/kg dozlarında eter ekstraktı propolis eklenmesi ve 10 hafta boyunca balıkların yemlenmesiyle, canlı ağırlık artışında, spesifik büyüme oranında ve yem kullanım değerlerinde önemli ölçüde olumlu sonuçlar alınmıştır (Deng ve ark. 2012). Yine aynı tür için, 12 hafta boyunca diyetle 1 ve 3 g/kg propolis eklenmesinin canlı ağırlığı ve FCR'yi önemli ölçüde iyileştirdiği saptanmıştır (Kelestemur ve ark., 2012).

Diğer taraftan, juvenil alabalık yemlerine 0.5, 1 ve 2 g/kg konsantrasyonlarda eter ekstraktı propolis eklendiğinde balıklarda spesifik büyüme oranı, kondisyon faktörü ve canlı ağırlık artışı verilerinde belirgin bir pozitif sonuca ulaşılabilmiştir (Tukmechi ve ark., 2014). (Kashkooli ve ark., 2011), alabalıklarda 45 gün boyunca 0.5, 1.5, 4.5 ve 9 g/kg propolisilaceli yemlerle beslenmiş ve balıklar üzerinde hiçbir olumsuz fizyolojik ve yan etkiye neden olmadığı bulunmuştur. flavonoidler, fenolik asitler ve bunların esterleri gibi bazı bileşiklerinin varlığından dolayı gökkuşluğu alabalığı diyetinde bir immün sistemi uyarıcı ve antioksidan olarak güvenli bir şekilde kullanılabilceği belirtilmiştir.

Yavru yılan balıklarının (*Anguilla japonica*) yemlerinde 12 hafta boyunca 2.5 ile 5 g/kg arasındaki konsantrasyonlarda ham propolis kullanımı ile canlı ağırlık, spesifik büyüme oranı ve yem kullanımının önemli ölçüde olumlu etki sağladığı belirlenmiştir (Bae ve diğerleri, 2012). Levreklerde (*Dicentrarchus labrax*) ise, yemlere 2.5 g/kg suda ekstrakte edilmiş propolis ilavesi sonucunda kontrol grubuna nazaran yem değerlendirme oranı, spesifik büyüme oranı daha iyi bulunmuştur (Segvic-Bubic ve ark., 2013).

Panga türü (*Pangasius djambal*) ile yapılan bir çalışmada ise, yemlerdeki propolis eter ekstraktının spesifik büyüme oranı, canlı ağırlık artışı- nı iyileştirdiği tespit edilmiştir (Nur ve ark., 2017).

Sazan balıkları (*Cyprinus carpio*) diyetine 1, 2, 3 ve 4 g/kg eter ekstraktı propolis konsantrasyonları eklendiğinde önemli bir fark olmadığı bildirilmiş ve propolisin muhtemelen sazanın patojen ajanlarını kontrol etmeyi başaramadığı sonucuna varılmıştır (Uzcay ve ark., 2011).

Sonuç

Su ürünleri yetiştiriciliği ve özellikle besleme alanında maksimum faydayı minimum masraf ile elde etmek ilk prensiptir. Bu amaçla, yemlerin balıklar tarafından etkin kullanımı sağlıklı ürünler elde etmek ve ekonomik fayda sağlamak üzerine yoğunlaşan araştırmalar sonucunda daha çok yemlere farklı ham madde ve katkı maddelerinin kullanımı vazgeçilmez olmuştur. Bu doğrultuda, son yıllarda propolisin kullanımı ve etkileri bazı çalışmalar ile ortaya konulmuş, olumlu sonuçların alındığı görülmüştür. Bu duruma ek olarak, propolis kullanımının su ürünleri yetiştiriciliğinde hem bilimsel ve hem de sektörel anlamda önemli bir yer edineceği görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbass, A.A., El-Asely, A.M., Kandiel, M.M.M., 2012. Effects of dietary propolis and pollen on growth performance, fecundity and some hematological parameters of *Oreochromis niloticus*, Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 12: 851–859.
- Abdelnour, S.A., Abd El-Hack, M.E., Alagawany, M., Farag, M.R., Elnesr, S.S., 2019. Beneficial impacts of bee pollen in animal production, reproduction and health, J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 103: 477–484.
- Abdelnour, S.A., Abd El-Hack, M.E., Alagawany, M., Taha, A.E., Elnesr, S.S., AbdElmonem, O. M., Swelum, A.A., 2020. Useful impacts of royal jelly on reproductive sides, fertility rate and sperm traits of animals, J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., <https://doi.org/10.1111/jpn.13303>.
- Abd-El-Rhman, A.M.M., 2009. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fish Shellfish Immunol. 27: 454–459, <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.06.015>.
- Alagawany, M., Farag, M.R., Abdelnour, S.A., Elnesr, S.S., 2020a. A review on the beneficial effect of thymol on health and production of fish, Rev. Aquacult. <https://doi.org/10.1111/RAQ.12490>.
- Alagawany, M., Farag, M.R., Salah, A.S., Mahmoud, M.A., 2020b. The role of oregano herb and its derivatives as immunomodulators in fish, Rev. Aquacult. <https://doi.org/10.1111/raq.12453>.
- Bae, J.Y., Park, G.H., Lee, J.Y., Okorie, O.E., Bai, S.C., 2012. Effects of dietary propolis supplementation on growth performance, immune responses, disease resistance and body composition of juvenile eel. *Anguilla Japonica*. Aquac. Int., 20 (3): 513–523. doi:10.1007/s10499-011-9482-4.
- Bankova, V., 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization, J. Ethnopharmacol. 100: 114–117.
- Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B., 2014. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review, Chem. Cent. J. 8: 1–8.
- Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis), Food Chem. Toxicol. 36: 347–363.
- Chu, W.H., 2006. Adjuvant effect of propolis on immunisation by inactivated *Aeromonas hydrophila* in carp (*Carassius auratus gibelio*), Fish Shellfish Immunol. 21: 113–117.
- Correa, J.L., Veiga, F.F., Jarros, I.C., Costa, M.I., Castilho, P.F., de Oliveira, K.M., et al., 2020. Propolis extract has bioactivity on the wall and cell membrane of *Candida albicans*, J. Ethnopharmacol. 256: 112791.
- Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A., Meseguer, J., 2005. In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses, Fish Shellfish Immunol. 18: 71–80.

- Dawood, M.A.O. Abdel-Tawwab, M., Abdel-Latif, H.M.R., 2020. Lycopene reduces the impacts of aquatic environmental pollutants and physical stressors in fish, *Rev. Aquacult.* 1–16, <https://doi.org/10.1111/raq.12455>.
- De la Cruz-Cervantes, J.A., Benavides-González, F., Sánchez-Martínez, J.G., de la Luz Vázquez-Sauceda, M., Ruiz-Urbe, A.J., 2018. Propolis in Aquaculture: A Review of Its Potential, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26:3, 337-349, DOI: 10.1080/23308249.2018.1424798
- De Moura, S.A., Ferreira, M.A., Andrade, S.P., Reis, M.L., Noviello Mde, L., Cara, D.C., 2011. Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model, *Evid. base Compl. Alternative Med.* 2011: 182703.
- Deng, J. M., An, Q. C., Bi, B.L., Wang, Q.J., Kong, L.F., Tao, L.L., Zhang, X., 2011. Effect of ethanolic extract of propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.*, 37 (4): 959–967. doi:10.1007/s10695-011- 9493-0.
- Denli, M., Cankaya, S., Silici, S., Okan, F., Uluocak, A.N., 2005. Effect of dietary addition of Turkish propolis on the growth performance, carcass characteristics and serum variables of quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 18(6): 848–854 doi:10.5713/ ajas.2005.848.
- Dotta, G., Brum, A., Jeronimo, G.T., Maraschin, M., Martins, M.L., 2015. Effect of dietary supplementation with propolis and *Aloe barbadensis* extracts on hematological parameters and parasitism in Nile tilapia, *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 24: 66–71.
- El-Guendouz, S., Lyoussi, B., Miguel, M.G., 2019. Insight on propolis from Mediterranean countries: chemical composition, biological activities and application fields, *Chem. Biodivers.* 16: e1900094.
- Farag, M.R., Abdelnour, S.M., Patra, A.K., Dhama, K., Dawood, M.A.O., Elnesr, S.S., Alagawany, M., 2021. Propolis: Properties and composition, health benefits and applications in fish nutrition. *Fish and Shellfish Immunology*, 115: 179–188.
- Ghisalberti, E. L., 1979. Propolis: a review. *Bee World*, 60: 26–84. doi:10.1080/0005772X.1979.11097738.
- Grange, J. M., and R. W. Davey., 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.*, 83(3): 159–160.
- Hassanin, S.I.A., El-Daly, E.S.A., 2013. Effect of propolis and garlic on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fillets during frozen storage, *J. Arab. Aquacult. Soc.* 8: 237–247.
- Hatha, M., Vivekanandhan, A.A., Joice, G.J., 2005. Antibiotic resistance pattern of motile aeromonas from farm raised fresh water fish, *Int. J. Food Microbiol.* 98: 131–134.

- Jiang, J., Zheng, Z.L., Wang, K.Y., Wang, J., He, Y., Wang, E.L., 2015. Adjuvant immune enhancement of subunit vaccine encoding pSCPI of *Streptococcus iniae* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), Int. J. Mol. Sci.16: 28001–28013.
- Kandiel, M.M.M., El-Asely, A.M., Radwan, H.A., Abbass, A.A., 2014. Modulation of genotoxicity and endocrine disruptive effects of malathion by dietary honeybee pollen and propolis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), J. Adv. Res. 5: 671–684.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y., Kadota, S., 2008. Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure–activity relationship, Bioorg. Med. Chem. 16: 5434–5440.
- Kashkooli, O.B., Dorcheh, E.E., Mahboobi-Soofiani, N., Samie, A., 2011. Long-term effects of propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Ecotoxicol. Environ. Saf., 74 (3): 315–318. doi:10.1016/j. ecoenv.2010.10.014.
- Kelestemur, G.T., Seven, P.T., Yilmaz, S., 2012. Effects of dietary propolis and vitamin E on growth performance and antioxidant status in blood of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Teleostei: Salmoniformes) under different flow rates. Zoologia (Curitiba), 29 (2): 99–108.
- Lotti, C., Fernandez, M.C., Piccinelli, A.L., Cuesta-Rubio, O., Hernandez, I.M., Rastrelli, L., 2010. Chemical constituents of red Mexican propolis, J. Agric. Food Chem. 58: 2209–2213.
- Mahmoud, H.K., Reda, F.M., Alagawany, M., Farag, M.R., 2021. The stress of abamectin toxicity reduced water quality, growth performance, immunity and antioxidant capacity of *Oreochromis niloticus* fish: modulatory role of *Simmondsia chinensis* extract as a dietary supplement, Aquaculture 534: 736247.
- Manrique, A., Santana, W., 2008. Flavonoides, actividades anti-bacteriana y antioxidante de propoleos de abejas sin aguijon, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Ven-ezuela, Zootec. Trop. 26: 157–166.
- Marcucci, M. C., Ferreres, C. Garcia-Viguera, V. S. Bankova, S. L. De Castro, A. P. Dantas, P. H. M. Valente, and N. Paulino., 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J. Ethnopharmacol., 74(2): 105– 112. doi:10.1016/S0378-8741(00)00326-3.
- Margaretha, I., Suniarti, D.F., Herda, E., Mas’ud, Z.A., 2012. Optimization and comparative study of different extraction methods of biologically active components of Indonesian propolis *Trigona* spp, J. Nat. Prod. 5: 233–242.
- Massaro, C., Katouli, M., Grkovic, T., Vu, H., Quinn, R.J., Heard, T.A., 2014. Antistaphylococcal activity of C-methyl flavanones from propolis of Australian stingless bees (*Tetragonula carbonaria*) and fruit resins of *Corymbia torelliana* (Myrta-ceae), Fitoterapia 95: 247–257.

- Meurer, F., da Costa, M.M., de Barros, D.A.D., de Oliveira, S.T., da Paixao, P.S., 2009. Brown propolis extract in feed as a growth promoter of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) fingerlings. *Aquac. Res.*, 40(5): 603–608. doi:10.1111/j.1365-2109.2008.02139.x.
- Mioso, R., Marantea, F.J.T., de Lagunab, I.H.B., Besso-nartc, M., 2014. Química de productos naturales aplicada a la acuicul-tura: una revision interdisciplinar, *Quim. Nova* 37: 513–520.
- Nur, F.M., Nugroho, R.A., Fachmy, S., 2017. Effects of propolis (*Trigona* sp.) extract supplementation on the growth and blood profile of *Pangasius djambal*. *AIP Conf. Proc.*, 1813 (1): 020024.
- Orsi, R.O., Funari, S.R.C., Barbattini, R., Giovani, C., Frilli, F., Sforcin, J.M., Bankova, V., 2006. Radionuclides in honeybee propolis (*Apis mellifera* L.), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76: 637–640.
- Oruç, H.H., Sorucu, A., Ünal, H.H., Aydin, L., 2017. Effects of season and altitude on biological active certain phenolic compounds levels and partial standardization of propolis, *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.* 64 (2017) 13–20, https://doi.org/10.1501/Vetfak_0000002767.
- Orun, I., Dogru, M.L., Erdogan, K., Dogru, A., Ongun, A., Yuksel, E., Talas, Z.S., 2013. Effects of acute and chronic exposure to glyphosate on common carp (*Cyprinus carpio* L.) hematological parameters: the beneficial effect of propolis, *Fresenius Environ. Bull.* 22: 2504–2509.
- Özcan, F., Taşbozan, O., 2022. Effects Of Dietary Lipase Supplementation On Digestive Enzyme Activity And Growth Metrics Of Juvenile Gilthead Seabream (*Sparus Aurata* L.). *Comptes Rendus De L'acad_Emie Bulgare Des Sciences*, 75: No 9. Doi:10.7546/Crabs.2022.09.17
- Przybyłek, I., Karpinski, T.M., 2019. Antibacterial properties of propolis, *Molecules* 24: 2047.
- Ramos, A.F.N., Miranda, J.D., 2007. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions, *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 13 (4): 697–710.
- Rodriguez, F., Esteban, M., Meseguer, J., Bravo, M., Gomez, G., Rojas-Luna, T., 2003. Estrategias de Control de Enfermedades en Acuicultura, in: II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, CIVA 624–654.
- Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G., Message, D., 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis, *Evid. base Compl. Alternative Med.* 2: 33–38.
- Santos, L.D., Zadinelo, I.V., Silva, L.C.R., Zilli, R.L., Barreiros, M.A.B., Maurerwerk, M.T., Meurer, F., 2019. Alcoholic extract of propolis in Nile tilapia post-larvae and fingerlings' diets: effects on production performance, body composition and intestinal histology. *An Acad Bras Cienc* 91: e20180297. DOI.10.1590/0001-3765201920180297

- Segvic-Bubic, T., Boban, J., Grubisic, L., Trumbic, Z., Radman, M., Percic, M., Coz-Rakovac, R., 2013. Effects of propolis enriched diet on growth performance and plasma biochemical parameters of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under acute low temperature stress. *Aquacult. Nutr.*, 19(6): 877–885. doi:10.1111/ anu.12032.
- Seven, P.T., 2008. The effects of dietary Turkish propolis and vitamin C on performance, digestibility, egg production and egg quality in laying hens under different environmental temperatures. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 21(8): 1164–1170. doi:10.5713/ajas.2008.70605.
- Shahin, S., Eleraky, W., Elgamal, M., Hassanein, E., Ibrahim, D., 2019. Effect of olive leaves and propolis extracts on growth performance, immunological parameters and economic efficiency using Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Zagazig Veter. J.* 47 (4): 447–458, <https://doi.org/10.21608/zvjz.2019.17129.1085>.
- Stan, L., Marghitas, L.A., Dezmirean, D., 2011. Quality criteria for propolis standardization, *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 44: 137–140.
- Stratev, D., Dinkov, D., Vashin, I., 2012. Antibacterial effect of extracts from Bulgarian's "poplar" propolis and Smoke tree (*Cotinus coggigria* Scop.) against *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7965), *Rev. Med. Vet. (Toulouse)* 163: 443–447.
- Talas, Z.S., Gülhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72: 1994–1998.
- Talas, Z.S., Gulhan, M.F., Erdogan, K., Orun, I., 2014. Antioxidant effects of propolis on carp *Cyprinus carpio* exposed to arsenic: biochemical and histopathologic findings, *Dis. Aquat. Org.*, 241–249.
- Tukmechi, A., Ownagh, A., Mohebbat, A., 2010. In vitro antibacterial activities of ethanol extract of Iranian propolis (EEIP) against fish pathogenic bacteria (*Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri* & *Streptococcus iniae*), *Braz. J. Microbiol.* 41: 1086–1092.
- Tukmechi, A., Rad, F.K., Farrokhi, F., Agh, N., Jalili, R., 2014. The effects of short- and long-term diet supplementation with Iranian propolis on the growth and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Iran. J. Fish. Sci.* 15:250–255.
- Uczay, J. Lazzari, R., Pianesso, D., Adorian, T.J., Mombach, P.I., and A. Decarli. 2011. Evaluation of propolis as growth promoter for the common carp (*Cyprinus carpio*). *Rev. Scientif. FCVLUZ*, 21(5): 408–413.
- Wafaa, E., I. Doaa, El-Murr, A., Rania, M., 2014. Effects of dietary inclusion of black cumin seeds, green tea and propolis extraction on growth parameters, body composition and economic efficiency of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *World J. Fish Mar. Sci.*, 6(5): 447–452.

- Walgrave, S. E., E. M. Warshaw, and L. A. Glesne., 2005. Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis*, 16(4): 209–215
- Wezgowiec, J., Wieczynska, A., Wieckiewicz, W., Kulbacka, J., Saczko, J., Pachura, N., 2020. Polish propolis-chemical composition and biological effects in tongue cancer cells and macrophages, *Molecules* 25: 2426.
- Wolska, K., G'orska, A., Antosik, K., Ługowska, K., 2019. Immunomodulatory effects of propolis and its components on basic immune cell functions, *Indian J. Pharmaceut. Sci.* 81: 575-405.
- Woo, K.J., Jeong, Y.J., Inoue, H., Park, J.W., Kwon, T.K., 2005. Chrysin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of nuclear factor for IL-6 (NF-IL6) DNA-binding activity, *FEBS Lett.* 579:705–711.
- Valladao, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2015. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease, *J. Veter. Pharmacol.* 38: 417–428.
- Yonar, M.E., Yonar, S.M., Silici, S., 2011. Protective effect of propolis against oxidativestress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.), *Fish Shellfish Immunol.* 31: 318–325.
- Yonar, M.E., Yonar, S.M., Coban, M.Z., Eroglu, M., 2012. The effect on paraoxonase and arylesterase activities of propolis against chromium in *Cyprinus carpio*, *Fresenius Environ. Bull.* 21: 1399–1402.
- Yonar, M.E., Yonar, S.M., Ural, M.S., Silici, S., Dusukcan, M., 2012. Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio*, *Food Chem. Toxicol.* 50: 2703–2708.
- Yonar, S.M., Ural, M.S., Silici, S., Yonar, M.E., 2014. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant *Saf.* 102: 202–209.
- Yonar, M.E., Yonar, S.M., Pala, A., Silici, S., Saglam, N., 2015. Trichlorfon-induced haematological and biochemical changes in *Cyprinus carpio*: ameliorative effect of propolis, *Dis. Aquat. Org.* 114: 209–216.
- Zhang, G.B., Gong, S.Y., Yu, D.H., Yuan, H.W., 2009. Propolis and *Herba epimedii* extracts enhance the non-specific immune response and disease resistance of Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*, *Fish Shellfish Immunol.* 26: 467–472.
- Zhang, Z., Wang, Y.G., Wang, Q.Y., Deng, N.N., Liao, M.J., Qu, J.B., 2012. Study on the immune enhancement of different immuno-adjuvants used in the pentavalent vaccine for turbot, *Fish Shellfish Immunol.* 32: 391–395.

Bölüm 3

BALIKLARDA GÖRÜLEN PARAZİTİK HASTALIKLARIN TEŞHİSİNDE LAZER TARAMALI KONFOKAL MİKROSKOP (LTKM) KULLANIMI

Seyit Ali KAMANLI¹

¹ Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji ABD, 15030, Burdur- TÜRKİYE,
e-mail: sakamanli@mehmetakif.edu.tr

Giriş

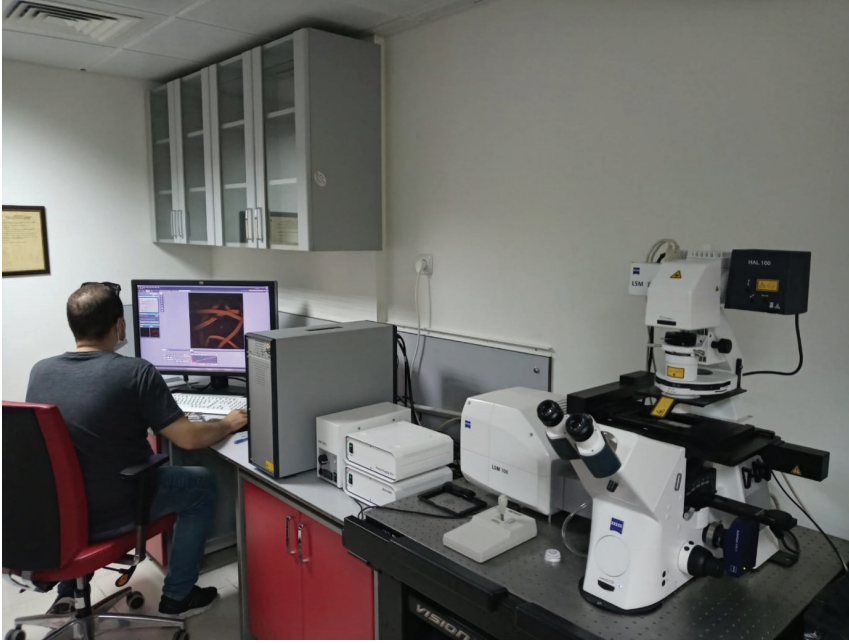
Mikroskobun icadından beri görüntüleme teknikleri her alanda, özellikle canlı biliminde çok önemli verilerin ortaya çıkarılmasında büyük bir rol üstlenmiştir. Bu açıdan mikroskopların gelişimi ile bilimin gelişimi tarih boyunca doğru orantılıdır ve mikroskoplar bu doğrultuda çeşitli değişimlere uğramıştır. Her ne kadar eski çağlardan beri basit cam mercekleri kullanılmış olsa da mikroskobun icat tarihi 16. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Birçok basit mikroskoba en önemli katkıyı sağlayan Robert Hooke bu alanda öncü sayılmaktadır (Paddock, 1998). Hooke'un basit mikroskop dizaynı dönüm noktası olarak kabul edilirse, ardından gelen birçok modern mikroskop türü bu basit ve temel kurallara dayandırılarak üretilmiştir (Murphy ve Davidson, 2012). Floresan mikroskobu, ters (inverted) mikroskop, polarizasyon mikroskobu, interferans mikroskop, aydınlık ve karanlık saha mikroskopları, diffransiyel interferans kontrast mikroskobu (DIC), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), ses mikroskobu, polarizasyon (kutuplaştırma) mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu (SEM), lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM), Micro-CT (Micro Computed Tomography- Mikro Bilgisayarlı Tomografi), Nano-CT (Nano Bilgisayarlı Tomografi), microMRI (Magnetic Resonance Imaging), fMRI (Functional Magnetic Resonance Imaging), microPET (Mikro- Positron Emission Tomography) gibi günümüzün gelişkin mikroskopları ve modern görüntüleme teknikleri çok boyutlu ve değişik parametrelili verilerin görselleştirilmesinde öncü olmuşlardır. Bu görüntüleme teknikleri, biyolojik materyallerin doku özellikleri ve yüzey alanı gibi bazı biyolojik, anatomik, fiziksel özellikleri hakkında bilgi toplamak için günümüzde başvurulan en önemli yollardandır (Eils, 2003; Kherlopian ve ark., 2008).

Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (LTKM) (Şekil 1)

Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (LTKM)'un öncüsü 1957 yılında patent başvurusunda bulunan Marvin Minsky olarak bilinir (Pawley, 2006). "Konfokal", "aynı odağa sahip olan" anlamına gelir. Son görüntünün nesnedeki odak noktasıyla aynı odağa sahip olması veya odağın nesnedeki odak noktasına karşılık gelmesidir. Yani nesne ve görüntüsü "eş odaklıdır" (Amos, 2003). Bir anlamda floresan mikroskobundaki mantıktan farklı olarak fokal düzlemdaki gereksiz bilgiyi ayıklamak için düzlemdaki "pinhole" (iğne deliği, pim deliği) kullanılır (Can, 2018). Burada görüntüyü toplayan objektif, merceği sayısal açıklığa (numerical aperture) uyacak şekilde ayarlar ve bu şekilde görüntünün gerçek odak düzleminin dışından gelen fazla ışığı yansıtmaz (Peterson, 2010). Böylelikle, geleneksel bir mikroskop kullanıldığında bulanık görünecek bir numunenin keskin görüntüleri konfokal mikroskopla oluşturulur (Semwogerere ve Weeks, 2005). Tüm bu işlemler lazer kullanılarak yapıldığı için mikroskop "lazer taramalı" adını almıştır. Konfokal mikroskobun açıklamaları birçok ki-

tapta ayrıntılı olarak verilmiştir (White ve ark. 1987; Sheppard ve Shotton 1997; Paddock 2006; Pawley 2006; Price ve Jerome 2011). Ayrıca konfokal mikroskop üreten başlıca firmalar da bunların kullanımını ayrıntılı olarak açıklamaktadır. Firmaların ürettiği markalara özel olarak geliştirilen yeni özellikler de kullanıcıya yeni perspektifler kazandırmaktadır.

Konfokal mikroskopta bulunan sistemler özetlenecek olursa, standart bir ışık mikroskobundaki tarama aşamasını lazer yardımıyla; XY aşamasını objektif lensleri aracılığıyla bir odakta toplar ve bu aşamalar Z düzlemi olarak adlandırılan üçüncü bir düzlemde de gerçekleştirilir. Burada bu düzlemlerden elde edilen optik katmanlar pinhole (iğne deliği), dikroik aynalar ve detektör aracılığı ile yapılandırılarak üç boyutlu veriler elde edilir (Ball ve ark., 2017). Tüm bu sistem bilgisayar aracılığı ile bir uzman tarafından kontrol edilir ve mikroskoptan elde edilen görüntüler bilgisayarda saklanarak ilgili markanın sağladığı yazılım ile görüntülenip farklı işlemler yapılmak üzere tasarlanmıştır. Örneğin konfokal mikroskoptan elde edilen veriler tıpkı micro-CT'den alınan veriler gibi dijital görüntü işleme teknikleri ile segmentasyona elverişli bilgiler üretmenin yanısıra model oluşturma gibi stratejilere de katkıda bulunur (Kherlopian ve ark., 2008; Kamanli ve ark., 2017). Segmentasyon, görüntülenen bir hacimde ilgilenilen biyolojik aktivitenin gerçekleştiği bölgelerin ana hatlarıyla belirlenip tanımlanmasına yardımcı olabilir. Bu eylemi dijital olarak asıl örneğe zarar vermeden yapmak konfokal mikroskop verileriyle mümkündür (Kamanli ve ark. 2017). Böylece verilerin görselleştirilmesi için avantaj sağlanmaktadır (Eils ve Athale, 2003). Görüntüleme araçları farklılaştıkça incelenen organizmaların biyolojik süreçleri daha iyi anlaşılabilir ve biyolojik modellemeler oluşturulabilir. Bu şekilde incelenen biyolojik veriler daha detaylı sonuçlar verdiği gibi kullanıcının amacı doğrultusunda ayrıntılı incelemelerin gerçekleşmesini de sağlamaktadır.



Şekil 1. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop

Balıklardaki Parazitik Hastalıkların İncelenmesi

Dünyadaki organizmaların önemli bir kısmının hayatlarının bir bölümünde veya tamamında parazit olduğu değişmez bir gerçektir. Bu, potansiyel yeni parazitlerin tanımlanmasının önemini daha da arttırmaktadır (Bass ve ark., 2015; Paladini ve ark., 2017). Ayrıca sucul organizmaların her türünün hayatlarının tamamında veya belli bir bölümünde konakçı olması yani yaşamları boyunca en az bir kere parazite maruz kalmaları su ürünlerinde kuvvetle muhtemeldir (Paladini ve ark., 2017). Hem açık denizlerde hem de ekonomik gelir sağlamak için kurulan balık çiftliklerinde parazitik enfeksiyonlar ciddi anlamda sosyal, biyolojik ve ekonomik zararlara yol açabilir (Golvan, 1969, Fischthal ve Thomas, 1970; Fischthal, 1980; Johnson ve ark., 2004, Shinn ve ark., 2015, Hamdi ve ark., 2021a, 2021b). Balık çiftliklerinde mali kayıplar doğrudan tüm stoğun ölmesi veya bu hastalıklarla mücadelede, balıkların büyümesinin azalması, veteriner masraflarının artması ve ürünlerin kalitesinin düşmesi gibi fazla maliyetlere yol açmaktadır (Paladini ve ark., 2017). Dolayısıyla parazitler hastalıkların önlenmesinde böylesi maliyetli sorunlarla baş edebilmek için sürekli olarak yeni mücadele yöntemleri bulunmaktadır. Bu mücadelede mikroskopların önemini ise parazitler hastalıklarına sebep olan parazitlerin görüntülenmesi ve akabinde deskripsiyonu oluşturmaktadır.

LTKM Kullanılarak Tespit Edilen Balık Parazitleri

Su ürünlerinde balıklarda görülen parazitik hastalıklar çok çeşitlilik göstermektedir. O yüzden konfokal mikroskop kullanılarak incelenen ve balıklarda parazitler hastalıklara yol açan bazı canlı grupları bu yazının sınırları içinde ele alınmaktadır.

Protista alemi çoğu hayvan olmak üzere birçok canlı grubunda parazitik olarak yaşayan parafiletik bir gruptur. Suda yaşayan hayvanlar endoparazit, mezoparazit ve ektoparazit olmak üzere, kamçılılar, amipler, alveolateleri cercozoans, silliler gibi birçok tipik grupları içerir (Paladini ve ark., 2017).

Kamçılı protozoanlardan ve ektoparazitik dinoflagellat olan *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931)'un istilasından kaynaklanan "amyloodiniosis" hastalığı yetiştiriciliği yapılan Avrupa levreği, *Dicentrarchus labrax*, gibi balık türlerinde ekonomik olarak ciddi bir tehdittir. Adı geçen hastalık sıcak havalarda yetiştiriciliği yapılan balıkların ölüm oranlarını %100'e çıkarabilmektedir (Kuperman ve Matey, 1999). Bu yüzden konak-parazit ilişkileri daha önce incelenmesine rağmen, konuyu etraflıca araştırabilmek için 2022 yılında Massimo ve ark. tarafından konfokal mikroskop ilk defa kullanılarak enfekte olan trofonların 3 boyutlu morfolojisi yeniden yapılandırılmış ve bu sayede sabitleme ve beslenme yapıları için bir protein bileşimi önerilmiştir. Bu bulgular adı geçen çalışmada yeni profilaktik/terapötik kontrollerin geliştirilmesi için potansiyel bir başlangıç noktası sağlamıştır (Massimo ve ark., 2022). Konfokal mikroskopun tarihçesi ve etkililiği göz önünde bulundurulduğunda ciddi balık ölümlerine yol açan bu hastalığa karşı konfokal mikroskopun kullanımının geciktiği söylenebilir. Buna karşın kamçılı protozoanlardan olan ve tatlı su balıklarında enfeksiyon oluşturan *Piscinoodinium* enfeksiyonuna sebep olan *Piscinoodinium pillulare* ve *Piscinoodinium limneticum* türleri ile balıklarda Cryptobiosis hastalığına sebep olan *Cryptobia* grubu ise henüz LTKM kullanılarak incelenmemiştir. Siliatlı protozoan olan ve deri ile solungaçlara yerleşen *Trichodinosis* ve *Chilodonellosis* üzerine ise bu mikroskop kullanılarak yapılan çalışmalar bulunmamaktadır. Balıkları enfekte eden şeffaf ve sillerle kaplı beyaz benek hastalığına sebep olan ve ülkemizde de yaygın olan *Ichthyophthirius* cinsine ait olan tek tür *Ichthyophthirius multifiliis* ise (Yılmaz ve ark., 2011) konfokal mikroskop kullanılarak incelenmiştir. Sun ve ark. (2009) *I. multifiliis*'te endosembiyoz ortaklarının tespit edilip edilemeyeceğini belirlemek için Therontlar ve tomontları DAPI ile boyanmış ve örnekleri konfokal mikroskop ile incelenmiştir. Sonuç olarak bu yöntem ile parlak lekeli makronükleus ve mikronükleusa ek olarak sitoplazmada DAPI-pozitif endosembiyoz ortakları ortaya çıkarılmıştır. Ek olarak endosembiyoz ortaklarının sayısının doğru şekilde hesaplanmasına da konfokal mikroskop katkıda bulunmuştur.

Mathiessen ve ark. (2023) zebra balıklarında akut bağışıklık tepkileri ve *I. multifiliis* parazitinin davranışını incelemek için konfokal mikroskoptan etkili şekilde faydalanmış ve hücrelerin parazitlerle etkileşime girdiğinde fagosit hücre davranışını gösteren yüksek çözünürlüklü video kayıtları yakalanmıştır. LTKM kullanılarak hazırlanan videoda, nötrofillerin ve makrofajların bir parazite nasıl saldırdığı net bir şekilde gözlemlenmiştir. Protozan parazitlerden kaynaklı balık hastalıklarında LTKM kullanılarak yapılan çalışmalar yukarıda bahsi geçen çalışmalarla sınırlı olmasına rağmen, çalışmalarda etkili şekilde bu mikroskoptan faydalandığı görülmüştür.

Balıklarda endoparazitik protozoon enfeksiyonlarından birisi olan *Trypanosoma* enfeksiyonu, bilinen adıyla kan parazitleri konfokal mikroskop kullanılarak son yıllarda incelenmeye başlanmıştır. Oladiran ve Belosevic (2010) çalışmalarında konağın bağışıklık tepkilerini atlatmak için çeşitli stratejiler geliştirmiş, ekonomik açıdan önemli balık türlerinin hücre dışı bir parazit olan *Trypanosoma carassii*'yi incelemiştir. Çalışmalarda immünfloresan ve konfokal mikroskop kullanılarak TcaCRT'nin yüzey lokalizasyonunun değerlendirilmesi TcaCRT'nin parazit yüzeyinde ifade edilip edilmediği belirlenmiştir. Dóro ve ark. (2019) omurgalı bir konaktaki tripanozomların görselleştirilmesi, yeni yüzme davranışları, adaptasyonları ve bağlanma mekanizmalarını ortaya çıkarmak amacıyla zebra balıklarındaki *T. carassii*'yi incelemek için konfokal mikroskoptan faydalanmışlardır. Benzer çalışmalar yine Pietretti ve ark (2014) ve Akle ve ark. (2017) tarafından da aynı balık ve enfeksiyonlar kullanılarak çeşitlendirilmiştir. Diğer endoparazitik protozoan enfeksiyonlarından olan hexamita ve eimeria gibi enfeksiyonlar ise bu yöntem kullanılarak henüz incelenmemiştir.

Konfokal mikroskobun gelişimi minimum sayıda biyolojik örnek kullanılarak ve dokulara zarar vermeyerek üç boyutlu (3B) rekonstrüksiyonların üretimini kolaylaştırmaktadır (Kubinova, 2004). Suda yaşayan Cnidarian hayvanların bir alt şubesi olan ve tümü zorunlu parazitler olan Myxozöalar, balıklarda da paraziter yaşamını sürdürmektedir. Salmonid balıklarının miksozoan bir paraziti olan *Tetracapsuloides bryosalmonae*, bu balıklarda Proliferatif böbrek hastalığına (PKD) sebep olmaktadır (Hedrick, 1993). *Tetracapsuloides bryosalmonae*'nin yaşam döngüsünü, sporlarını ve morfolojisini incelemek için McGurk ve ark. (2005)'te konfokal mikroskop kullanarak başarılı sonuçlar elde etmiştir. Çalışmada, LTKM kullanılarak elde edilen görüntü dilimlerinin 3 boyutlu rekonstrüksiyonlarının Bryozoa'dan salınan *T. bryosalmonae* sporlarının varsayımsal bir önermeye izin verdiğinden bahsedilmektedir. Aynı zamanda LTKM'nin güçlü bir araç olduğunun ve miksozoan parazitlerin incelenmesinde minimum düzeyde malzeme işlenmesi gerektiğinden dolayı avantaj sağladığı üzerinde

durulmuştur. Bu çalışma LTKM'nin kullanımının malakospor sporlarının hücresel bileşenlerinin belgelenecek ilk 3 boyutlu görüntülemesi olduğunu iddia etmektedir. Sazan balığında (*Cyprinus carpio*) deri ve solungaç sphaerosporosis'e neden olan miksozoan bir parazit olan *Sphaerospora molnari*'nin parazit aşamalarını ise Hartigan ve ark. 2016'da bu mikroskobu kullanarak incelemiş ve etkili sonuçlar elde etmiştir. Benzer şekilde miksozoanlar Alama-Bermejo ve ark. (2019) tarafından DAPI ile boyanarak bu mikroskop yoluyla incelenmiştir.

Balıklarda helmint hastalıkları olarak bilinen helmint türü parazitlerin sebep olduğu ve özellikle kültür balıkçılığında ciddi hastalıklara ve ekonomik kayıplara neden olan trematod, sestod ve nematodların sebep olduğu hastalıklarda ise konfokal mikroskop kullanımı son yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır. Neitemeier-Duventester ve ark. (2022) yeni bir araç olarak LTKM'yi yeni toplanan ve müze örneklerindeki sestodlardan olan Trypanorhyncha'nın morfolojik karakterizasyonu için kullanmışlardır. Çalışmalarında Trypanorhyncha'daki taksonomik sorunların olduğu ve bu sorunların ışık mikroskobu yerine konfokal mikroskop ile hatalı deskripsiyonlarını düzeltmeyi amaçlamışlardır. LTKM ile oluşturulan görüntü yığınlarını Imaris yazılımı ile destekleyip çalışmalarında kullandıkları iki türün (*Otobothrium cysticum* (Mayer, 1842) ve *Symbothriorhynchus tigaminacantha* Palm, 2004) hem armatür desenlerini hem de iç organlarının 3 boyutlu görüntülerini elde etmeyi başarmışlardır. Çalışmanın sonucunda konfokal mikroskopta kullanılmak üzere sestod türlerine uygun gömme aparatları ve boyama yöntemleri de önerilmiştir. Bu alanda geçtiğimiz sene yayımlanan adı geçen çalışmanın gelecekte öncü çalışmalardan birisi olması muhtemeldir.

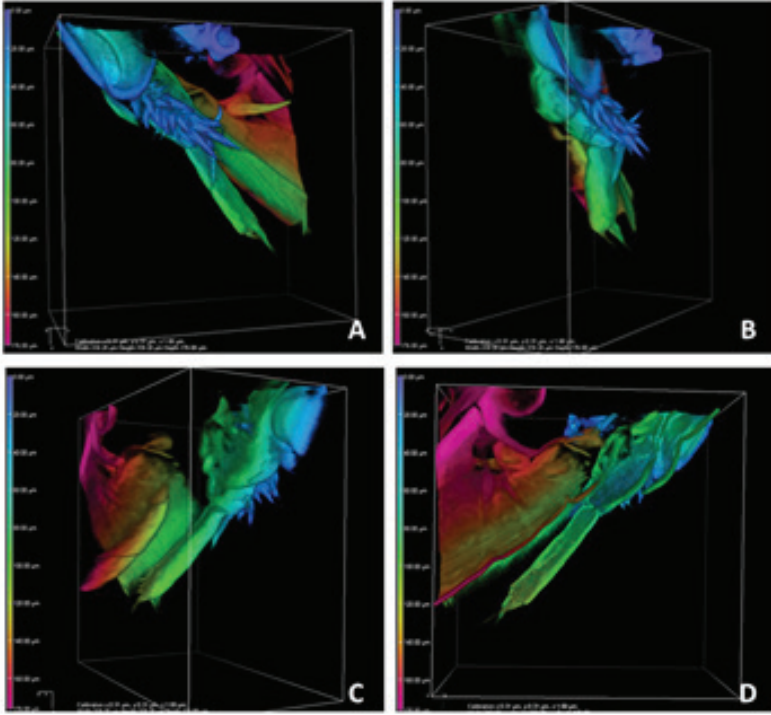
Nematodlarda ise konfokal mikroskop kullanımı sestodlara göre daha yaygın olup son 15 yılda göreceli olarak sestodlardan sayıca biraz daha fazladır. Santos ve Moravec (2009) Mexiana Adası - Amazon Nehri Deltasından topladıkları balık, *Arapaima gigas*, örneklerinden elde ettikleri *Camallanus tridentatus*'ı LTKM kullanarak analiz etmişlerdir. Bu türlerin yetişkinlerinin yüzeysel morfolojilerini tanımlamada kullandıkları çalışmalarında daha önce taksonomik olarak elde etmedikleri yeni karakterleri bulduklarından bahsetmişlerdir. Borges ve ark. 2012'de Brezilya'da yaptıkları çalışmalarda ışık mikroskobu ve moleküler tekniklerin yanında konfokal mikroskop da kullanmışlardır. Nematodlar larval düzeyde taksonomik olarak kafa karıştırıcı olduğu için bu durum konfokal mikroskop çalışmalarında etkili bulunmuştur. Başka bir örnek çalışma ise Dezfuli ve ark. (2016) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada yılan balıklarında, *Anguilla anguilla*, bulunan nematod larvalarının, *Contracaecum rudolphii*, incelenmesi için konfokal mikroskoptan faydalanılmıştır. Trematodlarda ise Borges ve ark. 2017'de lepesteslerde *Pygidiopsis macrostomum* paraziti-

nin üzerinde moleküler çalışmaların yanında LTKM çalışmaları da yapmışlardır. Çalışmalarından konfokal mikroskoptan *P. macrostomum*'ün kas ve nöron yapılarını tanımlamak için faydalanmışlardır. Çalışmalarının sonucunda yüksek çözünürlüklü tipik bir digenean kas yapısını, kas düzenini ve önemli heterofid morfolojik özelliklerini tanımlamış olup, leisteslerde parazitliği azaltmak için gelecekteki kontrol önlemlerini destekleyecek önemli sonuçlar elde etmişlerdir. Trematodlar aslında daha erken zamanlarda konfokal mikroskop ile morfolojik ve embriyolojik açıdan incelenmesine rağmen (Šebelová ve ark., 2004; Neves ve ark., 2005; Jurberg ve ark., 2008) balıklarda görülen trematodlar açısından nispeten daha az çalışma bulunmaktadır.

Balıklarda arthropod enfeksiyonlarını incelemek için konfokal mikroskopu yine son on yılda konfokal kullanım ücretlerinin de nispeten azalması ile daha yaygın hâle gelmiştir. *Argulus* cinsinde taramalı elektron mikroskopu ile çok fazla çalışma olmasına rağmen, konfokal mikroskop kullanımı nispeten sınırlıdır. Bu konuda Kamanlı (2021) Türkiye'den Nil tilapyaları üzerinden *Argulus japonicus* türünü konfokal mikroskop ve Drishti yazılımını kullanarak ışık mikroskopu ile görüntülemesi zor olan uzuvları ortaya çıkarmıştır. Konfokal mikroskop ile çekildiğinde taksonomik değerinin dışında bilimsel fotoğraf açısından da değeri olduğu için *Argulus foliaceus* türünün en zayıf noktalarını gösteren bir çalışması Leica tarafından yayımlanmıştır (Leica Microsystems, 2021). Yine *Argulus* cinsi 2011 Nikon fotomikrograf yarışması için konfokal mikroskop kullanımıyla bilim-sanat alanında da çalışmalar yapılmıştır (Nikon Photomicrography Competition, 2011). *Argulus* cinsinin bazı üyelerinin konfokal mikroskop için büyük kalmasından dolayı micro-CT kullanılarak tanımı yapılmıştır (Hunt, 2021). Balıklarda lernaea enfeksiyonlarını incelemek için Brooker ve ark. konfokal mikroskopi yöntemini kullanarak *Lernaeocera branchialis*'in (Pennellidae) serbest yüzen yavru evrelerinin deskripsiyonunu yapmıştır (Brooker ve ark. 2012a, 2012b). İnceledikleri türlerin naupli ve kopepodid aşamalarının tanımlamasını ilk defa ışık mikroskopu ve konfokal mikroskop ile değişik bir teknikte ele almışlardır. Çalışmalarında konfokal mikroskop ile lazer gücünü arttırarak çok ince ve ışık mikroskopu ile zor görüntülenebilecek ince setasyonları görüntülemişlerdir. Ardından lazer gücü fazla olduğu için kullandıkları türün gövdesinden fazla bir yansıma aldıklarından dolayı, konfokal mikroskop kullanarak kabaca fakat eksiksiz elde ettikleri morfolojiyi dijital ortamda geleneksel şekilde çizip tanımlamışlardır. *Ergasilus* ve *Lernanthropus* enfeksiyonları yaratan türlerinin ise konfokal mikroskop kullanılarak ayrıntılı deskripsiyonu henüz yapılmamıştır.

Son yıllarda denizel kopepodlar üzerine konfokal mikroskop kullanımının sıklığı artmaktadır. Balıklardaki parazitleri incelemek üzere pa-

razitik kopepodlar da konfokal mikroskop kullanılarak adı geçen türlerin bazı uzuvları veya tam deskripsiyonları verilmiştir. Kamanli (2020) çalışmasında Mavi yüzgeçli orkinos, *Thunnus thynnus*'tan toplanan sifonostomatoid kopepod olan *Caligus quadratus* Shiino, 1954 (Copepoda: Caligidae)'un morfolojisi hakkında ek bilgileri konfokal mikroskop ve ek yazılım kullanarak vermiştir. Türü konfokal mikroskop ile taradıktan ve gerekli verileri elde ettikten sonra, nispeten daha zayıf kalan uzuv ve setaları açığa çıkarmak, 3 boyut özelliğini kullanmak ve gözükmeyen diğer çok küçük armatürleri görüntüleyebilmek için Drishti rekonstrüksiyon programını kullanmıştır. Böylece bu kombine teknik parazitik bir kopepod üzerinde ilk defa uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu teknik kullanılarak hem dişi hem de erkek bireyin temel tanısal karakterleri bir arada sunulmuştur. Çalışmada konfokal mikroskop sayesinde *Caligus quadratus*'un hem daha önceden yanlış tanımlanmış ve gözden kaçırılmış karakterleri daha doğru şekilde tanımlanmış hem de yeni karakterler ortaya çıkarılmıştır. Aynı teknik ile Hamdi ve ark. (2021a) Maderia takım adalarından (Doğu Atlantik) yakalanan *Trachinotus ovatus* (Linnaeus) örneklerine dayanarak *Caligus* cinsinin yeni bir türünü tanımlamışlardır. Yakalanan parazitik kopepodların anahtar teşhis karakterleri taramalı elektron mikroskopunun yanında konfokal mikroskop ve Drishti yazılım programı ile desteklenerek incelenmiş olup, çalışma sonunda yakalanan parazitin yeni bir tür olduğu ortaya konmuştur ve yakalanan türün adı *Caligus madeirensis* Hamdi, Hermida, Kamanli, Benmansour, Özak & Boxshall, 2020 olarak isimlendirilmiştir. Konfokal mikroskopun parazitik kopepodların üzerinde etkili olmasının bir nedeni de bu türlerin sahip olduğu kitin kutikula yapısı sayesinde bu yapıya özelleşmiş Congo red boyası ile etkili bir şekilde boyanmasıdır (Kamanli ve ark., 2017). Hamdi ve ark. (2021b) yaptığı bir başka çalışmada yine yeni bir parazitik kopepod türü *Caligus tunisiensis* Hamdi, Benmansour, Zouari-Tlig, Kamanli, Özak & Boxshall, 2020 (Caligidae) *Serranus scriba* (L.) üzerinden keşfedilmiş olup konfokal mikroskop ve 3 boyutlu görüntüleme yazılımı olan Drishti programı etkili şekilde kullanılarak hem fotoğraf hem de videolar ve 3 boyutlu görüntüler ile morfolojik olarak tanımlanmıştır. 3 boyutlu görüntüye örnek olarak *Caligus diaphanus* türünün antennül yapısı konfokal mikroskop ile taranmış olup, Şekil 2'de sunulmuştur. Son olarak balıklarda parazitik olarak yaşayan *Caligus minimus* Otto, 1821 (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) türü Kamanli (2023)'nin çalışmasında serbest hâlde bulunmuş ve parazitik olarak yaşayan *Caligus minimus* türlerindeki hatalı ya da eksik uzuvları düzeltmek amacıyla konfokal mikroskop başarıyla kullanılmıştır. Konfokal mikroskop diğer kopepod türlerinde son on yılda başarıyla uygulanmaya başlandıysa da parazitik olmayan kopepodlar bu çalışmanın içinde ele alınmadığı için bahsedilmemiştir.



Şekil 2. *Caligus diaphanus*'un farklı açılardan LTKM ile çekilmiş antennül yapısı

Sonuç

Sonuç olarak Lazer taramalı konfokal mikroskobundan geçmişte balık parazitlerini incelemek için çok yaygın bir şekilde yararlanılmamış olsa da yukarıda bahsedilen çalışmalarda kullanıldığında sadece hüresel çalışmalarda değil, morfolojik çalışmalarda da çok etkili bir alet olduğu kanıtlanmıştır. Özellikle son on yılda kullanımı bu alanda yaygınlaşmaktadır. Ayrıca morfolojik çalışmalarda diseksiyonları yapıldıktan sonra birçok uzvun etkili şekilde tanımlandığı görülmüştür. Gerektiğinde 3 boyutlu Drishti, Imaris gibi yazılımlarla desteklenerek daha net bir şekilde görüntülenemeyen özellikleri ortaya çıkarması bakımından konfokal mikroskop verileri çok önemli ve kullanışlı hâle getirilmiştir. Konfokal mikroskopun büyük örnekler bakımından dezavantajları olsa da, balık parazitlerinin özellikle protozoanların büyüklüğü bakımından uygunluğu söz konusudur. Öte yandan, parazitik kopepodlarda özellikle 4-5 mm'den büyük canlılarda net fotoğraflar almak güçleşmektedir. Fakat, ayrıntılı morfolojik çalışmalarda, diseksiyon yapıлып tarandığı için bu sorun ortadan kalkmaktadır. Parazitik kopepodların görüntülenmesinde diğer bir problem küçük yapılu uzuvların setalarının konfokal mikroskopta zayıf gözükmesiyle bu mikroskoptan alınan veriler 3 boyutlu yazılım-

larla ortaya net bir şekilde çıkarılarak bu dezavantajı ortadan kaldırmıştır. Konfokal mikroskop, taramalı elektron mikroskopla karşılaştırıldığında, gömme aparatları değişiklik gösterebilir; bu da taranan türlere göre zarar vermeyen yöntemleri beraberinde getirir. Yine boyama yöntemleri ile taranması gereken örneklerin hem iç yüzeyi hem de dış yüzeyinden bilgi vermesi ise elektron mikroskobuna göre bir avantajdır. Aynı zamanda konfokal mikroskop yöntemi örneklerle zarar vermeyen bir yöntem olmasından dolayı, özellikle müze örnekleri için çok değerlidir. Bu avantajları göz önünde bulundurduğumuzda, konfokal mikroskop teknolojisi ile balık parazitlerinin görüntülenmesi ilerleyen yıllarda daha da yaygınlaşması muhtemeldir.

KAYNAKLAR

- Akle, V., Agudelo-Duenas, N., Molina-Rodriguez, M.A., Kartchner, L.B., Ruth, A.M., Gonzalez, J.M., Forero-Shelton, M., 2017. Establishment of larval Zebrafish as an animal model to investigate *Trypanosoma cruzi* motility in vivo. *Journal of Visualized Experiments*, 127, 56238. doi: 10.3791/56238.e56238
- Alama-Bermejo, G., Holzer, A.S., Bartholomew, J.L., 2019. Myxozoan adhesion and virulence: *Ceratonova shasta* on the move. *Microorganisms*, 7(10), 397. doi: 10.3390/microorganisms7100397
- Amos, W.B., White J.G., 2003. How the confocal laser scanning microscope entered biological research. *Biology of the Cell*, 95(6), 335-42. doi: 10.1016/s0248-4900(03)00078-9
- Ball, A.D., Goral, T., Kamanli, S.A., 2017. Confocal microscopy applied to paleontological specimens. *The Paleontological Society Papers*. 22, 39-55. doi: 10.1017/scs.2017.7
- Bass, D., Stentiford, G.D., Littlewood, D.T.J., Hartikainen, H., 2015. Diverse applications of environmental DNA methods in parasitology. *Trends in Parasitology*, 31(10), 499-513. doi: 10.1016/j.pt.2015.06.013
- Borges, J.N., Costa, V.S., Mantovani, C., Barros, E., Santos, E.G.N., Mafra, C.L., Santos, C.P., 2017. Molecular characterization and confocal laser scanning microscopic study of *Pygidiopsis macrostomum* (Trematoda: Heterophyidae) parasites of guppies *Poecilia vivipara*. *The Journal of Fish Disease*, 40(2), 191-203. doi: 10.1111/jfd.12504
- Borges, N., Cunha, L.F., Santos, H.L., Monteiro-Neto, C., Santos C.P., 2012. Morphological and molecular diagnosis of anisakid nematode larvae from cutlassfish (*Trichiurus lepturus*) off the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One*, 7(7), e40447. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040447>
- Brooker, A., Bron, J., Shinn, A., 2012a. Description of the free-swimming juvenile stages of *Lernaecocera branchialis* (Pennellidae), using traditional light and confocal microscopy methods. *Aquatic Biology*, 14, 153-163. doi: 10.3354/ab00388
- Brooker, A., Shinn, A., Bron, J., 2012b. Use of laser scanning confocal microscopy for morphological taxonomy and the potential for digital type specimens (E-Types). *Aquatic Biology*, 14, 165-173. doi: 10.3354/ab00389
- Can, A., 2018. Yaşam Bilimlerinde A dan Z ye Mikroskopi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Dezfuli, B.S., Manera, M., Bosi, G., DePasquale, J.A., D'Amelio, S., Castaldelli, G., Giari, L., 2016. *Anguilla anguilla* intestinal immune response to natural infection with *Contracaecum rudolphii* a larvae. *The Journal of Fish Disease*, 39(10), 1187-200. doi: 10.1111/jfd.12455

- Dóro, É., Jacobs, S.H., Hammond, F.R., Schipper, H., Pieters, R.P., Carrington, M., Wiegertjes, G.F., Forlenza, M., 2019. Visualizing trypanosomes in a vertebrate host reveals novel swimming behaviours, adaptations and attachment mechanisms. *Elife*, 24, 8, e48388. doi: 10.7554/eLife.48388
- Eils, R., Athale, C., 2003. Computational imaging in cell biology. *Journal of Cell Biology*, 161(3),477-81. doi: 10.1083/jcb.200302097
- Fischthal, J.H., 1980. Some digenetic trematodes of marine fishes from Israel's Mediterranean coast and their zoogeography, especially those from Red Sea immigrant fishes. *Zoologica Scripta*, 9(1/4),11-23.
- Fischthal, J.H., Thomas, J.D., 1970. Digenetic trematodes of marine fishes from Ghana: Family Lepocreadiidae. *Journal of Helminthology*, 44(3/4), 365-386.
- Golvan, Y.J., 1969. Systematique des Acanthocephales (*Acanthocephala* Rudolphi, 1801), L'ordre des Palaecanthocephala Meyer, 1931, La superfamille des Echinorhynchidea (Cobbold, 1876) Golvan et Houin 1973. *Mémoires du Muséum National d'histoire Naturelle*, 47, 1-373.
- Hamdi, I., Hermida, M., Kamanli, S.A., Benmansour, B., Özak, A.A., Boxshall, G.A., 2021a. *Caligus maderiensis* sp. nov. (Copepoda: Caligidae) parasitic on pompano, *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758), from eastern Atlantic waters, surrounding the Madeira archipelago, Portugal. *Acta Parasitologica*, 66, 361-376. <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00290-3>
- Hamdi, I., Benmansour, B., Zourai-Tlig, S., Kamanli, S.A., Özak, A.A., Boxshall, G.A., 2021b. *Caligus tunisiensis* n. sp. (Copepoda: Caligidae) parasitic on the painted comber, *Serranus scriba* (L.) (Perciformes: Serranidae) from the Mediterranean Sea, off the Tunisian coast. *Systematic Parasitology*, 98, 57-71. <https://doi.org/10.1007/s11230-020-09959-9>
- Hartigan, A., Estensoro, I., Vancová, M. et al., 2016. New cell motility model observed in parasitic cnidarian *Sphaerospora molnari* (Myxozoa: Myxosporidia) blood stages in fish. *Scientific Reports*, 6, 39093. <https://doi.org/10.1038/srep39093>
- Hedrick, R.P., MacConnell, E., de Kinkelin, P., 1993. Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 3, 277-290.
- Hunt, R., 2021. *Argulus* infections in fisheries: status, control, and future prospects. PhD thesis, Cardiff University, School of Biosciences, Cardiff.
- Johnson, S.C., Treasurer, J.W., Bravo, S., Nagasawa, K. & Kabata, Z., 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological Studies*, 43(2), 229-243.
- Jurberg, A.D., Pascarelli, B.M., Pelajo-Machado, M. et al., 2008. Trematode embryology: a new method for whole-egg analysis by confocal microscopy. *Development Genes and Evolution*, 218, 267-271. <https://doi.org/10.1007/s00427-008-0209-0>

- Kamanli, S.A., Kihara, T.C., Ball, A.D., Morrith, D., Clark, P.F., 2017. A 3D imaging and visualisation workflow, using confocal microscopy and advanced image processing for brachyuran crab larvae. *Journal of Microscopy*, 266, 307-323. <https://doi.org/10.1111/jmi.12540>
- Kamanli, S.A., 2020. The discovery of *Caligus quadratus* Shiino, 1954 (Copepoda: Caligidae) in the Mediterranean Sea, with a new host record and supplementary morphological information obtained using Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM) and 3D image processing. *Parasitology International*, 79, 102174. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102174>
- Kamanli, S.A., 2021. First report of *Argulus japonicus* thiele, 1900 from Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) reared in earthen ponds near the river Ceyhan (Adana), Turkey. In: Karataş, B. (ed.) *Su Ürünlerinde Modern Perspektifler*, pp. 313-342. İKSAD Publishing House, Ankara, Turkey.
- Kamanli, S.A., 2023. First Report of *Caligus minimus* Otto, 1821 (Copepoda: Siphonostomatoidea: Caligidae) from Plankton Samples Collected from Türkiye. *Commagene Journal of Biology*, 7(1), 50–57. <https://doi.org/10.31594/commagene.1261446>
- Kherlopian, A.R., Song, T., Duan, Q. et al., 2008. A review of imaging techniques for systems biology. *BMC Systems Biology*, 2, 74. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-2-74>
- Kubinova L., Janacek J., Karen P., Radochova B., Difato F., Krekule I., 2004. Confocal stereology and image analysis: methods for estimating geometrical characteristics of cells and tissues from three-dimensional confocal images. *Physiological Research*, 53, S47-S55.
- Kuperman, B.I., Matey, V.E., 1999. Massive infestation by *Amyloodinium ocellatum* (Dinoflagellida) of fish in a highly saline lake, Salton Sea, California, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 39(1), 65-73. doi: 10.3354/dao039065
- Leica Microsystems, 2021. Retrieved from :<https://twitter.com/LeicaMicro/status/1359494069433618442>
- Massimo, M., Volpatti, D., Galeotti, M., Bron, J.E., Beraldo, P., 2022. News insights into the host-parasite interactions of amyloodiniosis in European sea bass: a multi-modal approach. *Pathogens*, 1(1), 62. doi: 10.3390/pathogens11010062
- Mathiessen, H., Kjeldgaard-Nintemann, S., Gonzalez, C.M.F., Henard, C., Reimer, J.A., Gelskov, S.V., Marana, M.H. & Jørgensen, L.V.G., 2023. Acute immune responses in zebrafish and evasive behavior of a parasite - who is winning? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5,13, 1190931. doi: 10.3389/fcimb.2023.1190931
- McGurk, C., Morris, D.J., Bron, J.E., Adams, A., 2005. The morphology of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea) spores released from

- Fredericella sultana* (Bryozoa: Phylactolaemata). Journal of Fish Disease, 28(5), 307-12. doi: 10.1111/j.1365-2761.2005.00627.x
- Murphy, D.B., Davidson, M.W. Confocal laser scanning microscopy. In Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging, 2nd ed.; Murphy, D.B., Ed.; John Wiley and Sons: New York, NY, USA, pp. 265-305.
- Neitemeier-Duventester, X., Bick, A., Theisen, S., Palm, H.W., 2022. Confocal laser scanning microscopy (CLSM) as a new tool for morphological characterisation of both newly collected and museum voucher specimens of the *Trypanorhyncha diesing*, 1863 (Platyhelminthes: Cestoda). Folia Parasitologica, 69,026. doi: 10.14411/fp.2022.026
- Neves, R.H., de Lamare Biolchini, C., Machado-Silva, J.R. et al., 2005. A new description of the reproductive system of *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae) analyzed by confocal laser scanning microscopy. Parasitology Research, 95, 43-49. <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1241-2>
- Nikon Small World Photomicrography Competition, 2011. *Argulus* (fish louse). Wim van Egmond. Affiliation: Micropolitan Museum Berkel en Rodenrijs, Zuid-Holland, The Netherlands. Technique: Darkfield. Retrieved from <https://www.nikonsmallworld.com/galleries/2011-photomicrography-competition/Argulus-fish-louse>
- Oladiran, A., Belosevic, M., 2010. *Trypanosoma carassii* calreticulin binds host complement component C1q and inhibits classical complement pathway-mediated lysis. Developmental & Comparative Immunology, 4(4), 396-405. doi: 10.1016/j.dci.2009.11.005
- Paddock, S.W., 1999. An introduction to confocal imaging. In: Paddock, S.W. (ed.) Methods in molecular biology: confocal microscopy methods and protocols. pp 1-34. Humana, Totowa, N.J.
- Paladini, G., Longshaw, M., Gustinelli, A., Shinn, A., 2017. Parasitic diseases in aquaculture: their biology, diagnosis and control. In: Austin B & Newaj-Fyzul A (eds.) Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish. pp. 37-108. Wiley-Blackwell, London. <http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-1119152100.html>
- Pawley, J. B., 2006. Handbook Of Biological Confocal Microscopy, Springer US, pp. 20-42. Boston, MA.
- Peterson, D.A., 2010. Confocal Microscopy. In: Kompoliti, K., and Verhagen-Metman, L. (eds.) Encyclopedia of Movement Disorders, vol. 1, pp. 250-252, Academic Press, Oxford.
- Pietretti, D., Scheer, M., Fink, I.R. et al., 2014. Identification and functional characterization of nonmammalian Toll-like receptor 20. Immunogenetics, 66, 123-141. <https://doi.org/10.1007/s00251-013-0751-4>
- Price, R.L. & Jerome, W.G., 2011. Basic Confocal Microscopy. Pp. 1-313. Springer, New York.

- Santos, C.P., Moravec, F. (2009). *Camallanus tridentatus* (Drasche) (Nematoda: Camallanidae): New taxonomically important morphological data. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 93-99.
- Semwogerere, D., Weeks, E.R., 2005. Confocal microscopy. In: Gary E. Wnek, Gary L. Bowlin, eds. *Encyclopedic of Biomaterials and Biomedical Engineering*. 5th ed. W. Freeman, C.N. York, 23: 1-10.
- Sheppard, C., Shotton, D., 1997. *Confocal Laser Scanning Microscopy*, pp. 1-106. BIOS, Oxford, UK.
- Shinn, A.P., Pratoomyot, J., Bron, J.E., Paladini, G., Brooker, E.E., Brooker, A.J., 2015. Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture. *Parasitology*, 142, 196-270.
- Sun, H.Y., Noe, J., Barber, J., Coyne, R.S., Cassidy-Hanley, D., Clark, T.G., Findly, R.C., Dickerson, H.W., 2009. Endosymbiotic bacteria in the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 7445-7452.
- Šebelová, Š., Stewart, M.T., Mousley, A. et al., 2004. The musculature and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualised by confocal microscopy. *Parasitology Research*, 93, 196-206. <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1120-x>
- White, J.G., Amos, W.B. & Fordham, M., 1987. An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *Journal of Cell Biology*, 105, 41- 48.
- Yılmaz, E., Yılmaz, A. & Bilgin, B., (2011). Alabalık Kuluçkahanelerinde Görülen Önemli Hastalıklar ve Tedavi Yöntemleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 37-39. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/derleme/issue/35083/389090>

Bölüm 4

BALIK HASTALIKLARINDA ÖN İNCELEMELER

Filiz ÖZCAN¹

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Su Ürünleri ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, 21280, Sur, Diyarbakır
e-mail: felizozcan@gmail.com; filiz.ozcan@dicle.edu.tr

Giriş

Balık hastalıklarında temel sorun, su kalite parametreleri, yetiştiricilik sorunları ve bilgi eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Bu sorunların çözümünde balığın anatomi, fizyoloji ve patolojisinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Patoloji, hastalıkların oluşumu ve ilerleyişi hakkında bilgi sağlayarak, dokulardaki ve organlardaki yapısal ve işlevsel değişikliklerin tanınması, araştırılması ve incelenmesiyle ilgilenir. Bu açıdan anamnez ve nekropsi önemli bir yer tutmaktadır (Yarsan, 2020). Nekropsi de özellikle canlının anatomisinin ve fizyolojisinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Ölmek üzere olan ya da yeni ölmüş balıklarda nekropsiden olumlu sonuçlar alınmaktadır. Özellikle solungaç ve iç organların hassasiyetinden kaynaklı hızlı teşhise gitmek önemlidir (Erer, 2002). Bu bölümde balıkların antemortem ve postmortem muayeneleri, hastalık tespiti, anamnez, ötenazi ve nekropsi konuları ile ilgili temel bilgilere yer verilecektir.

Balıkların Canlı Muayeneleri (Antemortem)

Kuluçkahane ve havuzlarda balıklar kontrol edilmeli, balık davranışları takip edilmeli, su yüzünde yüzen, pulları dökülmüş, iştahsız, tankın ya da havuzun dibinde hareketsiz duran, yüzme davranışlarında anormallikler olan, yem yemeyen, zayıf ve durgun, solunum sıkıntısı olan, yüzgeçlerde deride lezyon oluşmuş balıklar havuzdan ve tanktan hemen çıkarılmalı ve takipleri yapılmalıdır (Yarsan, 2020). Hastalığın seyri ve takibi neticesinde bakteriyel, viral, mantar, parazit ve beslenme hastalıklarının teşhisi konularak tedavi aşamasına geçilmelidir. Canlı balık muayenesinin sağlıklı olarak yapılabilmesi için havuzlardaki stok oranına dikkat edilmelidir. Ayrıca günlük olarak su kalite parametrelerinin düzenli takibi yapılmalıdır (Soto ve ark., 2010)

Balıkların Ölüm Sonrası Muayeneleri (Postmortem)

Balık öldürüldükten sonra iç ve dış muayene yapılmalıdır. Bakteriyel, viral, paraziter, mantar açısından gerekli incelemeler yapılmalıdır. Sonuçlar nekropsi klinik bulgularla birleştirilerek teşhis konulur. Ancak hastalığın teşhisi için bu bulgular yeterli olmayabilir. Bu noktada su kalite parametreleri, yetiştiricilik şekli ve yetiştiricilik sorunları ile ilgili konular birlikte değerlendirilmelidir.

Hastalık Tespiti, Anamnez, Ötenazi ve Nekropsi

Hastalık tespitinde dikkat edilmesi gereken unsurlar vardır. Su kalitesi bunların başında gelmektedir. Özellikle sıcaklık, oksijen, pH, nitrit, nitrat ve ağır metal ölçümleri düzenli olarak yapılmalıdır. Ayrıca, temizlik, filtrasyon, sanitasyon ve dezenfeksiyona da dikkat edilmelidir. En önemli faktörlerden biriside balık türüdür. Canlının fizyolojik ve biyolojik gereksinimine uygun olarak fiziki alt yapı oluşturulmalıdır (Rey-Moreno

ve ark., 2008). Anamnez hastalığın oluşma aşamasına kadar geçen süre içerisinde tüm bilgilerin toplanmasıdır. Hastalığın teşhisine yardımcı olabilecek bilgilerin kayıt altına alınarak ve hastalık teşhisinde %50 oranında hızlı çözüm sağlamaktadır. İşletmenin kapasitesi ve türü, balık türü yaş, uygulanan aşı programı, besleme programı, işletmede hastalık öncesi görülen diğer olaylar ve tedavi şekilleri, kullanılan antibiyotikler, Şüphelenilen hastalıklar, klinik bulgular gibi bilgileri içermelidir (Yarsan, 2020).

Nekropsi öncesinde ötenazi yapılmalıdır (Özer ve Erdem, 2021). Ötenazi herhangi bir acı korku, stres ve sıkıntıya sebebiyet vermeden insancıl bir şekilde canlının hayatını sonlandırma eylemidir. Bu işlem sırasıyla bilinç kaybı dolaşım ve solunum durması ve beyin fonksiyonlarının kaybı ile sonuçlanmaktadır (Guedes, 2017). Ötenazi fiziksel ve kimyasal yöntemler olarak iki şekilde gerçekleştirilmektedir. Kimyasal yöntemde; inhalasyon anestezi ajanları (MS-222, kinaldin, 2-fenoksietanol, karanfil yağı, karbondioksit, alfadolon vb.) immersiyon, paranteral ve ağız yoluyla uygulanmaktadır (Voipio ve ark., 2008). Fiziksel yöntemde ötenazi işlemi, büyük balıklarda başın arka kısmına sert bir cisimle vurulması ile küçük balıklarda ise direkt başın üst kısmından kesilmesi şeklinde uygulanır. İmmersiyon anestezisi balıklarda en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. İmmersiyon anestezisi, inhalasyon anestezisi veya daldırma anestezisi olarak da adlandırılmaktadır. Bu yöntemde banyo şeklinde, balıklar belirli bir süre anestezi madde içeren suda bekletilir ve anestezi madde balığın solungaç ve derisinden hızlıca sinir sistemine geçer (Harms, 1999). Paranteral anestezi yönteminde ise anestezi madde intramasküler (kas içi), intrevenöz (damar içi) veya intraperitoneal (karın boşluğuna) enjeksiyon yaparak uygulanır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı yeterli sedasyonun sağlanamamasıdır. Ağız yoluyla ise kapsül ya da gavaj olarak ilaçların balıklara verilmesidir. Bu yöntemdeki en büyük zorluk ilacın dozajı ve emilim oranıdır (Sneddon, 2012).

Canlının ölüm nedenini incelemek amacıyla belli bir yöntemle dayanarak organ ve dokularının incelenmesine nekropsi adı verilir (Corrigan, 1975). Nekropsi, balık öldürüldükten sonra sivri uçlu bir makas ile kranial doğrultuda anüsten başlayarak yüzgeçlere kadar uzanan ventral ensizyonlar ile nekropsi gerçekleştirilir (Austreng, 1978; Windell ve ark., 1978; Spyridakis ve ark., 1989; Hajen ve ark., 1993b).

Dış Bakı (Dış Muayene)

Nekropsi yöntemi dış bakı ve iç bakı olarak iki şekilde gerçekleştirilir. Dış bakıda deri, ağız, gözler, solungaç, anüs, solungaç kapağı (operculum), yüzgeç ve kan parametreleri ve diğer organlar incelenir ve bulgular değerlendirilir. Dış muayenede dikkat edilmesi gereken ilk husus vücut bozuklukları, balığın gelişme durumudur. Balıkta iştahsızlık, gelişememe, zayıf-

lama, yağlanma, anomaliler, iskelet bozuklukları, karın şişliği, tümörler ve dışkı sarkması bunlara örnek verilebilir.

Balıklarda deri balığı sadece mekanik olarak dıştan gelecek zararlı etkilere karşı korumakla kalmaz, aynı zamanda mikroorganizma yönünden de dış etkilerden korumakta rol oynar (Gratzek, 1992). Deri üzerinde anormal görülen erozyon, kanama, lezyon oluşumu, mukus, herhangi bir kitle oluşumu yada papil, püstül, bül ve vezikül gibi lezyonların oluşumu içeren bölgelerden örnekler alınır. Ayrıca derinin dermiş tabakasında, kan damarları, pigment hücreleri bulunmaktadır. Balıkların rengi yaşadığı ortama, su derinliğine ve pigment hücreleriyle ilgilidir. Ayrıca, sağlıklı balıkların kendilerine özgü bir renk tonu vardır. Bakteriyel viral etkenler, su kalitesi parametrelerindeki uygunsuzluklar balıklarda renk değişimlerine sebebiyet verebilmektedir (Timur, 2008)

Solungaçlar balık vücudu ile sucul ortam arasında gaz alışverişini sağlayan, 5-7 çift solungaç yaprağından (lamina) oluşan bir solunum organıdır. Laminalardan 4 tanesinin arkasında iki sıralı flament (primer lamel) ve bunların arkasında sekonder lameller bulunmaktadır. Solungaçlarda renk değişimi filamentlerin erimesi, flament sayıları incelenir. Bunların yanı sıra solungaçlarda fazla mukoid salgı, hiperemi, lekelenme, nodül ve tümör oluşu açısından da incelenmelidir (Dursun, 2007)

Balıklarda ağız yaşam şekillerine göre dorsal ve ventral kısımda şekillenmiş olup, üst çene de serbest hareket edebilen premaksilla ve maksilla kemikleri ile desteklenmiştir (Erer, 2002) Ağızda oluşan deformasyonlar, sıklıkla karşılaşılan petesiel kanamalar, ağız ve ağız içindeki yabancı cisimler, kanama ve erozyon açısından muayene edilmelidir.

Göz baş bölgesinde bulunan bir çift görme organıdır. Gözler hastalık semptomlarını taşıması açısından çok önemlidir. Gözlerde kanama, katarakt, berraklık, saydamlık ya da matlaşma, eksoftalmus, endoftalmus ve buftalmus, korneada belirgin renk değişimleri yönünden incelenmelidir (Soto ve ark., 2010).

Balıkların tüm hayati fonksiyonlarının yerine getirilmesi ile kaslar ile sağlanmaktadır. Balıkların yaşam ortamları be beslenme şekilleri kas yapısını şekillendirmekle beraber, deride kas bulunmamaktadır. Kasta görülebilecek semptomlar, kanama, kitle, renkte açılma veya koyulaşma, ülser ve nodül oluşumudur (Erer, 2002).

İç Bakı (İç organların Muayenesi)

Nekropsi yapıldıktan sonra, iç bakıda karaciğer, safra kesesi, pankreas, böbrek, dalak, gastrointestinal kanal, yüzme kesesi, gonadlar, ve kalp incelenir. Patolojik, virolojik, mikrobiyolojik ve parazitolojik incelemeler için örnekler alınır.

Karaciğer büyüklüğü ve rengi türlere göre değişmekle birlikte, koyu kırmızı, bordo kahverenkli damarca zengin karın boşluğunun ön kısmında yer almaktadır. Midenin üzerinde ya da onu saran bir yapıda tek parça, iki loblu yada üç loblu olarak vücut ağırlığının yaklaşık %20sini oluşturur. Metabolik bozukluklardan ve sistemik enfeksiyonlardan en çok etkilenen organdır (Yarsan, 2020). Karaciğer muayenesinde; yağlanma, renk, hemoraji, kist ve nodül oluşumu, granülomlar yönünden kontrol edilmelidir.

Safra kesesi karaciğerin yakınında ya da karaciğere yapışmış bir durumda bulunmaktadır. Açık yeşilimsi bir sıvı ile doludur. Safra kanalları ve safra keseleri parazit ve protoozonların tercih yerlerindedir. Enfeksiyon açısından, bakıldığında boyutları değişir (Soto ve ark., 2010).

Pankreas karaciğer dokusu içine yerleşmiş olup, bazı türler de pilorik sekaların arasında dağılım göstermektedir. Histopatolojik olarak incelenmelidir. Dalak bağ dokusundan oluşmuş, karın boşluğunun arkasında koyu kırmızı renkte parenkim, dalak pulpası ve sinüslerden oluşur. Hemopoitek doku olmasından dolayı tüm hastalıklardan etkilenir. Dalakta görülen anomaliler büyüme, granülom ve dejenerasyondur (Reavill, 2010)

Balıklarda böbrekler omurganın altında karın boşluğunda genellikle çift halde koyu kırmızı renktedir. Lenfoid ve hemopoitek organ olması nedeniyle bakteriyel ve viral hastalıkların çoğundan etkilenir. Böbreklerde en çok nekrotik odaklar, nodüller, şişkinlik, parazit yumurtaları ve pigment azlığıdır. Beslenme şekline göre farklılık gösteren gastro intestinal kanalda kanlı sıvı, nodül oluşumu, mikroskopik parazitler görülür (Timur, 2011)

Kalp vücudun ön tarafında ventral olarak, iki mandibular kemik arasında intraperkular bölgede perikard içerisinde yer alır. Perikard perikard kesesini oluşturan parietal yaprak ve visceral yapraktan meydana gelir. Kalp, sinüs venosus,atrium,ventriculum ve bulbus arteriosus olmak üzere dört kısımdan oluşur.Kalp, nematod, granülom,kanam ve nekroz açısından kontrol edilmelidir (Yanong, 2003)

Yüzme kesesi (hava kesesi), gonad ve barsakların arasında böbreğin ventralinde retperitoneal yerleşimli olup türlere göre değişkenlik gösteren bir organdır. Mantar, nekroz, yüzme kesesi duvarında kalınlaşma, hiperemi ve irinleşme görülebilmektedir. Büyüklüğü üreme mevsimine göre değişkenlik gösteren gonadlar, karın boşluğu boyunca hava kesesinin altında yer almaktadır. Sistemik hastalıklardan çok etkilenir. Bunun yanı sıra, nodüler büyümeler ve tümör oluşumları, granülom oluşumu ve yanğısal reaksiyonlar görülmektedir (Yarsan, 2020).

Gonadlar, hava kesesinin altında karın boşluğu boyunca uzanmış durumdadır. Testisler beyazımsı – krem yapıda lekesiz ve kılcal damarsız

olup büyüklüğü mevsimlere göre değişmektedir. Ovaryumlar çift olarak, granüllü ve altın sarısı renkte olup kılcal damar açısından zengindir. Primer hastalık olarak etkilenmesi nadir olup, genellikle sistemik hastalıklarda etkilenir. Gonadlarda, kanama ve bozukluklar, nodüler büyümeler, anormal üremeler, tümör ve kist oluşumları görülebilir (Noga, 1996)

Sonuç

Su ürünleri sektörü, bakteriyel, paraziter, mantar ve viral etkenlerin sebep olduğu hastalıklar nedeniyle büyük ekonomik kayıplar yaşamaktadır ve bu kayıpları azaltabilmek için ,balıkların anatomik yapılarının iyi bilinmesi, iç ve dış organların incelenmesi ve balık muayenesi hastalık tanımlanmasında önem arz etmektedir. Bu bölümde balık hastalıklarında ön incelemelerde yapılması gerekenlerle ilgili bilgiler verilmiştir.

KAYNAKLAR

- Austreng, E., 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13,265-272.
- Corrigan, GE., 1975. Autopsy goals and the concept of the organism. *Arch Pathol Lab Med* 19, 99,453 – 455.
- Erer, H., 2002 *Balık Hastalıkları*, Selçuk Üniversitesi Basım Evi, 189p.
- Dursun, N., 2007 *Veteriner Anatomi I*. Medisan Yayınevi.
- Gratzek, J.B., 1992 *Fish Anatomy, Physiology and Nutrition*. *Aquariology Series*.
- Guedes, SR., Valentim, AM., Antunes, LM., 2017. Mice aversion to sevoflurane, isoflurane and carbon dioxide using an approach-avoidance task. *Appl Anim Behav Sci*, 189, 91-7.
- Hajen, W.E., Beames, R.M., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., 1993b. Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. 2. Measurement of digestibility. *Aquaculture*, 112: 333-348.
- Harms, CA. 1999. Anesthesia in fish. In: Fowler ME, Miller RE, eds. *Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy 4*. Philadelphia: WB Saunders. p 158-163.
- Noga, E.J., 1996. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. St. Louis, MO, Mosby
- Özer, A., Erdem, O., 2021. *Balık Anatomisi ve Fizyolojisi*, Aktif Yayın Evi, 203 p.
- Spyridakis, P., Metailler, R., Gabaudan, J., Riaza, A., 1989. Studies on Nutrient Digestibility in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) 1. Methodological Aspects Concerning Faeces Collection. *Aquaculture*, 77:61-70.
- Windell, J.T., Foltz, J.W., Sarakon, J.A., 1978. Effect of size, temperature and amount fed on nutrient digestibility of a pelleted diet by rainbow trout. *Salmo gairdneri*. *Trans.Am.Fish.Soc.* 107 (4): 613-616.
- Del Rey-Moreno, A., Valero-López, A., Gómez-Pozo, B., Mayorga-Mayorga, C., Hernández-Quero, J., Garrido-Torres-Puchol, ML., Torres-Jaén, M.J., Lozano-Maldonado, J., 2008. Utilidad de la anamnesis y de las técnicas inmunológicas en el diagnóstico de la anisakidosis en pacientes con abdomen agudo. *Rev Esp Enferm Dig.* 2008 Mar;100(3):146-52. Spanish.
- Reavill, D., 2010. Necropsy of Fish. In: *Fundamentals of Ornamental Fish Health*. Blackwell Publishing 197-203 pp
- Sneddon, LU., 2012. Clinical Anesthesia and analgesia in fish. *J. Exot Pet Med*, 21(1):32-43.
- Soto, E., S. M. Boylan, B., Stevens, S. A., Smith, R. P. E., 2010. Yanong, K. Subramaniam, and T. Waltzek. 2010. Diagnosis of fish diseases. Pages 46–

88 *in* S. A. Smith, editor. Fish diseases and medicine. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Timur, G., 2008 Balık Anatomisi, Nobel Yayın Dağıtım.

Timur, G., 2011 Balık Fizyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım.

Voipio, HM., Baneux P, Gomez de Segura, IA., Hau, J., Wolfensohn, S., 2008. Guidelines for the veterinary care of laboratory animals: report of the FELASA/ECLAM/ ESLAV Joint Working Group on Veterinary Care. Lab Anim. 42, 1-11.

Yanong, R.P.E., 2003 Necropsy Techniques for Fish. Seminars in Avian and Pet Medicine 12(2):89-105

Yarsan , E., 2020. Balık Hekimliği, Güneş Tıp Kitap Evi, 544 p.

Bölüm 5

BALIKLARDA SPERM KALİTESİNİN BELİRLENMESİ

Şefik Surhan TABAKOĞLU¹

¹ Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, Yetiştiricilik ABD, 01250, Sarıçam, Adana-Türkiye
e-mail: surhan@cu.edu.tr

Giriş

Balıklar, dünya genelinde tüketilen önemli bir gıda kaynağıdır ve ticari balıkçılık, akvaryum endüstrisi, balık yetiştiriciliğı ve bilimsel araştırmalar gibi birçok alanda ekonomik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Balık üretiminin artırılması ve sürdürülebilirliğı için, balıkların üreme kapasitesi ve sperm kalitesinin belirlenmesi gereklidir. Sperm kalitesinin doğru bir şekilde belirlenmesi, üreticilere üreme başarısını artırma, genetik kaynakları koruma ve balık sağlığını izleme konusunda önemli avantajlar sunar. Sperm kalitesi, balıkların üreme başarısını etkileyen birçok faktöre bağlıdır. Bu nedenle, balıklarda sperm kalitesini belirlemek ve değerlendirmek önemlidir.

Balıklarda sperm kalitesini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler, balık türüne, ırkına, yaşına, çevre koşullarına ve sperma alma yöntemine bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Sağlıklı ve yeterli sperm kalitesi olmayan balıklar, üreme yeteneklerini kaybedebilirler. Sperm kalitesi, sperm morfolojisi, hareketliliğı, konsantrasyonu ve canlılığı gibi faktörlere dayalı olarak belirlenir.

a. Sperm Morfolojisi Değerlendirmesi

Sperm morfolojisi, sperm hücrelerinin şekli ve yapısının incelenmesini içerir. Bu yöntem, morfolojik anormallikleri tanımlamak için optik mikroskoplar kullanılarak gerçekleştirilir. Normal bir sperm hücresinin, baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç temel bölümden oluştuğı kabul edilir. Herhangi bir morfolojik anormallik, sperm kalitesinin düşük olduğunu gösterebilir.

b. Sperm Hareketliliğı Analizi

Sperm hareketliliğı, sperm hücrelerinin nasıl hareket ettiğini değerlendiren bir diğer önemli parametredir. Sperm hücrelerinin hızı, doğrusal hareketi, döner hareketi ve ileri yönde hareket etme yetenekleri hareketlilik analizi ile ölçülür. Hareketliliğı yüksek olan sperm hücreleri, dişi yumurtayı dölleme olasılığını artırır.

c. Sperm Konsantrasyonu Ölçümü

Sperm konsantrasyonu, birim hacimdeki sperm hücrelerinin sayısını ifade eder. Bu, sperm örneklerinin seyreltilmesi ve ardından bir sayım odasında sperm hücrelerinin sayılmasıyla belirlenir. Yüksek sperm konsantrasyonu, dölleme şansını artırabilir.

d. Sperm Canlılığı Analizi

Sperm canlılığı, sperm hücrelerinin yaşayıp yaşamadığını belirlemek için kullanılır. Sperm canlılığı, özel boyalar ve mikroskop kullanılarak

değerlendirilir. Canlı sperm hücreleri, üreme yeteneklerine katkıda bulunabilir.

Balıklarda sperm kalitesini belirlemek için kullanılan yöntemler, objektif ve subjektif olarak iki kategoriye ayrılabilir.

Objektif Yöntemler

Objektif yöntemler, spermin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini ölçerek sperm kalitesini doğrudan ölçümlemek ve nicel veriler elde etmek için kullanılır. Bu yöntemler, dölleme kapasitesi ile ilişkili olan ve ölçülebilen özellikleri kullanarak objektif sonuçlar elde etmeyi sağlar. Bu yöntemlerin kullanımı, subjektif değerlendirmelerden daha güvenilir sonuçlar sağlar.

Balıklarda sperm kalitesini belirlemede kullanılan bazı objektif yöntemler:

Bilgisayar Destekli Sperm Analizi [Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA)]: CASA, bilgisayar destekli bir programla sperm örneklerini analiz eden otomatik bir sistemdir. Bu program, sperm hareketliliği, morfolojisi, hızı, yönlülüğü ve diğer parametreleri objektif bir şekilde değerlendirebilir. CASA, yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik sağlar.

Akış Sitometri (Flow Cytometry): Akış sitometri, sperm örneklerinin mikroskop altında değil, bir akış sitometri cihazı kullanılarak analiz edildiği bir tekniktir. Bu yöntem, sperm hücrelerinin büyüklüğü, şekli, DNA bütünlüğü ve canlılık gibi özelliklerini objektif olarak ölçebilir.

Sperm Elektron Mikroskopisi: Elektron mikroskopisi, sperm hücrelerinin ultra yapılarını incelemek için kullanılır. Bu yöntem, sperm morfolojisini ve anormallikleri yüksek çözünürlüklü görüntülerle gözlemlemek için kullanılır.

DNA Hasarı Analizi: Sperm DNA hasarı, özellikle üreme başarısını etkileyebilir. Özel boyalar veya reaktifler kullanılarak sperm hücrelerinin DNA hasarı objektif bir şekilde değerlendirilebilir.

Yüzey İşaretleme (Surface Marking): Sperm yüzey proteinleri veya lipitleri, özel etiketler kullanılarak işaretlenebilir. Bu, sperm hücrelerinin yüzey özelliklerini ve fonksiyonlarını objektif olarak değerlendirmeyi sağlar.

Krio-Konserve Spermogram: Kriyoprezervasyon (dondurma) işlemi sonrası sperm örneklerinin spermogram analizi, sperm kalitesini objektif olarak değerlendirmenin bir yoludur. Bu yöntem, donma işleminin sperm kalitesi üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılır.

Bu objektif yöntemler, bilimsel araştırmalar, üreme programları ve balık üretimi alanında kullanılır. Objektif değerlendirmeler, sperm kalitesinin kesin bir şekilde belirlenmesini ve bu bilgilerin balık üretimini veya

koruma programlarını iyileştirmek için kullanılmasını sağlar.

Subjektif Yöntemler

Subjektif yöntemler, sperm kalitesini değerlendirmek için gözlem ve deneyimlere dayanır. Bu yöntemlerde, uzmanlar veya gözlemciler spermeleri görsel olarak değerlendirir ve bir derecelendirme sistemi kullanarak kaliteyi belirler. Objektif ölçümler kadar kesin sonuçlar vermemekle birlikte, balık yetiştiricileri tarafından yaygın olarak kullanılır.

Balıklarda sperm kalitesini belirlemede kullanılan bazı subjektif yöntemler:

Spermatokrit: Seminal sıvı içindeki sperm konsantrasyonunu ölçen bir yöntemdir. Bu yöntemde, spermeler ve seminal sıvı bir tüp içinde ayrıştırılır ve sperm konsantrasyonu hesaplanır. Daha yüksek spermatokrit değeri, daha yüksek sperm kalitesini gösterebilir.

Derecelendirme Yöntemi: Subjektif metotta, gözlemciler spermeleri görsel olarak değerlendirir ve bir derecelendirme sistemi kullanarak kaliteyi belirler. Bu yöntemde, spermeler belirli bir ölçekte derecelendirilir ve kaliteye göre puan verilir. Daha yüksek puan, daha yüksek kaliteyi gösterir.

Görsel Değerlendirme: Görsel değerlendirme, balıkların dış görünüşlerine dayanarak sperm kalitesini tahmin etmek için kullanılır. Bu yöntemde, balıkların renkleri, vücut yapıları ve davranışları gözlemlenir. Ancak bu yöntem subjektif olup, diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında daha az kesin sonuçlar verir.

Makroskopik Değerlendirme: Sperm örnekleri, mikroskop altında gözlenmeden önce makroskopik olarak değerlendirilir. Bu değerlendirme sırasında sperm örneğinin rengi, berraklığı, koku ve konsistansı gözlemlenir. Örneğin, puslu veya bozulmuş bir sperm örneği, sperm kalitesinin düşük olduğunu gösterebilir.

Sperm Hareketliliği Değerlendirmesi (Motilite): Gözlemciler, mikroskop altında sperm hücrelerinin hareketini izler ve hareketliliklerini değerlendirir. Sperm hücrelerinin düzgün ve ileriye yönlü hareket etmesi, yüksek hareketlilik olarak kabul edilir.

Sperm Morfolojisi Değerlendirmesi: Sperm hücrelerinin mikroskop altında şekli ve yapısı görsel olarak incelenir. Gözlemciler, normal ve anormal sperm hücrelerini ayırt etmeye çalışır. Anormal baş, boyun veya kuyruk yapısına sahip sperm hücreleri, morfolojik anormallik olarak değerlendirilebilir. Bu analiz, genetik bozukluklar ve üreme sorunları hakkında bilgi sağlar. Normal morfolojiye sahip spermeler, daha yüksek dölleme kapasitesine sahip olabilir.

Sperm Yoğunluğu Değerlendirmesi: Sperm kalitesini belirlemek için en temel subjektif yöntemlerden biri sperm sayımıdır. Mikroskop altında bir sayım odası kullanılarak yapılan sayım işlemi, spermelerin yoğunluğunu ve konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır. Daha yüksek sperm yoğunluğu, daha yüksek üreme potansiyeline sahip balıkları gösterir.

Sperm Canlılığı Değerlendirmesi: Sperm hücrelerinin canlılığını belirlemek için özel boyalar veya renklendiriciler kullanılır. Canlı sperm hücreleri renkli ve hareketlidir, ölü veya zarar görmüş hücreler ise renksiz veya hareketsiz olabilir. Sperm canlılığı, spermelerin canlılık ve yaşama yeteneğini değerlendiren bir ölçüttür. Bu yöntemde, spermelerin canlı ve ölü oranları belirlenir. Daha yüksek canlılık oranı, daha sağlıklı ve üreme potansiyeli yüksek spermleri gösterir.

Sperm Aglutinasyonu ve Aggregasyonu Değerlendirmesi: Gözlemciler, sperm örneklerinde sperm hücrelerinin bir araya gelmesi veya yapışması gibi fenomenleri değerlendirebilir. Bu, sperm hareketliliği ve kalitesi üzerinde etkili olabilir.

Üreme Performansı: Balıkların üreme performansı, spermelerinin kalitesi hakkında ipuçları verebilir. Bu yöntemde, balıkların üreme süreci ve üreme başarısı gözlemlenir. Başarılı üreme sonuçları, spermelerin kalitesini ve üreme potansiyelini gösterir.

Bu subjektif değerlendirme yöntemleri, deneyimli gözlemciler tarafından kullanıldığında faydalı bilgiler sağlayabilir. Ancak subjektif olmaları, sonuçların kişiden kişiye değişebileceği anlamına gelir. Bu nedenle, objektif ve otomatikleştirilmiş yöntemler, özellikle büyük ölçekli balık üretimi veya araştırmalarda daha güvenilir sonuçlar sağlayabilir.

Objektif ve subjektif yöntemler arasında bazı önemli farklılıklar vardır. Bu iki tür yöntemi karşılaştıran bazı temel farklar:

Objektif Yöntemler:

1. Yüksek Hassasiyet ve Tekrarlanabilirlik: Objektif yöntemler, bilgisayar destekli programlar veya cihazlar kullanarak sperm örneklerini analiz ederler. Bu nedenle sonuçlar daha yüksek hassasiyete ve tekrarlanabilirliğe sahiptir.

2. Daha Hızlı Analiz: Objektif yöntemler, büyük örneklerin hızlı bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Özellikle büyük balık üretim operasyonları veya araştırmalar için bu önemlidir.

3. Daha Fazla Parametre: Objektif yöntemler, sperm hareketliliği, morfolojisi, hızı, yönlülüğü, DNA hasarı ve diğer birçok parametreyi objektif bir şekilde ölçebilirler. Bu, daha kapsamlı bir değerlendirme sağlar.

4. Azaltılmış İnsan Hatası: İnsan gözlemcilerinin subjektif değerlendirmelerindeki hatalar ve kişiden kişiye değişkenlik objektif yöntemlerle en aza indirilir.

Subjektif Yöntemler:

1. Deneyime Dayalı: Subjektif yöntemler, deneyimli gözlemcilerle dayalıdır. Gözlemcilerin deneyimi, sonuçları etkileyebilir. Aynı örneği farklı gözlemciler farklı şekillerde değerlendirebilir.

2. Daha Uzun Süreç: Sperm örneklerinin subjektif değerlendirilmesi, objektif yöntemlere göre daha fazla zaman alabilir.

3. Sınırlı Sayıda Parametre: Subjektif yöntemler, sperm hareketliliği ve morfolojisini değerlendirmek için kullanılırken, diğer parametreleri ölçmek için daha sınırlıdır.

4. Kişisel Değerlendirme: Gözlemci, sperm hareketliliği veya morfolojisini “iyi” veya “kötü” gibi kişisel değerlendirmelerle açıklar. Bu nedenle sonuçlar daha az spesifik olabilir.

Genel olarak, objektif yöntemler, daha hassas, hızlı ve kapsamlı sonuçlar sağlar ve özellikle büyük ölçekli balık üretimi veya bilimsel araştırmalar için tercih edilir. Subjektif yöntemler ise deneyimli gözlemciler tarafından kullanıldığında hala değerli bilgiler sunabilir, ancak sonuçlar daha değişken olabilir ve daha fazla deneyime ihtiyaç duyar. Objektif yöntemlerin kullanımı, balık üretimi ve koruma programlarını daha verimli hale getirebilir.

Spermiyogram analizi için kullanılan Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) programları, balıklarda sperm kalitesini değerlendirmek için bir dizi parametreyi ölçme yeteneğine sahiptir. Bu programlar, sperm hareketliliği ve morfolojisi gibi önemli faktörleri değerlendirmek için kullanılır. CASA programlarının saptadığı yaygın parametreler:

1. Sperm Hareketliliği (Motilite):

- ❖ Toplam Hareketlilik (Total Motility): Tüm sperm hücrelerinin hareket etme yüzdesini ifade eder.
- ❖ İlerleyici Hareketlilik (Progressive Motility): Sperm hücrelerinin doğrusal hareket edenlerin yüzdesini ifade eder.
- ❖ İlerlemeyen Hareketlilik (Non-Progressive Motility): Sperm hücrelerinin doğrusal hareket etmeyen, ancak hareket edenlerin yüzdesini ifade eder.
- ❖ Hareketsiz (Immotile): Hareket etmeyen sperm hücrelerinin yüzdesini ifade eder.

2. Sperm Morfolojisi (Şekil ve Yapı):

- ❖ Normal Morfoloji (Normal Morphology): Normal şekle sahip sperm hücrelerinin yüzdesini ifade eder.
- ❖ Anormal Morfoloji (Abnormal Morphology): Anormal şekillere sahip sperm hücrelerinin yüzdesini ifade eder. Bu, baş, boyun ve kuyruk anomalilerini içerebilir.

3. Sperm Hızı (Velocity):

- ❖ VCL (Kavisli Hız - Curvilinear Velocity): Sperm hücrelerinin kavisli yolu boyunca ortalama hızını ifade eder.
- ❖ VSL (Doğrusal Hız - Straight-Line Velocity): Sperm hücrelerinin doğrusal bir çizgi boyunca ortalama hızını ifade eder.
- ❖ VAP (Ortalama Yol Hızı - Average Path Velocity): Sperm hücrelerinin takip ettiği ortalama yolun hızını ifade eder.

4. Sperm Hareket Desenleri (Motion Patterns):

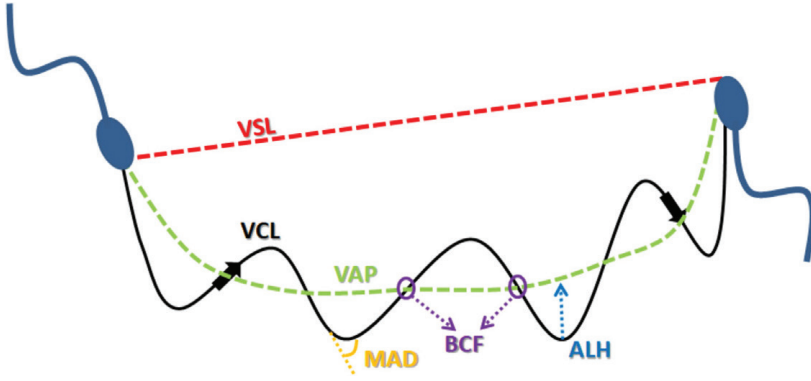
- ❖ LIN (Doğrusallık İndeksi - Linearity Index): Sperm hücrelerinin doğrusal hareketini değerlendirir (VSL/VCL).
- ❖ WOB (Titreşim İndeksi - Wobble Index): Sperm hücrelerinin titreşmesini ölçer (VAP/VCL).
- ❖ ALH (Yanal Baş Kayması Genişliği - Amplitude of Lateral Head Displacement): Sperm başının yanal hareket genişliğini ifade eder.
- ❖ MAD (Ortalama açısız hareket derecesi): Sperm başının anlık dönüşleri sırasında yaptığı açısız değişikliğin ortalaması.
- ❖ STR (Doğrusallık): Ortalama yolun doğrusallığı (VSL/VAP).
- ❖ BCF (Çapraz geçiş frekans ritmi Hz): Eğrisel yolağın ortalama yoldan geçme frekansı.

5. **Sperm Baş Parametreleri (Head Parameters):** Sperm başının boyut, şekil ve simetrisi gibi özelliklerini ölçer.

6. **Sperm Kuyruk Parametreleri (Tail Parameters):** Sperm kuyruğunun uzunluk, dönüşler, hız ve eğrilik gibi özelliklerini ölçer.

7. **Sperm Boyutları:** Sperm hücrelerinin boyutları, baş ve kuyruk uzunlukları gibi parametreleri ölçer.

8. **Sperm DNA Bütünlüğü:** Sperm hücrelerinin DNA bütünlüğünü değerlendiren özel parametreler de kullanılabilir.



Şekil 1. CASA sistemi tarafından ölçülen bazı hareketlilik modellerinin şematik gösterimi (Kowalski ve ark., 2019).

CASA programları, bu parametreleri kullanarak spermiyogram analizini otomatikleştirir ve verileri daha hassas bir şekilde toplar. Bu, balıklarda sperm kalitesini değerlendirmek ve üreme başarısını artırmak için önemli bir araçtır.

Balıklarda Sperm Kalitesini Etkileyen Faktörler

Balıklarda sperm kalitesini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler, balık türüne, yaşına, çevre koşullarına ve üretim yöntemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Çevresel faktörler, stres, beslenme, su kalitesi ve yaş gibi etkenler sperm kalitesini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, sperm kalitesinin belirlenmesi sadece bir teşhis aracı değil, aynı zamanda balıkların yaşam koşullarını ve bakımını iyileştirmek için de kullanılabilir.

Aşağıda, balıklarda sperm kalitesini etkileyen bazı faktörler verilmiştir:

- ❖ **Beslenme:** Balıkların beslenmesi, sperm kalitesini etkileyen önemli bir faktördür. Düzenli ve dengeli bir beslenme, sağlıklı sperm üretimini destekler.
- ❖ **Çevresel Faktörler:** Balıkların yaşadığı çevresel faktörler, sperm kalitesini etkileyebilir. Su sıcaklığı, su kalitesi, pH seviyesi gibi faktörler sperm kalitesini olumsuz etkileyebilir.
- ❖ **Stres:** Balıkların stres seviyesi, sperm kalitesini etkileyen bir diğer faktördür. Yüksek stres seviyeleri, sperm üretimini azaltabilir ve sperm kalitesini düşürebilir.

Balıklarda Sperm Kalitesini Artırmak İçin Öneriler

Balıklarda sperm kalitesini artırmak için bazı öneriler bulunmaktadır. Bu öneriler, balık üreticileri ve yetiştiricileri tarafından uygulanabilir. Aşağıda, balıklarda sperm kalitesini artırmak için bazı öneriler verilmiştir:

- ❖ **Dengeli Beslenme:** Balıkların dengeli ve sağlıklı bir beslenme alışkanlığına sahip olması, sperm kalitesini artırabilir. Balıkların beslenmesinde omega-3 yağ asitleri gibi besinlerin bulunması önemlidir.
- ❖ **Stres Yönetimi:** Balıkların stres seviyelerini düşürmek, sperm kalitesini artırmak için önemlidir. Stresi azaltmak için uygun su koşullarının sağlanması ve düzenli bakım yapılması gerekmektedir.
- ❖ **Çevresel Faktörlerin Kontrolü:** Balıkların yaşadığı çevresel faktörlerin kontrol altında tutulması, sperm kalitesini artırmak için önemlidir. Su sıcaklığı, su kalitesi ve pH seviyesi gibi faktörlerin uygun seviyelerde olması sağlanmalıdır.

Sonuç

Balıklarda sperm kalitesini belirlemede kullanılan objektif ve subjektif yöntemler, balık yetiştiriciliği ve araştırmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Objektif yöntemler, nicel veriler elde etmek ve güvenilir sonuçlar sağlamak için kullanılırken, subjektif yöntemler gözlem ve deneyimlere dayanır. Balıklarda sperm kalitesinin doğru bir şekilde belirlenmesi, balık üretimi, balık popülasyonlarının sürdürülebilirliği ve balıkçılık endüstrisi için kritik bir öneme sahiptir. Sperm morfolojisi, hareketliliği, konsantrasyonu ve canlılığı gibi faktörler, üreme başarısını etkileyen önemli parametrelerdir. Bu yöntemler, balık üreticileri, araştırmacılar ve koruma organizasyonları için balıkların üreme kapasitesini ve sağlığını izlemek için vazgeçilmez araçlardır. Balıklarda sperm kalitesini artırmak için beslenme, çevresel faktörlerin kontrolü ve stres yönetimi gibi faktörler dikkate alınmalıdır. Bu nedenle, daha fazla araştırma ve geliştirme çalışmalarına ihtiyaç vardır, bu sayede balık üretimi ve koruma çabaları daha etkili hale getirilebilir.

KAYNAKLAR

- Akçay, E., Seçer, S., Bozkurt, Y., Tekin, N., 2004. Cryopreservation of Mirror Carp Semen. *Tübitak Türk J. Vet. Anim. Sci.* 28: 837 – 843
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M., 1995. Sperm Physiology and Quality. In: Bromage, N., Roberts, R. (Eds), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford, pp:25-52.
- Billard, R., Cosson, M.P., 1992. Some Problems Related to the Assessment of Sperm Motility in Freshwater Fish. *J. Exp. Zool.*, 261: 122- 131.
- Boryshpolets, S., Kowalski, R. K., Dietrich, G. J., Dzyuba, B., & Ciereszko, A., 2013. Different computerassisted sperm analysis (CASA) systems highly influence sperm motility parameters. *Theriogenology*, 80(7), 758-765.
- Bromage, N.R., Roberts, R.J., 1995. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science Ltd., Oxford, 424 pp.
- Burness, G., Casselman, S.J., schulte-hostedde, A.I., Moyes, C.D., and Montgomerie, R., 2004. Sperm swimming speed and energetics vary with sperm competition risk in bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 56: 65–70.
- Büyükhatipoğlu, S., and W. Holtz., 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture* 37:63-71.
- Cosson J., 2008. Methods to analyse the movements of the spermatozoa and their flagella. In: Alavi SMH, Cosson J, Coward K, Rafiee G. editors. *Fish spermatology*. Alpha Science Ltd, Oxford, pp 63-102.
- Cosson, M.P., Billard, R., Gatti, J.L., & Christen, R., 1985. Rapid and Quantitative Assessment of Trout Spermatozoa Motility Using Stroboscopy. *Aquaculture*, 46:71-5.
- Kime D.E., Van Look K.J.W., McAllister B.G., Huyskens G., Rurangwa E., & Ollevier F., 2001. Computerassisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 130(4), 425-433.
- Kime, D.E., Ebrahimi, M., Nysten, K., Roelants, I., Rurangwa, E., Moore, H.D.M. and Ollevier, F., 1996. Use of computer assisted sperm analysis (CASA) for monitoring the effects of pollution on sperm quality of fish; application to the effects of heavy metals. *Aquat. Toxicol.*, 36. p. 223-237.
- Köprücü, K., 2018. Balık Gametlerinin Moleküler ve Hücresel Özellikleri, Kalite Kriterleri ve Ölçüm Teknikleri. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 30 (1) , 7-14. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/en/pub/fufbd/issue/35839/400689>.

- Kowalski, R. K., & Cejko, B. I., 2019. Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. *Theriogenology*, 135, 94-108.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A., 1998. Determination of Semen Quality of the Rainbow Trout by Sperm Motility Seminal Plasma Parameters and Spermatozoal Metabolism. *Aquaculture*, 163:163- 181.
- Munkittrick, R.K., Moccia, D.R., 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture*, 64(2): 147-156.
- Özgür, M. E., 2018. Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio*) Balığına İmaj J-Fiji ile Sperm Hücresi Hareketlilik ve Hız Analizi. *El-Cezeri*, vol. 5, no. 3, pp. 828-835.
- Özgür, M. E., Okumuş, F., & Kocamaz, A. F., 2019. A novel computer assisted sperm analyzer for assessment of spermatozoa motility in fish; BA-SA-Sperm Aqua. *El-Cezeri Journal of Science and Engineering*, 6(1), 208-219.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *J.aquac.*, 234:1-28.
- Schrader SM, Chapin RE, Clegg ED, et al., 1992. Laboratory methods for assessing human sperm quality in epidemiologic studies: a consensus report. *Reprod Toxicol.* 6: 275–279.
- Schulz, R.W., Miura, T., 2002. Spermatogenesis and Its Endocrinology. *Fish Physiol. Biochem.*, 26: 43 – 56.
- Stoss, J., 1983. Fish Gamete Preservation and Spermatozoan Physiology. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.(Eds), *Fish Physiology*. Academic Press, New York.

Bölüm 6

BALIK BESLEMEDE BİTKİSEL YAĞ VE EKSTRAKTLARININ KULLANIMI VE ETKİ MEKANİZMASI

Celal ERBAŞ¹

¹ Çukurova Üniversitesi, Yumurtalık Meslek Yüksekokulu Yumurtalık, Adana-Türkiye, e-mail: cerbas@cu.edu.tr

Giriş

Günümüzde dünya nüfusu hızla artmakta olup, 7,6 milyarı aşmış durumdadır. Uzmanlar, 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 9 milyarı aşmasını beklemektedir (FAO, 2023). Bu büyüme, hayvansal protein ihtiyacının artmasına yol açacak ve gıda güvenliği, dünya genelinde sürdürülebilir kalkınma için kritik bir öneme sahip olacaktır. Su ürünleri, bu artan protein talebinin karşılanmasında özel bir rol oynar ve su ürünleri yetiştiriciliği, geleceğin önem ahzeden ve vazgeçilmez bir sektörü olarak kabul edilmektedir. Bu sektör, deniz ve tatlı su kaynaklarından sürdürülebilir bir şekilde su ürünleri elde etme potansiyeline sahiptir. Su ürünleri yetiştiriciliği, hayvan yetiştiriciliği için sürdürülebilir bir alternatif sunarak hem protein üretimini artırır hem de çevresel etkileri azaltır. Dolayısıyla, su ürünleri yetiştiriciliği, gıda güvenliği ve dünya genelinde sürdürülebilir kalkınma için kritik bir öneme sahiptir ve gelecekte protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir rol oynayacaktır. Bu nedenle, bu sektöre yatırım yapmak ve sürdürülebilir uygulamaları teşvik etmek, hem insanların temel beslenme ihtiyaçlarını karşılamak hem de çevreyi korumak açısından önemlidir. Su ürünleri üretimi, dünya genelinde ve ülkemizde diğer gıda üretim sektörlerine kıyasla hızla artan bir endüstri haline gelmiştir. Balığın besin değeri hakkındaki bilincin artmasıyla birlikte, ülkemizde kişi başına ortalama balık tüketiminde önemli bir artış gözlenmektedir. 2016 yılı içerisinde Türkiye’de ki kişi başına tüketilen balık miktarı 5,5 kg iken bu oran 2022 yılında 7,3 kg çıkmıştır (Tüik 2023). Bu artış, sağlıklı beslenme alışkanlıklarının teşvik edilmesi ve insanların daha dengeli bir diyet benimsemesi açısından olumlu bir gelişmedir.

Balık Tüketiminin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Balık, insan sağlığı için önemli birer protein ve yağ kaynağıdır. Balık eti, tüketilirken dikkate alınması gereken birkaç önemli faktöre sahiptir. Bu faktörler, tüketilecek balığın kalitesini belirler. Balık etinin kalitesi, taze ve sağlıklı olması, işlenmesinin kolaylığı, lezzetli ve besleyici olması, uygun fiyatlı olması ve besin değerine sahip olması gibi faktörlere bağlıdır. Bu nedenle, tüketiciler için balık seçimi sırasında bu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Balık tüketimi, omega-3 yağ asitleri gibi sağlık için faydalı besin maddelerini almanın bir yoludur ve dengeli bir diyetin önemli bir parçasıdır (Listrat ve ark., 2016; Tocher, 2010). Birçok araştırma, balık yağının yüksek oranda n-3 yüksek doymamış yağ asitleri (HUFA) içerdiğini göstermektedir, özellikle eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, 22:6n-3). Balık yağı, bu yağ asitleri açısından zengin bir kaynak olup, sağlık üzerinde bir dizi olumlu etki sağlayabilir. Ayrıca, balık yağı triasilgliserol (TAG) seviyelerini düşürme, Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlatma, anti-inflamatuar ve anti-kanser özelliklere sahip olma, damar hastalıkları ve felci önleme, kan ba-

sıncını düşürme ve hipertansiyonu kontrol etme gibi bir dizi sağlık yararı sunabileceği bildirilmiştir. Balık yağı, özellikle EPA ve DHA içeriği sayesinde, kardiyovasküler sağlık, beyin fonksiyonları, inflamasyonun kontrolü ve kanserle mücadele gibi birçok farklı sağlık alanında olumlu katkılarda bulunabilir. Bu nedenle, balık yağının düzenli olarak tüketilmesi, sağlıklı bir yaşam tarzının önemli bir parçasıdır ve birçok kişi için önerilir (Guillaume ve ark., 2001; Han ve ark., 2018 ; Keim ve ark., 2015; Vannice ve ark., 2014). Balık ve balık yağı, uzun yıllardır hayvan beslemeden su ürünleri yetiştiriciliğine ve insan tüketimine kadar birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Balık yağı üretiminde önde gelen ülkeler arasında Çin, Tayland, Danimarka, Norveç, Fas ve Türkiye gibi ülkeler bulunmaktadır.

Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Yem Katkı Maddelerinin Önemi ve Etki Mekanizmaları

Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, dünya balık yağı üretiminin büyük bir bölümünü karşılamaktadır ve bu, balık yağına yüksek bir talebin olduğu anlamına gelir. Balık yağı, hem endüstriyel alanlarda hem de insan beslenmesinde faydaları nedeniyle önemli bir ürün olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, balık yağı üretimi ve tüketimi dünya genelinde geniş bir şekilde yaygındır ve büyük öneme sahiptir. Su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe çalışan araştırmacılar, balık yemi üretiminde balık yağı ve balık ununun tamamen veya kısmen yerine daha ekonomik bitkisel yağlar ve protein kaynaklarını kullanma olasılığını araştırmaktadırlar. Bu, sürdürülebilirlik ve maliyet etkinliği açısından önemli bir adımdır ve birçok çalışma bu yönde yapılmaktadır. Bu tür çalışmalar, su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde daha sürdürülebilir ve çevre dostu yem formülasyonlarının geliştirilmesi açısından büyük potansiyel taşımaktadır (Akiyama, ve ark. 1995). Besin katkı maddeleri, yemlerin çeşitli amaçlar doğrultusunda geliştirilmesi ve balık yetiştiriciliğinin etkili bir şekilde yönetilmesi için kullanılan maddelerdir. Bu katkı maddeleri, yemlerin doğallığını korumak, stabilize etmek, bağlamak, büyümeyi teşvik etmek, kilo almayı hızlandırmak, sindirilebilirliği artırmak ve balıkların yemleri daha iştah açıcı hale getirmek gibi bir dizi amaç için kullanılır. Ayrıca, yemlerin besin değerini artırmak ve balıkların temel ihtiyaçlarını karşılamak için vitaminler, mineraller, amino asitler, kolesterol, fosfolipidler gibi gıda maddeleri de katkı maddeleri olarak kullanılır. Bu maddeler, balık yetiştiriciliğinde beslenme programlarını optimize etmek ve balıkların sağlığı ile büyümesini desteklemek için önemli bir rol oynarlar. (Tacon, 1987). Avrupa Birliği, antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılmasının, bakteriyel direnç yolu açma ve hayvansal ürünlerde insan sağlığını tehdit eden kalıntılar bırakma endişeleri nedeniyle önemli adımlar atmıştır. 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren AB, yemlerde antibiyotik kullanımını tamamen yasaklamıştır. Bu yasak, hayvansal ürünlerin üretim sürecini daha güvenli hale getirmek

amacıyla, gastro-intestinal mikroflora sağlığını koruma, bakteriyel hastalıkları kontrol altına alma, büyüme performansını destekleme ve mortaliteyi azaltma hedeflerine yönelik tıbbi bitki türlerinin yem katkı maddesi olarak kullanımını teşvik etmiştir. Bu alternatif yaklaşım, bilimsel çalışmalarla da desteklenmektedir. Bu adımlar, hayvansal ürünlerin güvenliğini ve kalitesini artırmak, aynı zamanda insan sağlığını korumak için önemli bir ilerleme sağlamıştır. (Hermann ve ark., 2003; Goda, 2008; Keser ve Bilal, 2008; Abdel-Tawwab ark., 2010; Yılmaz ark., 2012; Diler ark., 2016; Terzioğlu ve Diler, 2016).

Son yıllarda su ürünleri sektörüyle ilgili yapılan araştırmalar, tıbbi bitkilerin balıkların büyüme parametreleri üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (Immanuel ark., 2009; Ahilan ark., 2010; Oskoi ark., 2012). Hem balıkların büyümesini hemde sağlığını artırmak amacıyla çeşitli bitkisel ürünlerin kullanılması, giderek daha fazla önem kazanmaya başlamıştır (Gatlin ark., 2007; Ji ark., 2007; Erol-Florian vd., 2011; Ndong ve Fall, 2011; Diler ark., 2012). Yetiştiricilikte sağlıklı bir şekilde balığın büyümesini artırmaya yönelik doğal ürünlere olan ilgiyi artmıştır. Özellikle kimyasal kullanımın sınırlandırılması ve antibiyotiklerin yerine doğal büyüme artırıcıların kullanılması önem kazanmıştır. Yapılan bir çok çalışmada doğal özellikle tıbbi ve aromatik bitki ismini alan doğal ürünler denemektedir. Yapılan bir çalışmada, %1 zencefil, %2 sarımsak, %1 kekik ve %2 ekinezya içeren yemlerle beslenen yavru gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) yapılan 116 günlük bir çalışmanın sonuçlarını değerlendirmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, hayatta kalma oranlarının arttığı, final vücut ağırlığının yükseldiği, ağırlık kazancının arttığı ve spesifik gelişim oranının arttığı bulunmuştur (Gabor ve ark., 2011). Benzer sonuçlar, *Melissa officinalis* (20g/kg) ve *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) (10g/kg) bitkilerinin yeme ilave edilmesiyle gökkuşacağı alabalıklarında büyümeye olumlu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalarla da teyit edilmiştir (Farahi ark., 2012). Bu doğal büyüme artırıcıların kullanımı, hem hastalıklara karşı mücadelede hem de beslemede olumlu sonuçlar vermektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde bitkisel ürünlerin kullanımı, çeşitli nedenlerle tercih edilmektedir. Bu nedenler arasında maliyet açısından daha ekonomik olmaları, kolayca temin edilebilir olmaları, sürdürülebilirliğe katkıda bulunmaları, daha düşük dozlarda etkili olmaları, biyolojik olarak parçalanabilme özelliklerine sahip olmaları, patojenlere karşı etkili olmaları ve çevre dostu olmaları yer almaktadır. Bu avantajlar, bitkisel yemlerin su ürünleri yetiştiriciliğinde daha yaygın bir şekilde kullanılmasını teşvik etmektedir. Bitkisel yemler, hem ekonomik hem de çevresel açıdan sürdürülebilir bir alternatif sunar, bu da su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde tercih edilmelerinin temel nedenlerindedir (Cihangir ve Diler, 2016). Bu

nedenlerle bitkiler, su ürünleri yetiştiriciliğinde tercih edilen bir alternatif haline gelmektedir. Yem katkı maddeleri, su ürünleri yetiştiriciliği alanında da önemli bir konu olarak araştırılmaktadır. Balık yemlerine ek olarak *Origanum türleri* gibi bitkisel bileşenlerin kullanılmasıyla ilgili çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Cihangir ve Diler (2016) tarafından yapılan çalışmalar, kekik (*O. vulgare*) bitkisinden elde edilen yüksek oranda uçucu yağların gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için balık yemlerine 3,0 mg kg⁻¹ oranına kadar ilave edilerek büyüme performansını, yemden yararlanma oranını ve yaşama oranını artırdığını göstermiştir. İzmir Kekiği (*O. onites*) kullanımı ile ilgili Diler ve ark., (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, bu bitkinin gökkuşağı alabalığı için büyüme, lizozim ve antioksidan aktivite üzerinde olumlu etkilerinin yanı sıra *Lactococcus garvieae* enfeksiyonuna karşı direnci artırıcı bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Diler ark., (2017) tarafından gerçekleştirilen başka bir araştırma, gökkuşağı alabalıklarının beslenmesine kekik katkısının olumlu etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bu etkiler arasında büyümeyi teşvik eden faktörlerin artışı, lizozim ve antioksidan aktivitesinde artış, aynı zamanda patojenlere karşı direncin artması gibi bulgular yer almaktadır. Bu sonuçlar, kekik katkısının balıkların sağlığı ve büyümesi üzerinde olumlu bir etki sağlayabileceğini göstermektedir. Ergül (2018), yaptıkları bir araştırma da gökkuşağı alabalıklarının yemlerine 0.25 ml/kg ve 0.50 ml/kg oranlarında kekik (*Origanum onites*) Özü tü eklenmesinin balıkların büyüme, bağırsak ve deri histolojisi, bağırsak mikroflorası üzerindeki etkisini inceledi. Çalışma sonuçlarına göre, 0.25 ml/kg'da ekstrakt eklenen grubun final ağırlık ve canlı ağırlık artışının en yüksek olduğunu belirtmiş ve spesifik büyüme oranında diğer gruplarla karşılaştırıldığında bu grubun daha iyi bir sonuç verdiğini göstermiştir. Fakat yem çevirim oranı ve yaşama oranı arasında gruplar arasında belirgin bir farklılık olmadığını rapor etmiştir. Aynı şekilde, balıkların bağırsaklarında bulunan mikroorganizmalar incelendiğinde, farklı gruplar arasında önemli bir fark tespit edilememiş, ancak deri üzerinde 0.50 ml/kg ve 0.25 ml/kg ekstrakt eklenen gruplarda goblet hücre sayısının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, bağırsak histolojisi incelendiğinde, villus boyu ve eninin kontrol grubundan daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Yousefi ve ark., (2021) ise sazan balığı (*Cyprinus carpio*) üzerinde yaptıkları çalışmada, *Origanum*'un yeme 200 mg/kg ilave edilmesinin büyüme performansı, hematolojik parametreler, antioksidan aktiviteler, humoral ve mukozal bağışıklık tepkileri, ve *A. hydrophila*'ya karşı direnç üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Diler ve ark., (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Artemisia vulgaris* L. adlı önemli bir tıbbi bitki türünün gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* L. *Walbaum*) üzerindeki etkilerini incelemişler. Ortalama ağırlığı 21 gram olan balıkların yemlerine *A. vulgaris* tozu (%0, %0.1, %0.5, %1.0,

%2.0) ve etanol Özü (250 mg/kg, 1000 mg/kg) şeklinde eklenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, *A. vulgaris*'in balık yemlerine eklenmesi, bireklerin büyüme endekleri ve yem çevirim oranı (%0.1, %0.5, %1.0, %2.0) ve etanol ekstrakt gruplarında (250 mg/kg, 1000 mg/kg) artışa neden olmuştur ($P<0,05$). En iyi yem dönüşüm oranı, %0.1 ve %1.0 gruplarında gözlemlenmiştir. Pasifik beyaz karidesi (*Litopenaus vannamei*) üzerine yapılan bir çalışmada *Pinus koraiensis* yağı, (% 0,1) Kekik yağı ve (% 0,025) Fermente sarımsak suyu (% 0,1) ile hazırladıkları rasyon ile 16 hafta boyunca beslenmiş büyüme üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiş (Kim ve ark., 2011). Karabalıklar (*Clarias gariepinus*) 10 hafta süresince beslenen rasyonlara, yer fıstığı yağı (9 g/kg), soya fasülyesi yağı (9 g/kg) ve hurma yağı (9 g/kg) eklenmiş ve büyümede etkili olduğu belirlenmiştir (Sotolu, 2010). Başka bir karabalık çalışmasında ise, rasyonlara hurma yağı (% 1, 1.5, 2) ve shea yağı (% 1,1,5, 2) eklenerek 56 gün beslenmiş, sonuç olarak büyümede önemli etkiler görülmüş (Zaid ve ark., 2011). Mersin balıkları (*Huso huso*) ile yapılan bir çalışmada, besleme de sarımsak uçucu yağı (% 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 g/kg) kullanılmış ve büyümede önemli etkilerin olduğu söylenmiş (Tangestani ve ark.,2013). Bitki yağı ve bitki ekstraktlar ile balık besleme üzerine bu güne kadar yapılan bazı araştırma bulguları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bazı bitki yağı ve ekstraktları ile yapılan çalışmalar

Balık	Kullanılan Bitki	Uygulama şekli	Etki mekanizması	Uygulama yöntemi	Araştırmacı
<i>Labero rohita</i> (Rohu balığı)	Sarımsak (<i>Allium sativum</i>)	Toz Haline Gelmiş Un rasyon içine	İmmünostimulan etkisi	İntraperitoneal enjeksiyon	Sahu ark., 2007
Nil tilapyası (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Yeşil çay (<i>Camellia sinensis</i>)	Yaprakları Toz Haline Gelmiş Un	İmmünostimulan etkisi, bazı bakterilere karşı direnç kazanımı	Ağız Yoluyla	Abdel-Tawwab ark., 2010
Nil tilapyası (<i>O.niloticus</i>)	Aloe vera	Toz Haline Gelmiş Un	<i>Streptococcus iniae</i> 'ye karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Gabriel ark., 2015
Gökkuşluğu (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	bakla (<i>Lupinus perennis</i>) Magnifera (<i>Maggifera indica</i>) Isırgan otu (<i>Urtica dioica</i>)	Toz Haline Gelmiş Un	İmmünostimulan etkisi ve <i>A. Hydrophila</i> ya karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Awad ve Austin, 2010
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Yaban mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	Toz Haline Gelmiş Un	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Terzioğlu ve Diler, 2016
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Adaçayı (<i>Salvia officinalis</i>)	Toz Haline Gelmiş Un	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Terzioğlu ve Diler, 2016
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Pelin otu (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Tozu ve erthanol Özü	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Diler ark., 2018

Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Limon otu (<i>Melissa officinalis</i>)	Sulu metanolik özütü	Büyüme performansı, kan parametreleri, sindirim ve antioksidan enzim aktivitesileri ile spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisi	Ağız Yoluyla	Bilen ark., 2020
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Sakal likeni (<i>Usnea barbata</i>)	Sulu metanolik Özütü	<i>Lastococcus garviae</i> ' ye karşı terapotik etkisi	Banyo	Bilen ark., 2019
Çipura (<i>Sparus aurata</i>)	Ebegümeçi (<i>Malta sylvestris</i>)	Sulu metanoli Özütü	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Bilen ark., 2019
Çipura (<i>Sparus aurata</i>)	Tetra (<i>Cotinus coggygrai</i>)	Sulu metanoli Özütü	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Bilen ark., 2019
Avrupa levreği (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Tetra (<i>Cotinus coggygrai</i>)	Sulu metanoli Özütü	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Bilen ark., 2019
Avrupa levreği (<i>D. labrax</i>)	Ebegümeçi (<i>Malta sylvestris</i>)	Sulu metanolik Özütü	İmmünostimulan etkisi ve <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Bilen ark., 2019
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Sarımsak (<i>Allium sativum</i>)	Kabuk ve sapının sulu metanolik ekstraktlar	Yumurtalar üzerindeki <i>Saprolegnia parasitica</i> ' yı önlemek	Banyo	Özçelik ark., 2020
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. Mykiss</i>)	Soğan (<i>Allium cepa</i>)	Kabuğunun sulu metanolik ekstraktları	Yumurtalar üzerindeki <i>Saprolegnia parasitica</i> ' yı önlemek	Banyo	Özçelik ark., 2020
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	Çin yüksükotu (<i>Rehmannia glutinosa</i>)	Kurutulmuş kök tozu	İmmünostimulan etkisi, büyüme performansı ve bakteriye karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Wang ark., 2015
Mozambik tilapyası (<i>Oreochromis mossambicus</i>)	Limon (<i>Citrus limon</i>)	Kabuğundan elde edilen uçucu yağı	İmmünostimulan etkisi ve bakteriye karşı direnç gelişimi	Ağız Yoluyla	Baba ark., 2016
Mozambik tilapyası (<i>O. mossambicus</i>)	Fesleğen (<i>Ocimum basilicum</i>)	Yaprak Özütü	İmmünostimulan etkisi ve <i>A. hydrophila</i> ya karşı direnç gelişimi	İ.P.	Logambal ark., 2000
Japon balığı (<i>Carassius auratus</i>)	Kadife fasulye (<i>Mucuna pruriens</i>) Papaya (<i>Carica papaya</i>)	yapraklarının Özütü, Papaya tohumlarının petrol-eter ekstresi	<i>Ichthyophthirius multifiliis</i> ' e karşı etki	İmmersiyon	Knopf ve Ekanem, 2004
<i>O. niloticus</i>	biberiye (<i>Lippia sidoides</i>), nane (<i>Mentha piperita</i>)	Uçucu yağları	İmmünostimulan etkisi	İmmersiyon	Hashimoto ve ark., 2016
Ciklet grubu (<i>Sciaenochromis fryeri</i>) ve (<i>Labidochromis caeruleus</i>)	Sardunya (<i>Pelargonium graveolens</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Can ark., 2018

ciklet (<i>S. fryeri</i>) ve (<i>L. caeruleus</i>)	Papatya (<i>Matricaria chamomilla</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Can ark., 2017
Japon balığı (<i>Carassius auratus</i>)	Aniba <i>rosaedora</i>	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Kızak ark., 2018
Anemon balığı (<i>Amphiprion ocellaris</i>)	Kafur ağacı (<i>Cinnamomum camphora</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Pedrazzani ve Neto, 2016
Avrupa levreği (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Okalıptüs (<i>Eucalyptus sp.</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Bodur ark., 2018
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Bahçe nanesi (<i>Menta piperita</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Metin ark., 2015
Gümüş yayın balığı (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Hesperozygis ringens</i>	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Silva ark., 2013
<i>Brycon cephalus</i>	Karanfil fesleğen (<i>Ocimum gratissimum</i>)	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Ribeiro ark., 2016
Deniz atı (<i>Hippocampus reidi</i>)	<i>Lippia alba</i>	Uçucu yağı	Anestezik madde	İmmersiyon	Cunha ark., 2011
Japon balığı (<i>Carassius auratus</i>)	<i>Ferula elaeochytris</i> (Çakış otu unu)	Toz Haline Gelmiş Un	Büyümede ve cinsel olgunluk gelişi	Ağız Yoluyla	Balcı ve Aktop, 2019
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Kekik (<i>Origanum vulgare</i>)	Uçucu yağı	Büyüme ve yem çevirimde olumlu sonuç	Ağız Yoluyla	Cihangir ve Diler, 2016
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Tarçın (<i>Cinnomomum verum</i>)	Yağı	İmmünostimulan etkisi, Büyüme performansı, Yem değerlendirme	Ağız Yoluyla	Kesbiç, 2019
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	Sarı Kantaron (<i>Hypericum perforatum</i>)	Yağı	İmmünostimulan etkisi, Büyüme performansı	Ağız Yoluyla	Acar, 2018
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Meyan kökü (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	Metanolik özütü	mmünostimulan etkisi, Büyüme performansı	Ağız Yoluyla	Altief, 2018
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Kişniş (<i>Coriandrum sativum</i>)	Metanolik özütü	İmmünostimulan etkisi, Büyüme performansı	Ağız Yoluyla	Altief, 2018
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Sinameki (<i>Cassia angustifolia</i>)	Metanolik özütü	mmünostimulan etkisi, Büyüme performansı	Ağız Yoluyla	Altief, 2018
Alabalık ve Levrek patojeni	Kekik (<i>Origanum vulgare</i>)	Uçucu yağ	Bakteriyel balık patojen- leri üzerine antibakteriyal aktivitesinin olduğu ve antibiyotiğe alternatif doğal tedavi edici olduğunu belirlemiştirlerdir	Agar difüzyon ve mikrodilüsyon	Ekici ark., (2011)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) patojen	<i>O. vulgare sp. hirtum</i> ve <i>O. onites</i>	Uçucu yağ	Antibiyotiklere alternatif olamayan ancak bağışıklık uyarıcı ve direnç geliştirici olduğunu bildirmişlerdi	Agar difüzyon ve mikrodilüsyon	Ökmen ark., (2012)

Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>) yumurtasından izole <i>Saprolegnia parasitica</i> mantar	İzmir Kekik (O. <i>onites</i>)	Uçucu yağ	Esansiyel yağlarının olumlu etkilerinin olduğunu ve formaldehit kullanımının yerini alabileceğini bildirmişlerdir	Mikrodilüsyon	Özdemir ark., (2021)
Sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i>)	Mercan Köşk (O. <i>Majorana</i>)	Uçucu yağ	Büyüme performansı, hematolojik, antioksidan, hümmoral ve mukozal bağışıklık tepkileri ve A. hydrophila'ya karşı direnci üzerine yeme 200 mg kg-1 ilavesi uygun olduğunu bildirmiştir	Ağız Yoluyla	Yousefi ark., (2021)
Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	<i>Origanum sp.</i>	Uçucu yağ	Yeni bitki bazlı anestetiklerin etkileri stres ve refah parametreleri üzerine etkilerine bakılmış ve <i>Origanum</i> düşük konsantrasyonda yüksek etki gösterdiği bildirilmiştir	Banyo	Bodur ark., (2018)
Yayın balığı (<i>Rhamdia quelen</i>)	Mercan Köşk (O. <i>majorana</i>)	Uçucu yağ	Anestezik olarak sedasyon ve bayılmaya etkisi sırayla 100 µL L-1 ve anestetik etkisi ≥ 200 µL L-1 olduğu tespit edilmiştir.	Banyo	da Cunha ark., (2017)
Karides (<i>Farfantepenaeus paulensis</i>) ve (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Mercan Köşk (O. <i>majorana</i>)	Uçucu yağ	800 µL L-1 oranda O. <i>majorana</i> da ayıllmanın daha uzun olduğunu tespit edilmiştir.	Banyo	Becker ark., (2021)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Uçucu yağ	Büyüme performansına, yemden yararlanma ve yaşama oranında balık yemine 3,0 mg kg-1 oranına kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir.	Ağız Yoluyla	Cihangir ve Diler (2016)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	İzmir Kekik (O. <i>onites</i>)	Uçucu yağ	Hastalık direncine olumlu etkisinin yanında balık yemine uygulanabilir olduğunu sonucuna varmışlardır.	Ağız Yoluyla	Diler ark., (2016)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Kekik (<i>Origanum vulgare</i>)	Uçucu yağ	büyümeyi destekleyici, lizozim ve antioksidan aktiviteyi ve aynı zamanda patojenlere karşı direnci artırıcı bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir.	Ağız Yoluyla	Diler ark., (2017)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	İzmir Kekik (O. <i>onites</i>)	Uçucu yağ	0.25 ve 0.50 ml kg-1 oranlarda ekstrakt ilavesinin balıkların büyüme, bağırsak ve deri histolojisi, bağırsak mikroflorası üzerine etkisinin olduğunu ve kontrol grubundan daha iyi sonuç verdiğini tespit etmiştir.	Ağız Yoluyla	Ergül (2018)
Hamsi (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	<i>Origanum vulgare L.subsp. hirtum</i>	Uçucu yağ	4°C'de hamsi filetolarının raf ömrünü uzattığını ve duyuşsal olarak <i>Origanum</i> 'un balık etinde kullanılabilir olduğunu tespit etmiştir	Pipetaş	Taşkaya (2010)

Gökkuşuğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	İzmir Kekik (O. <i>omites</i>)	Soğuk ve sıcak demleme, destilasyon ve kaynatma Özütü	13. ve 21. Günlerde bakterilerin kalite sınır değerini aşmadığını belirlemiştir	Vakumlu paket içi	Akarsu (2016)
Sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Uçucu yağ	A. hydrophila enfeksiyonuna karşı direnci, bağışıklıkla ilgili genler, Optimum seviyede 15 g kg-1 diyetle etki etmiştir	Ağız Yoluyla	Abdel-Latif ark., (2020)
Yayın balığı (<i>I. punctatus</i>)	Mercan Köşk (O. <i>heracleoticum</i> L.)	Uçucu yağ	Büyüme, antioksidan etki ve A. hydrophila'ya karşı direnç çalışılmış ve büyüme destekleyicisi olabileceği ve antioksidanı artırabilir olduğunu bildirmiştir	Ağız Yoluyla	Zheng ark., (2009)
Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Ekstrakt	Büyüme Performansı, Serum ve Mukus Doğal Bağışıklık Karşı Tepkiler ve Direnç A. hydrophila Mücadelesi, Genel olarak, en büyük etkiler, %1 diyetle dahil edilen bireylerde gözlemlenildi, O. vulgare bitkisinden elde edilen Özütün büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.	Ağız Yoluyla	Rashidian ark., (2021)
Sazan balığı (<i>C. carpio</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Uçucu yağ	Büyüme performans üzerine etkileri, hematolojik, antioksidan, humoral ve mukozal bağışıklık tepkileri ve A. hydrophila'ya karşı direnci, yeme 200 mg kg-1 ilavesi uygun olduğunu bildirmişlerdir	Ağız Yoluyla	Ghafarifarsani ark., (2021)
Gökkuşuğu alabalığı (<i>O. mykiss</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Ekstrakt	Diyete dahil edilmesinin spesifik olmayanlar üzerindeki etkisi bağışıklık tepkileri ve Hematolojik Parametreler, %1 oranı daha yüksek immünolojik tepkiler kaydetmişlerdir.	Ağız Yoluyla	Pourmoghim ark., (2015)
Sazan balığı (<i>C. carpio</i>)	Mercan Köşk (O. <i>majorana</i>)	Ekstrakt	Büyüme performansında, kan biyokimyasallarında, bağışıklık tepkilerinde ve antioksidan kapasitesinde faydalı değişiklikler. %1 oranındaki karışım dozu en uygun tespit edilmiştir	Ağız Yoluyla	Rudiansyah vd. (2022)
Kızıl karınlı tilapia (<i>Tilapia zillii</i>)	Kekik (O. <i>vulgare</i>)	Uçucu yağ	Vibrio anguillarum ile intraperitoneal enfeksiyon bağışıklık düzenleyici etkisi olduğu bildirilmiştir.	Ağız Yoluyla	Mabrok ve Wahdan (2017)

Sonuç

Avrupa Birliği, antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımının bakteriyel dirence yol açabileceği ve hayvansal ürünlere kalıntı bırakarak insan sağlığını tehdit edebileceği endişeleriyle hareket etmiş ve 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren yemlerde antibiyotik kullanımını tamamen yasaklamıştır. Bu yasak, gastro-intestinal mikrofloranın sağlığını koruma, bakteriyel hastalıkları kontrol altına alma, büyüme performansını destekleme ve mortaliteyi azaltma amacı güden tıbbi bitki türlerinin yem katkı maddesi olarak kullanılmasını teşvik etmiştir. Bitki ekstraktları ve yağları, balık beslemesi için bazı faydalar sunabilir. Bu maddeler, balıkların sağlıklı bir şekilde büyümelerine, hastalıklara karşı direnç kazanmalarına ve genel sağlık durumlarının iyileştirilmesine yardımcı olabilir. İşte bitki ekstraktları ve yağlarının balık beslemesinde kullanımına yönelik bazı potansiyel uygulamalar yapılmakta olup, balıkların beslenmelerine eklenen omega-3 yağ asitleri, kalp sağlığı için önemli olan EPA (eikosa-pentaenoik asit) ve DHA (dokosaheksaenoik asit) gibi yağ asitleri yağlar. Bu yağ asitleri ayrıca balıkların büyümesini ve gelişimini destekler. Bitki yağları, balık yemi için yağ kaynağı olarak kullanılabilir. Özellikle soya fasulyesi yağı ve kanola yağı gibi bitki yağları, balıkların enerji ihtiyacını karşılamalarına yardımcı olur. Bitkilerden elde edilen proteinler, balık yemi bileşenlerine eklenir. Bu proteinler, balıkların büyümesini ve vücut ağırlığını artırması için önemlidir. Örnekler arasında soya unu ve fasulye özü bulunur. Bitki ekstraktları, balık yemi formülasyonlarına genellikle doğal renklendiriciler ve tatlandırıcılar olarak eklenir. Örneğin, yosun ekstraktları balıkların doğal renklerini korumalarına yardımcı olabilir. Bitki kaynaklı antioksidanlar, balıkların vücudundaki serbest radikalleri etkisiz hale getirerek genel sağlığı artırabilir. Bu, balıkların bağışıklık sistemini güçlendirmelerine yardımcı olabilir. Ancak, bitki ekstraktları ve yağlarının kullanımı dikkatlice düşünülmelidir. Yem formülasyonlarının denge içinde olması ve balıkların özel ihtiyaçlarına uygun olması önemlidir. Ayrıca, bazı bitki ekstraktları ve yağlarının aşırı miktarda kullanılması zararlı olabilir veya balık tadını ve kalitesini etkileyebilir. Bu nedenle, balık beslemesi için bitki kaynaklı maddelerin kullanımı, uzman tavsiyeleri ve dikkatli formülasyon gerektirir. Balık besleme uygulamaları, tür ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebilir.

KAYNAKLAR

- Abdel- Tawwab, M., Ahmad, H.M., Seden, M.E.A., Sakr, S.F.M., 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 World Aquaculture Society, 41: 203–213. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x
- Abdel-Latif, H.M.R., Abdel-Tawwab, M., Khafaga A.F., Dawood, M.A.O., 2020. Dietary origanum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio L.*) to *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and Shellfish Immunology 104, 1–7
- Ahilan, B., Nithiyapriyatharshini, A., Ravaneshwaran, K., 2010. Influence of certain herbal additives on the growth, survival and disease resistance of goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus). Tamilnadu J. Vet. Ani. Sci, 6(1), 5-11.
- Akarsu, H., 2016. Buzdolabında (+2±1 °C) vakum paketlenerek depolanmış alabalık (*Oncorhynchus mykiss walbaum, 1792*) filetolarının kalitesine farklı kekik (*Origanum onites l.*) ekstraktlarının etkisi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Yüksek Lisans Tezi. 81s.
- Akiyama, T., Munuma, T., Yamato, T., Marcouli, P., Kishi, S., 1995. Combinational use of malt protein flour and soybean meal as alternative protein sources of fingerling Rainbow trout diets. Fisheries Science, 61, 825-832.
- Altıf, T.A.S., 2018. Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Bazı Tıbbi Bitkilerin Muhtemel İmmunostimulant ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 98 s.
- Awad, E., Austin, B., 2010. Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 33: 413–420. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2009.01133.x
- Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), Aquaculture, 388-391: 193–197. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.01.008
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O.S., Yılmaz, S., 2016. Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. Aquaculture, 465: 13–18. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.08.023
- Balcı, B.A., Aktop, Y., 2019. Yeme Çakşır Otu (*Ferula elaeochytris K. 1947*) İlavesinin Japon Balığının (*Carassius auratus L. 1758*) Büyüme ve Gonad Ge-

İşimi Üzerine Etkisi, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9(1): 347-359.

- Becker, A.J., Vaz, L.J., Garcia, L. O., Jr Wasielesky, W., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2021. Anesthetic potential of different essential oils for two shrimp species, *Farfantepenaeus paulensis* and *Litopenaeus vannamei* (*Decapoda, Crustacea*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.51:12, e20200793.
- Bilen S., Kenanoglu O.N., Terzi E., Özdemir R.C., Sönmez A.Y., 2019. Effects of tetra (*Cotinus coggygia*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*) and European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 512, 734251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734251>
- Bilen S., Sirtiyah A.M.A., Terzi E., 2019. Therapeutic effects of beard lichen, *Usnea barbata* extract against *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish, Shellfish Immunology*, 87: 401-409. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.046>
- Bilen, S., Altief, T.A.S., Özdemir, K.Y., 2020. Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem* 46, 471–481 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00737-z>
- Bodur T., Afonso J.M., Montero D., Navarro A., 2018. Assessment of Effective Dose of New Herbal Anesthetics in Two Marine Aquaculture Species: *D. labrax* and *A. regius*. *Aquacult.* 482; 78-82.
- Can, E., Kizak, V., Can, Ş.S., Özçiçek, E., 2018. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture*, 491, 59-64. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.03.013
- Can, E., Kizak, V., Özçiçek, E., Sehaneyildiz, C., 2017. The efficacy of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) oil as a promising anaesthetic agent for two freshwater aquarium fish species. *Israeli Journal of Aquaculture – Bami-geh* 69, 1-8. URI: <http://hdl.handle.net/10524/57053>
- Cihangir, E., Diler, İ., 2016. Yavru ve Juvenil Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Kekik Yağının (*Origanum vulgare* L.) Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(2), 86-96. <https://doi.org/10.22392/egirdir.283071>
- Cunha, M.A.D., Silva, B.F.D., Delunardo, F.A.C., Benovit, S.C., Gomes, L.D.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2011. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. *Neotropical Ichthyology*, 9(3), 683-688. DOI: 10.1590/S1679-62252011000300022

- Da Cunha J. A., Scheeren C. Á., Salbego Joseânia., 2017. Essential oils of *Cunila galioides* and *Origanum majorana* as anesthetics for *Rhamdia quelen*: efficacy and effects on ventilation and ionoregulation. *Neotropical Ichthyology*, 15(1): e160076.
- Diler, O., Gormez, O., Diler, I., Metin, S., 2016. Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), 844-851.
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Metin, S., İlhan, İ., Diler, İ., 2017. *Origanum vulgare* L. uçucu yağının gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda büyüme, lizozim ve antioksidan aktivite ve *Vibrio anguillarum*'a karşı direnç üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 13(1), 42-57.
- Diler, Ö., Özçelik, H., Kubilay, A., Özkan, G., Didinen, B.I., Koca, S.B., Yiğit, N.Ö., Metin, S., İzci, L., Erdoğan, Ö., Görmez, Ö., 2012. Gökkuşacağı alabalığı anaç ve yumurtalarında enfeksiyona neden olan *Saprolegnia spp.* karşı bazı doğal bitkisel ürünlerin antifungal etkileri. *TAGEM-10 /AR-GE/21*.
- Ekici S., Diler Ö., Didinen B. I., Kubilay A., 2017. Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağlarının Antibakteriyel Aktivitesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 17 (Sıpp A); 47-45.
- Ergül S.N., 2018. Gökkuşacağı Aabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemlerine Farklı Oranlarda Kekik (*Origanum onites*) Ekstraktı İlavasının Büyüme Performansı, Deri Histolojisi, Bağırsak Histolojisi ve Mikroflorası Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, (2018), 506390.
- Erol-Florian, G., Şara, A., Molnar, F., Bençea, M., 2011. The Influence of some phytoadditives on growth performances and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 13-18.
- FAO., (Food And Agriculture Organization of the United Nations), Fisheries and Aquaculture Department, The State of World Fisheries and Aquaculture 2022, Roma, <http://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>, (Ziyaret Tarihi: 25.10.2023).
- Farahi A., Kasiri M., Sudagar M., Iraei MS., Zorriehzahra SMJ., 2012. Effect of Dietary Supplementation of *Melissa officinalis* and *Aloe Vera* on Hematological Traits, Lipid Oxidation of Carcass And Performance i Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Online Journal of Animal and Feed Research*, 2012, 2,1-5.
- Gabor Erol., Şara Aurel., Molnar F., Bençea Mihai., 2011. The Influence of Some Phytoadditives on Growth Performances and Meat Quality in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Lucrari Stiintifice: Zootehnie si Biotehnologie*, 2011, 44,1-2.

- 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
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6), 551-579.
- Ghafariarsani H., Hoseinifar S.H.A., Taida J, Ferrigolo F G R & Mehdi Doan H.V., 2021. The effects of combined inclusion of *Malvae sylvestris*, *Origanum vulgare*, and *Allium hirtifolium* boiss for common carp (*Cyprinus carpio*) diet: Growth performance, antioxidant defense, and immunological parameters. *Fish and Shellfish Immunology* 119; 670–677
- Goda, A., 2008. Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2), 205-214.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Metaier, R., 2001. Nutrition and feeding of fish and crustaceans, Praxis Publishings Ltd, Chichester, UK., 408p.
- Han, L., Yu, J., Chen, Y.Y., Cheng, D., Wang, X., Wang, C.L., 2018. Immunomodulatory activity of docosahexenoic acid on RAW264.7 cells activation through GPR120-mediated signaling pathway. *Journal Of Agriculture And Food Chemistry*, 66, 926-934
- Hashimoto, G.S.O., Neto, F.M., Ruiz, M.L., Achille, M., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Martins, M.L., 2016. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. *Aquaculture*, 450: 182–186. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.07.029
- Hermann, J. R., Honeyman, M. S., Zimmerman, J. J., Thacker, B. J., Holden, P. J., Chang, C. C., 2003. Effect of dietary *Echinacea purpurea* on viremia and performance in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 81 (9), 2139-2144.
- Immanuel, G., Uma, R. P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha Peter, S. M., Michael Babu, M., Palavesam, A., 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 74(7), 1462-1475.
- Ji, S. C., Takaoka, O., Jeong, G. S., LEE, S. W., Ishimaru, K., Seoka, M., Takii, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, 73(1), 63-69.
- Keim, S.A., And Branum, A.M., 2015. Dietary intake of polyunsaturated fatty acids and fish among US children 12 60 months of age. *Maternal and Child Nutrition* 11, 987-998

- Kesbiç, O.S., 2019. Effects of The Cinnamon Oil (*Cinnamomum verum*) on Growth Performance and Blood Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7(2): 370-376. DOI: 10.24925/turjaf.v7i2.370-376.2360
- Keser, O., Bilal, T., 2008. Beta-glukanın hayvan beslemede bağışıklık sistemi ve performans üzerine etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 5(2), 107-119.
- Kızak, V., Can, E., Danabaş, D., Can, Ş.S., 2018. Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaeodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 493, 296-301. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.05.013
- Kim J D., Nhut T M., Hai T N., C S Ra., 2011. Effect of Dietary Essential Oils on Growth, Feed Utilization and Meat Yields of White Leg Shrimp *L. vannamei*. Asian- Australasian, Journal of Animal Sciences, 2011, 24 (8), 1136-1141.
- Knopf, K., Ekanem A.P., 2004. Plant extracts for the treatment of Ichthyophthiriasis in fish. Deutscher tropentag, October 5-7, Berlin.
- Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, Bugeon, J., 2016. How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal, 14, 1-15.
- Logambal, S.M., Venkatalakshmi, S., Dinakaran, M.R., 2000. Immunostimulatory effect of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). Hydrobiologia, 430: 113-120. DOI: 10.1023/A:1004029332114
- Metin, S., Diler, Ö., Didinen, H., 2018. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Tıbbi Bitkilerin Anestezik Olarak Kullanımı, Acta Aquatica Turcica, 14(4):351-356. DOI: 10.22392/egirdir.405192
- Ndong, D., Fall, J., 2011. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*). Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research, 3(1), 1-9.
- Olatoye, I.O., Basiru, A., 2013. Antibiotic usage and oxytetracycline residue in African catfish (*Clarias gariepinus*) in Ibadan, Nigeria. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(3), 302-309.
- Oskoi, S. B., Kohyani, A. T., Parseh, A., Salati, A. P., & Sadeghi, E., 2012. Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(4), 1029-1034.
- Ökmen, G., Uğur, A., Saraç, N. & Arslan, T., 2012. In vivo and in vitro Antibacterial Activities of Some Essential Oils of Lamiaceae Species on *Aeromonas salmonicida* Isolates from Cultured Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(15), 2762-2768

- Özçelik H., Taştan Y., Terzi E., Sönmez A.Y., 2020. Use of Onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*) Wastes for the Prevention of Fungal Disease (*Saprolegnia parasitica*) on Eggs of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Fish Diseases, 43(10): 1325-1330. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfd.13229>
- Pedrazzani, A.S., Neto, A.O., 2016. The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, Amphiprion ocellaris (Cuvier 1830). Aquaculture research, 47(3):769-776. DOI: 10.1111/are.12535
- Pourmoghimi H., Haghighi M., Rohani M.S., 2015. Effect of Dietary inclusion of Origanum vulgare extract on nonspecific immune responses and Hematological Parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences. 4 (39): 33-39.
- Rashidian, G., Boldaji, J.T., Rainis, S., Prokić, M.D., Faggio, C., 2021. Oregano (*Origanum vulgare*) Extract Enhances Zebrafish (*Danio rerio*) Growth Performance, Serum and Mucus Innate Immune Responses and Resistance against Aeromonas hydrophila Challenge. Animals, 11, 299. <https://doi.org/10.3390/ani11020299>
- Ribeiro, A.S., Batista, E.D.S., Dairiki, J.K., Chaves, F.C.M., Inoue, L.A.K.A., 2016. Anesthetic properties of Ocimum gratissimum essential oil for juvenile matrinxã. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 38(1):1-7. DOI: 10.4025/actascianimsci.v38i1.28787
- Rudiansyah M. Abdelbasset WK., Jasim S.A., 2022. Beneficial alterations in growth performance, blood biochemicals, immune responses, and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*) fed a blend of Thymus vulgaris, Origanum majorana, and Satureja hortensis extracts. Aquaculture, 555; 738-254.
- Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Sarangi, N., 2007. Effect of Allium sativum on the immunity and survival of Labeo rohita infected with Aeromonas hydrophila. Journal of Applied Ichthyology, 23: 80–86. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2006.00785.x
- Silva, L.D.L., Silva, D.T.D., Garlet, Q.I., Cunha, M.A., Mallmann, C.A., Baldisserotto, B., Longhi, S.J., Pereira, A.M.S., Heinzmann, B.M., 2013. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). Neotropical Ichthyology, 11(2), 443-451. DOI: 10.1590/S1679-62252013000200014
- Tacon, A., G.J., Metnan, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. Aquaculture, 13pp.
- Taşkaya, G., 2010. Kekik uçucu yağı uygulamasının soğuk koşullarda muhafaza edilen hamsinin kalitesi üzerine etkisi. Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 107s.

- Terzioğlu, S., Diler, Ö., 2016. Effect of Dietary Sage (*Salvia officinalis* L.), Licorice Root (*Glycyrrhiza glabra* L.), Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Echinaceae (*Echinacea angustifolia* Hell) on Nonspecific Immunity and Resistance to *Vibrio anguillarum* Infection in Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Sdü Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 12(2), 110-118.
- Tocher, D., Francis D.S., Coupland K., 2010. N-3 polyunsaturated fatty acid-rich vegetable oils and belends. (Turchını G.M., Ng, W.K., Tocher, R.D. Editor), Pp. 405-426. Crc Press, Taylor And Francis, Boca Raton, FL, USA.
- TUİK., (Türkiye İstatistik Kurumu), 2023. Su Ürünleri İstatistikleri, www.tuik.gov.tr, 25.10.2023.
- Vannıce, G., Rasmussen, H., 2014. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. Journal Of The Academy Of Nutrition And Dietetics. 114, 136-153
- Yousefi M., Ghafarifarsani H., Hoseinifar SH., Rashidian G., Van Doan H., 2021. Effects of dietary marjoram, *Origanum majorana* extract on growth performance, hematological, antioxidant, humoral and mucosal immune responses, and resistance of common carp, *Cyprinus carpio* against *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology 108; 127–133
- Zaid A., Aarode O., Sanni R.O., 2011. Utilization of Two Dietary Plant Oil Sources on Growth, Haematology, Histometry and Carcass Analysis of Juvenile *Clarias Gariepinus*, Nasarawa State University Keffi, 2011, 7, 117-130.
- Zheng Z.L., Justin Tan Y.W., Liu H.Y., Zhou X.H., Xiang X., Wang K.Y., 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) Aquaculture, 292; 214–218

Bölüm 7

BALIKLARDA GEN MODİFİKASYONLARI

Mehmet Tahir HÜSUNET^{1}*

İbrahim Halil KENGER¹

Celal ERBAŞ²

1 Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD, Gaziantep.

2 Ç.Ü. Yumurtalık Meslek Yüksekokulu, Adana.

*Sorumlu Yazar: mehmettahir.husunet@gibtu.edu.tr

Giriş

Açlık ve yetersiz beslenme, son yıllarda kaydedilen ilerlemeye rağmen önemli küresel sorunlar olmaya devam etmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü, dünya nüfusunun yaklaşık %11'i yoksulluk ve insan sağlığı için gerekli olan yeterli besleyici gıdaya erişememekte olduğunu bildirmiştir (Fisheries FAO, 2018). Kronik açlık çeken tahmini insan sayısı 1990-92'den 2015'e kadar %17 oranında azalmıştır, ancak en son raporlara göre küresel açlık yeniden yükselişe geçerek 2016 yılında 815 milyon insanı etkilemiştir. Açlık ve yetersiz beslenmenin 2030 yılına kadar azaltılmasına yönelik mevcut plan, gıda arzında istikrarın sağlanması ve yeterli sağlık ve beslenmeye erişim için öncelikle sürdürülebilir tarım ve gıda sistemlerinin geliştirilmesine odaklanmaktadır (Fisheries FAO, 2017; Kwasek ve ark., 2020).

Sürdürülebilir Kalkınma Hedefi 2 (Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri (SKH), Birleşmiş Milletler üye ülkeleri tarafından 2015 yılında kabul edilen bir dizi küresel hedefdir. Bu hedefler, dünya genelinde yoksulluğu azaltmayı, açlığı sona erdirmeyi, eşitsizliği azaltmayı, temiz su ve sanitasyon sağlamayı, iklim eylemi almayı ve daha pek çok sürdürülebilir kalkınma hedefini içermektedir. SKH 2, açlığı sona erdirmeyi ve gıda güvenliğini sağlamayı amaçlamaktadır.)'de yer alan 2030 yılına kadar sıfır açlık ve yetersiz beslenme hedefine ulaşılması, düşük ve orta gelirli ülkelerdeki nüfusun besin değeri yüksek gıdaların tüketimini arttırmayı da içeren diyet değişikliklerini gerektirecektir. Dünya genelindeki yoksul nüfusun temel gıda bazlı diyetlerinde nadir tüketilen hayvansal kaynaklı gıdaların, biyo-yararlanımı yüksek bir dizi besin maddesi açısından zengin olduğu bilinmektedir. Balıklar, güneydeki birçok düşük ve orta gelirli ülkede baskın hayvansal gıda kaynağıdır ve hem balıkçılıktan hem de su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilebilir. Tüketiciler genellikle doğadan yakalanan balıkların akuakültür yoluyla üretilen balıklardan daha yüksek besin değerine sahip olduğunu düşünmektedir. Bu durum omega-3 yağ asidi içeriği gibi bazı besinler için doğru olabilir. Bununla birlikte, yağ asidi profillerini optimize etmek için balık diyetlerinde omega-3 yağ asitlerinin takviye edilmesine yönelik yaygın uygulama ile gösterildiği gibi, yemler ve üretim sistemleri yoluyla çiftlik balıklarının besin değerini değiştirme potansiyeli vardır (Kwasek ve ark., 2020).

Balıklar, memelilerle karşılaştırıldığında biyoreaktör olarak çeşitli avantajlara sahip potansiyel modellerdir. Balıkların nesil aralıkları kısadır. Çok sayıda birey ve yüksek yoğunluklu kültüre rağmen bakımı kolay ve düşük maliyetlidir. Ayrıca balık popülasyonlarında memeli virüsleri ve prionlara rastlanmaz. Balığın tıbbi ürünler için biyoreaktör olarak potansiyelini temsil eden bazı örnekler artık mevcuttur. Ayrıca balıkların yumurtlamasında geliştirilen çeşitli kompleksler uygulanabilmektedir (Lucas ve ark. 2019).

Balıklarda yem profillerinin değiştirilmesinin yanı sıra büyüme hormonu (GH) transgenezi yoluyla hızlandırılmış büyüme (Devlin ve ark., 2020), hastalıklara karşı direnç, besinsel değeri artırma gibi pek çok gen modifikasyonu da gerçekleştirilmektedir.

Balıklarda CRISPR/Cas9 Tekniği

Kümelenmiş düzenli aralıklı kısa palindromik tekrarlar (CRISPR) gen mühendisliği tekniği, genom düzenleme araçları arasında en son trendlerden biridir. Bu en yeni gen düzenleme yöntemi 2012 yılında keşfedilmiştir (Jinek ve ark. 2012). Biyomedikal uygulamalar ve araştırmalar için önemli bir teknik sıçrama olmasının yanı sıra, farklı organizmalarda hassas gen modifikasyonu için kullanımı en hızlı ilerleyen tekniklerden biridir (Jinek ve ark. 2012; Crudele ve Chamberlain, 2018; Malik ve ark. 2019).

CRISPR/Cas9 sistemi, bir Cas9 endonükleaz ve bir hedefleme CRISPR RNA'sı (crRNA) ve trans-aktive edici crRNA (tracrRNA) içeren modifiye edilmiş bir tek kılavuz RNA'yı (sgRNA/grRNA) kapsar (Jinek ark. 2012). Dolayısıyla, iki temel bileşen Cas9 proteini ve sgRNA'dır (Jinek ve ark. 2014). Cas9 nükleazı, yaklaşık 20 baz çiftinden oluşan hassas bir şekilde tasarlanmış kılavuz RNA tarafından hedef dizisine yönlendirilir (Jinek ve ark. 2014). Bu nedenle, bu sistemin en büyük avantajlarından biri, ZFN ve TALEN sistemlerinde olduğu gibi, her yeni genomik hedef bölge için DNA bağlayıcı dizilerin büyük tekrarlayan karmaşık tasarımını değil, manipüle edilmesi daha kolay olan 20 nükleotid sgRNA "spacer" dizilerinin basit bir şekilde değiştirilmesini gerektirmesidir (Joung ve Sander 2013; Malik ve ark. 2019).

Zebra balığı, genetik modifikasyonları incelemek ve araştırmak için model organizmalar arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Hızlı büyümesi, şeffaf embriyoları ve nispeten kolay ileri genetiği nedeniyle omurgalı hastalıkları ve gelişimi için mükemmel bir modeldir. Araştırmacılar, balık genetiği, üreme, toksikoloji ve ilaç-reseptör ve konakçı-patojen etkileşimindeki önemli sorunlara olumlu sonuçlarla yanıtlar elde etmek için zebra balığındaki gen düzenleme araçlarını kullanmıştır. CRISPR/Cas9, Atlantik somonu, medaka, zebra balığı ve tilapia gibi çeşitli balık türlerinde gen modifikasyonunun geliştirilmesinde başarıyla kullanılmıştır (Lieschke ve Currie 2007; Qiu ve ark. 2014).

Nil tilapia'sında (*Oreochromis niloticus*) yapılan bir çalışmada CRISPR/Cas9 tekniği, hedefe yönelik ve kalıtsal bir gen düzenleme yöntemi sunmuştur. CRISPR/Cas9 tarafından indüklenen iki gendeki (foxl2 ve dmrt1) mutasyon, germ hattı yoluyla F1 nesline başarılı bir şekilde aktarılmıştır (Li ve ark. 2014). Ayrıca bu çalışma, genetiği değiştirilmiş tilapia ve diğer su ürünleri yetiştiriciliği balıkları gibi model olmayan türlerde CRISPR/Cas9 tekniğinin yüksek verimlilikle kullanılabilirliğini göstermektedir (Gutási ve ark. 2023).

Hastalıklara Karşı Direnç

Balık yemi endüstrisini olumsuz yönde etkileyen çok sayıda bulaşıcı patojen bulunmaktadır. Büyük hastalık salgınlarını geride bırakabilmek için bu bulaşıcı patojenler tespit edilip karakterize edilmeli ve bunlara karşı modern ve güncel tekniklerle tedavi stratejileri geliştirilmelidir. Ayrıca kültür balığının etkinliği, üretimi, verimliliği ve refahı, transgenik balıkların hastalık direncinin arttırılmasıyla geliştirilebilir (Gutási ve ark. 2023).

Kültür balıkçılığında bakterial, viral ve paraziter hastalıklar hem zaman ve iş gücü kaybına hem de ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler ve aşılarda olsa da zamanla bu ilaçlara karşı gelişen dirençten dolayı istenilen sonuçlar alınmamaktadır (Küçük, 2019).

Viral hastalıklar için RNAi tabanlı uygulamalar ile omurgalı, omurgasız ve insan patojenleri de tedavi edilebilmektedir (Hammond 2006). Gen transkripsiyonunun inhibisyonu ve viral replikasyon çalışması Gotesman ve arkadaşları tarafından tamamlanmıştır (Gotesman ve ark. 2015). siRNA molekülleri nükleoprotein “N” ve fosfoprotein “P” transkriptlerini hedef alarak sazan virüsü (SVCV) in vitro replikasyonunu inhibe etmiş ve epitelyoma papulosum cyprini (EPC) hücre hattında test edilmiştir. Bu virüs Rhabdoviridae virüs ailesine aittir ve sazan çiftliklerinde ciddi kayıplara neden olmaktadır. Çalışma, SVCV-N ve SVCV-P genlerinin ifadesini engellemek için siRNA kullanılması SVCV replikasyonunu azalttığını göstermiştir. Başka bir çalışmada, cyprinid herpesvirus-3’ün (CyHV-3) in vitro viral replikasyonu, adi sazan beyin hücrelerinde (CCB hücreleri) siRNA ile inhibe edilmiştir. Bu virüs hem adi hem de koi sazanlarında (*Cyprinus carpio* L.) yüksek ölüm oranlarına neden olmaktadır. siRNA’ların, DNA replikasyonunda transkriptlerin kodları olan timidin kinaz (TK) veya DNA polimeraz (DP) genlerini hedeflemesi amaçlanmıştır. siRNA ile muamele, TK veya DP genlerinin kontamine CCB hücrelerinden viral elementlerin salınımını azalttığını göstermektedir; yani siRNA viral replikasyonu inhibe etmektedir (Adamek ve ark. 2014; Gotesman ve ark. 2015). Buna bağlı olarak da balıkların sağ kalım oranı artmaktadır.

Büyüme Hızında Artış

Gen düzenleme araçları, tek cinsiyetli popülasyonlar üretmek için çeşitli doğa dostu yollar önerir. Cinsel dimorfizm geleneksel bir özelliktir. Ayrıca birçok balık türünde vücut büyümesinde ortaya çıkan sistematik bir farklılık vardır. Örneğin erkek tilapia, dişilerden daha hızlı büyürken, dişi gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve Hint majör sazanları erkek partnerlerinden daha hızlı büyür. Büyüme oranlarındaki fark, birim alan başına verim oranlarını artırabilecek tek cinsiyetli bir popülasyonun

üretimiyle önlenir. Ek olarak, tek cinsiyetli bir popülasyonun üretilmesi yoluyla vahşi doğada üretken balıkların istenmeyen üreme tehdidini azaltılabilir. Hedeflenen nükleazlarla, biyoçeşitlilik üzerinde önemli bir etki yaratmadan, cinsiyeti belirleyen genleri doğrudan bozarak, tek cinsiyetli ve cinsiyeti ayrılmış balıklar üretmek mümkün hale gelmiştir. Tilapia'da, fox12, sf-1 veya cyp19a1a gibi dışının cinsiyetini belirleyen (XX cinsiyet belirleyici kromozomlu) genlerin nakavt edilmesi, testis gelişiminin hedeflenmesi yoluyla elde edilmiştir. Cinsiyetin tersine çevrilmesinin bir başka yolu da androjen veya ginojen hormonlarının düzenlenmesi yoluyla elde edilmiştir; ancak bu yöntem biyolojik birikim, biyomagnifikasyon ve su kalitesi ve biyolojik çeşitlilik ile ilgili diğer problemler gibi büyük sorunlara yol açmaktadır (Li ve Wang 2017; Malik ve ark. 2019).

AquAdvantage somonu, Chinook somonundan alınan büyüme hormonu kodlayan bir gen ile okyanus poutundan alınan bir promotörden oluşan bir genetik yapıya sahiptir. Büyümü hormonu cDNA klonuna bağlı okyanus poutundan bir antifriz protein geni (AFP) promotörü kullanarak "tüm balık" büyüme hormonu (GH) kimerik gen yapısı geliştirilerek elde edilmiştir (Du, S. J., ve ark., 1992). Bu, ona ön-smolt aşamasında genetik modifiye (GM) olmayan benzerlerinden 5-10 kat daha hızlı büyüme ve dolayısıyla GM olmayan somonlardan 1 yıl önce pazar büyüklüğüne (4-6 kg) ulaşma potansiyeli vermektedir (Fletcher ve ark., 2004; Butler ve Fletcher, 2009; Forabosco ve ark., 2013).

Üremede Gen Düzenlemesi

Kiss1/Gpr54 sistemi (kisspeptin kodlayan gen-Kiss1(Dungan ve ark. 2006) ve onun G proteinine bağlı reseptörü 54-GPR54 (Lee ve ark. 1999) çoğu omurgalıda üremenin düzenlenmesinde merkezi bir role sahiptir (Popa ve ark. 2008; Roa ve ark. 2008; Oakley ve ark. 2009). Bu sistemler, memelilerden farklı olarak memeli olmayan omurgalılarda çoklu kiss1/gpr54 paralog genleri (kiss/kissr) olarak da tanımlanmıştır. Yapılan bir çalışma sırasında (Tang ve ark. 2015)], zebra balığı kiss1-/-, kiss2-/- ve kiss1-/-; kiss2-/- mutant hatları ile birlikte kissr1-/-, kissr2-/- ve kissr1-/-; kissr2-/- mutant hatları optimize edilmiş bir TALEN kısıtlama enzimi kullanılarak üretilmiştir. Sonuçlar, spermatogenez, folikülogenez ve üreme potansiyelinin tüm bu mutant hatlarda zarar görmediğini açıkça göstermiştir. Bu çalışmaya göre balıklar her iki cinsiyette de normal ve verimli olmuştur. Ayrıca, veriler kiss/kissr sistemlerinin zebra balığı üremesi için gerekli olmadığını göstererek, kiss/kissr sistemlerinin memeli olmayan omurgalılarda üreme için gereksiz rolleri temsil ettiğini ortaya koymuştur. Memelilerin ve balıkların üremenin nöroendokrin kontrolü için farklı stratejiler geliştirdikleri de gösterilmiştir (Gutási ve ark. 2023).

Sonuç

Balıklarda genetik modifikasyonlar, genetik mühendislik teknikleri kullanılarak balıkların genetik materyalinde yapılan değişiklikleri ifade eder. Bu modifikasyonlar genellikle bir dizi amaç için yapılabilir, ancak en yaygın olanları arasında hastalıklara karşı direnç, büyüme hızının artırılması ve çevresel koşullara uyum sağlama yer alır. Bazı balıklar genetik olarak değiştirilerek belirli hastalıklara karşı dirençli hale getirilebilir. Bu, yetiştirilecek olan balıkların sağlığını korumalarına yardımcı olabilir ve ticari üretimde kayıpları azaltabilir. Balıkların büyüme hızını artırmak için genetik modifikasyonlar kullanılabilir. Bu, daha hızlı büyüyen ve dolayısıyla ticari olarak daha değerli olan balıkların elde edilmesini sağlar. Bazı genetik modifikasyonlar, balıkların çeşitli çevresel streslere, örneğin su sıcaklığı değişiklikleri veya su kalitesindeki değişikliklere daha iyi uyum sağlamalarına yardımcı olabilir. Balıkların besin değerini artırmak amacıyla genetik modifikasyonlar kullanılabilir. Bu, özellikle omega-3 yağ asitleri gibi besleyici bileşenlerin miktarını artırmak için yapılabilir. Yetiştiricilik sistemlerinin çevresel etkilerini azaltmaya yöneliktir. Örneğin, su atıklarının azaltılması veya su tüketiminin optimize edilmesi gibi faktörler göz önüne alınabilir. Ancak, genetik modifikasyonlarla ilgili etik ve çevresel endişeler bulunmaktadır. Özellikle doğaya karışabilecek genetik modifiye balıkların ekosistemlere olası etkileri ve bu balıkların doğal popülasyonlarıyla rekabet edebilme yetenekleri konularında belirsizlikler vardır. Bu nedenle, genetik modifikasyonla ilgili çalışmaların dikkatlice değerlendirilmesi ve düzenlenmesi önemlidir.

KAYNAKLAR

- Adamek, M., Rauch, G., Brogden, G., and Steinhagen, D., 2014. Small interfering RNA treatment can inhibit Cyprinid herpesvirus 3 associated cell death in vitro. *Polish journal of veterinary sciences*, 17(4).
- Butler, T.M., and Fletcher, G.L., 2009. Promoter analysis of a growth hormone transgene in Atlantic salmon. *Theriogenology*, 72(1), 62-71.
- Crudele, J.M., Chamberlain, J.S., 2018. Cas9 immunity creates challenges for CRISPR gene editing therapies. *Nature communications*, 9(1), 3497.
- Devlin, R.H., Leggatt, R.A., Benfey, T.J., 2020. Genetic modification of growth in fish species used in aquaculture: phenotypic and physiological responses. In *Fish physiology* (Vol. 38, pp. 237-272). Academic Press.
- Du, S.J., Gong, Z., Fletcher, G.L., Shears, M.A., King, M.J., Idler, D.R., Hew, C.L., 1992. Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of an "all fish" chimeric growth hormone gene construct. *Bio/technology*, 10(2), 176-181.
- Dungan, H.M., Clifton, D.K., Steiner, R.A., 2006. Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*, 147(3), 1154-1158.
- Fisheries, FAO., 2017. *The state of world fisheries and aquaculture.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fisheries, FAO., 2018. *The state of world fisheries and aquaculture.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fletcher, G.L., Shears, M.A., Yaskowiak, E.S., King, M.J., Goddard, S.V., 2004. Gene transfer: potential to enhance the genome of Atlantic salmon for aquaculture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44(11), 1095-1100.
- Forabosco, F., Löhmus, M., Rydhmer, L., Sundström, L.F., 2013. Genetically modified farm animals and fish in agriculture: A review. *Livestock Science*, 153(1-3), 1-9.
- Gotesman, M., Soliman, H., Besch, R., El-Matbouli, M., 2014. In vitro inhibition of Cyprinid herpesvirus-3 replication by RNAi. *Journal of virological methods*, 206, 63-66.
- Gotesman, M., Soliman, H., Besch, R., El-Matbouli, M., 2015. Inhibition of spring viraemia of carp virus replication in an E pithelioma papulosum cyprini cell line by RNA i. *Journal of Fish Diseases*, 38(2), 197-207.
- Gutási, A., Hammer, S. E., El-Matbouli, M., Saleh, M., 2023. Recent Applications of Gene Editing in Fish Species and Aquatic Medicine. *Animals*, 13(7), 1250.
- Hammond, S.M., 2006. MicroRNA therapeutics: a new niche for antisense nucleic acids. *Trends in molecular medicine*, 12(3), 99-101.

- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J.A Charpentier, E., 2012. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *science*, 337(6096), 816-821.
- Jinek, M., Jiang, F., Taylor, D.W., Sternberg, S.H., Kaya, E., Ma, E., Doudna, J.A., 2014. Structures of Cas9 endonucleases reveal RNA-mediated conformational activation. *Science*, 343(6176), 1247997.
- Joung, J.K., Sander, J.D., 2013. TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing. *Nature reviews Molecular cell biology*, 14(1), 49-55.
- Küçük, S., 2019. Bazı Balık Türlerinde Yapılmış Transgenik Çalışmalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 123-127.
- Kwasek, K., Thorne-Lyman, A.L., Phillips, M., 2020. Can human nutrition be improved through better fish feeding practices? a review paper. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(22), 3822-3835.
- Lee, D.K., Nguyen, T., O'Neill, G. P., Cheng, R., Liu, Y., Howard, A. D., O'Dowd, B. F., 1999. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS letters*, 446(1), 103-107.
- Li, M., Wang, D., 2017. Gene editing nuclease and its application in tilapia. *Science Bulletin*, 62(3), 165-173.
- Li, M., Yang, H., Zhao, J., Fang, L., Shi, H., Li, M., Wang, D., 2014. Efficient and heritable gene targeting in tilapia by CRISPR/Cas9. *Genetics*, 197(2), 591-599.
- Lieschke, G.J., Currie, P.D., 2007. Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nature Reviews Genetics*, 8(5), 353-367.
- Lucas, J.S., Southgate, P.C., Tucker, C.S., 2019. *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*. John Wiley & Sons.
- Malik, Y.S., Barh, D., Azevedo, V.A.D.C., Khurana, S. P., 2019. *Genomics and biotechnological advances in veterinary, poultry, and fisheries*. Academic Press.
- Oakley, A.E., Clifton, D.K., Steiner, R.A., 2009. Kisspeptin signaling in the brain. *Endocrine reviews*, 30(6), 713-743.
- Popa, S.M., Clifton, D.K., Steiner, R.A., 2008. The role of kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annu. Rev. Physiol.*, 70, 213-238.
- Qiu, C., Cheng, B., Zhang, Y., Huang, R., Liao, L., Li, Y., Wang, Y., 2014. Efficient knockout of transplanted green fluorescent protein gene in medaka using TALENs. *Marine biotechnology*, 16, 674-683.
- Roa, J., Aguilar, E., Dieguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., 2008. New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Frontiers in neuroendocrinology*, 29(1), 48-69.
- Tang, H., Liu, Y., Luo, D., Ogawa, S., Yin, Y., Li, S., Cheng, C. H., 2015. The kiss/kissr systems are dispensable for zebrafish reproduction: evidence from gene knockout studies. *Endocrinology*, 156(2), 589-599.

Bölüm 8

SUCUL MİKROORGANİZMALARDA BİYOFİLM OLUŞUM MEKANİZMASI

Sevkan ÖZÜTOK¹

¹ Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, Yetiştiricilik ABD, 01250, Sarıçam, Adana-Türkiye, e-mail:smuglu@cu.edu.tr

Giriş

Amerika Birleşik Devletleri ulusal sağlık enstitüsü (National Institutes of Health (NIH))'nün bildirdiğine göre, biyofilmlerin bakteriyel enfeksiyonların yarattığı tahribatı fazlasıyla arttırdığını tespit etmiştir (Donlan ve Costerton, 2002). Biyofilminlerin, sucul organizmaların vücudunda ve yetiştiricilikte kullanılan birçok materyalde bulunarak, etkili bir virülens etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Filik ve Kubilay, 2019). Bu yüzden de biyofilmlerin yetiştiricilik tesislerinden uzak tutulması oldukça önem arz eder.

Balık enfeksiyonları araştırıldığında yetiştiricilik sistemlerinde sıklıkla rastlanılan; *Vibrio*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella* gibi hastalıklara neden olan bakteri türleri, biyofilm oluşturmaktadır. Biyofilmler, bakteriler türleri ve suşları arasında gen transferi gerçekleştirebilmesi uygun ortamlar sağlar (Mortensen, 2014). Arciola ve ark., (2015) araştırmalarında, *S. warneri*, *A. sobria*, *Y. ruckeri*, *F. psychrophilum* ve *V. anguillarum*'da biyofilm üretimi açısından polisakkarit intersellüler adhesin (PIA) ve cyclic-di-gmp mekanizmalarının bakterilerde biyofilm oluşumunu düzenlediğini gösterilmiştir

Biyofilm

Biyofilm ilk olarak McDonald ve Walter (1970) tarafından keşfedilmiştir. Bill Costerton (1978) ise yapmış olduğu bir araştırma ile biyofilmin insan sağlığı bakımından da büyük bir öneme sahip olduğunu ortaya koyan ilk bilim insanı olmuştur. Biyofilm yapısı; opak, mukoidik, pürüzsüzdür ve “ekzopolisakkarit (EPS)” ya da “ekzopolimer” gibi farklı isimlerde verilmektedir. Bakteriler, yaklaşık 100-500 µm'luk alanda organik ekzopolimer içinde yer almaktadır (Costerton ve ark., 1999; O'toole ve ark., 2000). Bilim insanlarına göre biyofilm, bakterilerin birbirlerine veya canlı/cansız yüzeylere polisakkarit kökenli ağ örerek, hücre dışı ekstra polimerik matriks bağlı kolonilerin üremesiyle oluştuğu yönündedir (Chmielewski ve ark., 2003). Biyofilmlere, bakteri gelişimini ve beslenmesi sağlayabileceği tüm yüzeylerde rastlamak mümkündür (Carpentier ve ark., 1993). Biyofilm oluşturma yeteneğine sahip bakterilere; besin eksikliği, kuruluk, pH sapması, antibiyotiklerden, kimyasallardan, antijenlerden kendini koruyabilmesi için bir bir kalkan görevi üstlenir. Biyofilmlerin oksijen ihtiyacını karşılayabilme, azotu çevirme ve mikro kirliliği çevirme gibi alternatif katkıları nedeniyle, biyofilm oluşturabilen bakteriler oksidatif strese karşı ekolojik nişte üstünlük sağlamaktadır. Ayrıca biyofilmler suyun kalitesini geliştirilmesi için sanayi tesislerinde ve yenilenebilir enerji üretim tesislerinde avantaj sağlamaktadır. Biyofilmlerin endüstride yeri ise; damlatmalı filtreler, sabit ve hareketli biyofiltreler, entegre sabit film, aktif çamur, membran biyofilm reaktörleri, anaerobik filtreler, akış-

kan anaerobik reaktörler ve mikrobik elektrokimyasal hücreler olarak sınıflandırılabilir (Rittmann, 2018).

Biyofilm Yapısı

Canlı veya cansız yüzeylerde yer alan mikroorganizma kolonilerin ürettiği hücre dışı polisakkaritler (eps), proteinler (glukozaminoglukanlar, gag) ve dışardan alınan organik ve inorganik maddelerin katılımıyla oluşan bir yapıdır. Tabaka içerisinde mukus, organik ve inorganik karbon, toprak, metal artıkları yer alabildiği gibi, organik karbonun %50den fazlasını ise eps oluşturmaktadır. Eps'nin yapısı kimyasal ve fiziksel olarak farklılık gösterse de temelde polisakkaritten oluşur. Gram pozitif bakterilerden oluşan biyofilmde eps katyonikken ve temelde teikoik asit ve dış zar proteinleri, nükleik asitler, proteinler ve farklı substansları da barındırır (Yesilcimen Akbaş ve Şar, 2018). Biyofilmin temel birimleri mikrokolonilerdir. Ayrıca aynı veya farklı bakteri türü veya suşu da mikrokoloniler oluşabilir. Biyofilmin rengi kullandığı ve beslediği canlı ve cansız materyale ve bulunduğu yere göre değişir (Turhan ve Erginkaya, 2019)..

Biyofilm Oluşum Basamakları

Biyofilm oluşması sırasıyla 5 aşamadan gerçekleşmektedir.

1. Planktonik bakterilerin yüzeye yapışmaları,
2. Hücrelerin mikro koloniler oluşturması, eps'nin oluşumu ve tutunmanın geri dönüşümsüz olması
3. Biyofilm oluşumu ve gelişimi
4. Biyofilm büyümesi, konak ve antibiyotiklere karşı savunma sağlayarak kütleli olarak biyofilmin genişlemesi
5. Biyofilmin, kütleli atışın yoğunlaşması, matrikse sığmayıp gelişimini tamamlamış planktonik bakterilerin yüzeye dağılmasıyla yeni biyofilm matrikslerinin oluşması şeklinde oluşmaktadır.

Antibiyotik Direncinde Biyofilmin Rolü

Biyofilm oluşumu direnci arttırarak, antibiyotiklerin canlı ve aktif hücrelere ulaşmasında bariyer görevi görür ve bu durum bakteride koruma kalkanı etkisi yaratır. Böylelikle biyofilm, mutasyon yaratarak antibiyotiklere karşı dirençli suşların oluşma olasılığını arttırmaktadır (Lazar ve Chifiriuc, 2010). Uludağ Altun ve Şener (2018) çalışmalarında aminoglikozid ve polipeptitler gibi antibiyotiklerin, negatif yüklü biyofilm polimerlerine bağlandıklarında, bakteri yüzeyinde penetrasyonun engellendiği ve dolayısıyla antibiyotiğe karşı böylece direç gelişimi sağlandığı görülmüştür.

Antibiyotikle tedavide yetersiz kalmasının diğer bir sebebi, biyofilm formundaki bakterilerde kimyasalların hücreye girişiyle planktonik bakterilerin gelişme hızının önemli ölçüde yavaşlattığı bildirilmiştir (Evans ve ark.,1990). Bu durum genç ve sesil bakterilere göre, biyofilm içerisinde yer alan korunaklı bakterilerin kimyasallara karşı daha az hassasiyet göstermesine yol açmaktadır (Akan ve Kınık, 2014; Hoiby ve ark., 2010). Hengzhuang ve ark. (2013), sefazidim ve imipenemin etkinliğini araştırdığı çalışmalarında *P. aeruginosa*'nın biyofilmle korunan versiyonunun, uygulanan antibiyotiklere karşı daha fazla beta-laktamaz enzimi üretip depoladığını ortaya koymuşlardır. Diğer bir çalışmada, *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakterilerde bazı monosakkaritlerin varlığının aminoglikozid grubu antibiyotiklerin etkisini arttırdığı tespit edilmiştir (Allison, 1998). Guyard-Nicodeme ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada biyofilm içerisinde yer alan bakterilerin antibiyotik direncini katkı sağlayan oksidatif stres enzimlerinin üreten genleri aktive edebildiklerini bulmuşlardır. Ayrıca *P. fluorescens*'in biyofilm oluşumuyla, dış zar proteini farklılaştırarak antibiyotiklere karşı daha yüksek dirence ulaştıklarını bulmuşlardır. Bu çalışmaya ek olarak düşük oksijen seviyesinde dahi *P. Aeruginosa*'nın stoplazmik zar da yer alan atım pompalarının regüle edildiği ve bu sayede aminoglikozid grubu antibiyotiklerin bakterisidal etkisinin minimuma indirgenmiştir (Schaible ve ark., 2012; Dufour ve ark., 2012). Antibiyotiklere karşı aminoglikozidler, metronidazol ve beta-laktamlar üreterek savunma sistemi donanımını arttırarak, DNA hasarına karşı da süperoksit radikalleri veya hidroksil iyon radikallerinin üretildiği bulunmuştur (Da ve ark., 2012; Elliott ve ark., 2010; Paraje, 2011).

Sonuç

Biyofilm, kronik enfeksiyonların ortaya çıkmasına yol açtığı gıdalarda oluşan biyofilmle savaş yoluna gidilmediğinde insan ve hayvan sağlığını bozacak ve üretim basamaklarında önemli ekonomik kayıplarla günümüzde giderek artan bir enfeksiyon ve bulaş kaynağı haline gelmektedir. Planktonik bakterilerinin ziyade biyofilm formundaki bakteriler kimyasallara karşı daha fazla korunma mekanizmalarına sahip olarak, tedavide karşılaşılan güçlükler ve hastalıkların yayılmasında mücadele yollarının sonuçsuz kalmasına neden olmaktadır. Dünyada durum değerlendirildiğinde yetiştiricilik de dahil olmak üzere çoklu antibiyotik direnci gelişerek, antibiyotiklere dirençli bakteri enfeksiyonlarında artış ve oluşan durum içinde yeni sentetik antibiyotik arayışlarını ortaya çıkarmaktadır. Bu açıdan bakıldığında günümüz araştırmacıları enfeksiyonlara karşı mücadeleye ve alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik biyo deneylere önem verdikleri görülmektedir. Bunların ışığında gerçekleştirilen araştırmalarda nanoteknoloji uygulamaları ile üretilen yeni ilaçların formülasyonları, yeni gen dizileme teknolojileri (NGS) ve bitki özütleri

kullanılarak yapılan terapi gibi alternatif kaynak arayışları sağlamaktadır. Antibiyotiğe karşı dirençli suşların sebep olduğu tedavi edilemez duruma gelmiş enfeksiyonların tedavi edilmesinde ve biyofilmle mücadele etkinliklerinin sayısının arttırılması gerekliliği gelecekte bilim adamlarını bu konu üzerinde daha fazla çalışmaya iteceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akan E, Kınık Ö. 2014. Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*; 14: 42-51.
- Allison, D.G., Ruiz, B., SanJose, C., Jaspe, A., Gilbert, P., 1998. Extracellular products as mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 167: 179-184.
- Arciola C.R, Baldassarri L, Montanaro L. 2001. Presence of *icaA* and *icaD* Genes and Slime Production in a Collection of Staphylococcal Strains from Catheter-Associated Infections. *Journal of clinical microbiology*, 34 (3): 165-173.
- Carpentier, B., Cerf, O., 1993. Biofilm and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 499-511.
- Chmielewski, R.A.N., Frank, J.F., 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 22-32.
- Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg, E.P., 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*; 284: 1318-1322.
- Da, S. R., Ploy, M. C., 2012. Resistance acquisition via the bacterial SOS response: the inductive role of antibiotics. *Medecine sciences: M/S*, 28 (2): 179- 184.
- Donlan, R. M., 2002. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.*; 8: 881-890.
- Dufour, D., Leung V., Lévesque C.M., 2012. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 22: 2-16.
- Elliott, D., Burns, J. L., Hoffman, L. R., 2010. Exploratory study of the prevalence and clinical significance of tobramycin-mediated biofilm induction in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54 (7): 3024-3026.
- Evans, D. J., Allison, D. G., Brown, M. R. W., Gilbert, P., 1990. Effect of growth-rate on resistance of Gram-negative biofilms to cetrimide. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 26 (4): 473-478.
- Filik, F. ve Kubilay, A., 2019. Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerinde Biyofilm Oluşumunun Farklı İn Vitro Metodlarla Tespiti. *Acta Aquatica Turcica*, 15 (3): 378-390.
- Guyard-Nicodème, M., Bazire, A., Hémary, G., Meylheuc, T., Mollé, D., Orange, N., Chevalier, S., 2008. Outer membrane modifications of *Pseudomonas fluorescens* MF37 in response to hyperosmolarity. *Journal of proteome research*, 7 (3): 1218-1225.

- Hengzhuang, W., Ciofu, O., Yang, L., Wu, H., Song, Z., Oliver, A., Hoiby, N., 2013. High β -lactamase levels change the pharmacodynamics of β -lactam antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57 (1): 196-204.
- Hoiby, N., Bjarnsholt T., Givskov, M., Molin, S., Ciofu, O., 2010. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35: 322-332.
- Lazăr, V., Chifiriuc, M. C., 2010. Architecture and physiology of microbial biofilms. *Roum Arch Microbiol Immunol*, 69 (2): 95-107.
- Meyer, B., 2003. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51: 249-253.
- Mortensen, B. K., 2014. Problems caused by biofilms. *Bactoforce International A/S*. <http://www.bactoforce.se/wp-content/uploads/2014/09/Problems-caused-by-biofilms>.
- O'Toole, G.A., Kaplan, H.B., Kolter, R., 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, 54: 49-79.
- Paraje, M. G., 2011. Antimicrobial resistance in biofilms. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, Edited by A. Mendez Vilas, Formatex.
- Rittmann, B. E., 2018. Biofilms, active substrata, and me. *Water Research*, 132: 135- 145.
- Schaible, B., Taylor, C. T., Schaffer, K., 2012. Hypoxia increases antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* through altering the composition of multidrug efflux pumps. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56 (4): 2114-2118.
- Turhan, E. ve Erginkaya, Z., 2019. Bakteriyel Biyofilmlerdeki Antimikrobiyel Direnç Mekanizması. *Akademik Gıda*, 17 (1): 131-139.
- Uludağ Altun, H. ve Şener, B., 2008. Biyofilm, infeksiyonlar ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*; 39: 82-8.
- Yesilcimen Akbas, M., Şar, T., 2018. *B. cereus* biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü. *Gıda Dergisi*, 43 (4): 605-616.



www.serüvenyayınevi.com



[/serüvenyayınevi](https://www.facebook.com/serüvenyayınevi)



[/serüvenyayınevi](https://www.instagram.com/serüvenyayınevi)



[/serüvenyayınevi](https://www.twitter.com/serüvenyayınevi)

