



**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss* W.,
1792) YEME KATILAN ORGANİK VE İNORGANİK
ÇİNKO FORMLARININ BAZI ENZİM, HORMON VE
KEMİK MİNERAL DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Su Ürünleri Müh. Hande ÖZDEMİR

DOKTORA TEZİ
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. M. Nuri ÇAKMAK

KASIM-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

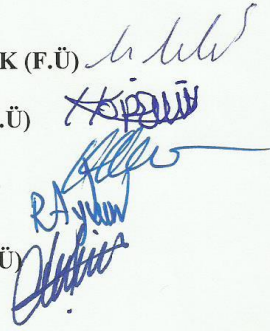
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) YEME
KATILAN ORGANİK VE İNORGANİK ÇİNKO FORMLARININ BAZI ENZİM,
HORMON VE KEMİK MİNERAL DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Yük. Müh. Hande ÖZDEMİR
(071128202)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 04 Ekim 2017
Tezin Savunulduğu Tarih : 06 Kasım 2017

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. M. Nuri ÇAKMAK (F.Ü)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Kenan KÖPRÜCÜ (F.Ü)
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN (F.Ü)
Prof. Dr. Rahmi AYDIN (M.Ü)
Doç. Dr. Durali DANABAŞ (M.Ü)



ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanması ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. M. Nuri ÇAKMAK'a, tez izleme komitesinde yer alan sayın Prof. Dr. Kenan KÖPRÜCÜ ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Kazım ŞAHİN'e, F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi'nden sayın Doç. Dr. M. Enis YONAR ve Doç. Dr. Serpil MİŞE YONAR'a, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan sayın Doç. Dr. Cemal ORHAN'a, Devlet Su İşleri IX. Bölge Müdürlüğü Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'ne ve çalışanlarına, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü'ne, F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na ve Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü'ne teşekkür ederim.

Bunun yanında çalışmamın bütün aşamalarında desteklerini her zaman yanımda hissettiğim tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Hande ÖZDEMİR
ELAZIĞ- 2017

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
TABLolar LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Bilgisi	2
1.1.1. Çinko	2
1.1.1.1. Çinkonun Genel Özellikleri	2
1.1.1.2. Çinko Kaynakları ve kullanımı	3
1.1.1.3. Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikleri	5
1.1.1.4. Çinko Metabolizması	8
1.1.1.5. Çinko Alınımı ve Atılımı	10
1.1.1.6. Yetersizlik ve Toksikite Belirtileri	11
1.1.1.7. Yüksek Dozda Çinkonun Etkisi	12
1.1.2. Çinkonun Balık Beslemede Önemi	12
1.1.2.1. Önemi ve Görevleri	12
1.1.2.2. Biyolojik Yararlılık ve İhtiyaç Düzeyi	16
1.1.2.3. Yetersizlik ve Toksikite Belirtileri	18
1.1.3. Çinkonun Bazı Enzim ve Hormonlar Üzerine Etkileri	20
1.1.4. Lipid Peroksidasyon ve Malondialdehit (MDA)	21
1.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD)	23
1.1.6. Alkalın Fosfataz	24
1.1.7. İnsülin	24
1.1.8. İnsülin Benzeri Büyüme faktörü (IGF-I)	24
2. MATERYAL ve METOT	26
2.1. Materyal	26
2.1.1. Araştırma Yeri	26
2.1.2. Balık Materyali	26
2.1.3. Yem Materyali	27

2.2.	Metot	27
2.2.1.	Mineral Karmalarının Hazırlanması	27
2.2.2.	Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması	29
2.2.3.	Deneme Tekneleri ve Kullanılan Suyun Özellikleri	30
2.2.4.	Denemenin Planlanması ve Yemlerin Balıklara Verilmesi	30
2.2.5.	Kimyasal Analizler	31
2.2.5.1.	Doku Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi	31
2.2.5.2.	Kan Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi	32
2.2.5.3.	Plazma ve Karaciğer MDA Düzeyinin Belirlenmesi	32
2.2.5.4.	Kan ve Karaciğer SOD Aktivitesinin Belirlenmesi	32
2.2.5.5.	Serum Alkalın Fosfataz Aktivitesinin Belirlenmesi	35
2.2.5.6.	Serumda İnsülin Düzeyinin Belirlenmesi	35
2.2.5.7.	Plazma İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' nün Belirlenmesi.....	35
2.2.5.8.	Kemik Dokusunun Alınması ve Mineral Madde Düzeylerinin Belirlenmesi	36
2.2.6.	Verilerin Değerlendirilmesi	36
3.	BULGULAR	37
3.1.	Kan Glikoz Düzeyindeki Değişimler	37
3.2.	Plazma ve Karaciğer MDA Düzeyindeki Değişimler	38
3.3.	Kan ve Karaciğer SOD Düzeyindeki Değişimler	40
3.4.	Serum Alkalın Fosfataz Aktivitesindeki Değişimler	42
3.5.	Serumda İnsülin Düzeyindeki Değişimler	44
3.6.	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' ndeki Değişimler	45
3.7.	Kemik Dokusunda Mineral Madde Düzeyleri	46
4.	TARTIŞMA ve SONUÇ	47
4.1.	Glikoz Düzeyindeki Değişimler	47
4.2.	MDA Düzeyindeki Değişimler	48
4.3.	SOD Düzeyindeki Değişimler	50
4.4.	Alkalın Fosfataz Aktivitesindeki Değişimler	51
4.5.	İnsülin Düzeyindeki Değişimler	52
4.6.	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' ndeki Değişimler	52
4.7.	Mineral Madde Düzeyleri	53
5.	ÖNERİLER	55

KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	66



ÖZET

Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda kan glikoz düzeyi, plazma ve karaciğer malondialdehit düzeyleri ile kan ve karaciğer süperoksit dismutaz ve serum alkalın fosfataz aktiviteleri, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü-I ve kemik mineral kompozisyonu üzerine diyet katılan inorganik (çinko sülfat ve çinko oksit) ve organik (çinko pikolinat ve çinko metionin) formdaki çinkonun etkileri değerlendirildi.

Bu amaçla, 30 mg/kg diyet oranında çinko içeren dört farklı diyet (D1-çinko sülfat; D2-çinko oksit; D3-çinko pikolinat ve D4-çinko metionin) hazırlandı. Her bir diyet, 30 balık içeren üç tekrarlı deneme gruplarına 3 ay süreyle uygulandı.

Çalışma sonucunda, organik formda çinko pikolinat (D3) ve çinko metionin (D4) uygulanan gruplarda kan glikoz düzeyi ile plazma ve karaciğer MDA düzeylerinin inorganik formda çinko sülfat (D1) ve çinko oksit (D2) uygulanan gruplara kıyasla daha düşük olduğu bulundu. İnorganik formda çinko sülfat (D1) ve çinko oksit (D2) uygulanan gruplara kıyasla organik formda çinko pikolinat (D3) ve çinko metionin (D4) uygulanan gruplarda kan ve karaciğer süperoksit dismutaz aktiviteleri, serum alkalın fosfataz aktivitesi ve plazma insülin benzeri büyüme faktörü-I düzeyi daha yüksek bulundu. Organik ve inorganik formda çinko içeren grupların insülin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ayrıca, kemik çinko, demir, bakır, kalsiyum ve fosfor konsantrasyonlarının organik veya inorganik çinko uygulamasıyla değişmediği belirlendi.

Sonuç olarak, gökkuşuğu alabalığı için çinko pikolinat (D3) ve çinko metionin (D4)' in, çinko sülfat (D1) ve çinko oksit (D2)' ten biyolojik olarak daha yararlı olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Alkalın fosfataz, Çinko, Glikoz, Gökkuşuğu alabalığı, İnsülin, İnsülin benzeri büyüme faktörü, Malondialdehit, Süperoksit dismutaz.

SUMMARY

Investigation of Effects of Dietary Organic and Inorganic Zinc Forms on Some Enzyme, Hormone and Bone Mineral Level in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)

In this study, the effect of dietary zinc at inorganic forms (zinc sulphate and zinc oxide) and organic forms (zinc picolinate and zinc methionine) on blood glucose level, plasma and liver malondialdehyde concentrations, blood and liver superoxide dismutase and serum alkaline phosphatase activity, insulin and insulin like growth factor-I (IGF-I) levels, and bone mineral composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was evaluated.

For this purpose, four different diets (D1= zinc sulphate; D2= zinc oxide; D3= zinc picolinate and D4= zinc methionine) were prepared at the zinc level of 30 mg/kg diet. Each diet was assigned to three replicate groups of 30 experimental fish (initial body weight = 50 ± 1 g) for 3 months.

Results showed that the blood glucose and the plasma and liver MDA levels were lower in the groups treated zinc picolinate (D3) and zinc methionine (D4) in organic form when compared with the groups treated zinc sulphate (D1) and zinc oxide (D2) in inorganic form. The blood and liver SOD activities, the serum alkaline phosphatase activity and the plasma IGF-I level were higher in the groups treated zinc picolinate (D3) and zinc methionine (D4) in organic form when compared with the groups treated zinc sulphate (D1) and zinc oxide (D2) in inorganic form. No statistically significant difference was found between the insulin levels of groups treated zinc in organic and inorganic form. The bone zinc, iron, copper, calcium, and phosphor concentrations did not change with organic or inorganic zinc treatment.

In conclusion, it can be said that zinc picolinate (D3) and zinc methionine (D4) seems to be more bioavailable than zinc sulphate (D1) and zinc oxide (D2) for rainbow trout.

Key Words: Alkaline phosphatase, Glucose, Insulin, Insulin like growth factor, Malondialdehyde, Rainbow trout, Superoxide dismutase, Zinc.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	26
Şekil 2.2. Hamur haldeki yem materyalinin kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirilmesi	29
Şekil 2.3. Pelet haline getirilen yem materyali	30
Şekil 3.1. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan glikoz düzeyleri	38
Şekil 3.2. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların plazma MDA düzeyleri	39
Şekil 3.3. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer MDA düzeyleri	40
Şekil 3.4. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan SOD aktiviteleri	41
Şekil 3.5. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer SOD aktiviteleri	42
Şekil 3.6. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların serum alkalın fosfataz aktiviteleri.....	43
Şekil 3.7. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda insülin düzeyleri	44
Şekil 3.8. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda IGF-I düzeyleri.....	45

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Avrupa Birliği'nde kullanımına izin verilen çinko formları	4
Tablo 1.2. Bazı yem maddelerindeki çinko düzeyleri	5
Tablo 1.3. Çinko, çinko sülfat ve çinko klorid'in bazı özellikleri	6
Tablo 1.4. Bazı balıklarda farklı tipte yemlerle yapılan çalışmalarda çinko ihtiyaçları	17
Tablo 1.5. Çeşitli balık türlerinin çinko eksikliğinde ortaya çıkan semptomlar	19
Tablo 2.1. Deneme yemlerinde kullanılan yem ham maddelerinin kompozisyonu, %	27
Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan bazal rasyonun kompozisyonu (%)	28
Tablo 2.3. Kanda SOD aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan prosedür ...	33
Tablo 2.4. Karaciğerde SOD aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan prosedür	34
Tablo 3.1. Araştırmada kullanılan suyun özellikleri	37
Tablo 3.2. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan glikoz düzeyleri	38
Tablo 3.3. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların plazma MDA düzeyleri	39
Tablo 3.4. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer MDA düzeyleri	40
Tablo 3.5. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan SOD aktiviteleri	41
Tablo 3.6. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer SOD aktiviteleri	42
Tablo 3.7. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların serum alkalın fosfataz aktiviteleri	43
Tablo 3.8. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda insülin düzeyleri	44

Tablo 3.9.	İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda IGF-I düzeyleri	45
Tablo 3.10.	Kemik dokusunda Zn, Fe, Cu, Ca ve P düzeyleri	46



1. GİRİŞ

Dünya yüzeyinin % 71'i sular, % 29'u karalardan oluştuğu halde, sulardan elde edilen besinler, karalardan elde edilenin ancak % 4'ü kadardır. Su ürünleri geniş bir potansiyele sahip olmasının yanı sıra, balık etinin üstün nitelikte oluşu; amino asitleri içermesi, bağ dokudan hemen hemen yoksun oluşu, karbonhidrat ve yağ oranının düşük olması, yüksek oranda doymamış yağ asitlerini içermesi, çok kolay sindirilmesi, vitamin ve mineral madde bakımından zengin olmasından kaynaklanmaktadır (Sarı ve Çakmak, 1994; Köprücü, 2008).

Beslenme; canlının büyümesi, üremesi, yıpranan dokuların giderilmesi gibi fizyolojik faaliyetlerin devamı için canlı tarafından besin maddelerinin ve oksijenin alınarak vücudu regüle eden spesifik ürünlerin meydana getirmesi ve atık maddelerin vücut tarafından uzaklaştırılmasına kadar geçen süre içinde uğradığı mekanik, fiziksel ve kimyasal olaylardır. Balık besleme, balık yetiştiriciliğinin başlamasıyla ortaya çıkmış ve ona paralel olarak gelişme göstermiştir. Uygun çevre şartlarında balıkların en kısa sürede ve istenilen kalitede pazar ağırlığına ulaşması için üretim ve yetiştiriciliği yapılan türün isteklerine bağlı olarak uygun nitelik ve nicelikteki yemlerle beslenmesi gerekir (Sarı ve Çakmak, 1994; Köprücü, 2008).

Kültür balıkçılığının gelişebilmesi için en önemli unsurlardan biri, kültürü yapılan türlerin besin maddeleri ihtiyaçlarının karşılanmasıdır. Bu nedenle, her balık türü için besin madde ihtiyaçları kantitatif olarak belirlenip, balıklara en uygun biçimde verilmesi gereklidir. Balıklar ihtiyaç duydukları mineralleri belli düzeyde sudan ve tükettikleri yemden absorbe ederler. Absorbsiyonun seviyesi mineralin ortamda bulunan miktarı, formları balığın büyüklüğü, su kalitesi kriterleri gibi faktörlere bağlıdır (Çetinkaya, 1998).

İz elementler, besin maddelerinin en önemli bileşenlerinden biridir. Bu maddeler hayvansal organizmanın yapısına katılan ve fonksiyonları için gerekli olan esansiyel kimyasal elementlerdir. Balık beslemedeki en önemli mineraller, makro elementler ve mikro elementlerdir. Makro elementlerin en önemlileri, kalsiyum (Ca), fosfor (P), magnezyum (Mg), sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl) ve kükürt (S) iken, mikro elementlerin en önemlileri ise demir (Fe), iyot (I), bakır (Cu), mangan (Mn), çinko (Zn), kobalt (Co), flor (F) ve selenyum (Se)' dir (Çetinkaya, 1995).

Çinko, tüm canlıların büyümesinde, gelişmesinde ve fonksiyonlarında önemli rol oynar. Bazı enzim sistemlerinde kofaktördür ve karbonik anhidraz, alkalın fosfataz, karboksi peptidaz, alkol dehidrogenaz, glutamik dehidrogenaz, laktik dehidrogenaz, ribonalükleaz ve DNA polimerizasyonu gibi metalloenzim olaylarında başlıca rol oynar. Balıklar çinkoyu hem sulardan hem de rasyon kaynaklarından absorbe ederler. Balıklar yaşadıkları suda bulunan mineralleri deri, solungaç ve yanal çizgileri vasıtasıyla alırlar. Ancak rasyonla elde edilen çinko miktarı, su ile absorbe edilen çinkodan daha fazladır (Çetinkaya, 1998; Lim ve Webster, 2001).

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışmada; gökkuşuğu alabalığında, yeme katılan organik ve inorganik çinko formlarının bazı enzim, hormon ve kemik mineral düzeyine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Literatür Bilgisi

1.1.1. Çinko

1.1.1.1. Çinkonun Genel Özellikleri

Çinko, 1546 yılında Georgus Agricola tarafından bulunmuş, 1746 yılında Andreas Marggraf tarafından tekrar isimlendirilmiştir. Çinko Almanca 'Zink' kelimesinden türemiştir. Kelime, 'Sert, Keskin' anlamına gelmektedir.

Çinko, geçmişten günümüze insanlar tarafından endüstride, süs eşyasında veya faydalı bir amaç için kullanılmıştır. Eski Mısır ve Akdeniz ülkelerinde çinko, deri üzerinde oluşan lezyonlarının tedavisinde merhem olarak kullanılmıştır. Romalılar, çinko cevherlerini bakır karışımlarıyla birlikte pirinç üretiminde kullandıkları bilinmektedir. 15. yüzyılın başlarında çinko, yaygın olarak eritilerek tek başına kullanılmaya başlanmıştır. Çinkonun ilk olarak oral yoluyla kullanımı ile ilgili bilgiler, 1826 yılında vücutta ciddi yaraların oluşmasıyla denendiği açıklanmıştır. Çinkonun, 1869'da bitkiler ve hayvanlar için esansiyel olduğu belirlenmiştir. 1877'de insan karaciğerinde çinkonun bulunmasıyla, biyolojik bir madde olduğu anlaşılmıştır. 1934'de yapılan araştırmalar sonucu çinkonun, hayvanların büyümesi ve gelişmesi için esansiyel olduğu belirlenmiştir (Eisler, 1993).

Çinko yer kabuğunda bol miktarda bulunmaktadır ve dünya yüzeyinin yaklaşık % 0,004' ünü oluşturmaktadır. Çinko toprakta % 0,005, bitkilerde % 0,003 oranlarında

bulunur. Birçok gıda maddesi belli oranlarda çinko içermektedir. En yaygın çinko minerali; kurşun, bakır, kadmiyum ve demir gibi diğer metalik elementlerin sülfhidleriyle benzerlik gösteren, çinko sülfid (ZnS)'dir. Çinko aynı zamanda karbonat sedimentlerinde karbonat, kalamın ($ZnCO_3 =$ tutya) olarak da bulunur. Çinkonun diğer formları ise genellikle Sülfid'in oksidasyon ürünleridir (Çetinkaya, 1995; Ası, 1996).

Çinko, tüm canlı organizmalar için esansiyel bir iz elementtir. Çinko, gen ekspresyonu, DNA sentezi, enzimatik kataliz, hormonların depolanması ve salınımı, nörotransmisyon, görme, büyüme ve gelişme gibi pek çok metabolik olaya katılmaktadır. Birçok immün ve hormonal olaylar ve 300'den fazla enzimin aktivitesi çinkoya bağlıdır. Söz konusu enzimler protein sindiriminde ve karbonhidrat katabolizmasında görev alır (Hoşsu vd., 2003). Çinko protein sentezinde ve metabolizmasında da aktif rol oynar (Ası, 1996).

1.1.1.2. Çinko Kaynakları ve Kullanımı

Çinko doğada yaygın olarak dağılım göstermiştir, yer kürede 20-200 ppm (ağırlık olarak) teşkil etmektedir. Fakat, doğada çinko saf olarak bulunmaz. Bugün çinko üretiminin %90'nı çinko sülfhidril'dir (Elinder, 2005). Dünyada en büyük çinko üretim bölgeleri, Kanada, Sovyetler Birliği ve Japonya'dır. İkinci olarak Amerika, Asya kıtasının güneydoğusundaki adalar, Meksika ve Peru yer almaktadır (Eisler, 1993).

Çinko doğada ve maden yataklarında genellikle bland veya spharelit (ZnS) ve kalamın ($ZnCO_3$) şeklinde bulunur. Çinko, pirinç, çelik ve demir ürünleri gibi alaşımların galvanizlenmesinde kullanılmaktadır. Oksidasyona karşı sülfhidril gruplarını korur ve transmisyon metaller tarafından reaktif oksijenlerin oluşumunu inhibe eder. Başlıca çinko ve galvaniz kaplar, bronz, çinko oksit ve karbonatlı beyaz boya, lastik sanayi, sırlanmış ve emaye eşya, cam, kağıt ve ahşap koruyucuların üretimi ile ilgili sanayi kollarında kullanılır. Galvaniz ürünler yaygın olarak materyal yapıda, otomobil parçalarında ve ev aletlerinde de kullanılmaktadır.

Çinko oksit, silgi ve fotokopi kâğıdı üretiminde beyaz renkli pigment şeklinde kullanılmaktadır. Çinko yetersizliğinin sonucu meydana gelen hastalıklarda, ciddi deri hastalıklarında, yaraların iyileşmesinde ve anemi hasta hücrelerin azaltılmasında tedavi edici ilaç olarak da kullanılır (Eisler, 1993; Çetinkaya, 1998).

Yem Sanayi’nde en çok kullanılan çinko formları; çinko oksit (ZnO, % 72 Zn) ve çinko sülfat monohidrat (ZnSO₄·H₂O, % 35 Zn). Çoğunlukla, % 80-90 ZnO kullanılmaktadır. Bundan başka çinko klorür (ZnCl₂, % 48 Zn), çinko karbonat (ZnCO₃, % 52 Zn) ve çinko sülfat heptahidrat (ZnSO₄·7H₂O, % 22 Zn) bileşikleri de bulunmaktadır. Doğan (1998) hayvan beslenmesinde metiyonin ve lizin aminoasitlerinin önemi anlaşıldıktan sonra çinkonun kompleks ürünleri de Yem Sanayi’nin faydalanmasına sunulmuştur. Tablo 1.1’de Avrupa birliğinde kullanımına izin verilen çinko formları verilmiştir.

Tablo 1.1. Avrupa Birliği’nde kullanımına izin verilen çinko formları (Anonim, 2003).

No (Ec. No)	Katılan Kimyasal Maddeler	Kimyasal Formülü	Diğer Şartlar
E6	Çinko laktat, trihidrat	Zn(C ₃ H ₅ O ₃) ₂ · 3H ₂ O	-
	Çinko asetat, dihidrat	Zn(CH ₃ COO) ₂ · 2H ₂ O	-
	Çinko karbonat	ZnCO ₃	-
	Çinko klorid, monohidrat	ZnCl ₂ · H ₂ O	-
	Çinko oksit	ZnO	Maksimumu Kurşun Düzeyi: 600 mg/kg
	Çinko sülfat, heptahidrat	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	-
	Çinko sülfat, monohidrat	ZnSO ₄ · H ₂ O	-
	Çinko şelat, amino asit hidrat	Zn (x) 1-3 nH ₂ O (x: Hidrolize soya proteininden elde edilen herhangi bir amino asit)	-

Çinko ihtiva eden zengin yem kaynakları; kurutulmuş kümes hayvanları gübresi, balık unu, mısır gluteni unu, buğday kepeği, tavukçuluk yan ürünleri unu, orta kaliteli buğday, ayçiçeği tohumu unu ve kuru maya gibi yem maddeleridir (Tacon, 1987).

Çinkoca zengin besinler, kırmızı et, süt, yumurta sarısı, kabuklular, karaciğer, tahıl taneleri, mercimek, fasulye ve pirinçtir.

Bitki ve bitkisel ürünlerdeki çinko düzeyleri, çinko alımını etkileyen toprak şartları (pH, iyon değişim kapasitesi vs.), gübreleme ve bitki türleri arasındaki genetik farklılıklar tarafından etkilenir. Fabrikalarda uygulanan işlemler de (öğütme, ekstraksiyon vs.) element

konsantrasyonlarını değiştirebilir (Clearwater vd., 2002). Bazı yem maddelerindeki çinko düzeyleri Tablo 1.2.' de verilmiştir

Tablo 1.2. Bazı yem maddelerindeki çinko düzeyleri (Anonim, 2003).

Besin maddesi	Miktarı (mg/kg)	Besin maddesi	Miktarı (mg/kg)
Arpa	26-38	Patates posası	46
Bira mayası	62-72	Kolza	60-66
Turunçgiller posası	10	Kolza extr.	34
Kabuksuz pamuk tohumu	70	avdar	31-35
Balık unu	90	Kaymağı alınmış süt tozu	41-48
Ot unu	40	Süpürge darısı	15-34
Bakla	46-49	Kabuksuz soya unu	66-70
Keten tohumu extr.	49-51	şeker pancarı posası	22-24
Acı bakla	32-59	Buğday	29-49
Mısır (tane)	25-27	Buğday kepeği	100-112
Mısır gluteni yemi	64-74	Orta kaliteli buğday	92-135
Yulaf	27-41	Kesilmiş süt tozu	10-19
Bezelye	23-37	Kaymaklı süt tozu	40

1.1.1.3. Kimyasal ve Biyokimyasal zellikleri

Hava, su, yeryüzü ekosistemlerinde ve bütün canlılarda Zn varlığına rastlanır. Çinko bileşiklerinin oransal olarak yüksek çözünürlüğe sahip olması nedeniyle çinko tatlı sularda yaygın olarak rastlanan bir metaldir. Çinko özellikle yumuşak sularda çok iyi çözünebilir. Çinko aynı şekilde organik asitlerde de çözülebilir (etinkaya, 1998).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda görülmüştür ki, aquatik ortamda çinkonun fazla olduğu kısım sedimenttir. Sedimentteki inkonun serbest kalması, yüksek çözünmüş oksijen, düşük tuzluluk ve düşük pH şartları altında artmaktadır. Çözünmüş inko, genellikle toksik su iyonları ($Zn(H_2O)_6^{+2}$) ve çeşitli organik ve inorganik bileşikleri içermektedir. Su iyonları ve diğer toksik kompleksler, düşük pH, düşük alkalinite, düşük

çözünmüş oksijen ve yüksek sıcaklık şartları altında aquatik organizmalara ciddi zararlar verirler (Eisler, 1993).

Çinko güçlü asitlerle çözünebilir mavi-beyaz bir metaldir. Doğada sülfid, oksit ve karbonat olarak bulunmaktadır. Çözeltilerde divalentdir ve asitte pozitif yüklü Zn^{+2} hidrat formda olabilmektedir (Eisler, 1993). Çinko, çeşitli ticari isimlerin altında toz şeklinde satılmaktadır. Bu ticari isimler, Asarco, mavi toz, Cl 77949, Cl 6 pigmentli metal, Emanay çinko toz, granüler çinko, JASAD Merrillite, L15 ve PASKO' dur. Bazı çinko formlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1.3'de listelenmiştir.

Tablo 1.3. Çinko, çinko sülfat ve çinko klorid'in bazı özellikleri (Eisler, 1993).

Özellik / Formülü	Çinko (Zn)	Çinko Klorid (ZnCl ₂)	Çinko Sülfat (ZnSO ₄)
CAS numarası	7440-66-6	7646-65-7	7733-02-0
Moleküler ağırlığı	65,38	136,29	161,44
Erime noktası (°C)	419,5	290	600°C' de ayrışır (Dekompoze)
Kaynama noktası (°C)	908 °C	732 °C	-
Yoğunluk	7,14	2,907	3,54
Fiziksel Durum	Parlak mavi-beyaz katı madde	Katı beyaz granüller	Renksiz katı madde
Çözünürlük	Suda çözünmez, asetik asit ve alkalilerde çözünür	61,4 g/L su, 769 g/L alkol, 500 g/L gliserol	Suda çözünebilir, alkolde az erir

Çinko ligandları, nötral ve asidik çözeltilerde çözünme kabiliyetinde olduğundan dolayı birçok doğal suya kolayca taşınabilir. Fakat, yaygın olarak endüstride kullanılan çinko oksit, birçok çözücüde düşük çözünürme özelliğine sahiptir (Elinder, 1986; Eisler, 1993).

Tatlı sularda, çinko düşük pH ve düşük alkalinite ile daha iyi çözünür: pH 6 olduğunda çözünürlük 10 mg Zn/L, pH 7 olduğunda 6,5 mg Zn/L çözünmektedir. pH 8' de 0,65 mg Zn/L ve pH 9 0,01 mg Zn/L çözünür (Eisler, 1993). Tipik nehir sularında, çinko yaklaşık % 90'nı su iyonları ($Zn(H_2O)_6^{+2}$) halinde, geri kalanları $ZnHCO_3^+$, $ZnCO_3$ ve $ZnSO_4$ şeklinde bulunur.

Akuatik organizmalarda çinkonun biyolojik yararlılığı ve toksik etkisi; düşük pH, düşük alkalinite, düşük çözünmüş oksijen ve yüksek sıcaklık şartları altında yükselmektedir. Çinkonun çözünebilen kimyasal formları yüksek biyolojik yararlılığa ve toksisiteye sahiptir. Su iyonları, çözünen diğer formlara daha yaygındır ve muhtemelen daha toksiktir. Bununla beraber su iyonlarının konsantrasyonu yüksek alkalinite, pH >7,5 ve artan salinite şartlarında azalmaktadır (Eisler, 1993).

İz elementlerin organik formları olan şelatlar ve pikolinik asitle meydana getirdiği kompleksler, iz elementlerin yararlılığını arttırdığı görülmektedir (Apines vd., 2001; 2003; Apines vd., 2004). Minerallerin biyolojik yararlılığı üzerinde çok sayıda faktör etkilidir. Bu faktörler, minerallerin yemle alınma miktarı, kimyasal formu, minerali kapsayan rasyonun sindirilebilirliği, yemin partikül büyüklüğü, elementin diğer besinlerle olan interaksyonları, inhibitörler, şelat yapıcılar, canlının fizyolojik ve patolojik durumu, su kalitesi, yem üretimi metodu ve canlının türüdür (Çetinkaya, 1998).

Çinko, demirden sonra canlı organizmada en çok bulunan, ikinci oligo (iz) elementtir. Biyolojik sistemlerde sadece (+2) değerlilikte rastlanır. Bunun için demir, bakır gibi diğer geçiş metalleriyle redoks tepkimelerinde görev yapmamaktadır (Onat, 2002).

Alkol Dehidrojenaz, Karbonik Anhidraz, Alkalen Fozfataz, RNA ve DNA Polimerazlar, Süperoksit Dismutaz, Timidin Kinaz, Karboksipeptidazlar gibi yaklaşık 300 enzimin yapısında Zn bulunmaktadır. Çinko atomları metalloprotein molekülünün integral kısmına ve sıklıkla enzimin aktif merkezine sıkıca bağlanmaktadır. Ayrıca çinko, birçok metalloenzimin konformasyonunu ve yapılarının dayanıklılığını sağlamaktadır. (Onat, 2002; Üstdal, 2003).

Kana bağırsaktan emilerek geçen çinko, albümin üzerinde taşınarak, önce karaciğere gelir, sonrada öteki dokulara dağıtılır. Kan plazmasında çinkoyu büyük ölçüde albümin (% 60-70) ve α_2 -makroglobülin (% 30-40) taşır. Küçük bir miktarı transferi ve serbest amino asitler ile taşınır. Önemli bir şekilde depolanmamaktadır. Eritrositlerde karbonik anhidraz ve diğer çinko içeren enzimler bulunduğu için eritrosit çinko konsantrasyonu plazmanın yaklaşık 10 katı kadardır. İnsanlarda çinko serum düzeyi, 10-12 $\mu\text{mol/L}$ 'dir, eritrositlerdeki miktarı ise 200 $\mu\text{mol/L}$ 'dir (Ulukaya, 1998; Üstdal, 2003).

Çinko bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicisi olarak da önemlidir. Protein sentezinde fonksiyonu bulunan Zn, gen ekspresyonunda yapısal ve enzimatik rol oynamaktadır. DNA molekülündeki özel bölgelere bağlanan çinko, zinc finger proteinleri adı verilen konformasyonlarda görev almaktadır. DNA yapısına bağlanan proteinlerin en

büyük sınıfını oluşturan zinc finger proteinlerin gen ekspresyonu ile diğer olayların temelini oluşturmaktadır. Çinko proteinlerin, karbonhidratların ve lipidlerin optimal metabolizmalarında esas element sayılmaktadır. Çinko, üzerinde yer aldığı proteinlerin konformasyonel yapılarını ve nükleik asitleri stabilize etmektedir. Bağ dokunun biyosentezi ve bütünlüğü işlevlerinde görev aldığından yara iyileşmesinde önemli bir faktördür.

Aynı zamanda çinkonun bağışıklık sisteminde önemli fonksiyonları gözlenmiştir. Başlıca rol aldığı fonksiyon immünoprotein sentezidir. Çinkonun üstlendiği diğer spesifik etkiler ise; antikör cevabı, doğal öldürücü (killer) hücre aktivitesi, yardımcı T- hücre üretimi, lenfosit mobilitesi ve doku iyileşmesi gibi aktivitelerdir (Üstdal, 2003).

1.1.1.4. Çinko Metabolizması

Çinko bitki ve hayvan dokularında sürekli olarak bulunan bir elementtir ve normal büyüme, üreme gelişim için esansiyeldir.

Çinkonun esansiyel fonksiyonu, çok sayıda metalloenzimin tamamlayıcı parçası olması ve çinkoya bağımlı özel enzimlerin aktivitelerini düzenlemesiyle ilgilidir. Yaklaşık 20 ayrı çinko metallo enzimi belirlenmiştir. Bunların başlıcaları; Karbonik Anhidraz, Alkalın Fosfataz, Alkol Dehidrojenaz, Glutamik Dehidrojenaz, Asit Fosfataz, Laktik Dehidrojenaz, Karboksi Peptidaz ve Süperoksit Dismutaz'dır. Çinko, bu enzim aktivitelerinde kofaktördür.

Çinkoya bağlı enzimlerin birinci aktivitesi; DNA ve RNA' nın biyosentezi ve katabolik oranlarını düzenlemesidir. Çinko, karaciğerde yağ peroksidazı inhibe edici etkilerden koruyucu bir etkidir. Lizozom membranlarının dengesini ve muhafazasını sağlar. Balıklar, kuşlar, sürüngenler ve memelilerin beyinlerinin nörotransmisyonunda, kaslarının kasılıp gevşemesinde, miyoglobinin oksijen eğilimini arttırmada yardımcıdır. Kas lifleri tiplerinin büyümesi ve farklı olması için gereklidir. Özellikle çalışılan birçok organizmada yaraların iyileşmesinde etkili bir elementtir (Eisler, 1993; Çetinkaya, 1998).

Metallotioneinler, omurgalı ve omurgasızlarda ağır metal toksisitelerine karşı korunmada ve metal homeostazisinde önemli bir role sahiptir. Metallotioneinler, sistence zengin (>%20) bakır, altın, çinko ve civaya yüksek affinitesi olan, düşük molekül ağırlığına (6.000 kadar) sahip proteinlerdir. Bu ısıya stabil olan, metal bağlayan proteinler bütün omurgalıların dokularında bulunur ve tiyolat (thiolate) bağları aracılığıyla bir grup

maddeyi bağlayabilirler. Çinko, metallothioneinlere kuvvetli şekilde bağlanan maddelerden biridir ve çinkonun enzimlerden metallothioneinlere tekrar dağıtılması, düşük hücre içi çinko konsantrasyonunu muhafaza etmenin tek yoludur. Metallothioneinler aynı zamanda erken gelişim evrelerinde çinko ve diğer metaller için geçici depo proteinleri olarak da görev yapar ve kullanılabilir. Çinko havuzunu uygun konsantrasyonlarda tutabilmek için fonksiyon yaparlar. Metallothioneinler, organizmalar arasında tamamen benzerlik gösterirler. tüm metallothioneinler 6.000-10.000 arasında molekül ağırlığına sahip, kükürt ve sisteince zengindirler. Aromatik aminoasitlerce noksan küçük proteinlerdir.

Metallothioneinler, gökkuşağı alabalıklarında eksojen vitellogenesis periyodu boyunca çinko regülasyonu için önemli bir faktördür. Örneğin; dişi gökkuşağı alabalıklarında yumurta oluşumu boyunca, metallothioneinler karaciğer çinko homeostazisini muhafaza ederler. Deniz balığı olan pisi balığına (*Pleuronectes platessa*), intraperitoneal olarak yapılan çinko enjeksiyonu, karaciğer metallothionein düzeyini arttırmış ve bu 4 hafta sürmüştür. Deniz yumuşakçaları ve krustasealarda fazla miktarda çinko, metal bağlayan proteinler tarafından alıkonulur ve daha sonra detoksifikasyon bölgelerine taşınırlar; çözünebilir proteinler ve aminoasitler %20-70 oranında çinko taşıyabilirler (Çetinkaya, 1998).

Yüksek düzeylerdeki metallothionein ağır metal fazlalığının bir göstergesi değildir. Farelerde, akut stres ve açlık sonrası karaciğer metallothionein düzeyinin yükseldiği görülmüştür. Bu etki bir protein sentezi inhibitörü olan aktinomisin D tarafından inhibe edilmiştir. Tüm çinko bağlayan proteinler metallothionein değildir (Eisler, 2003).

Çinko, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile ilgili birçok metabolik işlemi regüle edebilmektedir. Balıklarda A vitamini metabolizması için de gereklidir. Enzim fonksiyonlarındaki rolüne ilaveten çinko, nükleoproteinlerde yapısal bir role sahiptir ve prostoglandinlerin metabolizmasında da görev alır (Çetinkaya, 1998).

Çinko başlıca; protein biyosentezinde (RNA sentezi ile deri keratini ve kollageninin sentezi), aminoasit metabolizmasında, karbonhidrat metabolizmasında, kemik oluşumunda, pankreas salgısının başlamasında (Zn, insülini fizyolojik olarak aktif eder) görev alır (Karagül, 2000).

Metabolik işlevlerde çinkonun rolü bilinmekle beraber, çinkonun biyokimyasal fonksiyonlar ve patolojik olaylar arasındaki ilişkisi konusunda henüz çok az bilgi bulunmaktadır. Bunun nedeni, çinko yetersizliğinde ortaya çıkan klinik semptomların bazen nükleik asit ve protein metabolizmasında rahatsızlıklardan kaynaklandığı

görülmüştür (Watanebe, 1997; Çetinkaya, 1998). Çinko-gen interaksiyonları üzerinde yapılan araştırmalara göre çinko büyüme kontrolünde temel role sahip bir elementtir (Watanebe, 1997).

Doku hasarı ve hücre ölümünün nedeni, serbest radikallerin etkili bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmamasına bağlanmaktadır. Serbest radikallerin zararlarından dokuyu koruyucu enzimler Katalaz, Glutation Peroksidaz ve Süperoksid Dismutaz'dır. Esansiyel elementlerden Cu, Mn, Se ve Zn koruyucu enzimlerin en önemli parçalarıdır. Çinko, süperoksit dismutaz (SOD)'ın yapısına girer ve iki mekanizmayla antioksidan olarak fonksiyon yapar. Oksidasyona karşı sülfhidril gruplarını korur ve transisyon metaller tarafından reaktif oksijenlerin oluşumunu inhibe eder (Arcasoy, 1998; Hidalgo vd., 2002).

1.1.1.5. Çinko Alınımı ve Atılımı

Çinko ince bağırsakta emilir; kalın bağırsakta da az miktarda emildiği düşünülmektedir. Aynı zamanda midede de az miktarda emilebilmektedir. Çinko emiliminin, mekanizması ve kontrolü hala açık bir şekilde anlaşılmış değildir. Emilim oranı, birçok faktöre bağlıdır ve bu nedenle değişkendir. Çinkonun bağırsakta emilme mekanizması aktif, enerji bağımlı ve spesifik bağlayıcı ligandlarla yürütülmektedir. Bağırsakta emilim, histidin, glutation, sitrat ve pikolat gibi besinlerin girdisi arttırmaktadır. Emilim, diğer rasyon bileşiklerinden de önemli şekilde etkilenmektedir (Üstdal, 2003).

Rasyondaki çinkonun yaklaşık %20-30 emilir. Fakat emilim genellikle >%10 ile >%90 aralığında gerçekleşebilir. Aynı zamanda çinko emilimi, düşük vücut ağırlığı, yetersiz çinko miktarı gibi durumlarda da artmaktadır. Emilimin azaldığı durumlar ise, rasyonlarda fitat (inositol fosfatlar), selülöz, hemiselülöz ve diğer liflerin bulunmasıyla gerçekleşmektedir. Rasyonda yüksek miktarda kalsiyum, fosfor, demir ve bakırın bulunması çinkonun bağırsakta emilimini azaltmaktadır. EDTA, lizin, sistein, ve glisinin emilim üzerinde olumlu bir etkisi vardır.

Et, balık ve süt ürünleri gibi yüksek proteinli besinler çinkoca zengin besin maddeleridir. Rasyondaki fazla protein, çinko emilimini artırır. Çinko emilimini kısıtlayan etkiler arasında, vücudun çinko gereksinimi, pankreatik disfonksiyon, fitat, oksalat, fosfat, kalsiyum, demir ve bakır gibi girdilerin yüksek oluşu sayılmaktadır. Çinkonun emilimi enerji bağımlıdır ve transport ligandların yardımıyla gerçekleşir. Çinko emilim mekanizması, homeostatik regülasyonda rol oynar (Eisler, 1993).

Bazı vitaminler de çinko emilimini etkilerler. Hipovitaminoz A vakalarında besinde yeterli miktarda olsa da çinko emilimi hızla düşer. Hipovitaminoz D de aynı şekilde çinko emilimini bozar ve çinko dengesi negatif olur. Vitamin B₁ ve B₆ içinde durum aynıdır. Rasyondaki çinko yaklaşık % 10-30'u kullanılır. Şayet rasyon çinko elementinden fakirse bu oran % 75'e kadar yükselebilir.

Bağırsaklardan emilen çinko kan yolu ile karaciğer, dalak ve pankreasa taşınır ve buralarda metabolize edilerek yedek olarak depolanır. Yüksek çinko konsantrasyonlarına gözlerde koroid ve iris tabakasında, iskelette ve epidermal oluşumlarda rastlanır.

Çinko daha çok dışkı ile ve çok az olmakla birlikte idrarla atılmaktadır (Karagül, 2000). Tüm dünyada çinko yılda ortalama 8,8 milyon ton atıldığı düşünülmektedir. Bunun toplam % 96'sı insan aktiviteleri sonucunda atılmıştır. Çözünme sırasında çinkonun büyük bir kısmı atmosfere karışmaktadır. Genellikle 75-165 µg Zn/L içeren nehir sularının akıntısıyla gelen madenlerle atılmaktadır. Aktif madenlerde bazen 882 µg Zn/L yükselmektedir. Bu konsantrasyon nehir sularında akıntıya karşı yüzen salmonidler için aşırı zarar verebilmektedir. Çinko konsantrasyonu sıcaklığın arttığı ve akıntının az olduğu bölgelerde daha fazla artmaktadır (Buhl ve Hamilton, 1990; Eisler, 1993).

1.1.1.6. Yetersizlik ve Toksikite Belirtileri

Dünyada yaygın olan besinsel çinko eksikliği ilk olarak 1961 yılında Mısır ve İran'da daha sonraları Türkiye, Portekiz, Fas ve Yugoslavya'da bildirilmiştir. Eksikliğinde çinko içeren metaloenzim aktivitelerindeki kayıplar, dokunun yapısına, enzim dönüşüm hızına ve enzimin çinkoya affinitesine bağlıdır. Pankreatik karboksipeptidaz A, timidin kinaz ve alkali fosfataz aktiviteleri çinko eksikliğinde oldukça azalmakta, bazı dehidrogenaz aktiviteleri de hemen etkilenmemektedir. Çinko eksikliği olan hayvanların kanında, midelerinde ve ince bağırsaklarında karbonik anhidraz aktivitesi azalmaktadır (Onat, 2002; Üstdal, 2003).

Çinko, çeşitli enzimatik sistemlerde rol oynadığı gibi yetersizliğinde organizmanın çeşitli organ ve sistemlerinin fonksiyonları üzerinde olumsuz rol oynamaktadır (Karagül, 2000). Kanda çinko düşüklüğünün (hipozinkemi) başlıca nedenleri, yetersiz çinko alımı, düşük emilim veya kullanım oranının artışıdır (Üstdal, 2003). Çinko yetersizliğinin saptanmasında plazma çinko seviyelerinin ölçülmesi, pıhtılaşma sırasında trombositlerden

Çinko salındığı için, serum seviyelerinin ölçümüne görev daha hassas sonuç vermektedir (Ulukaya, 1998).

Çinko yemde ve sularda belirli bir konsantrasyonu aştığında letal ve sublethal etkiler göstermektedir. Çinkonun toksik etkisi temel olarak, çinko iyonuna bağlıdır, ancak suda süspanse halde bulunan bazik karakterli çinko karbonat ve çinko hidroksit toksik etki yapabilir (etinkaya, 1998).

1.1.1.7. Yüksek Düzeyde inkonun Etkisi

Yem kaynaklı çinkonun toksisitesi düşük kabul edilmektedir. Çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar ve balıklar kadar insanlar da yüksek düzeyde çinkoya tolerans göstermişlerdir. Bununla birlikte, deneysel şartlar altında çinko toksisitesinin meydana geldiği bildirilmiştir. Çinko toksisitesi çinko kaynağına, yemdeki düzeye, yemleme (beslenme) süresine ve yemdeki diğer minerallerin düzeyine bağlıdır (Anonim, 2003).

Kan, hematokrit ve hemoglobin düzeyleri gibi fizyolojik parametreler göstermiştir ki 1000 mg/kg düzeyindeki çinko konsantrasyonu gökkuşağı alabalıklarının sağlıkları üzerinde tehlikeli olmuştur (Knox vd., 1982). Ayrıca yemlerde bulunan yüksek düzeydeki çinko, demir gibi diğer elementlerin de düzeyini etkilemektedir. Bununla birlikte, yavaş büyüme gibi performans parametreleri kullanıldığında yemlerde bulunan 1700 mg/kg düzeyindeki çinko konsantrasyonlarının tolere edilebildiği görülmektedir (Wekell vd., 1986; Anonim, 2003).

1.1.2. Çinkonun Balık Beslemede nemi

1.1.2.1. nemi ve Görevleri

Mineral maddeler, canlı organizmanın yapısına katılan ve fonksiyonu için gerekli olan esansiyel kimyasal elementlerdir. İnsanlar ve bazı hayvanlarda iz elementlerin fonksiyonu, vücuttaki mekanizması gibi bazı konular hala açıklığa kavuşmuş değildir. Yüksek omurgalılarda bulunan iz elementlerin tamamı balıklarda tanımlanmamıştır (Watanabe vd., 1997).

Diğer hayvanlar gibi balıklarda da yaşamlarının sürekliliği için mineral maddelere veya inorganik elementlere ihtiyaç duyarlar. Ancak balıklar, kara hayvanlarına göre

mineralleri yalnızca rasyonlardan değil, aynı zamanda yaşadıkları su ortamından da absorbe edebilirler. Bu sebepten dolayı balıklarda mineral madde ihtiyacını belirlemek zorlaşmaktadır. Sulardaki mineral madde düzeyleri suyun kalitesine göre değiştiğinden, ihtiyacın yalnızca sudan karşılanıp karşılanamayacağı suyun kalitesiyle yakından ilişkilidir (Lall, 2002).

Bundan yaklaşık 20 yıl öncesine kadar balıkların mineral madde ihtiyaçları üzerine çok az şey bilinmekteydi. Ancak son zamanlarda bu alanda önemli gelişmeler olmuştur. Bununla birlikte, iz element üzerine bilgiler hala sınırlı kalmaktadır. Bu durum, kontrollü ortamda bazı elementlerin mineral yetersizliğinden mi, yoksa toksisite etkisinden mi olduğunu belirlemede zorluk çekilmektedir (Sarı ve Çakmak, 1994; Lall, 2002).

Çinko, canlı organizmada düşük miktarda bulunmakta ise de pek çok enzim sistemlerinde önemlidir. Çinko, canlının büyümesinde ve gelişmesinde de büyük rol oynar (Doğan, 1998). Tüm organizmaların yaşamsal faaliyetleri için esansiyel bir iz elementtir. 200'den daha fazla metalloenzim ve diğer metabolik bileşiklerde önemli bir rol oynar. DNA ve biyolojik yapıların dengesini oluşturmaktadır. Hayvanlarda çinko yetersizliğinin de, büyümede yavaşlama, testislerde azalma, deri değişimi, iştah azalması gibi klinik belirtiler görülür. Akuatik ortamdaki yüksek konsantrasyondaki çinko, balıkların solungaçlarına fiziksel yönden zarar vermektedir (Eisler, 1993).

Çinko orta derecede biyolojik yararlılığa sahip bir elementtir. Rasyondaki çinkonun % 25-75'i absorbe edilebilir. Çinkonun biyolojik yararlılığını belirlemede rasyon önemli bir rol oynar. Fitatlar çinko ile çözünmeyen kompleks oluşturarak bu etkiyi artırır.

Çinko, gıdalarda çok geniş sınırlar içerisinde bulunur. Özellikle deniz ürünleri çinko bakımından zengin bir besin kaynağıdır. Örneğin, istiridye ortalama 60-1000 mg/kg Zn içerir. Gıdalarda bulunan ve beslenme açısından büyük bir öneme sahip olan iz elementlerin miktarı kontaminant maddelerden dolayı çok geniş sınırlar arasında değişir. Bu durum çinko için de geçerlidir. Gıdalarda doğal olarak bulunan çinko genellikle organik formdadır (aspartat veya glukonat) ve organik en fazla absorbe edilen formdur (Bağdatlıoğlu ve Nergiz, 1998). Bazı mineraller maddeleri arasında birtakım etkileşim olduğu bilinmektedir. Bu etkileşim, bazen birbirinin etkisini artırıcı (sinergetik), bazen de azaltıcı ya da engelleyici (antagonik) yönde olmaktadır. Örneğin, bu durum Zn-Ca arasında vardır. Rasyonla yüksek düzeyde Ca alınması Zn'nin kullanımını düşürür (antagonizm). Balıklar tarafından bir mineralin ne ölçüde değerlendirildiğinin bilinmesi için, her şeyden önce o elementin, yararlılık ve kullanılabilirlik derecesinin bilinmesi

gerekir. Minerallerin yararışılığını etkileyen faktörler şunlardır: Elementin alınan düzey ve kimyasal formu, elementi içeren rasyonun sindirilme derecesi, partikül boyutları, diğer besin maddeleri ile etkileşimi, şelatlar, inhibitörler, hayvanın fizyolojik ve patolojik durumu, suyun kimyasal yapısı, elementin işlenme biçimi, hayvanın türü (Sarı ve Çakmak, 1994).

Gerek gökkuşuğı alabalığı ve gerekse de yetiştiriciliğı yapılan diğer türlerde, beslenme açısından önemli bir element olan çinkonun değişik formları, rasyonlara yapılan farklı ilave oranları ve dokulardaki birikim düzeyleri ile ilgili birçok araştırmaya rastlanmaktadır.

Gökkuşuğı alabalıklarında, rasyonlara ilave edilen farklı oranlardaki çinkonun, dokulardaki çinko düzeyleri üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Araştırma sonucunda kan, karaciğer, pul, deri, göz, operkulum, kaudal yüzgeç, solungaç, kas ve tüm vücut olmak üzere çinko düzeyleri tespit edilmiştir. Kaudal yüzgeç ve tüm vücut çinko düzeylerinin, rasyon çinko düzeyini çok iyi bir şekilde yansıttığı görülmüştür. En yüksek çinko düzeyinin gözde tespit edildiğı, ayrıca tüm vücut çinko düzeyi ile kaudal yüzgeç çinko düzeyi arasında güçlü bir korelasyon olduğu belirlenmiştir (Wekell vd., 1986).

Atlantik salmon (*Salmo salar*) balıklarının rasyonlarında, düşük (50 mg Zn/kg) ve orta (150 mg Zn/kg) düzeylerde organik form olan çinko glukonat (Zn- gluconate) ve inorganik form olan çinko sülfat ($ZnSO_4$) ilave edilmiştir. Altı ay süren araştırmanın sonunda, bu iki çinko formunun balıkların büyümesi, yemden yararlanma, serum çinko konsantrasyonu gibi ölçülen parametreleri üzerinde eşit oranda etkili olduğu gözlenmiştir (Maage vd., 2001).

Apines vd., (2001) tarafından genç gökkuşuğı alabalıklarında (fingerling) yapılan bir araştırmada çinko kaynağı olarak çinko sülfat (Zn-Sf), çinko metiyonin (Zn-Met), glas embeded çinko (Zn-Gl) ve çinko aminoasit kompleksi olan (Zn-AA) kullanılmıştır. Hazırlanan pratik rasyonlara çinko kaynakları, 20 mg/kg ve 40 mg/kg olmak üzere iki farklı oranda ilave edilmiştir. Bu araştırma sonucunda, gruplar arasında yem dönüşüm oranı, spesifik büyüme oranı ve ağırlık kazancı gibi parametrelerde fark görülmemiştir. Alkalın fosfataz ve çinko absorpsiyonu gibi parametrelerde gruplar arasında farklılıklar görülmüştür. Araştırma sonucunda çinko amino asit kompleksinin mukayese edilen diğer formlardan daha etkili olduğu bildirilmektedir.

Kucukbay vd., (2006) tarafından pratik gökkuşuğu alabalığı rasyonlarına ilave edilen 0, 30 ve 60 mg/kg oranlarındaki çinko pikolinat ağırlık kazancı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranını etkilemediği tespit edilmiştir. Yemlerdeki çinko pikolinat konsantrasyonu arttıkça serum alkalın fosfataz aktivitesi artarken, serum, karaciğer ve tüm vücut MDA konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca yemlerdeki artan çinko konsantrasyonunun, tüm vücut çinko konsantrasyonunda artışa neden olduğu görülmüştür.

Paripatananont ve Lovell (1995) bir yaşındaki kanal yayın balıklarının (*Ictalurus punctatus*), saflaştırılmış ve pratik rasyonlardaki çinko ihtiyacını belirlemek amacıyla yaptıkları bir araştırmada çinko kaynağı olarak çinko sülfat ve çinko metiyonin kullanmışlardır. Araştırma sonucunda saflaştırılmış rasyonlarda, çinko metiyonin (ZnMet) kanal yayın balıklarının ihtiyacını karşılamada çinko sülfat'a ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) göre 3 kat daha fazla etkili olduğu ve fitik asit içeren pratik rasyonlarda yine çinko metiyonin'in çinko sülfat'a göre 4-5 kat daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Do Carmo vd. (2004) tarafından Nil tilapia balıklarının (*Oreochromis niloticus*) rasyonlarına ilave edilmesi gereken optimum çinko düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada, balıklar bitkisel proteinden oluşmuş bir rasyonla beslenmiş ve sonuçta bu balıklarda rasyona ilave edilmesi gereken çinko düzeyi ($ZnSO_4 \cdot H_2O$) düzeyi 79,51 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Pratik alabalık rasyonlarına çinko, mangan ve bakır elementlerinin sülfat ve aminoasit-şelat formları ilave edilerek, 15 hafta sürdürülen bir araştırmanın sonucunda, elementlerin farklı formlarının rasyonlara ilave edilmesinin büyüme üzerinde etkili olmadığı gözlenmiştir. Alkalın fosfataz (ALP) aktivitesi ve hematokrit düzeyi şelat formlarıyla beslenen balıklarda daha yüksek bulunmuştur. Amino asit-şelat formları ilave edilen rasyonlarla beslenen balıklardaki Mn ve Zn absorpsiyonu ile vücuttaki birikimleri inorganik tuz formuyla beslenen balıklardan daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Apines vd., 2004).

Tüm bu çalışmalarının yanı sıra; pratik balık rasyonlarına ilave edilen gerek inorganik ve gerekse de organik çinko formlarının, balıklarda ağırlık artışı ve yem dönüşüm oranları üzerinde etkili olmadığı bildirilmektedir (Hardy ve Shearer, 1985).

1.1.2.2. Biyolojik Yararlılık ve İhtiyaç Düzeyi

Mineral maddelerin biyolojik yararlılığı, birçok faktör etkilemektedir. Bunlar yemle minerallerin alınım miktarı, kimyasal yapısı, yemin sindirilebilirliği, yemin büyüklüğü, diğer besin maddeleriyle olan interaksyonu, jelat yapıcılar, inhibitörler, canlının fizyolojik ve patolojik durumu, su kalitesi, yemin yapılma metodu ve canlının türüdür. Ayrıca çinko rasyonlarının biyolojik yararlılığı, rasyondaki Ca, P, fitik asit, protein kaynağı ve çinko formları tarafından da etkilemektedir. Çinko rasyonda organik bileşikler içerisinde bulunuyorsa oransal olarak yararlılığı artmaktadır. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yemlerde çinkonun yararlılığı farklılık göstermektedir. Bitkisel kaynaklı proteinler fitat ihtiva ederler. Çözünabilir fitatlar deneysel amaçlı hayvansal protein kaynaklı yemlere bırakıldığında da çinkonun yararlılığı düşmektedir (Çetinkaya, 1998; Lim ve Webster, 2001).

Balıklarda minimum çinko ihtiyacı yaş, cinsel olgunluk, rasyonun kompozisyonuna su sıcaklığı ve diğer su kalitesi parametrelerine göre değişiklik göstermektedir. Balıkların genel çinko ihtiyaçlarının 20-50 mg/kg arasında olduğu düşünülmektedir (Hoşsu vd., 2003; Lall, 2002). Bazı kültür balıklarının çinko ihtiyaçları Tablo 1.4'de verilmiştir.

Tablo 1.4. Bazı balıklarda farklı tipte yemlerle yapılan çalışmalarda çinko ihtiyaçları (Clearwater vd., 2002).

Türler	Yaşam Evresi	Sertlik (mg CaCO ₃ /L ¹)	Sudaki Çinko (µg Zn l ⁻¹)	Tuzluluk (ppt)	Rasyon Tipi	Yemdeki Zn Zn/kg yem	Protein Kaynağı	Süre (gün)
Kanal yayını <i>Ictalurus punctatus</i>	Fingerling		25		Saf	20	Yumurta akı, mısır yağı, balık yağı	98
Kanal yayını <i>Ictalurus punctatus</i>	Yavru Balık	100	4	Tatlı Su	Saf	20	Yumurta akı,soya ve balık yağı	
Kanal yayını <i>Ictalurus punctatus</i>	Yavru Balık	1	4	Tatlı Su	Saf	20-40	Yumurta akı,soya ve balık yağı	56
Kanal yayını <i>Ictalurus punctatus</i>	Fingerling		25		Pratik	200	Soya unu, balık unu, mısır yağı, balık yağı	42
Kanal yayını <i>Ictalurus punctatus</i>	Fingerling	48	6	Tatlı Su	Saf	200	Ca ve fitat ilaveli yumurta akı, balık yağı, mısır yağı	70
Hindistan sazanı <i>Cirrhinus mrigala</i>	Fingerling				Yarı-Saf	10-20	Yumurta akı, mısır yağı, balık yağı	84
Sazan	Genç Balık		10		Yarı-Saf	15-30	Yumurta akı, balık yağı, soya yağı	45
Gökkuşuğu alabalığı <i>Oncorhynchus mykiss</i>	Genç Balık		11		Yarı-Saf	15-30	Yumurta akı, balık yağı, soya yağı	84-112
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Genç Balık		9		Yarı-Saf	20-25	Red drum kası, Yumurta akı, mısır yağı, balık yağı	56
Nil tilapia <i>Oreochromis aureus</i>	Fingerling		4	Tatlı Su	Saf	20	Yumurta akı-Zn ihtiyacı >20 ppm eğer yemde %1,5 fitat olursa	80
Mavi tilapia <i>Oreochromis niloticus</i>	Fingerling		15	Tatlı Su	Saf	30	Yumurta akı, mısır yağı, balık yağı	70
Japon Yılan Balığı <i>Anguilla japonica</i>	Elver			Tatlı Su	Pratik	≥50-100	Beyaz balık unu(toplam çinko konsantrasyonu belli değildir)	120
Atlantik salmon <i>Salmo solar</i>	Yavru Balık	220	3	1.2% Deniz Suyu	Pratik	67	Balık unu	84

Alabalık ve sazanlar için hazırlanmış yarı sentetik rasyonlarla yapılan çalışmalarda 15-30 mg ve kanal yayınlarında 20 mg/kg çinko ihtiyacının karşılanması için yeterli bulunmuştur. Sazan ve kanal yayınlarında görülen zayıf büyüme ve yüksek orandaki ölüm rasyona 15-30 mg/kg çinko ilavesiyle önlenir (Çetinkaya, 1998; Lim ve Webster, 2001; Köprücü, 2008). Kanal yayınında çinko ihtiyacı rasyona ilave edilen çinkonun kaynağı ve rasyonun bileşimine bağlıdır. Organik çinko kaynakları kullanıldığında ihtiyaç miktarı azalırken, soya unu gibi fitik asit kapsayan bitkisel bileşenlerin fazla miktarda katıldığı rasyonlarda çinko emilimi engellendiğinden çinko ihtiyacı artmaktadır (Paripatananont ve Lovell, 1995).

Balıklar çinkoyu, vücutlarında belli düzeyde depolayabilirler. Sazan balıkları yüksek orandaki çinkoyu absorbe edip iç organlarında biriktirebilirler. Alabalığın sudaki çinkoyu toleransı oldukça sınırlıdır (96 saatlik LC₅₀ 0,15-50 µ/ml Zn). Balık pullarındaki çinko miktarı ortamdaki çinko konsantrasyonunu yansıtmaktadır. Bağırsak mukozası ve özellikle solungaçlar çinko miktarı, balıklardaki çinko konsantrasyonunun en iyi göstergesidir. Yemdeki çinko arttıkça emilim azalmakta, su ve yemdeki çinko yükselirken vücut çinko miktarı sabit kalmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda, çinko metabolizmasında homeostatik bir regülasyon olduğu muhtemeldir (Çetinkaya, 1998).

1.1.2.3. Yetersizlik ve Toksikite Belirtileri

Balıklar mineral maddeleri sudan belli ölçüde temin edebilmelerine rağmen, esasen yemlerden aldıkları mineral maddeleri daha iyi değerlendirebilmektedirler. Mineral madde eksikliklerinin nedeni, mineral maddelerin ortamda bulunmayışından çok, biyolojik yararlılığının yetersizliğine bağlıdır (Çetinkaya, 1998).

Balıklarda çinko yetersizliği, rasyonda bulunan Ca ve fitik asit gibi çinko bağlayıcılarla ilgilidir. Eksiklik belirtilerinin genel özellikleri; yetersiz büyüme, deri ve yüzgeç lezyonları, katarakt gibi belirtilerdir. Suyun çinko miktarı balık vücudundaki çinko durumu üzerinde kayda değer bir öneme sahiptir. Balıklar çinkoyu, solungaçlar ve sindirim kanalında absorbe ederler (Çetinkaya, 1998; Lall, 2002).

Gökkuşluğu alabalıklarında çinko yetersizliğinde, büyümede gerileme, katarakt ve cücelik görülen en belirgin belirtilerdir. Sazanlarda ise yavaş büyüme, iştah azlığı, yüksek ölüm oranı ve deri ve yüzgeç lezyonları görülmüştür (Lim ve Webster, 2001). Tablo 1.5.'de çeşitli balık türlerinin çinko eksikliğinde ortaya çıkan semptomlara yer verilmiştir.

Tablo 1.5. Çeşitli balık türlerinin çinko eksikliğinde ortaya çıkan semptomlar (Çetinkaya, 1998).

Balık Türleri	Yetersizlik Belirtileri
Kanal yayını (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Anoreksia, Kemik Ca ve Zn ile serum Zn miktarlarında düşme, fekundite ve çıkış gücünde azalma
Gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Büyümede yavaşlama, ölüm oranının yükselmesi, katarakt, cücelik, yüzgeçlerde aşınma, bağışık sisteminde zayıflama
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	Anoreksia, büyümede yavaşlama, ölüm oranının yükselmesi, katarakt, yüzgeçlerde ve deride aşınma, barsak ve hepatopankreasın Fe ve Cu miktarının yükselmesi
Kültür balıkları	Büyümede yavaşlama, katarakt, yüzgeçlerde ve deride aşınma

Çinkonun balıklar üzerindeki direkt toksik etkisi, solungaç üzerindeki mukusu çökeltmek asfeksiye yol açtığı düşünülüyordu. Gökkuşuğu alabalığı yüzgeçleri üzerinde ölüme bağlı beyaz çökeltinin, epitel hücrelerin düzensiz dizilmiş yığıntılarından ileri geldiği görülmüştür.

Akut toksisiteye sahip çinko konsantrasyonları solungaç epitel dokusunu tahrip ederek balığın ölmesine neden olur. Klinik etkileri ise çeşitli organ ve enzim sistemleri üzerinde görülebilir. Çinkonun toksik etkisi esasen çinko iyonuna bağlıdır, ancak suda bazik karakterde olan çinko karbonat ve çinko hidroksitte toksik etki yapabilir.

Balıklarda sublethal konsantrasyonları, büyümeyi ve fekunditeyi düşürdüğü görülmüştür. Sublethal etki genelde, sınır LC₅₀ değerinin onda biri altındadır. Daha düşük çinko konsantrasyonlarında, vücuttaki çinko konsantrasyonunu ayarlayan fizyolojik işlemler çinkoyu alabilirler ve zararsız hale getirebilirler.

Çinko balıkların hareket ve göçlerini de olumsuz etkileyebilmektedirler. Salmonların üreme alanlarına doğru göçleri sırasında akıntıya karşı yüzme eğilimleri, bu bölgelerdeki çinkonun lethal konsantrasyonunda geri dönmelerine neden olmaktadır.

Çinkonun toksisitesini etkileyen faktörler; su sıcaklığı, çözünmüş oksijen miktarı, suyun sertliği, organik madde ve süspanse katılar, balık türü ve büyüklüğüdür. Balıklarda çinko toksisitesini etkileyen temel faktör suyun sertliğidir. Suyun sertliği arttıkça toksisite etkisi de artmaktadır. Sert sularda çinko sülfata maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıklarında sıcaklık 13.5 °C'den 21.5 °C yükseldiğinde yaşam sürelerinin kısaldığı gözlemlenmiştir. Ancak daha düşük konsantrasyonlarda sıcaklık değişimi önemli bir farklılık oluşturmaktadır. Genelde su sıcaklıkları 15 °C'nin altına düştüğünde yaşam süreleri uzamakta, toksik etki azalmaktadır. Düşük çözünmüş oksijen alıştırılmamış gökkuşuğu

alabalıklarında, çözülmüş oksijen düştükçe çinkonun LC₅₀ değeri de azalmaktadır. Sularda bulunan şelat yapıcı (EDTA gibi) organik bileşikler, humik ve amino asitler, polipeptidler ve benzer maddeler çinko ile kompleks oluşturdıklarından çinkonun toksisitesini azaltmaktadır. Sazangiller alabalıkgillere göre çinko toksisitesine daha dayanıklıdırlar. Balık türlerinin farklı hayat dönemlerinde toksisiteye toleransları farklılık göstermektedir. Gökkuşığı alabalığında yavrular ergin fertlere göre daha hassaslardır. Gözlü yumurtaların ise erginlere göre 5 kat daha toleranslı olduğu belirlenmiştir. Bazı türlerin ise yumurtalar larvalardan daha hassastır (Çetinkaya, 1998).

1.1.3. Çinkonun Bazı Enzim ve Hormonlar Üzerindeki Etkileri

Canlıların normal gelişme ve büyümesi için esansiyel bir eser element olan çinko, yüzyılı yılı aşkın bir süreden beri bilinmektedir (Arcasoy, 1998; Çavdar, 1998). Çinko, tüm canlıların büyümesinde, gelişmesinde ve fonksiyonlarında önemli rol oynar. Bazı enzim sistemlerinde kofaktördür ve karbonik anhidraz, alkalın fosfataz, karboksi peptidaz, alkol dehidrogenaz, glutamik dehidrogenaz, laktik dehidrogenaz, ribonükleaz ve DNA polimerizasyonu gibi metalloenzim olaylarında başlıca rol oynar (Lim ve Webster, 2001; Çetinkaya, 1995).

Çinkonun aynı zamanda birçok enzimde kofaktör olarak yer almakla birlikte alkalın fosfataz (ALP), alkol dehidrojenaz ve karbonik anhidraz gibi 20 metalloenzimin bir parçası olarak fonksiyon yapar (Apines vd., 2001). İnsanlarda çinkonun oksidatif stresi hafiflettiği de kabul edilmektedir (Prasad vd., 2004).

Çinko, iskelet yapısının tam (proper) büyümesinde, gelişmesinde ve sağlıklı kemiklerin muhafaza edilmesinde de çok önemli bir role sahiptir. Çünkü, kemik matriksinin osteoblastik oluşumundan ve mineralizasyonundan sorumlu kemik alkalın fosfataz (b-ALP) enziminin kofaktörüdür. İlave çinko hem insanlarda ve hem de deney hayvanlarında iskelet üzerinde pozitif etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Brzoska vd., 2007).

Bilinen fonksiyonlarına ilaveten insülinin, amino asitlerin balık dokuları tarafından alınmasını kolaylaştırdığı ve kaslarda protein sentezini stimüle ettiği bildirilmektedir (Ince ve Thorpe 1978; Millward, 1989). Çinko, insülinin sentezlendiği ve depolandığı pankreatik beta hücrelerinin oluşumu için de esansiyel olabileceği ve ayrıca kristal depo insülinin de bir parçası olduğu belirtilmektedir (Greider vd., 1969; Falkmer vd., 1985; Ramseyer vd.,

1999). Çinko açısından yetersiz yemlerle beslenen memelilerde serum insülin konsantrasyonunda ve insülin hassasiyetinde azalmalar görülmüştür (Park vd., 1986; Droke vd., 1993; Ramseyer vd., 1999). Eğer balıklarda çinko yetersizliği insülin üretimini, insülin hassasiyeti veya dolaşımdaki insülin konsantrasyonu azaltırsa protein kullanımı zayıflar (Ramseyer vd., 1999).

Balıklarda beslenme durumunun büyüme hormonu (GH) - IGF-I eksenini (axis) üzerinde çok önemli etkisi vardır. Salmonidlerde, uzun süreli açlık büyümede durmaya neden olur fakat plazma GH konsantrasyonu önemli derecede artar. Bu hadise insan, koyun, köpek ve tavukları da içeren omurgalı türlerde çok iyi belgelenmiştir. Yalnızca bir istisna vardır, açlık durumunda rodent'lerde GH konsantrasyonu artmaz. Ayrıca insanlarda yapılan çalışmalarda çinko'nun IGF-I ve IGF-I' i bağlayan proteinler üzerinde de etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Ninth vd., 1996; Devine vd., 1998). Bu durum balıklarda araştırılması gereken bir konu olarak görülmektedir.

1.1.4. Lipid Peroksidasyon ve Malondialdehit (MDA)

Atomlarda bulunan elektronlar orbital üzerinde çift olarak bulunurlar. Birçok molekül çift elektronlu olduğu halde bazıları tek elektronlu yani eksik elektronludur. Eksik elektronlu bu moleküller ortamda bulunan diğer moleküllerle etkileşerek ya bir elektron alırlar ya da bir elektron verirler. Bu şekilde etkileşime girdiği maddenin yapısını bozan bu moleküllere serbest radikaller, oksidan moleküller ya da reaktif oksijen partikülleri denir (Delibaş ve Özçankaya, 1995; Benzer, 2001).

Oksidanlar tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilen radikaller ve elektron eksikliği olmadığı halde başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir biçimde birleşebilen non-radikaller olmak üzere ikiye ayrılırlar. Moleküller oksijenden su oluşuncaya kadar meydana gelen radikaller; süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), alkoksil radikali ($RO\cdot$) ve peroksil radikali ($ROO\cdot$)'dir. Non-radikaller ise hidrojen peroksit (H_2O_2), lipid hidroperoksit ($ROOH$) ve hipokloröz asit ($HOCl$)'tir (Cheeseman ve Slater, 1993; Benzer, 2001).

Hücre zarında bulunan yağlı moleküller serbest radikaller tarafından hücumu uğradığında hücre zarındaki lipitlerden bir elektron alınır ve lipid peroksit radikali meydana gelir (Benzer, 2001). Lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilen bu olay sırasında oluşan aldehitlerden malondialdehit ve 4-hidroksi-nonenal oluşum yerlerinden kolayca

difuz edilerek hücrenin diğer bölümlerinde hasara yol açar. Peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmalarına ve polimerizasyonuna yol açar. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre bileşenlerinin özelliklerinin değişmesine sebep olur (Akkuş, 1999).

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilendikleri halde lipidler en hassas olanlarıdır. PUFA'ların oksidatif yıkımı lipid peroksidasyon olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (Köse ve Doğan, 1992; Benzer, 2001).

Lipid peroksidasyonu organizmadaki bir serbest radikal etkisiyle membran yapısındaki PUFA zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır. Oluşan lipid radikali (L) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile dien konjugantları oluşur ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşimi sonucu lipid peroksit (LOO) radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer PUFA' yı etkileyerek yeni zincir tepkimelerini başlatırken kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder.

Lipid peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyondur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece bir çok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (Köse ve Doğan, 1992; Akkuş, 1999; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999; Benzer, 2001).

Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehit (MDA)' tir. Oluşan MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Üç

veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle ölçülebilen MDA lipid peroksid seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır (Morales vd., 2004).

Normal metabolik şartlarda asetat veya malonata kadar okside olan üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, daha sonra kreps döngüsü ile CO₂'e indirgenerek atılır. MDA konsantrasyonu, aşırı lipit peroksidasyonu sonucunda artarak dokulara hasar vermektedir (Murray vd., 1996; Kalender vd., 2002).

1.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Reaktif oksijen türlerine karşı primer antioksidan enzim SOD'dır. Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. 3 tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden Cu-SOD'dir. SOD, süperoksit radikalının hidrojen peroksite ve moleküler oksijene tepkimesini katalizler (Memişoğulları, 2005).

SOD' un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımını olan dokularda fazladır. SOD' un hücre dışı aktivitesi çok düşüktür (Ihara vd.,2005; Lushchak ve Bagnyukova, 2006)

1.6. Alkalın Fosfataz

Alkalın fosfataz (ortofosforik monoester fosfohidrolaz, alkali optimum, E.C.3.1.3.1), hidrolazlar enzim sınıfından fosfatazlar enzim grubuna girer. Fosfatazlar fosforik asit esterlerinin hidrolitik parçalanmasını katalizleyen enzimlerdir, substrat özgüllükleri azdır. Birçok primer fosfat esterinin hidrolizini katalizleyebilmelerinden dolayı 'nonspesifik'dirler. Organik fosfat esterlerini hidroliz ederek bir alkol ve bir fosfat iyonu meydana getirirler. Fosfatazlar optimal aktivite gösterdikleri pH değerlerine göre asit fosfatazlar ve alkalın fosfatazlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Akça, 2008).

Alkali pH' da maksimum aktivite gösteren alkalın fosfatazlar çeşitli fosfat monoesterlerinin, fosfat gurubunu bir alıcı moleküle transfer ederek hidrolizini

katalizleyen glikoprotein yapısında nonspesifik fosfomonoesterazlardır. Alkalın fosfatızı magnezyum, kobalt ve mangan gibi iyonlar aktive ederken kalsiyum ve inorganik fosfat inhibe eder, çinko ise yapısal rol oynar (Akça, 2008).

1.7. İnsülin

İnsülin direkt ya da indirekt vücuttaki bütün dokuları etkileyen, glukoz, aminoasitler ve lipidler gibi besin maddelerinin hücre içinde tutulup depo edilmesini sağlayan ve homeostazına katkı sağlayan, polipeptit yapılı ve yaklaşık 6000 molekül ağırlığında bir hormondur. İnsülinin başlıca görevi kan glukozunu düşürmektir. Ayrıca insülin glukoz metabolizmasını hızlandırır ve dokularda glikojen birikimini artırır. Pankreastaki langerhans adacıklarında üretilirler. İnsülinin hücre büyümesi ve çoğalması üzerine etkilerini IGF'lerden ayırt etmek güçtür. İnsülin daha güçlü metabolik hormon iken, IGF'ler büyüme için daha güçlü uyarıcıdır (Kosova, 2004).

1.8. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)

İzole edilmiş büyüme hormonuna (GH) bağımlı büyüme faktörü, kıkırdakta sülfat bileşimini artırmasından dolayı ilk kez 1957'de Salmon ve Daughaday tarafından sülfasyon faktörü olarak tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan araştırmalarda, insülin benzeri bir biyolojik aktivitenin serum immunoreaktif insülininden bağımsız şekilde var olduğu görülmüş ve buna Non-suppressible Insulin Like Activity (NSIL) adı verilmiştir. 1978'de insülin benzeri yapısal özellikleri nedeniyle bu peptidler Insulin-Like Growth Factors (IGF)-İnsülin benzeri büyüme faktörleri olarak adlandırılmıştır. İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) yapısal olarak proinsülin formuna sahip olduklarından, metabolik olarak da hipoglisemiye neden olmalarından dolayı insüline benzemektedirler (Harbili, 2008).

IGF'ler mitojenik etkilerini lokal dokularda otokrin ve parakrin mekanizmalar üzerinden gerçekleştirirler. IGF'nin iki temel formu vardır. Bunlar tek zincirli polipeptit yapısında olan ve insülin ligandlarından oluşan IGF-I ve IGF-II formlarıdır. IGF-I ve IGF-II'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 7649 -7471 kDaldır (kDa). Büyüme hormonuna bağımlı IGF-I aynı zamanda somatomedin C olarak da adlandırılır ve 70 aminoasit içeren bazik bir peptittir (pH=8.1-8.5). IGF-II ise 67 aminoasit içeren nötral bir peptiddir. IGF-I ve IGF-II arasında % 62 oranında benzerlik vardır. IGF-I ve II üç disülfid köprüsü olan tek

zincirli moleküllerdir. IGF-I ile proinsülin arasında aminoasit dizisi açısından % 43 oranında benzerlik varken, IGF-II ile proinsülin arasında % 41 oranında benzerlik görülür (Harbili, 2008).

IGF-I, omurgalılarda gelişmenin ve somatik büyümenin düzenlenmesinde, ağırlıklı olarak büyüme hormonunun faaliyetlerine aracılık ederek, esansiyel rol oynayan mitojenik bir polipeptit' dir (Moriyama vd., 2000). IGF'nin balıklardaki biyolojik fonksiyonu farklılık göstermektedir. IGF-I 'in balıklarda DNA sentezini stimüle ettiği, kıkırdak sülfasyonu ve protein sentezini arttırdığı, tuzlu suya adaptasyonu arttırdığı, spermatogenezisi stimüle ettiği ve son oosit olgunlaşmasını başlattığı bildirilmektedir (Duan, 1998).

IGF-I' in yapısında B, C, A ve D olmak üzere 4 farklı peptid bölgesi bulunmaktadır. A ve B bölgeleri ile insülinin A ve B zinciri arasında % 49 oranında dizi benzerliği bulunmaktadır. C bölgesi 12 amino asitten oluşmaktadır ve proinsülinin C peptidi ile benzerlik göstermektedir. Buna karşılık 8 amino asitten oluşan D bölgesine ait dizi insülinde yer almamaktadır. İnsülin ve IGFI üç adet benzer disülfid köprüsüne sahiptir. IGF-I'in çeşitli hücre aktiviteleri üzerine akut ve uzun süreli etkileri bulunmaktadır. Protein ve karbohidrat metabolizması üzerine olan anabolik etkileri amino asitlerin ve glukozun hücre içine alınımının artırılması ve glikojen ve protein sentezinin uyarılması yoluyla olmaktadır. Uzun süreli etkileri ise hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptoz üzerinedir. IGF-I birçok hücre için mitojendir. DNA sentezini arttırarak ve hücre döngüsünde G1 fazından S fazına geçişi sağlayan siklin D1'in ifadenmesini uyararak mitojenik etkisini göstermektedir. Hücre döngüsüne olan etkilerine ek olarak apoptozu inhibe etmektedir (Dalmızrak, 2008).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Araştırma Yeri

Araştırma; Devlet Su İşleri IX. Bölge Müdürlüğü, Keban Barajı Su Ürünleri Şube Müdürlüğü Üretim Tesislerinde yürütülmüştür. Çalışma Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar No: 15/02-01).

2.1.2. Balık Materyali

Çalışmada, Keban Baraj Gölü' nde alabalık yetiştiriciliği yapan özel bir işletmeden temin edilen, aynı dönem çıkışlı, ortalama ağırlığı 50 ± 1 g olan 360 adet gökkuşığı alabalığı (Şekil 2.1) kullanıldı.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

2.1.3. Yem Materyali

Araştırma yemlerinin hazırlanmasında kullanılan balık unu, soya fasülyesi küspesi, buğday unu, bitkisel yağ, mısır gluteni Adana Nişasta ve Alkoloid fabrikasından, vitamin karması DSM firmasından, çinko pikolinat Solgar firmasından, çinko metiyonin Tempe Kimyasal Yem Katkıları Sanayii A.Ş'den temin edildi. Çalışmada kullanılan yem hammaddelerinin kompozisyonu Tablo 2.1.'de görülmektedir.

Tablo 2.1. Deneme yemlerinde kullanılan yem ham maddelerinin kompozisyonu, %

	Balık Unu	Mısır Glütene	Soya Küspesi	Fasülyesi	Buğday Unu
Kuru Madde	89	91	89		89
Metabolize En.*	3698	3335	2566		2237
Ham Protein	64,3	60,08	42,2		14,6
Ham Yağ	7,3	1,34	1,4		1,5
Ham Selüloz	1,0	2,0	5,6		4,2
Ham Kül	14,1	2,2	6,2		2,8

*NRC (1990) tablo verileri (kcal/kg).

2.2. Metot

2.2.1. Mineral Karmalarının Hazırlanması

Tüm deneme yemlerinin hazırlanabilmesi için ilk önce, gökkuşuğu alabalığının ihtiyaçları NRC (1993) göz önüne alınarak, % 47,42 ham protein, % 10,2 ham yağ ve 3586 kcal/kg metabolize enerji içeren bir bazal rasyon (Tablo 2.2) hazırlandı.

Bazal rasyonun hazırlanmasından sonra, dört farklı çinko formuna sahip çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), çinko oksit (ZnO-Grubu), çinko pikolinat (ZnPic-Grubu) ve çinko metionin (ZnM-Grubu) kullanılarak dört mineral karması oluşturuldu. Çinko karmaları (premiksleri) hazırlanırken, sülfat karmasında çinko sülfat, oksit karmasında çinko oksit, pikolinat karmasında çinko pikolinat ve metiyonin karmasına çinko metiyonin kullanıldı.

Hazırlanan bu dört mineral karmasından her biri % 0,5 oranında bazal rasyonla kullanıldığında, rasyonlardaki mevcut elementel çinko düzeyine 30 mg/kg oranında katkı yapmaktadır (Ogino ve Yang, 1978).

Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan bazal rasyonun kompozisyonu (%)

Rasyon Öğeleri	%
Balık Unu	48,0
Mısır Gluteni	10,0
Soya Fasülyesi Küspesi	20,0
Buğday Unu	14,5
Yağ	6,0
Vitamin Karması ¹	1,0
Mineral Karması ²	0,5
Toplam	100
<i>Kimyasal Analizler (% , Kuru</i>	
Kuru Madde	92,2
Ham Protein	47,42
Ham Yağ	10,2
Metabolize Enerji (kcal/kg) *	3586
Ham Kül	8,63
Ham Selüloz	2,4
Çinko	70 mg/kg

1) Vitamin Karması : A vitamini 10,000,000 IU, D₃ vitamini 1,000,000 IU, E vitamini 100,000 IU, K vitamini 15,000 mg, B₁ vitamini 5,000 mg, B₂ vitamini 15,000 mg, Niasin 150,000 mg, Kalsiyum D-Pantothenate 50,000 mg, B₆ vitamini 10,000 mg, B₁₂ vitamini 20 mg, Folik Asit 3,000 mg, D-Biotin 1,000 mg, Kolin Klorid 500,000 mg, C vitamini 300,000 mg.

2) Tablo 2.1.

*NRC (1990) tablo verileri (kcal/kg).

2.2.2. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması

Bazal rasyonun mineral kısmında sülfat karması kullanılarak Deneme I rasyonu (D-I), oksit karması kullanılarak Deneme II rasyonu (D-II), pikolinat karması kullanılarak Deneme III rasyonu (D-III) ve metionin karması kullanılarak Deneme IV rasyonu (D-IV) oluşturuldu. Bazal rasyona D-I grubu için 0,14 gr/kg oranında çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$), D-II rasyonu için 0,04 gr/kg oranında çinko oksit (ZnO), D-III rasyonu için 0,16 gr/kg oranında çinko pikolinat (ZnPic) ve D-IV rasyonu için 0,06 gr/kg oranında çinko metionin (ZnM) ilave edildi. İnorganik form olarak çinko sülfat ve çinko oksit, organik form olarak ise çinko pikolinat ve çinko metionin kullanıldı.

Çalışmada kullanılan rasyonları hazırlamak için rasyon öğeleri tamamen homojen bir karışım halini alıncaya kadar karıştırıldı. Bu karışıma 1/1 oranında ilave edilen su ile birlikte hamur haline getirildi. Hamur haline getirilen materyal kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirildi (Şekil 2.2). Hazırlanan peletler tepsilere yerleştirilip (Şekil 2.3), yem fırınında 60 °C’de 24 saat bekletilerek kurutuldu. Pelet büyüklüğü, balık ağırlığı dikkate alınarak hazırlandı. Yemler kullanılmak üzere plastik muhafaza kapları içerisinde ve 4 °C’de muhafaza edildi.



Şekil 2.2. Hamur haldeki yem materyalinin kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline getirilmesi



Şekil 2.3. Pelet haline getirilen yem materyali

2.2.3. Deneme Tekneleri ve Kullanılan Suyun Özellikleri

Çalışmada, yaklaşık hacimleri 220 L olan fiberglas 12 tekne kullanıldı. Tekneler kullanılmadan önce dezenfekte edilip havalandırıldı, su giriş çıkış sistemleri ayarlandı. Çalışmada kullanılan suyun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü' nde belirlendi.

2.2.4. Denemenin Planlanması ve Yemlerin Balıklara Verilmesi

Çalışmada, yaklaşık hacimleri 220 L olan fiberglas 12 tekne kullanıldı. Tekneler kullanılmadan önce dezenfekte edilip havalandırıldı, su giriş çıkış sistemleri ayarlandı. Çalışmada kullanılan suyun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü' nde belirlendi. Balıkların yemlenmesi elle doyuncaya kadar yapıldı. Balıklara günde üç kez doyuncaya kadar yem verildi.

2.2.5. Kimyasal Analizler

2.2.5.1. Doku Örneklerinin Alınması ve İşlenmesi

Kimyasal incelemeler için deneme başında ve deneme sonunda her bir gruptan 10 balığın dokusu rastgele seçilen örneklerden alındı. Plazma ve serum elde etmek için anestezi altındaki balıkların kavdal yüzgeci kesilerek kanının bir kısmı EDTA içeren antikoagülanlı tüplere, bir kısmı ise jelli tüplere alındı. EDTA içeren antikoagülanlı tüplere alınan kan plazma, jelli tüplere alınan kan ise serum elde etmek için kullanıldı.

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde önce glikoz düzeyi belirlendi. Daha sonra kan örnekleri 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Bu plazmalar MDA düzeyi ile IGF-I düzeyinin belirlenmesi için kullanıldı. Plazmaları ayrılan kan örnekleri 2 ml soğuk (+4 °C) serum fizyolojik ile alt üst edilerek karıştırıldıktan sonra 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldıktan sonra aynı işlem atılan süpernatant berrak oluncaya kadar 3-4 kez tekrarlandı. Elde edilen eritrosit pelletinden 50 µl alınıp üzerine 2 ml saf su ilave edilerek hemolizatlar hazırlandı ve hemolizatlar deney süresince buz içerisinde muhafaza edildi. Hemolizatta SOD aktivitesi belirlendi.

Jelli tüplere alınan kan örneklerinin 3000 rpm' de 20 dakika santrifüjünden sonra serumları çıkarıldı. Elde edilen bu serumlarda insülin düzeyi ve alkalın fosfataz aktiviteleri tespit edildi.

Plazma ve serum örnekleri analiz edilinceye kadar - 20 °C' de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Kan örneklerinin alınmasından sonra usulüne uygun bir şekilde otopsi yapılan (Arda vd., 2005) balıkların karaciğerleri çıkarıldı. Bu örnekler de analiz edilinceye kadar - 20 °C' de derin dondurucuda saklandı. Homojenatların hazırlanması için alınan doku örneklerinden 0,5 gram tartıldı. İki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra % 1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 50 ml'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C' de 10 dakika kadar santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı (Yonar, 2008). Karaciğerden hazırlanan süpernatantlarda MDA düzeyi ve SOD aktivitesi ölçüldü.

2.2.5.2. Kan Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi

Kan glikoz düzeyi, kan örneklerinin alınmasından hemen sonra hazır test stripleri üzerine 1 damla kan damlatıldıktan sonra Accu-Chek Active (Roche Diagnostichs) glikometre kullanılarak ölçüldü.

2.2.5.3. Plazma ve Karaciğer MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Doku örneklerinde malondialdehid (MDA) düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer vd. (1966)'den modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelmektedir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okunur. Buna göre, plazma ve doku homojenatlarından 0,25 ml alınarak üzerine 2.25 ml renk ayırıcı (1 kısım TBA ve 3 kısım % 10'luk triklorasetik asit) ilave edildi. Karışım 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 532 nm' de spektrofotometrede köre karşı okundu.

MDA düzeyini hesaplamak için gerekli protein miktarı Lowry vd. (1951)' e göre belirlendi.

2.2.5.4. Kan ve Karaciğer SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

Kanda SOD aktivitesi kit (Randox Laboratories., Diamond Road, Crumlin,Co.Antrim, United Kingdom) kullanılarak ölçüldü (Antmen, 2005). Öncelikle stok substrat karışımı, ksantin oksidaz (80 U/L) ve 0,01 M Fosfat Tamponu (pH: 7.0) ayraçları ayrı ayrı hazırlandı. Bu ayraçlar kullanılarak hazırlanan kör ve numuneler Tablo 2.3' de belirtildiği gibi küvetlere ilave edildi.

Tablo 2.3. Kanda SOD aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan prosedür

Reaktifler	Tüpler	
	Kör (ml)	Örnek (ml)
Hemolizat	-	0,05
Fosfat Tamponu	0,05	-
Substrat Karışımı	1,7	1,7
Tüpler iyice karıştırılır		
Ksantin Oksidaz	0,25	0,25

Tüpler iyice karıştırıldıktan 30 saniye sonra, 505 nm dalga boyunda başlangıç absorbanı (A1) ve 3 dakika sonra son absorban olan (A2) okundu.

Hesaplama:

Hesaplama 3 adımda yapıldı

$$\Delta A/\text{dak} = A2-A1 / 3 \text{ dak} \dots \dots \dots \text{(I)}$$

$$\% \text{ inhibisyon örnek} = 100 - (\Delta A \text{ örnek}/\text{dak} \times 100) / (\Delta A \text{ çalışma körü}/\text{dak}) \dots \dots \dots \text{(II)}$$

$$\text{SOD Spesifik Aktivitesi (Ü/gHb)} = \text{SOD Değeri (U/ml)} / \text{Hemoglobin Değeri (g/dl)} \dots \text{(III)}$$

Kanda SOD spesifik aktivitesini hesaplamak için gerekli hemoglobin düzeyi Drabkin (1946)' e göre belirlendi.

Karaciğerde SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler Sun vd. (1988)'den modifiye edilen yönteme göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Buna göre aşağıdaki çözeltiler hazırlandı.

A. Reaktif çözeltisi: Bunun için aşağıdaki şekilde numaralandırılmış maddelerden belirtilen molaritelerde hazırlandı ve buzdolabında saklandı.

1. 0,3 mmol ksantin: 9.13 mg ksantin alınıp, 200 ml distile suda çözüldü. Çözme işlemi birkaç damla 1 M NaOH' lı ortamda hafifçe ısıtılarak yapıldı.

2. 0,6 mmol EDTA Na₂: 22,3 mg EDTA Na₂ alınıp, 100 ml distile suda çözüldü.

3. 150 µmol NBT: 12,3 mg NBT alınıp, 100 ml distile suda çözüldü.

4. 400 mmol Na₂CO₃: 4,24 g Na₂CO₃ alınıp, 100 ml distile suda çözüldü.

5. 1 g/L Bovine Serum Albumin (BSA): 25 mg alınıp, 25 ml distile suda çözüldü.

Deney prosedüründen hemen önce her 20 örnek için 20 ml ksantin çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na₂CO₃ çözeltisi ve 3 ml BSA çözeltisi alındı ve karıştırıldı.

B. Ksantin oksidaz (167 U/L): 48 µL ksantin oksidaz buz soğukluğunda 2 mol (NH₄)₂SO₄' de çözüldü. (2 mol (NH₄)₂SO₄ hazırlamak için; 2,64 g (NH₄)₂SO₄ 10 ml distile suda çözüldü).

C. 0.8 mmol CuCl₂.2H₂O: 13,6 mg CuCl₂.2H₂O alınarak hacim distile suyla 100 ml' ye tamamlandı.

Bu çözeltiler kullanılarak Tablo 2.4' de belirtildiği gibi hazırlanan kör ve numuneler 25 °C' de inkubasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra üzerlerine CuCl₂ ilave edildi ve 560 nm' de köre karşı okundu.

Tablo 2.4. Karaciğerde SOD aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan prosedür

Reaktifler	Tüpler	
	Kör	Numune
Reaktif çözeltisi (mL)	1,425	1,425
Süpernatant (mL)	-	0,05
Distile su (mL)	0,05	-
Ksantin oksidaz (mL)	0,025	0,025
25 °C sıcaklıkta 20 dakika inkubasyon		
CuCl ₂ (mL)	0,05	0,05

Hesaplama :

Hesaplama 3 adımda yapıldı

% inhibisyon = [Absorbans (kör) - Absorbans (numune)] / Absorbans (kör) x 100..... (I)

Aktivite (U/mL) = % inhibisyon / (50 x 0,1).....(II)

Spesifik Aktivite (U/mg protein) = Aktivite (U/ml) / Protein (mg/mL protein).....(III)

Karaciğerde SOD spesifik aktivitesini hesaplamak için gerekli protein düzeyi Lowry vd. (1951)' e göre belirlendi.

2.2.5.5. Serum Alkalin Fosfataz Aktivitesinin Belirlenmesi

Serum alkalin fosfataz aktivitesi ELİSA kit (**Katalog No: MBS025881**, MyBioSource, Inc. P.O. Box 153308, San Diego, CA 92195-3308, USA) kullanılarak ve firma tarafından belirtilen prosedür izlenerek belirlendi.

2.2.5.6. Serumda İnsülin Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda insülin düzeyinin belirlenmesi için ELİSA kit (**Katalog No: MBS280460**, MyBioSource, Inc. P.O. Box 153308, San Diego, CA 92195-3308, USA) kullanıldı. Analiz firma tarafından belirtilen prosedür izlenerek yürütüldü.

2.2.5.7. Plazma İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' nün Belirlenmesi

Plazmada IGF-I düzeyi ELİSA kit (**Katalog No: MBS281474**, MyBioSource, Inc. P.O. Box 153308, San Diego, CA 92195-3308, USA) kullanılarak ve firma tarafından belirtilen prosedür izlenerek ölçüldü.

2.2.5.8. Kemik Dokusunun Alınması ve Mineral Madde Düzeylerinin Belirlenmesi

Kemik dokusunda çinko (Zn), demir (Fe), bakır (Cu), kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) düzeylerini belirlemek için deneme başında ve sonunda, balıklardan kan alımını takiben kemik örnekleri çıkarıldı.

Kemik dokusundaki mineral madde düzeyleri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü' nde, Thermo ICE 3500 marka atomik absorpsiyon cihazı (ICP-OES, Optima 2000DV) kullanılarak belirlendi.

Kemik örnekleri 1 g'lık örnekler halinde alındı. Örnekler, ısıya dayanıklı küçük cam şişeler içerisine konularak 5 ml derişik HNO₃ ilave edilerek 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra örneklerin ısı tablası üzerinde çok düşük ısıda, renkli buharları

kayboluncaya kadar yavaş yavaş ısıtılarak tamamen mineralize olması sağlandı. Örneklerin renkli buharları tamamen kaybolduktan sonra 1 ml H_2SO_4 ilave edildi. Çözünen örnekler 50 ml' lik balon jöjelere aktarıldı ve deiyonize su ile 50 ml' ye tamamlandı. Çözünen örneklerin son hacmi % 3'lük HNO_3 ile tamamlanarak çeşitli konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı. Cihaza okutulan standart çözeltiler ile bir kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Kemik dokusunu içeren ve asitle yakılmış analiz çözeltileri uygun oranda seyreltildi ve cihaza okutuldu. Elde edilen ppm seviyesindeki konsantrasyon değerleri mg/kg doku'ya dönüştürüldü.

2.2.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. İncelenen parametrelerde meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) ile test edildi (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010). Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise LSD (Least Significant Difference) testinden yararlanıldı. Grafiklerin çiziminde Excel programı kullanıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada; gökkuşuğı alabalığında, yeme katılan organik ve inorganik çinko formlarının bazı enzim, hormon ve kemik mineral düzeylerine etkileri belirlendi.

Araştırmada kullanılan suyun özellikleri Tablo 3.1' de verilmiştir.

Tablo 3.1. Araştırmada kullanılan suyun özellikleri

Parametre	Düzyey
Sıcaklık (°C)	9,2
pH	7,4
Çözünmüş O ₂ (mg/L)	7,3
İletkenlik (mS/cm)	230
Toplam Sertlik (mg/L)	89,61
Toplam Alkalinite (mg/L)	69,8

3.1. Kan Glikoz Düzeyindeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların kan glikoz düzeyleri Tablo 3.2 ve Şekil 3.1' de gösterilmiştir.

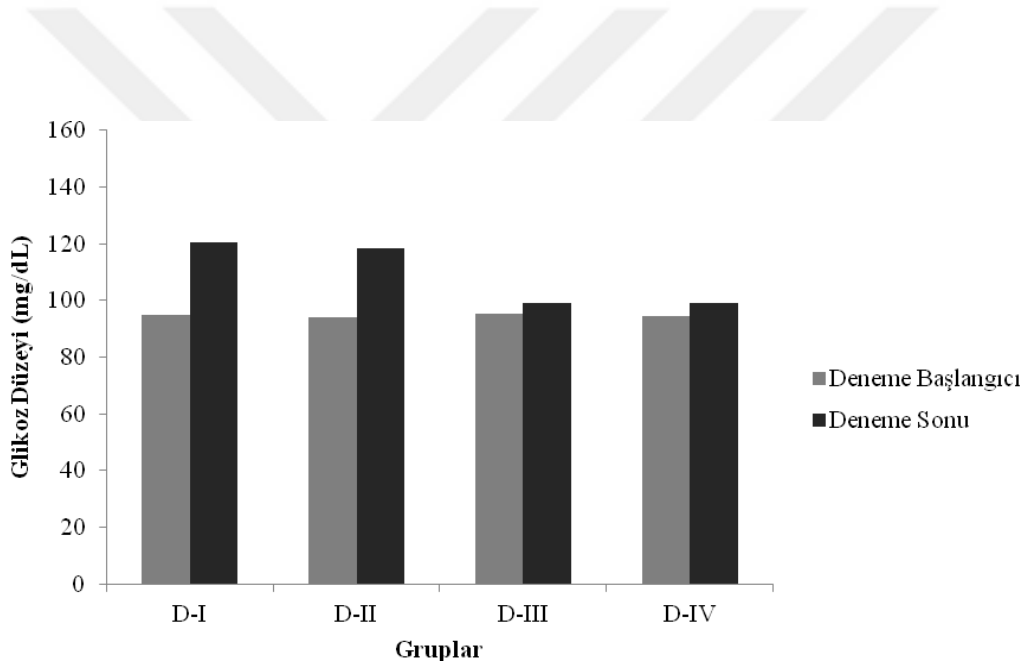
D-I ve D-II gruplarında kan glikoz düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P < 0,05$). D-III ve D-IV gruplarında belirlenen artış ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ($P > 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının kan glikoz düzeylerinin D-I ve D-II gruplarından daha düşük olduğu görüldü ($P < 0,05$).

Tablo 3.2. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan glikoz düzeyleri (Ortalama ± standart hata)

	Glikoz Düzeyi (mg/dL)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	94,80 ± 10,80 ^a	94,20 ± 9,80 ^a	95,20 ± 9,14 ^a	94,60 ± 8,86 ^a
Deneme Sonu	120,40 ± 22,43 ^{b,x}	118,30 ± 18,62 ^{b,x}	99,30 ± 12,18 ^a	99,00 ± 14,76 ^a

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P < 0,05).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır (P < 0,05).



Şekil 3.1. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan glikoz düzeyleri

3.2. Plazma ve Karaciğer MDA Düzeyindeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların plazma MDA düzeyleri Tablo 3.3 ve Şekil 3.2’ de gösterilmiştir.

D-I ve D-II gruplarının plazma MDA düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlendi (P > 0,05). D-III ve D-IV gruplarında ise plazma MDA düzeylerinin deneme başlangıcına göre

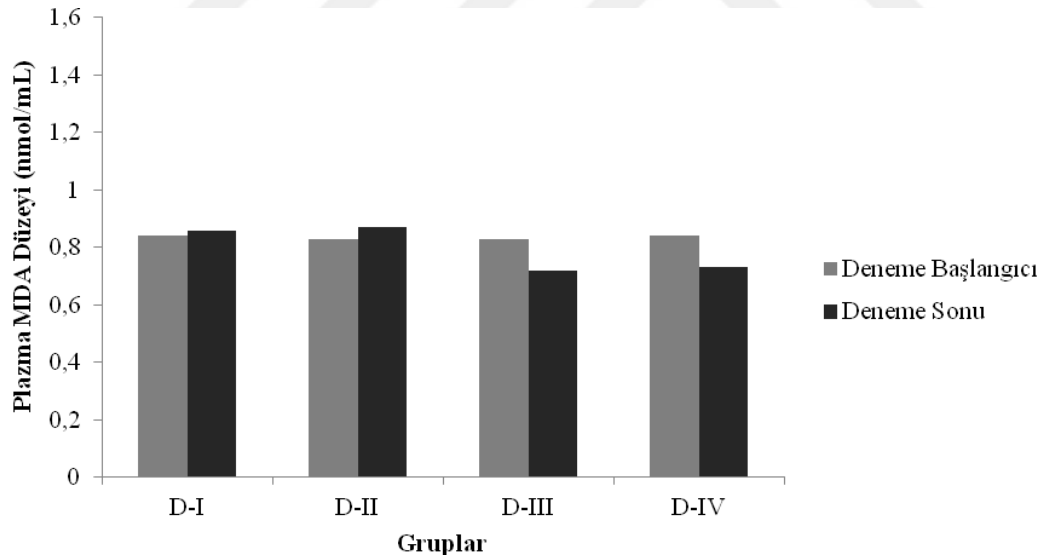
deneme sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde düştüğü saptandı ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının plazma MDA düzeylerinin D-I ve D-II gruplarından daha düşük olduğu görüldü ($P < 0,05$).

Tablo 3.3. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların plazma MDA düzeyleri (Ortalama \pm standart hata).

	MDA Düzeyi (nmol/mL)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	0,84 \pm 0,06 ^a	0,83 \pm 0,03 ^a	0,83 \pm 0,07 ^a	0,84 \pm 0,05 ^a
Deneme Sonu	0,86 \pm 0,05 ^b	0,87 \pm 0,04 ^b	0,72 \pm 0,04 ^{a,x}	0,73 \pm 0,03 ^{a,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.2. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların plazma MDA düzeyleri

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların karaciğer MDA düzeyleri Tablo 3.4 ve Şekil 3.3' de gösterilmiştir.

D-I ve D-II gruplarının karaciğer MDA düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak arttığı belirlendi ($P < 0,05$). D-III ve D-IV gruplarında ise karaciğer MDA düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel

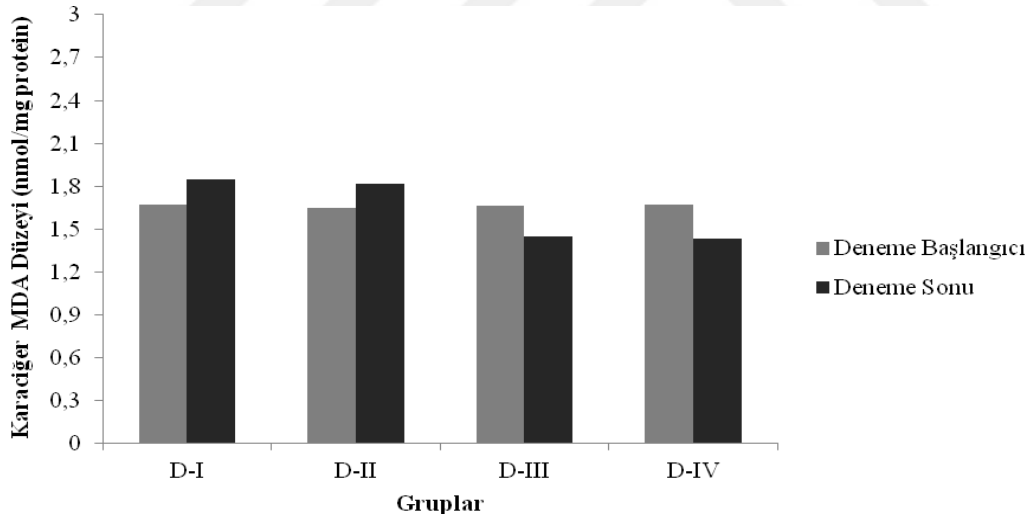
olarak önemli düzeyde düştüğü saptandı ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının karaciğer MDA düzeylerinin D-I ve D-II gruplarından daha düşük olduğu görüldü ($P < 0,05$).

Tablo 3.4. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer MDA düzeyleri (Ortalama \pm standart hata)

	MDA Düzeyi (nmol/mg protein)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	1,67 \pm 0,24 ^a	1,65 \pm 0,19 ^a	1,66 \pm 0,20 ^a	1,67 \pm 0,15 ^a
Deneme Sonu	1,85 \pm 0,33 ^{b,x}	1,82 \pm 0,24 ^{b,x}	1,45 \pm 0,17 ^{a,x}	1,43 \pm 0,23 ^{a,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.3. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer MDA düzeyleri

3.3. Kan ve Karaciğer SOD Aktivitesindeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların kan SOD aktiviteleri Tablo 3.5 ve Şekil 3.4' de gösterilmiştir.

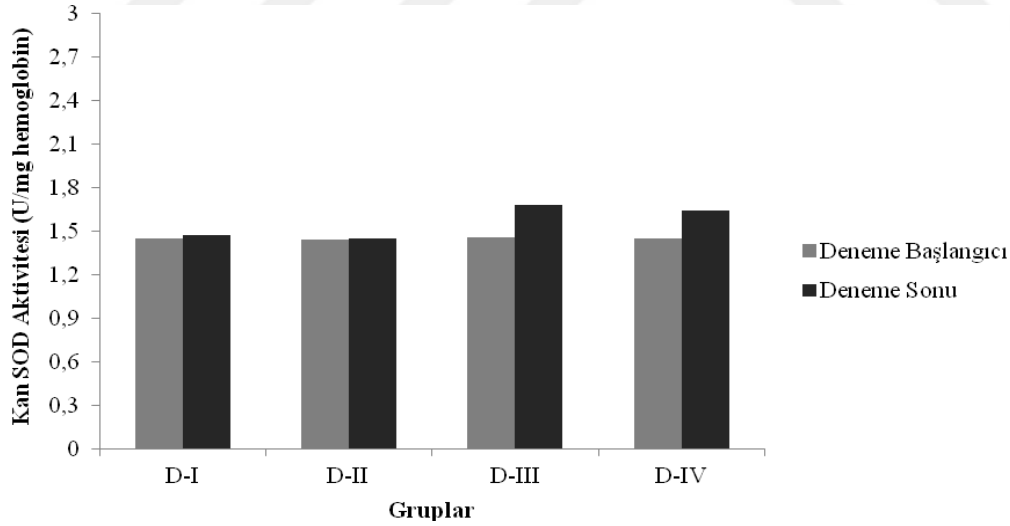
D-I ve D-II gruplarının kan SOD aktivitelerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı ($P > 0,05$), D-III ve D-IV gruplarında ise bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının kan SOD aktivitelerinin D-I ve D-II gruplarından daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,05$). En yüksek kan SOD aktivitesi D-III grubunda saptandı.

Tablo 3.5. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan SOD aktiviteleri (Ortalama \pm standart hata)

	SOD aktivitesi (U/mg hemoglobin)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	1,45 \pm 0,09 ^a	1,44 \pm 0,10 ^a	1,46 \pm 0,10 ^a	1,45 \pm 0,09 ^a
Deneme Sonu	1,47 \pm 0,12 ^a	1,45 \pm 0,10 ^a	1,68 \pm 0,13 ^{b,x}	1,64 \pm 0,11 ^{b,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.4. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan SOD aktiviteleri

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların karaciğer SOD aktiviteleri Tablo 3.6 ve Şekil 3.5’ de gösterilmiştir.

D-I ve D-II gruplarının karaciğer SOD aktivitelerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı görüldü ($P > 0,05$). Bu artışın

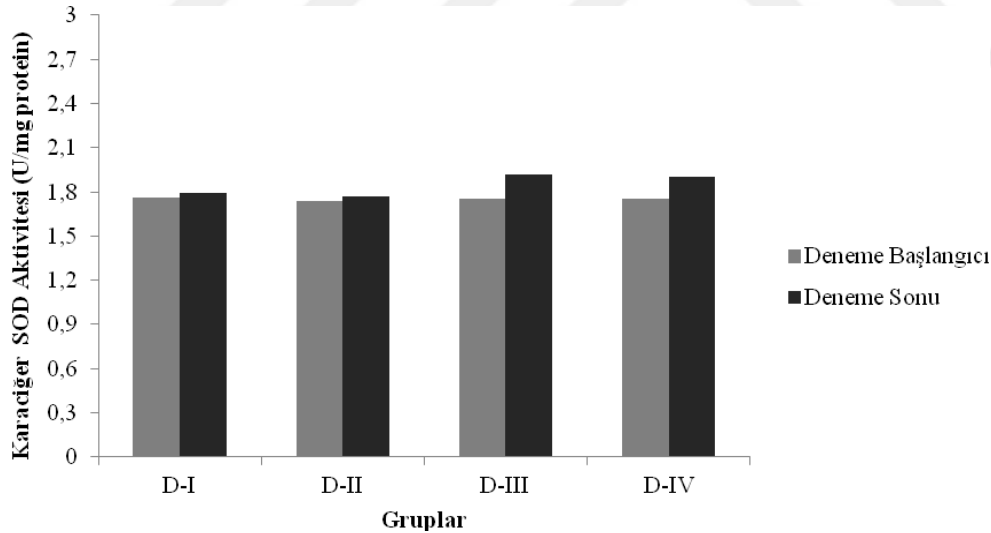
D-III ve D-IV gruplarında istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının karaciğer SOD aktivitelerinin D-I ve D-II gruplarından daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,05$). En yüksek karaciğer SOD aktivitesi D-III grubunda saptandı.

Tablo 3.6. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer SOD aktiviteleri (Ortalama \pm standart hata)

	SOD aktivitesi (U/mg protein)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	1,76 \pm 0,06 ^a	1,74 \pm 0,05 ^a	1,75 \pm 0,07 ^a	1,75 \pm 0,06 ^a
Deneme Sonu	1,79 \pm 0,12 ^a	1,77 \pm 0,14 ^a	1,92 \pm 0,15 ^{b,x}	1,90 \pm 0,13 ^{b,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.5. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların karaciğer SOD aktiviteleri

3.4. Serum Alkalın Fosfataz Aktivitesindeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların serum alkalın fosfataz aktiviteleri Tablo 3.7 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

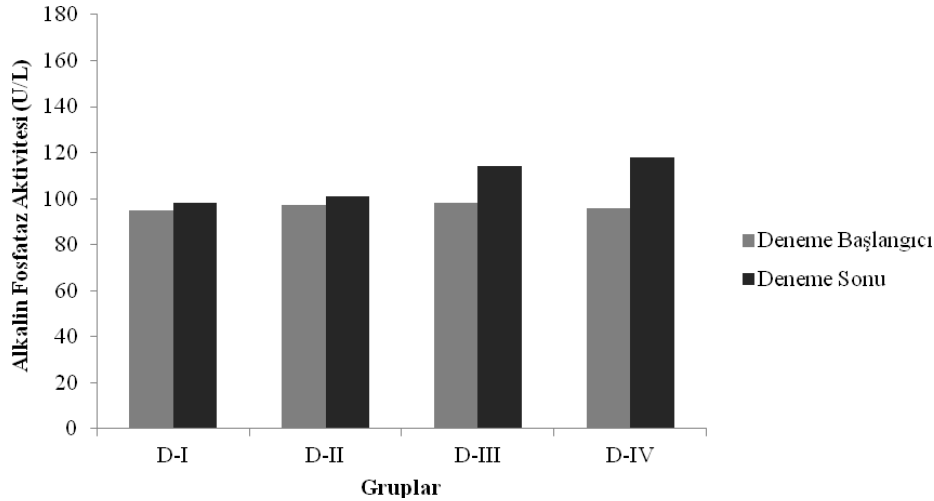
D-I ve D-II gruplarında serum alkalın fosfataz aktivitelerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı ($P > 0,05$), D-III ve D-IV gruplarında ise bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının serum alkalın fosfataz aktivitelerinin D-I ve D-II gruplarından daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,05$). En yüksek serum alkalın fosfataz aktivitesi D-IV grubunda saptandı.

Tablo 3.7. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların serum alkalın fosfataz aktiviteleri (Ortalama \pm standart hata)

	Alkalın Fosfataz Aktivitesi (U/L)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	95 \pm 6,50 ^a	97 \pm 5,20 ^a	98 \pm 7,30 ^a	96 \pm 4,80 ^a
Deneme Sonu	98 \pm 7,30 ^a	101 \pm 9,80 ^a	114 \pm 10,20 ^{b,x}	118 \pm 11,00 ^{b,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.6. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların serum alkalın fosfataz aktiviteleri

3.5. İnsülin Düzeyindeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların insülin düzeyleri Tablo 3.8 ve Şekil 3.7’ de gösterilmiştir.

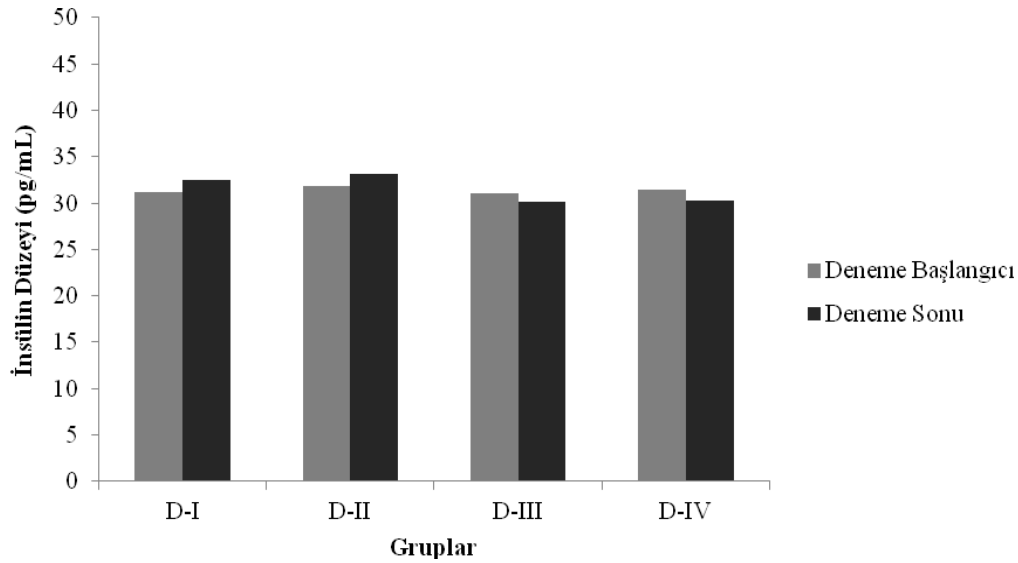
Tüm deneme gruplarında insülin düzeyi deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak herhangi bir fark göstermedi ($P > 0,05$). Deneme sonunda yine grupların insülin düzeyleri arasında da istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık belirlenmedi ($P > 0,05$).

Tablo 3.8. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda insülin düzeyleri (Ortalama \pm standart hata)

	İnsülin düzeyi (pg/mL)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	31,24 \pm 3,42 ^a	31,86 \pm 3,55 ^a	31,02 \pm 3,10 ^a	31,40 \pm 2,86 ^a
Deneme Sonu	32,45 \pm 4,11 ^a	33,14 \pm 3,71 ^a	30,10 \pm 5,39 ^a	30,24 \pm 4,12 ^a

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.7. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda insülin düzeyleri

3.6. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' ndeki Değişimler

Araştırma süresince, farklı formlarda çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların IGF-I düzeyleri Tablo 3.9. ve Şekil 3.8' de gösterilmiştir.

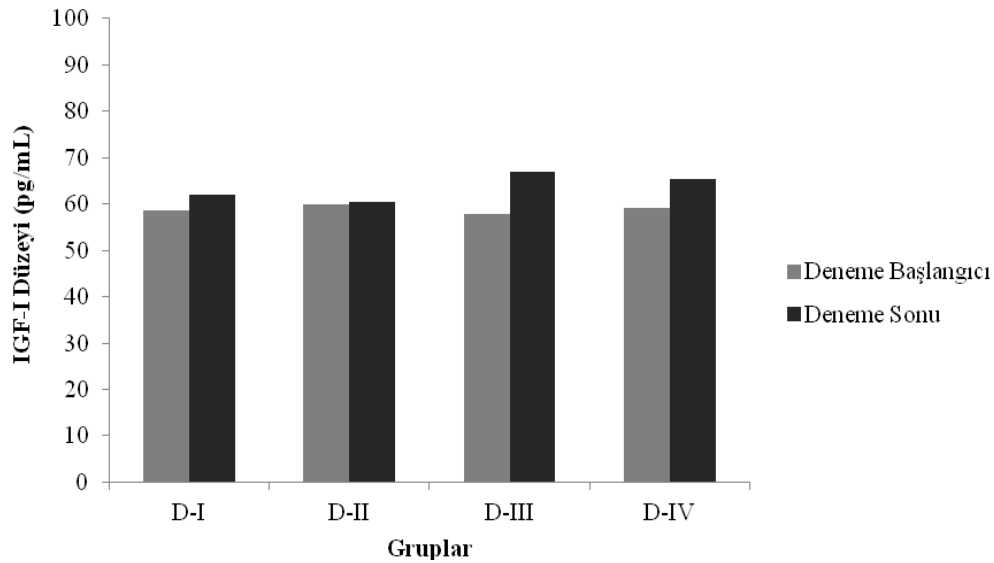
D-I ve D-II gruplarında IGF-I düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı ($P > 0,05$), D-III ve D-IV gruplarında ise bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($P < 0,05$). Deneme sonunda D-III ve D-IV gruplarının IGF-I düzeylerinin D-I ve D-II gruplarından istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi ($P < 0,05$). En yüksek IGF-I düzeyi D-III grubunda saptandı.

Tablo 3.9. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda IGF-I düzeyleri (Ortalama \pm standart hata)

	IGF-I düzeyi (pg/mL)			
	D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Deneme Başlangıcı	58,67 \pm 6,44 ^a	59,86 \pm 5,42 ^a	57,91 \pm 7,04 ^a	59,12 \pm 5,37 ^a
Deneme Sonu	61,88 \pm 7,03 ^a	60,51 \pm 5,88 ^a	66,93 \pm 8,15 ^{b,x}	65,28 \pm 6,37 ^{a,x}

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

^x Deneme sonundaki değer deneme başlangıcından istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0,05$).



Şekil 3.8. İnorganik ve organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen gruplarda IGF-I düzeyleri

3.7. Kemik Dokusunda Mineral Madde Düzeyleri

Kemik dokusunda Zn, Fe, Cu, Ca ve P düzeyleri Tablo 3.10' da gösterilmiştir.

Tablo 3.10. Kemik dokusunda Zn, Fe, Cu, Ca ve P düzeyleri (Ortalama \pm standart hata)

Mineraller (mg/kg)		D-I (Sülfat)	D-II (Oksit)	D-III (Pikolinat)	D-IV (Metionin)
Zn	Deneme Başlangıcı	102,86 \pm 1,47	101,33 \pm 1,30	107, 86 \pm 2,10	106,23 \pm 2,41
	Deneme Sonu	104,62 \pm 1,85	105,04 \pm 1,69	103,19 \pm 1,23	103,50 \pm 1,25
Fe	Deneme Başlangıcı	15,41 \pm 1,12	16,20 \pm 0,72	15,96 \pm 0,68	16,35 \pm 0,79
	Deneme Sonu	16,35 \pm 0,80	16,84 \pm 0,65	17,20 \pm 0,71	18,06 \pm 1,32
Cu	Deneme Başlangıcı	2,25 \pm 0,19	2,19 \pm 0,17	2,26 \pm 0,20	2,22 \pm 0,18
	Deneme Sonu	2,37 \pm 0,34	2,27 \pm 0,41	2,38 \pm 0,83	2,31 \pm 0,74
Ca	Deneme Başlangıcı	1517 \pm 33	1522 \pm 51	1498 \pm 38	1503 \pm 24
	Deneme Sonu	1586 \pm 45	1493 \pm 37	1517 \pm 66	1485 \pm 41
P	Deneme Başlangıcı	2390 \pm 80	2420 \pm 105	2403 \pm 94	2408 \pm 103
	Deneme Sonu	2348 \pm 74	2411 \pm 95	2376 \pm 110	2394 \pm 82

Araştırmada, deneme başlangıcındaki mineral madde düzeyleriyle deneme sonundaki mineral madde düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık olmadığı belirlendi ($P > 0,05$).

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Bu araştırma, gökkuşuğu alabalığı rasyonlarına organik (çinko pikolinat ve çinko metionin) ve inorganik (çinko sülfat ve çinko oksit) formda çinko ilavesinin balıklardaki bazı enzim ve hormonlara etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür. Yapılan bu araştırmadan elde edilen sonuçlara göre organik formda çinko uygulanan gruplarda kan glikoz, plazma ve karaciğer MDA düzeyleri inorganik formda çinko uygulanan gruplardan daha düşük bulunmuştur. Yine organik formda çinko uygulanan grupların kan ve karaciğer SOD aktiviteleri, serum alkalın fosfataz aktivitesi ve IGF-I düzeyi inorganik formda çinko uygulanan gruplardan daha yüksek bulunmuş, grupların insülin düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Araştırmada, deneme başlangıcı ve deneme sonundaki mineral madde düzeyleri arasında istatistiksel herhangi bir farklılık bulunmamıştır.

4.1. Glikoz Düzeyindeki Değişimler

Balıklarda glikoz, karaciğerde glikojen olarak depo edilmekte ve organizmanın gereksinimi olduğunda glikoza dönüştürülerek kana verilmektedir. Glikozun parçalanmasıyla yaşamsal faaliyetler için gerekli enerji sağlanmaktadır (Girgin Başusta, 2005). Glikoz metabolizmasında insülin, glukagon ve tiroid hormonlarının memelilerde düzenleyici rol oynadıkları bilinmesine karşılık, bu mekanizma balıklarda tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte balıklarda kan glikoz düzeyine; tür farklılığının, suyun sıcaklık ve pH' sının, toksik maddelerin, sanayi atıklarının, mevsimlerin, yem kompozisyonunun, üremenin, enfeksiyonların ve beslenme şeklinin etkili olduğu bilinmektedir. Bütün bunlardan anlaşılacağı üzere, balıklarda kan glikoz düzeyi; çevre faktörleri, beslenme şekli, fizyolojik durum ve endokrin sistem tarafından etkilenebilmektedir (Aydın vd., 2000).

Bu çalışmada inorganik formda çinko uygulanan balıklarda kan glikoz düzeyleri organik formda çinko uygulananlardan daha yüksek bulunmuştur. Diğer bir ifadeyle organik formda çinko içeren rasyonlarla beslenen grupların kan glikoz düzeylerinin inorganik formda çinko içeren gruplara göre daha düşük olduğu görülmektedir. İnorganik formda çinko sülfat ve çinko oksit uygulamasıyla kan glikoz düzeyi artmıştır. Watson ve

McKeown (1976) tarafından gökkuşağı alabalığında yapılan bir çalışmada büyüme ve plazma glikoz düzeyine sülfat formunda ve suya karıştırılarak uygulanan çinkonun etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın 7. gününde balıklarda hiperglisemi oluştuğunu, fakat 21., 42., 63. ve 85. günlerde bu durumun oluşmadığını belirtmişlerdir. Oluşan hipergliseminin nedeni olarak da çözünmüş çinkonun stimüle ettiği pituitari-interrenal eksenindeki adrenokortikotropik hormon, kortikosteroidler ve katekolaminlerin artışı gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada çinko sülfat içeren rasyonlarla 12 hafta beslenen tilapialarda, diyetle çinkonun artan miktarına bağlı olarak serum glikoz düzeyinin arttığını ifade edilmiştir (Huang vd., 2015). Bu sonucun aksine 10 mg/kg ve 20 mg/kg çinko asetat içeren rasyonlarla beslenen *Pangasius hypophthalmus* türü balıklarda kan glikoz düzeyi kontrol grubuna göre düşmüş fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Kumar vd., 2017). Jing vd. (2016) ise 20, 40, 80, 160 ve 320 mg/kg çinko sülfat içeren rasyonlarla beslenen *Megalobrama amblycephala* türü balıklarda serum glukoz düzeyinin istatistiksel olarak değişmediğini ifade etmişlerdir. Bunun yanısıra çinkonun glikojen metabolizmasına etkisini araştıran çalışmalarda yapılmıştır. Örneğin; Zhao vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada tilapialarda büyüme performansının ve glikojen metabolizmasının çinko sülfat ve çinko metionin uygulamasıyla değiştiği, kontrol grubuna göre çinkonun her iki formunun uygulandığı gruplarda çinkonun artan miktarına bağlı olarak kas glikojen düzeyinin azaldığı fakat karaciğer glikojen düzeyinin arttığı belirtilmiştir. Benzer bir sonuç Bhagawati vd. (2016) tarafından bulunmuş, *Tor putitora* türü balıklarda çinko sülfatın artan dozuna bağlı olarak kastaki glikojen düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Organik ve inorganik formda çinko uygulanarak yapılan bu çalışmada ise kan glikoz düzeyi inorganik formda çinko (sülfat ve oksit) uygulanan balıklarda organik (pikolinat ve metionin) formda çinko uygulananlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Araştırmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki bu farklılıkların nedeni, deneysel sistemlerdeki farklılıklar, tür farklılığı, balık büyüklüğü, deneme süreleri, deneme rasyonlarında kullanılan karbonhidrat formları ve çinkonun kullanılan farklı formlarından kaynaklanabilir.

4.2. MDA Düzeyindeki Değişimler

Oksijenden tek elektronun indirgenmesiyle meydana gelen serbest radikaller değişik birçok reaksiyon sonucunda hücre ve dokularda oluşur. Bu radikallerin vücutta aşırı üretilmesi sonucu protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler yıkıma uğrar. Ayrıca

DNA zarar görür, enzimlerin aktivasyonu bozulur ve membran geçirgenliği olumsuz etkilenir. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyon, serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır (Benzer, 2001; Piner, 2005). Diğer yüksek omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da lipit peroksidasyonun bir ürünü olan MDA hücrenel bileşenlerde meydana gelen oksidatif zararın en önemli göstergesidir (Kandemir vd., 2011; Harlıoğlu vd., 2012). Bu çalışmada da oksidatif stresin belirlenmesi için MDA düzeyindeki değişimler incelenmiştir.

Farklı balık türlerinde farklı çinko formlarının lipit peroksidasyona karşı koruyucu etkileri, araştırmacıların çalışma konusu olmuştur. Örneğin, Feng vd. (2011) tarafından sazanlarda yapılan bir çalışmada 15.3, 26.9, 40.8, 58.2, 68.9 ve 92.5 mg/kg oranlarında çinko laktat içeren rasyonlarla 6 hafta beslenen balıklarda serum, bağırsak, kas ve hepatopankreasta en yüksek MDA düzeyleri en düşük oranda çinko içeren gruplarda bulunmuştur. Yuan vd. (2016) tarafından *Larimichthys croceus* türü balıklarda yürütülen bir çalışmada uygulanan çinko sülfatın karaciğer TBARs (Tiyobarbitürik asit reaktif türleri) düzeyini düşürdüğü ve bakır toksisitesini engellediği bildirilmiştir. Jing vd. (2016) ise 20, 40, 80, 160 ve 320 mg/kg çinko sülfat içeren rasyonlarla beslenen *Megalobrama amblycephala* türü balıklarda karaciğer MDA düzeyinin artan çinko düzeyiyle azaldığını ifade etmişlerdir. Bunun yanısıra yukarıda sıralanan araştırmacıların elde ettiği bu bulguların aksine Ma vd. (2014) ise farklı oranlarda inorganik (çinko sülfat) ve organik (şelat formunda Mintrex™ Zn) formda çinko içeren rasyonlarla beslenen kalkan balıklarında (*Scophthalmus maximus*) serum TBARs düzeyinin istatistiksel herhangi bir farklılık göstermediğini bulmuşlardır.

Çinko eksikliği serbest radikal oluşumuna neden olarak lipid peroksidasyona yol açmaktadır (Powell vd., 1994; Salgueiro vd., 2000; Kucukbay vd., 2006). Benzer sonuçlar balıklarda yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Kucukbay vd. (2006), 30 ve 60 mg/kg diyet oranlarında çinko pikolinat içeren rasyonlarla 55 gün beslenen gökkuşığı alabalıklarında serum, karaciğer ve kas MDA düzeylerinin istatistiksel olarak düştüğünü belirlemişlerdir. Hidalgo vd. (2002) yeterince çinko içermeyen rasyonlarla beslenen gökkuşığı alabalıklarında, kas, karaciğer ve bağırsak MDA düzeylerinin yükseldiğini bu dokularda oluşan oksidatif zararın geri dönüşümsüz olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada da inorganik formda çinko içeren rasyonların uygulandığı gruplara kıyasla organik formda çinko verilen gruplarda plazma ve karaciğer MDA düzeylerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde düştüğü

belirlenmiştir. Bunun nedeni organik formdaki çinko-metallotionin veya çinko-vitamin E arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak antioksidan aktivitenin artmasıyla açıklanabilir (Kucukbay vd., 2006). Elde edilen bu sonuçla lipid peroksidasyonu önlemede organik formdaki çinkonun inorganik formdaki çinkodan daha etkili olduğu söylenebilir.

4.3. SOD Aktivitesindeki Değişimler

Antioksidan enzimler oksidatif stresi önlemede en önemli komponentlerdir (Feng vd., 2011). SOD fizyolojik olarak süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine ilk karşı koyan ve böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eden en önemli antioksidan enzimdir (Winston ve Di-Giulio, 1991). Çinkonun bazı enzim sistemlerinde kofaktör olarak görev aldığı ve SOD içeren birçok metalloenzimin bir komponenti olduğu bilinmektedir (Feng vd., 2011). Bu çalışmada inorganik formda çinko verilen gruplarının kan ve karaciğer SOD aktivitelerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı, organik formda çinko verilen gruplarda ise bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür. Bu sonuç, balıklarda Cu-Zn SOD enzimi için çinkonun bir ana komponent olduğunu (Shiau ve Jiang, 2006) ve SOD gibi antiradikal özelliğe sahip enzimlerin aktivitelerindeki devamlılık için çinkonun gerekliliğini göstermektedir (Feng vd., 2011).

SOD enzim aktivitesiyle ilgili olarak bu çalışmadan elde edilen bulgulara paralel sonuçlar diğer bazı araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir. Feng vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada farklı oranlarda çinko laktat içeren rasyonlarla 6 hafta beslenen sazanlarda serum, bağırsak, kas ve hepatopankreastaki SOD aktivitelerinin artan çinko düzeyiyle paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Ma vd. (2014) 15, 45, 75, 105, 135 mg/kg diyet düzeyinde inorganik (çinko sülfat) ve organik (şelat formunda Mintrex™ Zn) formda çinko içeren rasyonlarla beslenen kalkan balıklarında (*Scophthalmus maximus*) serum ve karaciğer SOD aktivitesindeki değişimleri incelemiştir. Sonuçta 135 mg/kg düzeyinde çinko içeren rasyonlarla beslenen balıkların karaciğer SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığını, diğer tüm gruplardaki balıklarda ise bu aktivitenin arttığını bulmuşlardır. Diğer taraftan Huang vd. (2015) tilapiada ve Song vd. (2017) ot sazanında yemdeki çinko düzeyiyle SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon belirlemişlerdir. Hidalgo vd. (2002) ise yeterince çinko içermeyen rasyonlarla beslenen gökkuşacağı alabalıklarında, diğer dokulara kıyasla daha

yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip karaciğerde SOD aktivitesinin azaldığını ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada deneme sonunda organik formda çinko verilen grupların kan ve karaciğer SOD aktivitelerinin inorganik formda çinko verilen gruplardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni MDA düzeyindeki düşüşe paralel olarak daha yüksek biyoyararlanıma sahip organik formdaki çinkonun (Kucukbay vd., 2006) inorganik forma kıyasla antioksidan kapasiteyi daha fazla arttırması olabilir.

4.4. Alkalın Fosfataz Aktivitesindeki Değişimler

Çinko alkalın fosfataz enziminin bir komponentidir ve enzim aktivitesi için esansiyeldir (Hambidge vd., 1986). Alkalın fosfat aktivitesindeki değişimler, çinko için oldukça hassas bir indikatör olarak kullanılabilir (Do Carmo vd., 2004). Çinko ve alkalın fosfataz aktivitesindeki doğrusal ilişki farklı araştırmacılar tarafından farklı balık türlerinde gösterilmiştir. Örneğin, Apines vd. (2001) ve Apines vd. (2003) gökkuşağı alabalıklarında, Gatlin ve Wilson (1984) kanal yayın balıklarında, Do Carmo vd. (2004) tilapialarda diyetle eklenen çinko ile alkalın fosfataz aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. Liang vd. (2012) 0, 10, 20, 40, 80 ve 120 mg oranında çinko sülfat içeren rasyonlarla beslenen ot sazanında, plazma alkalın fosfataz aktivitesiyle çinko düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki saptamış, diğer bir ifadeyle yeterince çinko içermeyen yemlerle beslenen gruplarda daha düşük alkalın fosfataz aktivitesi belirlemişlerdir. Kucukbay vd. (2006) ise 30 ve 60 mg/kg diyet oranlarında organik formdaki çinko pikolinat içeren rasyonlarla 55 gün beslenen gökkuşağı alabalıklarında serum alkalın fosfataz aktivitesinin arttığını ifade etmişlerdir. Diğer taraftan Tan ve Mai (2001) tarafından juvenil abalonlarda (*Haliotis discus hannai*) yapılan başka bir çalışmada 5, 10, 20, 30, 40 ve 80 mg oranında organik (çinko metionin) ve inorganik (çinko sülfat) formda çinko uygulanan grupların tamamında alkalın fosfataz aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Bu artışın 5, 10 ve 20 mg düzeyinde organik çinko içeren gruplarda inorganik çinko içerenlere kıyasla daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada ise inorganik formda çinko verilen gruplarda serum alkalın fosfataz aktivitelerinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak önemsiz düzeyde arttığı, bu artışın organik formda çinko verilen gruplarda istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür.

4.5. İnsülin Düzeyindeki Değişimler

İnsülin balıklarda aminoasitlerin alınmasını kolaylaştırmakta ve kaslarda protein sentezini stimüle etmektedir (Ince ve Thorpe, 1978; Millward, 1989). Çinko ve insülin arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Çinko insülinin sentezlendiği ve depolandığı pankreatik beta hücrelerinin oluşumu için gerekli olduğu gibi (Greider vd., 1969; Falkmer vd., 1985), çinkonun salgılanması ve aktivitesinde de önemli bir fonksiyona sahiptir (Coulston ve Nandona, 1980; May ve Contoreggi, 1982; Faure vd., 1992). Düşük serum insülin konsantrasyonu ve düşük insülin duyarlılığı, çinkoca eksik diyetlerle beslenen memelilerde açıklanmıştır (Park vd., 1986; Droke vd., 1993). Balıklarda da çinko eksikliğinin bir sonucu olarak insülin üretimi, insülin duyarlılığı ve sirkülasyondaki insülin konsantrasyonunun azalması durumunda, protein kullanımının bozulabileceği ifade edilmiştir (Ramseyer vd., 1999). Bu çalışmada tüm deneme gruplarında insülin düzeyinin deneme başlangıcına göre deneme sonunda istatistiksel olarak herhangi bir fark göstermediği, deneme sonunda yine grupların insülin düzeyleri arasında da istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık olmadığı belirlenmemiştir. Benzer bir sonuç Ramseyer vd. (1999) tarafından da bulunmuş, farklı formlarda 50 mg/kg diyet oranında çinko katılan rasyonların uygulandığı gökkuşağı alabalıklarında plazma insülin konsantrasyonunun gruplar arasında herhangi bir farklılık göstermediği araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir.

4.6. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-I)' ndeki Değişimler

Aminoasitlerden oluşmuş IGF-I, büyüme hormonunun modülasyonu ile bütün omurgalılarda büyümenin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar (Mathews vd., 1986). Büyüme hormonu, IGF' nin salınımını uyarır ve bu uyarım balıkların gelişiminde doğrudan ve dolaylı bir dizi faktörün etkilerinin oluşumunu tetikler (Moksness vd., 2004). Yaşamsal faaliyetler için esansiyel bir iz element olan çinkonun somatik büyüme için gerekli olduğu, çinko eksikliğinde büyümedeki yavaşlamayla birlikte IGF-I düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir (Clegg vd., 1995; McNall vd., 1995; Paski ve Xu, 2001; Ekinci vd., 2011). Balıklarda IGF-I üzerine yapılan çalışmaların çoğu farklı pestisit uygulamalarına dayanmaktadır. Örneğin, chlorpyrifos ve esfenvalerate (Eder vd., 2008), hexazinone ve atrazine (Nieves-Puigdoller vd., 2007) ve deltamethrin (Aksakal vd., 2010)

uygulamalarının balıklarda IGF-I düzeyinde meydana getirdiği değişimler araştırılmıştır. Bununla birlikte sıcaklık (Luckenbach vd., 2007), kortizol (Yada vd., 2005) ve somatostatinlerle (Very vd., 2008; Poppinga vd., 2007) IGF' ler arasındaki etkileşimleri inceleyen çalışmalar da yapılmıştır. Bunun yanısıra alabalıklara 0.34, 1.7, 3.4, 17, 34 $\mu\text{mol/L Zn}^{2+}$ konsantrasyonlarında sülfat formunda uygulanan çinkonun uygulamadan sonraki 6, 12, 24 ve 48 saatlerde kas IGF-I, IGF-II ve GH mRNA ekspresyonuna etkisi araştırılmıştır. Uygulamadan sonraki ilk 6 saat sonunda kas IGF-I mRNA düzeyinin değişmediği fakat 12, 24 ve 48 saatlerin sonunda gözlemlenen azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (Ekinci vd., 2011). Kuzularda yapılan bir çalışmada ise çinko eksikliğinin serum IGF-I konsantrasyonunu düşürdüğü tespit edilmiştir (Droke vd., 1993). Organik ve inorganik formda çinko verilen bu çalışmada da balıklarda IGF-I düzeyinin çinko uygulamasıyla değiştiği görülmüştür. Bu sonuç çinko ve IGF-I arasındaki yakın ilişkinin bir göstergesidir (Ekinci vd., 2011; Song vd., 2017).

4.7. Mineral Madde Düzeyleri

Farklı balık türlerinde çinko gereksiniminin yanı sıra büyüme, bağışıklık, oksidatif stres ve antioksidan durum üzerine farklı çinko kaynaklarının etkisini araştıran çalışmaların hemen hemen tamamında dokulardaki çinko birikimi de incelenmiştir. Örneğin, Kucukbay vd. (2006) alabalıklara 55 gün süreyle 30 ve 60 mg oranında çinko pikolinatın yemle verilmesinden sonra serum ve tüm vücut çinko konsantrasyonunun arttığını, bakır ve mangan konsantrasyonlarının ise değişmediğini ifade etmişlerdir. Bu araştırmacıların sonucuna paralel bulgular, Maage ve Julshamn (1993) ve Lorentzen ve Maage (1999) tarafından Atlantik salmonlarında, Gatlin ve Wilson (1984) tarafından kanal yayın balıklarında, Eid ve Ghonim (1994) tarafından tilapialarda ve Ma vd. (2014) tarafından kalkan balıklarında belirlenmiştir. Bu çalışmada ise deneme başlangıcına göre deneme sonunda hem organik hem de inorganik çinko formlarının uygulandığı balıklardan alınan kemik örneklerinde belirlenen çinko düzeylerinde herhangi bir farklılık belirlenmemiştir.

Diğer taraftan Huang vd. (2015) çinko sülfat içeren rasyonlarla 12 hafta beslenen tilapialarda, diyetle çinkonun artan miktarına bağlı olarak karaciğer, kas ve kemik dokusundaki demir ve magnezyum konsantrasyonlarının arttığını, karaciğer ve kas dokusundaki kalsiyum düzeyinin azaldığını, kemik dokusundaki kalsiyum düzeyinin ise değişmediğini bulmuşlardır. Liang vd. (2012) ise 0, 10, 20, 40, 80 ve 120 mg oranında

Çinko sülfat içeren rasyonlarla beslenen ot sazanında tüm vücut, kılçık, omurga ve karaciğer minerilazasyonunun diyetteki çinko düzeyiyle lineer olarak değiştiğini, 40 mg çinkonun uygulandığı gruplarda değişmeden stabil kaldığını, yine bu düzeyin üzerindeki çinko uygulamasıyla kalsiyum, fosfor ve magnezyum düzeylerinin düştüğünü belirtmişlerdir. Yukarıdaki araştırmacıların sonuçlarına zıt olarak bu çalışmada ise deneme başlangıcındaki mineral madde düzeyleriyle deneme sonundaki mineral madde düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmemiştir



5. ÖNERİLER

Sonuç olarak; pratik alabalık rasyonlarına ilave edilen dört farklı çinko formunun alabalıkların glikoz seviyesi, MDA düzeyi, SOD ve serum alkalın fosfataz aktivitesi ile IGF-I düzeyi üzerinde farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre;

1. Organik veya inorganik formda 30 mg/kg yem düzeyindeki çinko katkısının incelenen parametreler üzerinde olumlu etkisinin olduğu görülmektedir.
2. Gökkuşığı alabalıklarının her iki çinko formunu da değerlendirdiği fakat organik formda kullanılan çinkonun biyoyararlanım açısından inorganik formdaki çinkodan daha yararlı olduğu söylenebilir.
3. Farklı balık türlerinde, farklı oranlarda, farklı formlarda ve farklı parametreler kullanılarak çinko uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akça, S.**, 2008. Siroz hastalarında alkalen fosfataz izoenzimlerinin iki farklı yöntemle belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.
- Aksakal, E., Ceyhun, S.B., Erdogan, O. and Ekinci, D.**, 2010. Acute and long-term genotoxicity of deltamethrin to insulin-like growth factors and growth hormone in rainbow trout, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **152**, 451-455.
- Akkuş, İ.**, 1999. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Apines, M.J., Satoh, S., Kiron, V., Watanabe, T. and Fujita, S.**, 2003. Bioavailability and tissue distribution of amino acid-chelated trace elements in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Fisheries Sciences*, **69**, 722-730.
- Apines, M.J., Satoh, S., Kiron, V., Watanabe, T., Nasu, N. and Fujita, S.**, 2001. Bioavailability of amino acids chelated and glass embedded zinc to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings, *Aquaculture Nutrition*, **7**, 221-228.
- Apines, M.J.S., Satoh, Caipang, M.C.A., S., Kiron, V., Watanebe, T. and Aoki, T.**, 2004. Amino acids-chelated: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture*, **240**, 345-358.
- Arcasoy, A.**, 1998. İnsan Sağlığında Çinkonun Önemi. I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık) 12-16 Mayıs 1997, Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Eskişehir, 11-17.
- Arda, M., Seçer, S. ve Sarıeyyüpoğlu, M.**, 2005. Balık Hastalıkları, Medisan Yayın Serisi: 61, 230s, Ankara.
- Ası, T.**, 1996. Tablolarla Biyokimya, Tayf Ofset Savaş Cilt Evi, Ankara.
- Aydın, S., Yıldırım, A. ve Erdoğan, O.**, 2000. Aras nehrinde yaşayan *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772) 'nın kan glikoz düzeyindeki aylık değişimler, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **24**, 523-528.
- Bağdathoğlu, N. ve Nergiz, C.**, 1998. Gıdaların çinko içeriği ve beslenme açısından önemi. I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık) 12-16 Mayıs 1997, Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Eskişehir, 761-765.

- Benzer, F.**, 2001. *Fasciola Hepatica* ile enfekte koyunların kan ve karaciğer dokularında arginaz, nitrik oksit, bazı antioksidant enzimler ve lipid peroksidasyon düzeyleri ile karaciğer arginaz enziminin biyokimyasal özellikleri, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Bhagawati, K., Chadha, N.K., Sarma, D., Akhtar, M.S., Sawant, P.B. and Borah, S.**, 2016. Effect of dietary zinc on the growth and metabolic enzyme activities of golden mahseer (*Tor putitora*) fry, *Journal of Applied and Natural Science*, **8**, 1692-1698.
- Brzoska, M.M., Rogalska, J., Galazyn-Sidorczuk, M., Jurczuk, M., Roszczenko, A., Kulikowska-Karpinska, E. and Moniuszko-Jakoniuk, J.**, 2007. Effect of zinc supplementation on bone metabolism in male rats chronically exposed to cadmium, *Toxicology*, **237**, 89-103.
- Buhl, K. J. and Hamilton, J.S.**, 1990. Comparative toxicity of inorganic contaminants related by placer mining to early life stages of salmonids. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **20**, 325-342.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F.**, 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry, *British Medical Bulletin*, **49**, 481-493.
- Clearwater, S.J., Farag A.M., Meyer, J.S.**, 2002. Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **132**, 269-313.
- Clegg, M.S., Keen, C.L. and Donovan, S.M.**, 1995. Zinc deficiency-induced anorexia influences the distribution of serum insulin-like growth factor-binding proteins in the rat, *Metabolism Clinical and Experimental*, **44**, 1495-1501.
- Coulston, L. and Nandona, P.**, 1980. Insulin-like effect of zinc in adipocytes, *Diabetes*, **29**, 665-667.
- Çavdar, A.O.**, 1998. Hamile Kadınlarda Çinko (Plazma, Eritrosit ve Saç Çinko Düzeyleri ve Beslenmeyle İlgisi). I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık) 12-16 Mayıs 1997, Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Eskişehir, 1-10.
- Çetinkaya, O.**, 1995. Balık Besleme, Yüzüncü Yıl üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 9, Van.
- Çetinkaya, O.**, 1998. Balıklarda Çinko (Zn) İhtiyacı ve Toksisitesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **9 (1-2)**, 83-88.

- Dalmızrak, Ö.**, 2008. Meme kanseri hücrelerinde insülin reseptör substrat-1 proteininin tip I insülin-benzeri büyüme faktörü reseptörü aracılı promotör aktivasyonu ve transformasyon üzerine olan etkisi, *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Delibaş, N. ve Özçankaya, R.**, 1995. Serbest Radikaller, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2**, 11-17.
- Devine, A., Rosen, C., Mohan, S., Baylink, D. and Prince, R.L.**, 1998. Effects of zinc and other nutritional factors on insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins in postmenopausal women, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **68**, 200-206.
- Dikici, İ.**, 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- Do Carmo, E., Sá, M.V., Pezzato, L.E., Ferreira Lima, M.M.B. and de Magalhães Padilha, P.**, 2004. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets, *Aquaculture*, **238**, 385-401.
- Doğan, K.**, 1998. Çinkonun Hayvan Beslenmesindeki Yeri ve Önemi. I. Ulusal Çinko Kongresi (Tarım, Gıda ve Sağlık) 12-16 Mayıs 1997, Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Eskişehir, 25-30.
- Droke, E.A., Spears, J.W., Armstrong, J.D., Kegley, E.B. and Simpson, R.B.**, 1993. Dietary zinc affects serum concentrations of insulin and insulin-like growth factor I in growing lambs, *Journal of Nutrition*, **123**, 13-19.
- Duan, C.**, 1998. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish, *Journal of Nutrition*, **128**, 306-314.
- Eder, K.J., Clifford, M.A., Hedrick, R.P., Köhler, Heinz-R. and Werner, I.**, 2008. Expression of immune-regulatory genes in juvenile Chinook salmon following exposure to pesticides and infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV), *Fish & Shellfish Immunology*, **25**, 508-516.
- Eisler, R.**, 1993. Zinc Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: A Synoptic Review. U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife Service, Patuxent Wildlife Research Center, Biological Report 10 April, Contaminant Hazards Reports 26.

- Ekinci, D., Ceyhun, S.B., Aksakal, E. and Erdoğan, O.,** 2011. IGF and GH mRNA levels are suppressed upon exposure to micromolar concentrations of cobalt and zinc in rainbow trout white muscle, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **153**, 336-341.
- Elinder, C. G.,** 1986. Zinc. Pages 664-679 in L. Friberg, G. E. Nordberg, and V. B. Vouk, editors. Handbook on the toxicology of metals, second edition. Volume II: specific metals. Elsevier, New York.
- Falkmer, S., Odselius, R., Blondel, B., Prentk, M. and Wollheim, C.B.,** 1985. Energy dispersive X-ray microanalysis of zinc and calcium in organelles of insulin-producing cells of the mouse, rat, and a fish, *Biomedica Biochimica Acta*, **44**, 37-43.
- Faure, P., Roussel, A., Coudray, C., Richard, M.J., Halimi, S. and Favier, A.,** 1992. Zinc and insulin sensitivity, *Biological Trace Element Research*, **32**, 305-310.
- Feng, L., Tan, L.N., Liu, Y., Jiang, W.D., Hu, K., Li, S.H. and Zhou, X.Q.,** 2011. Influence of dietary zinc on lipid peroxidation, protein oxidation and antioxidant defence of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), *Aquaculture Nutrition*, **17**, 875-882.
- Gatlin, D.M. and Wilson, R.P.,** 1984. Zinc supplementation of practical channel catfish diets, *Aquaculture*, **41**, 31-36.
- Girgin Başusta, A.,** 2005. Balık hematolojisi ve hematolojik metotlar. Karataş, M. (Editör), Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, Nobel Yayınları, Ankara.
- Greider, M.H., Howell, S.L. and Lacy, P.E.,** 1969. Isolation and properties of secretory granules from rat islets of Langerhans. II. ultrastructure of the beta granule, *Journal of Cell Biology*, **41**, 162-166.
- Hambidge, K.M., Casey, C.E., Krebs, N.S.,** 1986. Zinc, In: Mertz, W. (Ed.), 5th edn. Trace Element in Human and Animal Nutrition, vol. 2. Academic Press, San Diego, pp. 1-137.
- Harbili, S.,** 2008. İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF): Egzersiz metabolizması ve kas dokusu üzerine etkileri. *Tip Dergisi*, **18 (4)**, 177-184.
- Hardy, R.W. and Sheare, K.D.,** 1985, Effect of dietary calcium phosphate and zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**, 181-184.

- Harhoğlu, M.M., Köprücü, K., Yılmaz, Ö., Çakmak, M.N., Aksu, Ö., Harhoğlu, A.G., Mişe Yonar, S., Çakmak Duran, T., Aydın, S. ve Özcan, S., 2012.** Kerevit yemine katılan n-3 serisi yağ asitlerinin pleopodal yumurta, hepatopankreas ve kas dokusunda lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeylerine etkisi, *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, **2(5)**, 8-16.
- Hidalgo, M.C., Expósito, A., Palma, J.M. and de la Higuera, M., 2002.** Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **34**, 183-193.
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. ve Fırat, A., 2003.** Balık Besleme ve Yem Teknolojisi I (Balık Besleme Fizyolojisi ve Biyokimyası), Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No: 50, Bornava, İzmir.
- Huang, F., Jiang, M., Wen, H., Wu, F., Liu, W., Tian, J. and Yang, C., 2015.** Dietary zinc requirement of adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed semi-purified diets, and effects on tissue mineral composition and antioxidant responses, *Aquaculture*, **439**, 53-59.
- Ihara, Y., Nobukuni, K., Takata, H. and Hayabara, T., 2005.** Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation, *Neurological Research*, **27**, 105-108.
- Ince, B.W. and Thorpe, A., 1978.** The effects of insulin on plasma amino acid levels in the Northern pike, *Esox lucius* L, *Jornal of Fish Biology*, **12**, 503-506.
- Jiang, M., Wu, Fan., Huang, F., Wen, H., Liu, W., Tian J., Yang, C. and Wang, W., 2016.** Effects of dietary Zn on growth performance, antioxidant responses, and sperm motility of adult blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*, *Aquaculture*, **464**, 121-128.
- Kalender, S., Kalender, Y., Ögütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Durak, D. and Açıkgöz, F., 2002.** Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E, *Toxicology*, **202**, 227-235.
- Kandemir, F.M., Benzer, F., Erisir, M. and Yildirim, N.C., 2011.** Malondialdehyde levels and glutathione peroxidase activities in the tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) in culture condition, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, **21(2)**, 146-150.
- Karagül, H., Altıntaş, A., Fidancı, R. and Sel, T., 2000.** Klinik Biyokimya, Medisan Yayın Serisi 45, Ankara.

- Knox, D., Cowey, C.B. and Adron, J.W.**, 1982. Effect of dietary copper and copper: zinc ratio on rainbow trout *Salmo gairdneri*, *Aquaculture*, **27**, 111-119.
- Kosava , F.**, 2004. İnsülin ve tiroid hormonlarının antioksidan enzimler üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Köprücü, K.**, 2008. Balık Besleme, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Besleme Ders Notları, Elazığ.
- Köse, K. ve Doğan, P.**, 1992, Lipid Peroksidasyonu, *Erciyes Tıp Dergisi*, **1**, 340-350.
- Kucukbay, Z., Yazlak, H., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakamak, M.N., Gurdogan, F., Juturu, V. and Sahin, K.**, 2006. Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, **257**, 465-469.
- Kumar, N., Krishnani, K.K., Kumar, P., Jha, A.K., Gupta, S.K. and Singh, N.P.**, 2017. Dietary zinc promotes immuno-biochemical plasticity and protects fish against multiple stresses, *Fish & Shellfish Immunology*, **62**, 184-194.
- Lall, S.P.**, 2002. The minerals, In: J.E., Halver, R.E. Hardy (Editors), *Fish Nutrition*, Third Edition, Academic Pres, New York, 260-305.
- Lim, C. and Webster, C. D.**, 2001. *Nutrition and Fish Health*, Food Products Pres, 365s.
- Liang, J.J., Yang, H.J., Liu, Y.J., Tian, L.X., and Liang, G.Y.**, 2012. Dietary zinc requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on growth and mineralization, *Aquaculture Nutrition*, **18**, 380-387.
- Lowry, O. H., Rosenberough, N. J., Farr, A.L. and Randal, R. J.**, 1951. Protein measurement with folinphenol reagent, *Journal of Biochemistry*, **193**, 265 – 275.
- Lushchak, V.I. and Bagnyukova, T.V.**, 2006, Effect of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* **144**, 283–289.
- Luckenbach, J.A., Murashige, R., Daniels, H.V., Godwin, J. and Borski, R.J.**, 2007. Temperature affects insulin-like growth factor I and growth of juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, *Comparative Biochemistry and Physiology A*, **146**, 95-104.

- Ma, R., Hou, H., Mai, K., Bharadwaj, A.S., Ji, F. and Zhang, W.,** 2014. Comparative study on the bioavailability of chelated or inorganic zinc in diets containing tricalcium phosphate and phytate to turbot (*Scophthalmus maximus*), *Aquaculture*, **420-421**, 187-192.
- Maage, A., Julshamn, K., and Berge, G.E.,** 2001, Zinc gluconate and zinc sulphate as dietary zinc sources for Atlantic salmon, *Aquaculture Nutrition*, **7**, 183-187.
- Mathews, L.S., Norstedt, G. and Palmiter, R.D.,** 1986. Regulation of insulin-like growth factor I gene expression by growth hormone, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **83**, 9343-9347.
- May, J.M. and Contoreggi, C.S.,** 1982. The mechanism of the insulinlike effects of ionic zinc, *The Journal of Biological Chemistry*, **257**, 4362-4368.
- McNall, A.D., Etherton, T.D. and Fosmire, G.J.,** 1995. The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes, *Journal of Nutrition*, **125**, 874-879.
- Memişoğulları, R.,** 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Derg.*,3: 30-39.
- Millward, D.J.,** 1989. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover, *Aquaculture*, **79**, 1-28.
- Moksness, E., Kjørsvik, E. and Olsen, Y.,** 2004. Culture of cold-water marine fish. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 255–256.
- Moriyama, S., Ayson, F.G. and Kawauchi, H.,** 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **64**, 1553–1562.
- Morales E.A., Jimenez, A., Hidalgo, C.M., Abellan, E. and Cardenetre, G.,** 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged startation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Psycology C*, **139**, 153-161.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W.,** 1996. Harper'in Biyokimyası, 24. Baskı, İstanbul.
- National Research Council (NRC),** 1997. Nutrient Requirments of Fish, National Acedemic Pres, Washington, USA.

- Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B.T. and McCormick, S.D.,** 2007. Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon, *Aquatic Toxicology*, **84**, 27-37.
- Ninth, N.X., Thissen, J.P., Collette, L., Gerard, G., Khoi, H.H. and Ketelslegers, J.M.,** 1996. Zinc supplementation increases growth and circulating insulin-like growth factor I (IGF-I) in growth-retarded Vietnamese children. *American Journal of Clinical Nutrition*, **63**, 514-519.
- Ogino, C. and Yang, G.Y.,** 1978. Requirement of rainbow trout for dietary zinc, *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, **44**, 1015-1018.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y.,** 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Paripatananont, T. and Lovell, R. T.,** 1995. Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, *Aquaculture*, **133**, 73-82.
- Park, J.H.Y., Grandjean, C.T., Hart, M.H., Erdman, S.H., Pour, P. and Vanderhof, J.A.,** 1986. Effect of pure zinc deficiency on glucose tolerance and insulin and glucagon levels, *American Journal of Physiology*, **251**, 273-278.
- Paski, S.C. and Xu, Z.,** 2001. Labile intracellular zinc is associated with 3T3 cell growth, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **12**, 655-661.
- Piner, P.,** 2005. Fenthion içeren ortamda BSO ve NAC'nin *Oreochromis niloticus*'da beyin dokusunda glutatyon metabolizması, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Biyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Placer, Z.A., Cushman, L. and Johnson, B.C.,** 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids, *Analytical Biochemistry*, **16**, 359-364.
- Poppinga, J., Kittilson, J., McCormick, S.D. and Sheridan, M.A.,** 2007. Effects of somatostatin on the growth hormone-insulin-like growth factor axis and seawater adaptation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, **273**, 312-319.
- Powell, S.R., Hall, D., Aiuto, L., Wapnir, R.A., Teichberg, S. and Tortolani, A.J.,** 1994. Zinc improves postischemic recovery of isolated rat hearts through inhibition of oxidative stress, *American Journal of Physiology*, **266**, 2497-2507.

- Prasad, A. S., Bao, B., Beck, F. W.J., Kucuk, O. and Sarkar, F.H.,** 2004. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, **37 (8)**, 1182–1190.
- Ramseyer, L., D. Garling, Jr., G. Hill, G. and Link, J.,** 1999. Effect of dietary zinc supplementation and phytase pre-treatment of soybean meal or corn gluten meal on growth, zinc status and zinc-related metabolism in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Fish Physiology and Biochemistry*, **20**, 251-261.
- Salgueiro, M.J., Zubillaga, M., Lysionek, A., Sarabia, M.I., Caro, R., De Paoli, T., Hager, A., Weill, R. and Boccio, J.,** 2000. Zinc as essential micronutrient: a review, *Nutrition Research*, **20**, 737-755.
- Sarı, M. ve Çakmak, M.N.,** 1994. Balık Besleme, Fırat Üniversitesi Yayınları No:37, Elazığ.
- Shiau, S.Y. and Jiang, L.C.,** 2006. Dietary zinc requirements of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on immune responses, *Aquaculture*, **254**, 476-482.
- Song, Z.X., Jiang W.D., Liu, Y., Wu, P., Jiang, J., Zhou, X.Q., Kuang, S.Y., Tang, L., Tang, W.N., Zhang, Y.A. and Feng, L.,** 2017. Dietary zinc deficiency reduced growth performance, intestinal immune and physical barrier functions related to NF- κ B, TOR, Nrf2, JNK and MLCK signaling pathway of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Fish & Shellfish Immunology*, **66**, 497-523.
- Sümbüloğlu, K.,** 1998. Biyoistatistik, Hatipoğlu Yayınevi, Yayın No: 53, Ankara.
- Tacon, A.G.J.,** 1987. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp- A Training Manual, Vol. 1. *The Essential Nutrients*, GCP/075/ITA, FAO/UNDP, Rome.
- Tan, B. and Mai, K.,** 2001. Zinc methionine and zinc sulfate as sources of dietary zinc for juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino, *Aquaculture*, **192**, 67-84.
- Üstdal, M., Karaca, L., Türköz, Y., Kuş, S. ve Paşaoğlu, H.,** 2003. Biyokimya, Medipres Marbaacılık Ltd. Şti., Malatya.
- Very, N.M., Kittilson, J.D., Klein, S.E. and Sheridan, M.A.,** 2008. Somatostatin inhibits basal and growth hormone-stimulated hepatic insulin-like growth factor-I production, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **281**, 19-26.
- Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S.,** 1997. Trace minerals in fish nutrition, *Aquaculture*, **151**, 185-207.

- Watson, T.A. and Mckeown, B.A.**, 1973. The effect of sublethal concentrations of zinc on growth and plasma glucose levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), *Journal of Wildlife Diseases*, **12**, 263-270.
- Wekell, J.C., Shearer, K.D. and Gauglitz, E.J.**, 1986. Zinc supplementation of trout diets: tissue indicators of body zinc status, *The Progressive Fish Culturist*, **48**, 205-212.
- Winston, G.W. and Di Giulio, R.T.**, 1991. Prooxidant and Antioxidant Mechanisms in Aquatic Organisms, *Aquatic Toxicology*, **19**, 137-161.
- Yada, T., Muto, K., Azuma, T., Hyodo, S. and Schreck, C.B.**, 2005. Cortisol stimulates growth hormone gene expression in rainbowtrout leucocytes in vitro, *General and Comparative Endocrinology*, **142**, 248-255.
- Yanbeyi, S.**, 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yonar, M.E.**, 2008. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin tedavisinde propolis kullanılması, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Yuan, L., Li, M., Zhang, Y., Tao, Z. and Wang, R.**, 2016. The protective effects of dietary zinc on dietary copper toxicity in large yellow croaker *Larimichthys croceus*, *Aquaculture*, **462**, 30-34.
- Zhao, H.X., Cao, J.M., Liu, X.H., Zhu, X., Chen, S.C., Lan, H.B. and Wang, A.L.**, 2011. Effect of supplemental dietary zinc sources on the growth and carbohydrate utilization of tilapia Smith 1840, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, *Aquaculture Nutrition*, **17**, 64-72.

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 01.04.1980 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ni 1998 yılında kazandım. Bu fakülteden 2002 yılında mezun oldum. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda 2004 yılında yüksek lisans çalışmalarına başladım. 2006 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra 2006 - 2007 eğitim yılının güz döneminde Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda doktora yapmaya başladım. Elazığ Belediyesi'nde 2008 yılında su ürünleri mühendisi olarak göreve başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim. Evliyim ve iki çocuk annesiyim.

Hande ÖZDEMİR