

T.C.  
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**MASERE UDİ HİNDİ (*Aquilaria agallocha* Roxb.) YAĞININ YÜKSEK  
YOĞUNLUKTA STOKLANAN JAPON BALIKLARINDA (*Carassius auratus*)  
ANTIÖKSİDAN DURUMUNA ETKİLERİ**

**Murat BÖRÜBAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Volkan KIZAK**

**2. DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Önder AKSU**

**TUNCELİ-2023**

T.C.  
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MASERE UDİ HİNDİ (*Aquilaria agallocha* Roxb.) YAĞININ YÜKSEK  
YOĞUNLUKTA STOKLANAN JAPON BALIKLARINDA (*Carassius auratus*)  
ANTIÖKSİDAN DURUMUNA ETKİLERİ

Murat BÖRÜBAŞ  
(200100005)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Volkan KIZAK  
2. DANIŞMAN  
Doç. Dr. Önder AKSU

TUNCELİ-2023

T.C.  
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**MASERE UDİ HİNDİ (*Aquilaria agallocha* Roxb.) YAĞININ YÜKSEK  
YOĞUNLUKTA STOKLANAN JAPON BALIKLARINDA (*Carassius auratus*)  
ANTIOKSİDAN DURUMUNA ETKİLERİ**

**Murat BÖRÜBAŞ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 21/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Prof. Dr. Volkan KIZAK  
(Munzur Üniversitesi)

Doç. Dr. Başar  
ALTINTERİM (Malatya  
Turgut Özal Üniversitesi)

Doç. Dr. Banu KUTLU  
(Munzur Üniversitesi)

**DANIŞMAN**

**ÜYE**

**ÜYE**

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

**Proje No:** YLMUB021-21

**NOT:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynakgösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

21/06/2023

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza  
Murat BÖRÜBAŞ

Danışman  
Prof. Dr. Volkan KIZAK

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim sürecinde benden desteğini esirgemeyen ve her konuda yardımcı olan tez danışmanlarım Prof. Dr. Volkan KIZAK ve Doç. Dr. Önder AKSU'ya teşekkür ederim.

**Murat BÖRÜBAŞ**

**TUNCELİ-2023**



## İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	IV
TABLolar LİSTESİ .....	V
RESİMLER LİSTESİ .....	VI
KISALTMALAR LİSTESİ .....	VII
ÖZET .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Stres Faktörü Olarak Stoklama Yoğunluğu.....	2
1.2. Stoklama Yoğunluğu Kaynaklı Stres Tepkileri .....	3
1.3. Balık Büyümesinde Stoklama Yoğunluğunun Etkisi.....	4
1.4. Stoklama Yoğunluğu ve Oksidatif Stres.....	5
1.5. Antioksidan Savunma Sistemi.....	6
1.6. Doğal Antioksidanlar.....	7
1.7. Akuakültürde Doğal Antioksidan Kullanımı.....	7
1.8. Udi Hindi Bitkisi ( <i>Aquilaria agallocha</i> ) .....	8
1.9. Masere Yağlar.....	9
1.10. Japon Balığı ( <i>Carassius auratus</i> ) .....	10
<b>2. MATERYAL VE METOT</b> .....	11
2.1. Etik Kurul İzni, Deneme Yeri ve Çalışma Alanı.....	11
2.2. Balık, Yem ve Masere Udi Hindi Yağı .....	12
2.3. Deneme Planı.....	13
2.4. Ölçümler .....	13
2.4.1. Su parametreleri .....	13
2.4.2. Canlı ağırlık .....	13
2.4.3. Antioksidan analizleri.....	14
2.4.3.1. Diseksiyon .....	14
2.4.3.2. Süpernatantlar .....	15
2.4.3.3. Biyokimyasal analizler .....	17
2.5. İstatistiksel Analizler .....	18
<b>3. BULGULAR</b> .....	18
3.1. Su Kalitesi .....	19
3.2. Büyüme ve Yaşama Oranı .....	19
3.3. Biyokimyasal Bulgular.....	21
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	24
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	29
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	31
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Grupların zamana bağlı canlı ağırlık artışları. ....	20
Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grupları kastaki SOD enzim aktiviteleri.....	21
Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grupları kastaki CAT enzim aktiviteleri.....	22
Şekil 3.4. Kontrol ve deneme grupları kastaki MDA düzeyleri.....	23



## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 3.1.</b> Grúplarda su sıcaklığı, çözünmüş O <sub>2</sub> ve pH değerleri (ort. $\pm$ s.h.).....	19
<b>Tablo 3.2.</b> Kontrol ve deneme grúplarında canlı ağırlıklar (gr) (ort. $\pm$ s.h.).....	19
<b>Tablo 3.3.</b> Büyüme parametrelerine ait veriler (ort. $\pm$ s.h.)..	20
<b>Tablo 3.4.</b> SOD, CAT ve MDA sonuçları (ort. $\pm$ s.h.).....	20



## RESİMLER LİSTESİ

<b>Resim 2.1.</b> Balık tankları (Orijinal).....	11
<b>Resim 2.2.</b> Deneme grupları (Orijinal)..	12
<b>Resim 2.3.</b> Akvaryum balığı yemi (Orijinal)...	13
<b>Resim 2.4.</b> Kas dokusunda diseksiyon (Orijinal).....	15
<b>Resim 2.5.</b> Homojenizatör (Orijinal)...	16
<b>Resim 2.6.</b> Homojenizasyon işlemi (Orijinal).....	16
<b>Resim 2.7.</b> Fish MDA kit (Orijinal).....	17
<b>Resim 2.8.</b> Mikroplate (Orijinal).....	17
<b>Resim 2.9.</b> Bilgisayarlı mikroplate reader (Orijinal)...	18



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>ark.</b>	: Arkadaşları
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>FAWC</b>	: Farmed Animal Welfare Council
<b>FSBI</b>	: Fisheries Society of the British Isles
<b>gr</b>	: Gram
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>HSP70</b>	: Heat shock protein
<b>lt</b>	: Litre
<b>MB</b>	: Mutlak Büyüme
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>mg</b>	: Miligram
<b>No.</b>	: Numara
<b>Ort.</b>	: Ortalama
<b>p</b>	: Güven aralığı
<b>pH</b>	: Asitlik bazlık derecesi
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>RBO</b>	: Relatif büyüme oranı
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>Rpm</b>	: dakikadaki devir sayısı
<b>SBO</b>	: Spesifik Büyüme Oranı
<b>s.h.</b>	: Standart hata
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>t</b>	: Periyot
<b>W<sub>t</sub></b>	: Final canlı ağırlığı (gr)
<b>W<sub>i</sub></b>	: Başlangıç canlı ağırlığı (gr)
<b>w/v</b>	: Hacimde ağırlıkça yüzde
<b>YDO</b>	: Yem dönüşüm oranı

## ÖZET

Bu tez çalışmasında, masere udi hindi (*Aquilaria agallocha* Roxb.) yağının yüksek yoğunlukta stoklanan Japon balıklarının (*Carassius auratus*) antioksidan durumuna ve büyüme performansına olan etkileri incelenmiştir. 30 gün süren çalışma sonunda en yüksek canlı ağırlık Mas1 grubunda elde edilirken, yüksek stoklama yoğunluğundaki masere udi hindi deneme gruplarında bütün son ağırlık verileri KY grubuna göre yüksek bulunmuştur. En iyi YDO değeri Mas1 grubunda bulunurken, yüksek stoklama yoğunluğundaki Mas05 ve Mas2 gruplarına ait YDO değerleri, düşük stoklama yoğunluklu KD grubuna göre daha iyi çıkmıştır. MB, RBO ve SBO büyüme parametreleri bakımından Mas1 grubu en yüksek değerleri verirken, KY grubunda en düşük veriler kaydedilmiştir. Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerin yüksek stoklama yoğunluğundaki Japon balıklarının büyüme performansında etkili olduğu görülmüştür. Büyüme performansı açısından en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak tespit edilmiştir. Antioksidan durumu ile ilgili olarak, Japon balıklarının masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenmesi yüksek stoklama yoğunluğunda oksidatif stresi azaltmıştır. Yüksek stoklama yoğunluklarında, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin artışında en etkili masere udi hindi yağı oranları sırasıyla %1 ve %0,5 olarak tespit edilmiştir. MDA düzeyinin azaltılmasında en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, Japon balıklarının yüksek stoklama yoğunluğunda büyüme performansının ve antioksidan durumunun iyileştirilmesinde masere udi hindi yağı etkili bulunmuştur. Büyüme performansı ve antioksidan durumu göz önünde bulundurulduğunda, Japon balıkları için yemlerinde tavsiye edilebilecek masere udi hindi yağı optimal oranı %1'dir.

**Anahtar Kelimeler:** *Aquilaria agallocha*, masere yağ, *Carassius auratus*, büyüme, antioksidan.

## ABSTRACT

### **Effects of macerated oil from agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.) on antioxidant status in goldfish (*Carassius auratus*) stocked in high density**

In this thesis, the effects of macerated agarwood (*Aquilaria agallocha* Roxb.) oil on the antioxidant status and growth performance of high-stocked goldfish (*Carassius auratus*) were investigated. At the end of 30 days of trial, the highest body weight was obtained in the Mas1 group, while all final weight data in the macerated agarwood trial groups with high stocking density were higher than the KY group. While the best FCR value was found in the Mas1 group, the FCR values of the Mas05 and Mas2 groups with high stocking density were better than the KD group with low stocking density. In terms of MB, RBO and SBO growth parameters, Mas1 group gave the highest values, while the lowest data were recorded in the KY group. It has been observed that feeds supplemented with macerated agarwood oil is effective in the growth performance of goldfish at high stocking density. The most effective macerated agarwood oil ratio was determined as 1% in terms of growth performance. Regarding antioxidant status, feeds supplemented with macerated agarwood oil reduced oxidative stress of goldfish at high stocking density. The most effective macerated agarwood oil ratios on the increase of SOD and CAT enzyme activities at high stocking densities were determined as 1% and 0.5%, respectively. The most effective macerated agarwood oil ratio was determined as 1% for reducing the MDA level. As a result, macerated agarwood oil was found to be effective in improving the growth performance and antioxidant status of goldfish at high stocking density. Considering the growth performance and antioxidant status, the optimal ratio of macerated agarwood oil in feed that can be recommended for goldfish is 1%.

**Key words:** *Aquilaria agallocha*, macerated oil, *Carassius auratus*, growth, antioxidant.

## 1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği dünyanın en hızlı büyüyen gıda üretim sektörüdür. Avcılıktan elde edilen üretim maksimum potansiyeline ulaştığından, dünyanın hemen hemen tüm bölgelerinde su ürünleri yetiştiriciliği gelişmekte, genişlemekte ve yoğunlaşmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinden elde edilen küresel balık üretimi son kırk yılda hızla artmış ve balık arzına önemli miktarlarda katkıda bulunulmuştur. Günümüzde akuakültür, dünyadaki besin balıklarının neredeyse yarısını karşılamaktadır. Devam eden büyümesiyle yakın gelecekte su ürünleri yetiştiriciliğinin doğrudan insan tüketimi için avlanan balıkçılıktan daha fazla balık üretmesi beklenmektedir (Subasinghe ve ark., 2009).

Türkiye’de su ürünleri üretimi 2022 yılında bir önceki yıla göre %6,2 artarak 849.808 ton olarak gerçekleşmiştir. Üretimin %30’unu avcılık yoluyla elde edilen deniz balıkları, %5,6’sını avcılık yoluyla elde edilen diğer deniz ürünleri, %3,9’unu avcılık yoluyla elde edilen iç su ürünleri ve %60,6’sını yetiştiricilik ürünleri oluşturmuştur. Avcılık yoluyla yapılan toplam üretim 335.003 ton olurken, yetiştiricilik üretimi 514.805 ton olarak gerçekleşmiştir. Deniz ürünleri avcılığı bir önceki yıla göre %2,3 artmış, iç su ürünleri avcılığı ise %0,4 artmıştır. Yetiştiricilik yoluyla yapılan üretimin 2022 yılında 368.742 tonu denizlerde, 146.063 tonu iç sularda gerçekleşmiştir. Yetiştirilen en önemli balık türü iç sularda 145.649 ton ile alabalık, denizlerde ise 156.602 ton ile levrek ve 152.469 ton ile çipura olmuştur (URL-1, 2023).

Su ürünlerine olan talebin yıldan yıla artması nedeniyle üretimin artırılması zorunluluğu ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple yeni tesislerin açılması yoluna veya mevcut tesislerin kapasite arttırımına gidilmektedir. Bunun yanında, su koşullarının ve teknolojik olanakların el verdiği ölçüde birim hacimde stoklama yoğunluğunun arttırılması yöntemi de uygulanmaktadır. Stoklama yoğunluğunun arttırılması yetiştirilen ürün miktarının artışını sağlasa da beraberinde balık refahı ile ilgili sorunlar getirebilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde balık refahı büyük bir ilgi alanı olmuştur (Long ve ark., 2019). Balık refahını etkileyebilecek çeşitli faktörler arasında stoklama yoğunluğu, besin yoksunluğu, genetik manipulasyon, saldırganlık, hastalık ve nakil yer almaktadır (Conte, 2004). Çevresel stres faktörleri, su ürünleri yetiştiriciliği koşullarında balık performansını sınırlayan önemli faktörlerdir (Pickering, 1992; Wendelaar-Bonga, 1997; Ellis ve ark., 2002). Balıklar olumsuz çevre koşullarına maruz kaldığında, hayatta kalma, büyüme ve üreme yeteneğinde değişikliklerle sonuçlanan bazı endokrin ve fizyolojik değişiklikler meydana gelir (Barton

ve Iwama, 1991; Pickering, 1992). Su ürünleri yetiştiriciliğinde yapılan önceki çalışmalar, stoklama yoğunluğunun su kalitesini, hayatta kalmayı, büyümeyi, bağışıklık yanıtlarını, gen ifadesini ve üretimi doğrudan etkileyebilecek kritik bir faktör olduğunu ortaya koymuştur (Jia ve ark., 2016; Yarahmadi ve ark., 2016).

Yüksek stoklama yoğunluğu, balığı çeşitli patojenlere karşı daha duyarlı hale getirir (Yarahmadi ve ark., 2016) ve ayrıca, oksidatif strese neden olacak reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu da artırır (Braun ve ark., 2010). Şifalı bitkiler balık yetiştiriciliğinde önemli bir terapötik kaynak olma potansiyeli içermektedir ve organizmaların oksidatif stresle başa çıkmasını sağlayan antioksidanları içermektedir (Syahidah ve ark., 2015).

Akuakültürde kemoterapötikler, anestezi maddeleri, immunostimulantlar veya büyümeyi artırıcı yem katkı maddeleri sıklıkla kullanılan ajanlardır. Kimyasal içerikli ajanlar rezidü oluşturarak balık, çevre ve insan sağlığına tehdit oluşturabilmektedir. Bitkisel ürünlerin kullanımı ile bu sorunların önüne geçmek mümkündür (Çelik, 2020).

Masere udi hindi yağı ile Japon balıkları üzerine yapılan bu tez çalışması ilk olma özelliğindedir. Tez çalışmasında, masere udi hindi (*Aquilaria agallocha* Roxb.) yağının yüksek yoğunlukta stoklanan Japon balıklarının (*Carassius auratus*) antioksidan durumuna ve büyüme performansına olan etkileri incelenmiştir. Bu tez çalışması, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje No: YLMUB021-21).

### **1.1. Stres Faktörü Olarak Stoklama Yoğunluğu**

Balıkların yakalanması ve taşınması, balıklara müdahale edilmesi, balıkların yoğun stoklanması, hiper veya hipotermi, hipoksik koşullar, hiper veya hipo tuzluluk, yetersiz beslenme ve çeşitli türlerde kirletici maddeler gibi balığa özgü stres etkenleri vardır. Bu stres faktörleri, balığın normal morfolojisini ve fizyolojisini engelleyen stres tepkisine neden olur (Harper ve Wolf, 2009). Balığın büyüme performansını düşürmesi nedeniyle bir stres faktörü olan yüksek stoklama yoğunluğu (Ellis ve ark., 2002), balıklarda kronik strese neden olmaktadır (Montero ve ark., 1999a). Bununla birlikte, Ashley (2007)'e göre balık refahı ile ilgili bir alan olan stoklama yoğunluğunun etkileri karmaşıktır ve birbiriyle etkileşim halinde olan ve duruma özgü çok sayıda faktörden oluşuyor gibi görünmektedir. Stok yoğunluğu, diyet, besleme tekniği ve yönetim prosedürlerinin hepsinin stres tepkileri, müteakip stres toleransı, sağlık ve agresif davranışların oluşumu üzerinde güçlü etkileri vardır.

Özellikle kapalı ortamlardaki yüksek yoğunlukların yüksek üretkenliği amaçladığı su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde balık refahını etkileyen stoklama yoğunluğu, genellikle, birim hacim başına balık ağırlığını ifade etmek için kullanılan bir terimdir (Ellis, 2001). Herhangi bir zamanda balık büyüdükçe stoklama yoğunluğu artacak veya sınıflandırmayı takiben azalacaktır. Bu nedenle stoklama yoğunluğunun sahada ölçümü zordur. Balıklar üç boyutlu bir ortam kullandığından, bir balık için minimum alan kavramı karasal türlere göre daha karmaşıktır (Ellis, 2001; FSBI, 2002; Conte, 2004). Balıklar hem fizyolojik hem de davranışsal ihtiyaçlar için bu ortama bağımlı olduğundan, stoklama yoğunluğuyla ilgili refah endişeleri, hem buldukları ortamın taşıma kapasitesini hem de türün mekansal ve davranışsal ihtiyaçlarını ele almalıdır. Taşıma kapasitesi, bir ortamın O<sub>2</sub> temini ve metabolik atığın uzaklaştırılması yoluyla destekleyebileceği maksimum balık sayısını ifade eder ve diğer şeylerin yanı sıra balığın O<sub>2</sub> tüketim oranı ve CO<sub>2</sub>, amonyak gibi metabolik atık ürünlere tepkisi ile belirlenir (Ellis, 2001). FAWC, fizyolojik ihtiyaçları karşılamamanın ötesinde, balıkların "minimum ağrı, stres ve korku ile en normal davranışı göstermek için yeterli alana ihtiyaç duyduğunu" önermektedir (FAWC, 1996).

Stoklama yoğunluğundaki azalma, hastalığın fiziksel yayılmasını azaltabilir, ancak stoklama yoğunluğunun su kalitesi, partikül madde ve balıklar arası etkileşim gibi refahın diğer birçok yönü üzerinde de etkisi söz konusudur (Ellis ve ark., 2002). Yoğunluğun refah ölçütleri üzerindeki etkisi türler arasında farklılık gösterir. Örneğin, *Dicentrarchus labrax* yüksek yoğunluklarda daha yüksek stres seviyeleri göstermiştir (Vazzana ve ark., 2002; Gornati ve ark., 2004). Yavru çipuradaki (*Sparus aurata*) yüksek stoklama yoğunlukları, yüksek kortizol seviyeleri, immün baskılama, değişen metabolizma ile yansıtılan kronik bir stres durumu da üretir (Montero ve ark., 1999b). Buna karşılık, *Salvelinus alpinus* türü yüksek stoklama yoğunluklarında stoklandığında iyi beslenir ve büyür, ancak düşük yoğunluklarda düşük gıda alımı ve büyüme oranları gösterir (Jorgensen ve ark., 1993). Tilapia türünü de küçük bir rezervuarda yüksek yoğunlukta stoklamak, iyi yaşama oranı ve makul büyüme oranı nedeniyle arazi kısıtlılığı sorununu ve üretim maliyetini azaltabilir (Huang ve Chiu, 1997).

## **1.2. Stoklama Yoğunluğu Kaynaklı Stres Tepkileri**

Kültür balıkları, artan stoklama yoğunluğunun veya aşırı kalabalığın stres tepkilerine neden olduğu ve balık sağlığı için önemli bir risk oluşturduğu yetiştiricilik sistemlerinde

farklı stres faktörlerine maruz kalmaktadır (Ortuno ve ark., 2001). Stres tepkileri birincil, ikincil ve üçüncül veya tüm hayvan tepkileri olmak üzere üç ana gruba ayrılır (Barton ve Iwama, 1991). ACTH hormonu salgılanması, kortizol ve kateşolaminler gibi serum kortikosteroid hormonlarının hipotalamus-hipofiz-interrenal eksen tarafından artması birincil stres tepkileri olarak kabul edilir. Stresli durumlarda glikoz, laktat, ozmolalite ve antioksidan yanıt gibi bazı serum metabolitlerindeki değişiklikler, teleostlarda majör ikincil stres yanıtları olarak bilinir (Barton, 2002). Kısa ve uzun vadeli aşırı kalabalık, plazma kortizol seviyesini yükseltir ve balıklarda (Montero ve ark., 1999b; Ramsay ve ark., 2006) ikincil ve üçüncül stres tepkilerine neden olur, bu da daha sonra balık sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açar. Akut stresin aksine, uzun süreli aşırı stoklama yoğunluğu gibi kronik stres, nöroendokrin mekanizmalar yoluyla doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık tepkilerini baskılar (Dhabhar, 2007). Aşırı stoklama yoğunluğu, endokrin sistemin çeşitli mekanizmalarının neden olduğu bağışıklık tepkilerinin baskılanmasına katkıda bulunduğundan, stoklama yoğunluğunun bulaşıcı hastalık salgınları üzerindeki etkisi balık üretiminde önemli bir faktördür (Pickering ve Pottinger, 1989). Stoklama yoğunluğunun artması, HSP70 gen ekspresyonunda ve serumda stres tepkilerinin seviyelerinde artışa neden olmaktadır (Yarahmadi ve ark., 2016).

### **1.3. Balık Büyümesinde Stoklama Yoğunluğunun Etkisi**

Su ürünleri yetiştiriciliğinde yüksek stoklama yoğunluğu, plazma kortizol düzeylerinde uzun süreli bir yükselmeye ve zarar verici sonuçlara neden olabilen bir kronik stres etkenidir (Pickering ve Pottinger, 1989; Barton ve Iwama, 1991; Trenzado ve ark., 2006). Yüksek stoklama yoğunluğunun en olumsuz etkisi baskılanmış büyümedir (Ross ve Watten, 1998; Irwin ve ark., 1999; Rowland ve ark., 2006). Bu etki, azalan gıda tüketimi dahil olmak üzere çeşitli faktörlere dayandırılmıştır (Vijayan ve ark., 1990; Papoutsoglou ve ark., 1998). Bu koşullar altında gıda tüketimi azaldığından, ekstra enerji harcaması vücut rezervleri tarafından karşılanmak zorunda kalır ve bunun da büyümenin azalmasına neden olduğu bildirilmektedir (Schreck ve ark., 1985; Vijayan ve Leatherland, 1988; Vijayan ve ark., 1990). Çin mersin yavru balıklarında yapılan bir çalışmada, yüksek stoklama yoğunluğunun büyüme, stresi ve immün cevabı negatif etkileyebileceği bildirilmiştir (Long ve ark., 2019).

#### 1.4. Stoklama Yoğunluğu ve Oksidatif Stres

Akut stresin bağışıklık sistemi üzerinde yararlı etkileri olabilirken, kronik stres teleost balıklarda bağışıklık tepkilerini baskılamaktadır (Yarahmadi ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada, uzun süreli aşırı kalabalığın, yavru gökkuşağı alabalığında daha yüksek serum ACTH ve kortizol seviyeleri ile sonuçlandığını göstermiştir. Bunlar, daha sonra artan serum laktatı ve azalan toplam serum antioksidan kapasitesi ve ozmolalitesini içeren ikincil fizyolojik stres tepkilerini indüklemiştir. Aşırı kalabalık, stresle ilişkili gen HSP70'in transkripsiyonunda artışa neden olmuş ve uzun süreli aşırı kalabalıktan sonraki bu fizyolojik değişiklikler, bağışıklıkla ilgili genlerin transkripsiyonundaki baskılamanın yanı sıra gökkuşağı alabalığının bağışıklık sistemini olumsuz etkilemiştir. Bu nedenle, yüksek stoklama yoğunluğu bağışıklık sistemi için belirgin bir tehdit oluşturmakta ve balığı çeşitli patojenlere karşı daha duyarlı hale getirmektedir (Yarahmadi ve ark., 2016). Yüksek stoklama yoğunlukları ayrıca oksidatif strese neden olacak reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu da artırır (Braun ve ark., 2010).

Aerobik yaşamın normal bir özelliği olarak, oksidatif reaksiyonların neticesinde çok çeşitli organik bileşiklerde (DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipitler) yapısal hasarlar meydana gelebilir. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasara oksidatif stres denir. Biyolojik sistemler, güçlü enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler içerir ve oksidatif stres, prooksidan/antioksidan dengesinde öncekinin lehine bir kaymayı ifade eder. Enflamasyon, karsinogenez, yaşlanma, radyasyon hasarı ve fotobiyolojik etkiler gibi çeşitli biyolojik süreçlerin reaktif oksijen türlerini içerdiği görülmektedir (Sies, 1986).

Oksijen, hücrel fonksiyonlarda hayati bir role hizmet eden elektronların ana biyolojik alıcısıdır. Bununla birlikte, yararlı özelliklerine rağmen, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi istenmeyen reaktif oksijen türlerinin oluşumuna katkıda bulunur (Scandalios, 2005). ROS, serbest radikaller ve radikal olmayanlar olmak üzere iki tip olabilir. Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren ve bu nedenle moleküle reaktivite veren moleküllere serbest radikaller denir ve eşleşmemiş elektronlarını paylaştıklarında radikal olmayanlar oluşur (Birben ve ark., 2012).

ROS'un başlıca hücrel bölmeler içindeki lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısal modifikasyonunu içeren çeşitli zararlı etkileri vardır (Lushchak, 2011). Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal saldırısına eğilimli olduğu ve bir zincirleme reaksiyon başlattığı ROS kaynaklı hasarın yaygın bir örneğidir (Betteridge,

2000). ROS'a maruz kalan hücreler sık DNA hasarına çok eğilimlidir. Nükleazları aktive edebilirler ve hidroksil radikallerinin DNA ile doğrudan reaksiyonu olabilir ve bu da farklı bir kimyasal modifikasyon modeliyle sonuçlanır (Halliwell ve Arouma, 1991). ROS, bağışıklık sisteminin işleyişinde bazı önemli roller oynar, daha sonra bir redoks dengesini korur ve ayrıca çeşitli hücrel sinyal yollarının etkinleştirilmesinde etkileri vardır. Aşırı ROS üretimi hücrel lipitlere, proteinlere, nükleik asitlere, zarlara ve organellere zarar verdiğinden, bu da apoptoz gibi hücre ölüm süreçlerinin aktivasyonuna yol açabilir (Dutordoir ve Bates, 2016). Hatta hyaluronik asit gibi polisakkaritler oksidatif saldırı ile parçalanabilir (Sies, 1986).

### **1.5. Antioksidan Savunma Sistemi**

ROS'un zararlı etkilerini en aza indirmek için organizmalar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunmalara sahiptir. Enzimatik antioksidanlar; Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksit, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz iken, Enzimatik olmayan antioksidanlar; E vitamini, C vitamini,  $\beta$  karoten, A vitamini, glutatyon, flavonoidler, tiyoller, koenzim Q ve ürik asittir. Bu antioksidanlar, hücrel bileşenleri ROS tarafından uygulanan oksidatif hasardan korur. Organizma içindeki bu antioksidan mekanizmalar tarafından ROS üretimi ve nötralizasyonu arasındaki dengesizliğe oksidatif stres denir (Valavanidis ve ark., 2006). Vücuttaki fizyolojik süreçlerde, oksidatif strese bağlı olarak artan hücre içi reaktif oksijen türlerinin seviyeleri, lipitler, proteinler ve DNA üzerinde yıkıcı etkilere neden olabilir (Schieber ve Chande, 2014). Aslında, oksidatif stres olarak adlandırılan ROS üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengenin olmaması, DNA hidroksilasyonu, protein denatürasyonu, lipid peroksidasyonu, apoptoz ve nihayetinde hücre hasarına neden olabilir (Martinez-Alvarez ve ark., 2005). Hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitler, ROS içindeki en önemli serbest oksijen radikalleri arasındadır. Doğal olarak ROS üreten olumsuz etkilerinden kaçınmak için canlı organizmalar iki farklı sınıfa sahip bir antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir: 1) Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) gibi farklı enzimleri içeren enzimatik antioksidan sistem; ve 2) Glutatyon, tioredoksin, C vitamini ve E vitamini gibi enzim olmayan antioksidanlar (Mishra ve ark., 2015). SOD,  $O_2^-$  dismutasyonunu  $H_2O_2$ 'ye katalize ederken, katalaz  $H_2O_2$ 'nin  $H_2O$  ve  $O_2$ 'e indirgenmesinde yer alır. Glutatyon peroksidaz (GPX) ise indirgenmiş glutatyonu (GSH) oksitlenmiş formuna dönüştürerek

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve organik peroksitleri detoksifiye eder (Trenzado ve ark., 2009). Antioksidan savunma sisteminin bu elemanları, normal fizyolojik koşullar altında ROS üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki dengeyi sağlama yeteneğine sahiptir (Martinez-Alvarez ve ark., 2005). Böyle bir sistemin varlığı büyük önem taşımaktadır, çünkü arızalanması homeostaz sisteminde dengesizliğe ve oksidatif strese neden olabilir (Winston ve Di Giulio, 1991; Livingstone, 2001; Zenteno-Savin ve ark., 2006). Fizyolojik durum ile organizmanın antioksidan savunması arasında açık bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Martinez-Alvarez ve ark., 2005).

### **1.6. Doğal Antioksidanlar**

Sentetik antioksidanlar antioksidan savunma düzeylerini arttırmak ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmek için uzun yıllar boyunca kullanılmıştır, ancak çevre için çok sayıda yan etki gösterdikleri için sentetik bileşiklerin kullanımı daha kısıtlı hale gelmektedir (Williams ve ark., 1999). Geçmiş yıllarda sentetik antioksidanlara iyi bir alternatif olarak yeni ve güvenli doğal antioksidanları kapsamlı araştırmaya dönük birçok çalışma yapılmıştır (Mishra ve ark., 2015). Birçok bitkide bulunan fenolik ve flavonoid bileşikler gibi doğal kaynaklı aktif bileşikler, serbest radikalleri yakalama yeteneklerinden dolayı antioksidan aktivitelere sahiptirler (Hamidpour Dr. ve ark., 2017). Tıbbi ve aromatik bitkiler nutrasötik, terapötik, antimikrobiyal, antimitojenik, antikanser ve antioksidan özellikleri sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Rota ve ark., 2008; Zantar ve ark., 2015; Pereira ve ark., 2016; Altınterim ve ark., 2018a). Spesifik esansiyel yağlar kültür balıklarında bakteriyel hastalıkların ve oksidatif stresin tedavisi için umut verici unsurlar olarak öne çıkmaktadır (Anastasiou ve ark., 2020).

### **1.7. Akuakültürde Doğal Antioksidan Kullanımı**

Akuakültürde verimliliği artırmak için balık yemlerine çeşitli katkı maddelerinin eklenmesi, bağışıklık güçlendirici olarak immüno stimulant uygulamaları, anestezi uygulamaları veya tedavi amacıyla antibiyotik, antiparaziter ve antifungal ajanların kullanımı mevcuttur. Antibiyotikler bilinçsiz ve sık bir şekilde uygulandığında patojenler üzerinde direnç gelişimi, balık etinde rezidü oluşumu veya doğal ekosisteme zarar verme gibi olumsuz sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bu ajanların çevreye, balığa veya insana

verebileceği negatif etkiler nedeniyle bitkisel içerikli ürünlerin kullanımına daha çok ağırlık verilmektedir (Çelik, 2020). Sentetik ilaç ve kimyasalların kültür organizmaları ve su ortamı üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı akuakültürde tıbbi bitkilerin yeniden kullanımı gerekli hale gelmiştir (Ogueji ve ark., 2017). Tıbbi ve aromatik bitkiler bütün dünyada birçok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ucuz olmaları, kolay temin edilebilmeleri, düşük dozlarda etki göstermeleri, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, patojenlere karşı etkili ve çevre dostu olmaları nedeniyle bitkisel ürünler tercih edilmektedir (Çelik, 2020). İyileşmeyi sağlamada tıbbi bitkiler güçlü fizyolojik etkileri olan yardımcı küçük moleküller içermektedir (Altief, 2018).

Reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki denge eksikliği balıklarda hücre hasarlarına sebep olabilmektedir. Antioksidan savunma kabiliyetini geliştirmek için sentetik antioksidanların uygulanması gibi farklı yaklaşımlar uygulanmaktadır. Farklı balık ve kabuklu türlerinde antioksidan savunma aktivitesini arttırmanın bir yolu olarak diyet yaklaşımları önerilmektedir (Hoseinifar ve ark., 2021). Bunun dışında, bitkiler balıklara farklı yöntemlerle direkt verilir ya da balığa etki ettirmek üzere su ortamına bırakılır (Altınterim ve ark., 2012). Yarı saflaştırılmış diyetlerin lezzetini iyileştirerek daha sağlıklı balıklar ve artan büyüme ile sonuçlanan yem alımını arttırabilecek bir katkı maddesi bulmak önemlidir. Bir turp türü olan *Lepidium meyenii* unu ve bileşenleri, gökkuşağı alabalığı yavrularında büyümeyi artırıcı etkilere ve strese karşı direnci arttırabilecek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark., 2005).

### **1.8. Udi Hindi Bitkisi (*Aquilaria agallocha*)**

Udi hindi bitkisi (*Aquilaria agallocha*) Thymelaeaceae familyasına mensuptur (Alam ve ark., 2015). Himalaya, Assam, Tamil ve Doğu Hindistan'da doğal olarak bulunur (Tamuli ve ark., 2000). Tıbbi özellikleri nedeniyle değerli bir bitkidir. Antinosiseptif, antimikrobiyal, antioksidan, antihiperlisemik, trombolitik, antidiyabetik, ülser koruyucu, kanser önleyici, ishal önleyici ve hepatoprotektif gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir (Alam ve ark., 2015). Udi hindi bitkisinin en önemli biyoaktif bileşenleri alkaloidler, saponinler, steroidler, terpenoidler, tanenler, flavonoidler ve fenoliklerdir (Satapathy ve ark., 2009).

*A. agallocha* türünün tıbbi özellikleri ile alakalı araştırmalar mevcuttur. *A. agallocha* yapraklarının etil asetat ekstraktının antioksidan etki gösterdiği (Miles ve Grisham, 1994) ve

bunun güçlü bir antioksidan etki olduğu (Miniyar ve ark., 2008) bildirilmiştir. Farelerde yapılan araştırmalarda, *A. agallocha*'nın etanolik ekstraktının analjezik aktiviteye (Khalil ve ark., 2013) ve yatıştırıcı etkiye (Takemoto ve ark., 2008) sahip olduğu görülmüştür. Bir başka çalışmada da, *A. agallocha* yapraklarından elde edilen sulu ekstraktın, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* türlerinin büyümesini engellediği rapor edilmektedir (Manasi ve ark., 2008). Udi hindi bitkisinin balıklar üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir bilgi veya araştırma literatürde mevcut değildir.

### 1.9. Masere Yağlar

İnfüze edilmiş yağlar olarak da adlandırılan masere edilmiş yağlar, belirli bir bitki veya bitkilerin terapötik özelliklerini çıkarmak için bir çözücü olarak kullanılmış olan taşıyıcı yağlardır. Yaygın olarak kullanılan baz yağlar zeytinyağı veya çiçek yağıdır. Maserasyon işlemi yağda ve alkolde çözünen maddelerin geçişini sağlar. Bu amaçla taşıyıcı yağ olarak ayçiçek yağı veya zeytinyağı tercih edilir. Ekstraksiyon yöntemi ile maserasyon ürünüdeki küçük moleküller yağ moleküllerine aktarılırken sadece küçük moleküller tutulur. Böylece bitkinin içeriği maksimize edilmiş olur. Maserasyon yağı bir bütün olarak alındığında yağda çözünebilen tüm maddeleri içeren süper bir komplekstir (URL-2, 2023). Masere yağlar, elde edilmesi ve kullanımı kolay, ucuz, pratik ürünlerdir. Masere yağların belirli periyotlarda uygun bir sistem ile kültür balıklarında koruyucu amaçla kullanımı ile balıkların bağışıklık sisteminin olumlu yönde uyarılabileceği öngörülmektedir (Altınterim ve Dörücü, 2013; Altınterim ve ark., 2018a; Altınterim ve ark., 2018b).

Bitkilerden elde edilen masere yağların balıklar üzerindeki etkisi ile ilgili birkaç çalışma bulunmaktadır (Yüngül ve ark., 2014; Altınterim ve ark., 2018a; Altınterim ve ark., 2018b; Altınterim, 2019; Altınterim ve Aksu, 2019a; Altınterim ve Aksu, 2019b; Altınterim ve Aksu, 2020). Ayçiçek yağında bekletilerek hazırlanan masere yeşil çay yağında bulunan polifenollerin, özellikle flavanoller ve kateşinlerin varlığından dolayı, zayıflatıcı özelliği tespit edilmiştir. Yeşil çay masere yağının içerdiği lipofilik özellikteki biyoaktif maddelerin sinerjistik etki göstererek balıklarda termojenik uyarımı sağladığı ve bunun da ağırlık kaybına neden olduğu düşünülmektedir. Özellikle kan parametrelerindeki artış yeşil çayda bulunan ve güçlü antioksidan özellik gösteren kateşinlerin, hematopoietik hücre ve organları uyarıcı etki göstermektedir (Altınterim ve ark., 2018b). Oksijen radikal absorbans kapasiteleri farklı bitkilerin (soğan, sarımsak, reyhan, haşhaş, zencefil, zerdeçal) masere

yağlarının balıklarda deriye sürülmesi kan parametrelerini uyarmaktadır (Altınterim ve ark., 2018a). Strese bağlı olarak immün sistemde meydana gelen artış ile birlikte üretilebilecek serbest radikal miktarı vücuda zarar verebilme ihtimaline karşı sarımsak grupları, özellikle Tunceli sarımsağının dengeleyici olarak görev yaptığı görülmüştür. Sarımsakların masere yağlarının, balık stresinin giderilmesinde ve profilaktif olarak kullanımı tavsiye edilmektedir (Altınterim ve Aksu, 2019a). Yüksek yoğunlukta stoklamada masere havuç ve masere domates yağları, spesifik olmayan bağışıklık sistemini ve eritropoeziyi uyarmaktadır. Masere havuç yağı masere domates yağından daha etkilidir (Altınterim ve Aksu, 2019b). Sarımsak yağı maserasyon grubunun GPx aktivitesinin ve serumdaki soğan grubunun CAT, GR ve MDA aktivitelerinin önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir (Altınterim ve Aksu, 2020). Bu çalışmalara göre, farklı bitkilerin masere yağlarının balıklardaki oksidatif stresi azaltmada oldukça etkili olduğu anlaşılmaktadır.

#### **1.10. Japon Balığı (*Carassius auratus*)**

Japon balıkları *Cyprinidae* familyası içinde olup Çin kökenlidir (Ural ve Özdemir, 2002). Akvaryum balıkları içerisinde Japon balıkları (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758) en popüler balık türlerindedir (Shete ve ark., 2013). Japon balıklarının beslenmesi ve stoklama yoğunluğunun etkileri konusunda farklı çalışmalar vardır. Japon balıklarının beslenmesinde farklı yemlerin denendiği bir araştırmada %40 ham protein içerikli yemlerin uygun olduğu bildirilmektedir (Mohanta ve Subramanian, 2002). Kiriratnikom ve ark. (2005) Japon balığı büyüme performansında en iyi sonucu %3 kurutulmuş spirulina katkılı yemden elde etmişlerdir. Raseduzzaman ve ark. (2014) *C. auratus* türünde en iyi büyüme ve en yüksek yaşama oranlarına kıyılmış tubifeks kurtlarıyla beslenen larvalarda ulaşıldığını bildirmektedir. Rema ve Gouveia (2005) büyüme ve yaşama oranı bakımından Japon balığı larvalarında 40-80 larva/lit stok yoğunluğunun önemli bir farklılık oluşturmadığını bildirmişlerdir. Jahedi ve ark. (2012) ise, Japon balığında optimal stoklama yoğunluğunu 0,25 balık/lit olarak vermiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Etik Kurul İzni, Deneme Yeri ve Çalışma Alanı

Tez çalışması, T.C. Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'nun E-63614754-050.04.04-57910 sayılı kararı (Toplantı sayısı 22-06 / Karar no. 15-03) ile etik kurallar çerçevesinde yapılmıştır. Denemeler, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir (Resim 2.1). Çalışmada yaklaşık 500 lt hacimli dairesel fiberglas tanklar kullanılmıştır. Tekerrürlü deneme gruplarını oluşturmak için fiberglas dairesel tanklar içine plastik sepetler üçerli gruplar halinde yerleştirilmiştir (Resim 2.2). Tanklarda filtrasyon amaçlı sünger filtreler ve havalandırma için hava motoru (Hailea Hap-120) kullanılmıştır. 7 günde bir filtre temizliği ve yaklaşık olarak %25-30 oranında tanklarda su değişimi yapılmıştır.



**Resim 2.1.** Balık tankları (Orijinal).



**Resim 2.2.** Deneme grupları (Orijinal).

## **2.2. Balık, Yem ve Masere Udi Hindi Yağı**

Başlangıç canlı ağırlığı yaklaşık 7,38 gr olan Japon balıkları (*Carassius auratus*) kullanılmıştır. Funny Fish marka akvaryum balığı yemi (%43 ham protein içerikli) deneme yemi olarak tatbik edilmiştir (Resim 2.3). Çalışmada kullanılan masere udi hindi yağı Elazığ'da yöresel bir işletmeden satın alınmıştır.



**Resim 2.3.** Akvaryum balığı yemi (Orijinal).

### **2.3. Deneme Planı**

Öncelikli olarak Japon balıkları düşük stoklama yoğunluğunda ve yüksek stoklama yoğunluğunda stoklanmıştır. Düşük stoklama yoğunluğunda kontrol grubu (KD) 5 adet balık/ 20 lt olarak, yüksek stoklama yoğunluğunda kontrol grubu (KY) 20 adet / 5 lt (KY) olarak hazırlanmıştır. Balık yemlerine farklı oranlarda masere udi hindi yağı ilave edilmiştir. Masere deneme gruplarının yemlerine %0,5 (Mas05), %1 (Mas1) ve %2 (Mas2) oranında masere udi hindi yağı sprey püskürtme yöntemiyle ilave edilmiştir. Masere deneme grupları yüksek stoklama yoğunluklarında stoklanmıştır. Balıklar günde iki kere *ad libitum* olarak yemlenmiştir. Tez çalışması 30 gün sürmüştür.

### **2.4. Ölçümler**

#### **2.4.1. Su parametreleri**

30 günlük deneme boyunca 5 günde bir su sıcaklığı, çözülmüş O<sub>2</sub> ve pH ölçümleri YSI 55 Model ölçüm cihazı ile yapılmıştır.

#### **2.4.2. Canlı ağırlık**

Bütün balıkların canlı ağırlık ölçümleri periyodik aralıklarla yapılmıştır. Canlı ağırlık ölçümleri öncesinde Japon balıkları 1 gün boyunca beslenmemiştir. Tartım öncesi balıklar kimyasal anestezi ajan 2-fenoksietanolde (700 µl 2-fenoksietanol / lt) anestezi edilmiştir.

Canlı ağırlık tartımında 0,01 gr hassasiyetli elektronik tartı (Kern) kullanılmıştır. Balıklarda büyüme performansının ortaya çıkarılmasında aşağıda belirtilen büyüme parametreleri hesaplanmıştır (Korkut ve ark., 2007; Lugert ve ark., 2016).

$$\text{Mutlak Büyüme (MB)} = W_t - W_i$$

$W_t$  = Final canlı ağırlığı (gr)

$W_i$  = Başlangıç canlı ağırlığı (gr)

$$\text{Relatif Büyüme Oranı (RBO)} = ((W_t - W_i) / W_i) \times 100$$

$W_t$  = Final canlı ağırlığı (gr) ve  $W_i$  = Başlangıç canlı ağırlığı (gr)

$$\text{Spesifik Büyüme Oranı (SBO)} = ((\ln W_t - \ln W_i) / t) \times 100$$

$W_t$  = Final canlı ağırlığı (gr),  $W_i$  = Başlangıç canlı ağırlığı (gr) ve  $t$  = gün

$$\text{Yem Dönüşüm Oranı (YDO)} = \text{Verilen yem miktarı (gr)} / \text{Canlı ağırlık artışı (gr)}$$

### **2.4.3. Antioksidan analizleri**

#### **2.4.3.1. Diseksiyon**

Kas dokusu alınacak balıklara 1 gün boyunca yem verilmemiştir. Diseksiyon işlemi etik kurallara göre uygulanmıştır ve diseksiyon öncesinde 2-fenoksietanol anestezi maddesi ile balıklar derin anesteziğe (1500 µl 2-fenoksietanol / lt) maruz bırakılmıştır. Bütün işlemler Munzur Üniversitesi Biyomühendislik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Resim 2.4).



**Resim 2.4.** Kas dokusunda diseksiyon (Orijinal).

#### **2.4.3.2. Süpernatantlar**

Kas dokuları bistüri ile kesilerek çıkarılmış ve 1/5 w/v oranında pH 7,4 fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu içeren ependorf tüplere konulmuştur. Kas dokuları daha sonra homojenizatör (CAT Unidrive) ile homojenize edilmiştir (Resim 2.5). Homojenizasyon işleminde ısınmaya karşı ependorf tüp buz kalıbı içinde tutulmuştur (Resim 2.6). Homojenizasyondan sonra ependorf tüpler içerisindeki örnekler, soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 320R) ile 17000 rpm devirde 15 dakika süre boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatantlar elde edilmiştir.



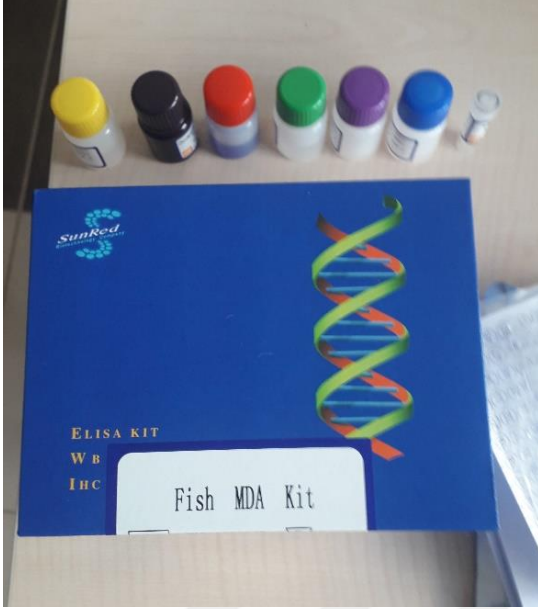
**Resim 2.5.** Homojenizatör (Orijinal).



**Resim 2.6.** Homojenizasyon işlemi (Orijinal).

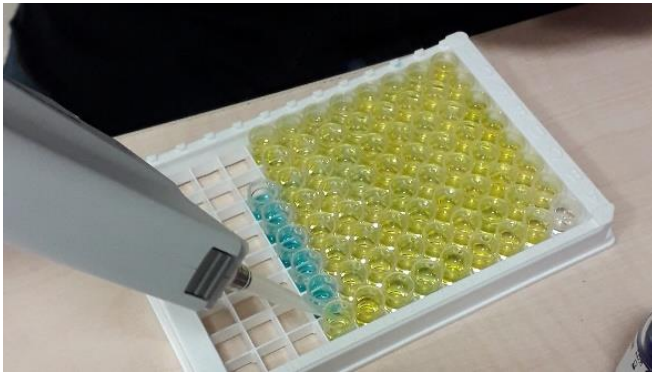
### 2.4.3.3. Biyokimyasal analizler

Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar, MDA, SOD ve CAT kitleri (Sunred) kullanılarak işleme tabi tutulmuştur (Resim 2.7).



**Resim 2.7.** Fish MDA kit (Orijinal).

Otomatik mikropipetler yardımıyla süpernatantlardan alınan örnekler, mikropate kuyucuklarına deneme grupları gözetilerek bırakılmıştır (Resim 2.8). Antioksidan kitlerindeki prosedürler uygulandıktan sonra örneklerin bulunduğu mikropate, bilgisayara bağlı mikropate okuyucuda okunmuştur (Resim 2.9).



**Resim 2.8.** Mikropate (Orijinal).



**Resim 2.9.** Bilgisayarlı mikroplate reader (Orijinal).

## **2.5. İstatistiksel Analizler**

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur. Verilerin normalliği ve homojenliği ANOVA varsayımlarına göre kontrol edilmiştir.  $p < 0,05$  önem seviyesi uygulanmıştır. Farklılıkların analizinde one-way ANOVA ve ortalamalar arasındaki farklılıkların tespitinde Duncan testi kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesi SPSS istatistik programı (14.0) ve Excel programı ile yapılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Su Kalitesi

Çalışma süresince deneme ortamlarına ait su kalitesi takip edilmiştir. Su sıcaklığı, çözünmüş O<sub>2</sub> ve pH verileri Tablo 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 0.1.** Gruplarda su sıcaklığı, çözünmüş O<sub>2</sub> ve pH değerleri (ort. ± s.h.).

Su Parametresi	KD	KY	Mas05	Mas1	Mas2
Su Sıcaklığı (°C)	23,1 ± 0,08	23,1 ± 0,09	23,1 ± 0,10	23,1 ± 0,09	23,2 ± 0,08
Çözünmüş O <sub>2</sub> (mg/l)	6,81 ± 0,16	6,50 ± 0,15	6,48 ± 0,19	6,50 ± 0,18	6,55 ± 0,17
pH	8,37 ± 0,10	8,19 ± 0,14	8,19 ± 0,11	8,20 ± 0,16	8,22 ± 0,13

Ortalama su sıcaklığı yaklaşık 23,1°C ölçülmüştür. En düşük çözünmüş O<sub>2</sub>, yüksek stoklama yoğunluğunda bulunan Mas05 grubunda, en yüksek çözünmüş O<sub>2</sub> ise düşük stoklama yoğunluğundaki KD grubunda tespit edilmiştir. En düşük pH, Mas05 ve KY gruplarında, en yüksek pH ise KD grubunda kaydedilmiştir (Tablo 3.1).

#### 3.2. Büyüme ve Yaşama Oranı

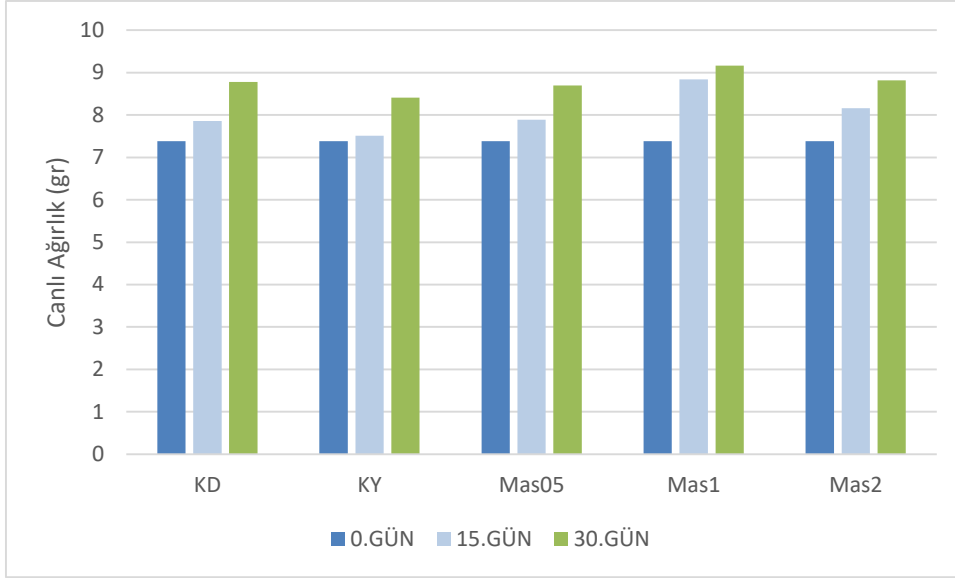
Deneme süresince Japon balığı kontrol ve deneme gruplarının canlı ağırlık artışları Tablo 3.2 ve Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 0.2.** Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlıklar (gr) (ort. ± s.h.).

Zaman	KD (gr)	KY (gr)	Mas05 (gr)	Mas1 (gr)	Mas2 (gr)
0. GÜN	7,38 ± 0,11	7,38 ± 0,11	7,38 ± 0,11	7,38 ± 0,11	7,38 ± 0,11
15. GÜN	7,86 ± 0,12 <sup>b</sup>	7,51 ± 0,10 <sup>a</sup>	7,89 ± 0,14 <sup>b</sup>	8,84 ± 0,13 <sup>c</sup>	8,16 ± 0,12 <sup>b</sup>
30. GÜN	8,78 ± 0,18 <sup>ab</sup>	8,41 ± 0,14 <sup>a</sup>	8,70 ± 0,17 <sup>ab</sup>	9,17 ± 0,19 <sup>b</sup>	8,82 ± 0,17 <sup>ab</sup>

\*Aynı satır içinde aynı üst simgelere sahip değerler arasında istatistiksel önemde farklılık yoktur (p>0,05).

30 gün süren çalışma sonunda en yüksek ağırlık Mas1 grubunda, en düşük ağırlık ise KY grubunda çıkmıştır (p<0,05). Yüksek stoklama yoğunluğundaki masere deneme gruplarında ölçülen bütün son ağırlık verileri, KY grubuna göre yüksek bulunmuştur (Tablo 3.2, Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** Grupların zamana bağlı canlı ağırlık artışları.

30 gün süren çalışma sonunda deneme ve kontrol gruplarının YDO, MB, RBO ve SBO parametreleri Tablo 3.3'tedir.

**Tablo 0.3.** Büyüme parametrelerine ait veriler (ort.  $\pm$  s.h.).

	<b>KD</b>	<b>KY</b>	<b>Mas05</b>	<b>Mas1</b>	<b>Mas2</b>
<b>YDO</b>	1,62 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	1,94 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	1,58 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	1,27 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,39 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
<b>MB (gr)</b>	1,40 $\pm$ 0,04 <sup>bc</sup>	1,03 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,32 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	1,79 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	1,44 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>
<b>RBO (%)</b>	19,02 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	14,00 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	17,90 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	24,25 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>	19,53 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>
<b>SBO (%)</b>	0,58 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,44 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,55 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,72 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	0,59 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>

\*Aynı satır içinde farklı üst simgelere sahip değerler arasında istatistiksel önemde farklılık vardır ( $p > 0,05$ ).

En iyi YDO değeri Mas1 grubunda, en yüksek YDO değeri KY grubunda hesaplanmıştır ( $p < 0,05$ ). Yüksek stoklama yoğunluğundaki Mas05 ve Mas2 gruplarına ait YDO değerleri, düşük stoklama yoğunluklu KD grubuna göre daha iyi çıkmıştır (Tablo 3.3).

MB, RBO ve SBO büyüme parametreleri bakımından Mas1 grubu en yüksek değerleri vermiştir ( $p < 0,05$ ). KY grubunda en düşük veriler kaydedilmiştir. Düşük stoklama yoğunluklu KD grubuna kıyasla yüksek stoklama yoğunluklu Mas2 grubu, büyüme parametreleri bakımından daha iyi sonuç vermiştir (Tablo 3.3).

Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle besleme yapmanın yüksek stoklama yoğunluğundaki Japon balıklarının büyüme performansında etkili olduğu görülmüştür. En etkili masere udi hindi yağı oranı ise %1 olarak tespit edilmiştir. Bütün gruplarda mortalite oranı %0 olarak kaydedilmiştir.

### 3.3. Biyokimyasal Bulgular

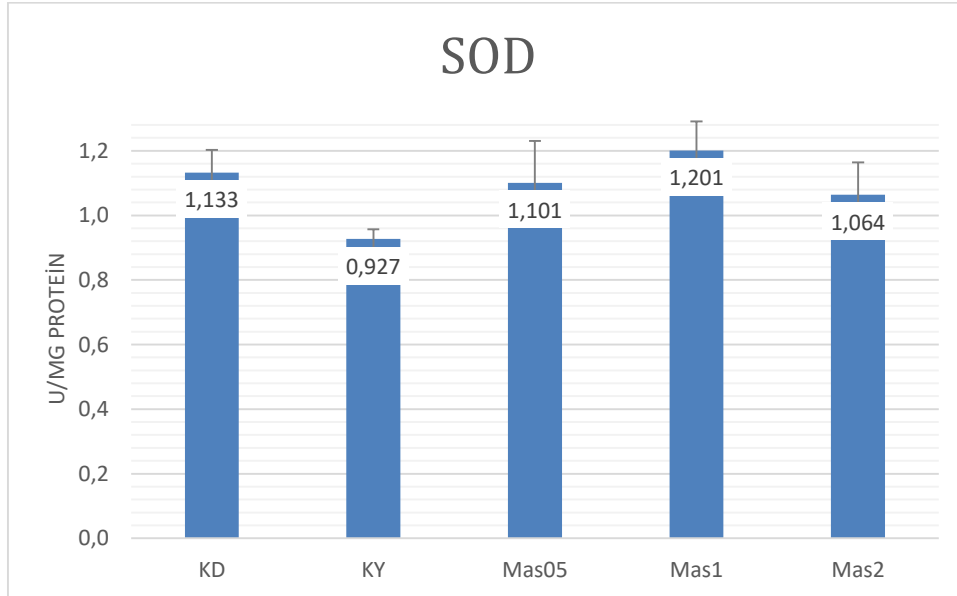
Kas dokusu SOD, CAT ve MDA sonuçları Tablo 3.4 ve Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te verilmiştir.

**Tablo 0.4.** SOD, CAT ve MDA sonuçları (ort.  $\pm$  s.h.).

	<b>KD</b>	<b>KY</b>	<b>Mas05</b>	<b>Mas1</b>	<b>Mas2</b>
<b>SOD</b> <b>U/mg protein</b>	1,133 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,927 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,101 $\pm$ 0,13 <sup>ab</sup>	1,201 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,064 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>
<b>CAT</b> <b>U/mg protein</b>	1,354 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	1,112 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,607 $\pm$ 0,12 <sup>c</sup>	1,216 $\pm$ 0,11 <sup>ab</sup>	1,233 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>
<b>MDA</b> <b>nmol/gr protein</b>	1,790 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>	2,318 $\pm$ 0,10 <sup>d</sup>	2,081 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	1,666 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	1,864 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>

\*Aynı satır içinde farklı üst simgelere sahip değerler arasında istatistiksel önemde farklılık vardır ( $p < 0,05$ ).

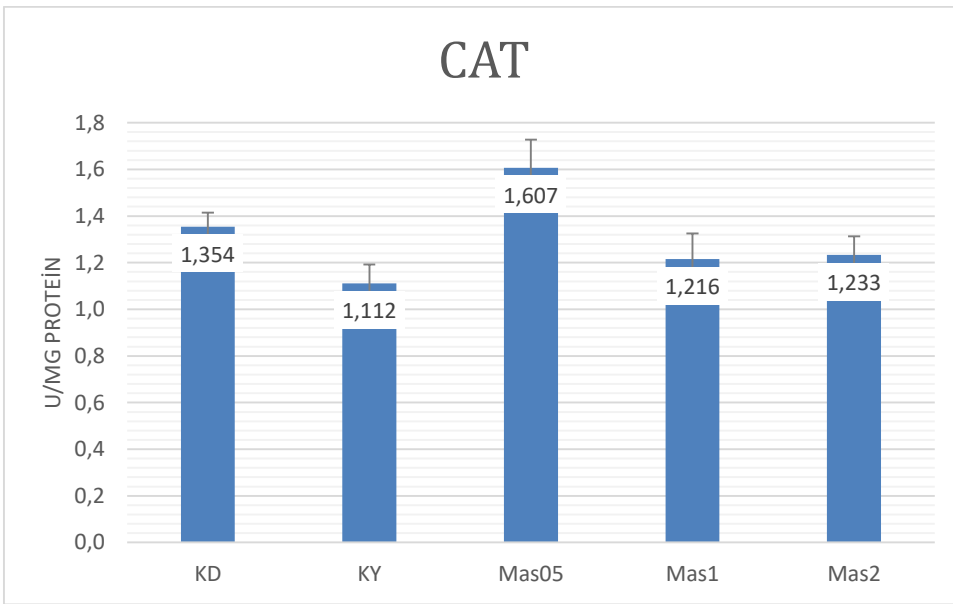
En yüksek SOD aktivitesi yüksek stoklama yoğunluklu Mas1 grubunda, en düşük SOD aktivitesi KY grubunda bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen yüksek stoklama yoğunluğundaki bütün gruplarda kastaki SOD aktivitesinin, yüksek stoklama yoğunluklu KY grubu SOD aktivitesine göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Mas05 ve Mas2 grupları SOD enzim aktiviteleri KY grubundan yüksek, KD grubundan düşük çıkmıştır ( $p < 0,05$ ) (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Kontrol ve deneme grupları kastaki SOD enzim aktiviteleri.

Yüksek stoklama yoğunluğundaki gruplarda kastaki SOD aktivitesinin artmasında masere udi hindi yağının etkili olduğu görülmüştür. SOD aktivitesinin yükselmesinde en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak belirlenmiştir.

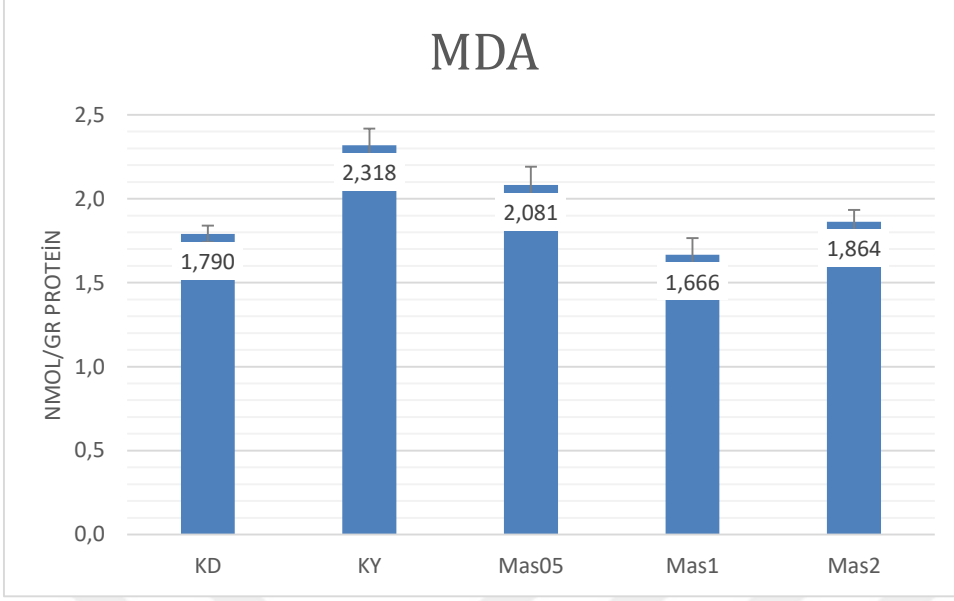
En yüksek CAT aktivitesi yüksek stoklama yoğunluklu Mas05 grubunda, en düşük CAT aktivitesi KY grubunda elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen yüksek stoklama yoğunluğundaki bütün gruplarda kastaki CAT aktivitesinin, KY grubuna göre arttığı görülmüştür. Mas1 ve Mas2 grupları CAT aktiviteleri KY grubundan yüksek, KD grubundan düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ) (Şekil 3.3).



**Şekil 2.3.** Kontrol ve deneme grupları kastaki CAT enzim aktiviteleri.

Yüksek stoklama yoğunluğundaki gruplarda kastaki CAT aktivitesinin artmasında masere udi hindi yağı etkili bulunmuştur. CAT aktivitesi artışında en etkili masere udi hindi yağı oranı %0,5 olarak tespit edilmiştir.

En yüksek MDA düzeyi KY grubunda, en düşük MDA düzeyi yüksek stoklama yoğunluklu Mas1 grubunda çıkmıştır ( $p<0,05$ ). Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen yüksek stoklama yoğunluğundaki bütün gruplarda kastaki MDA düzeyinin, yüksek stoklama yoğunluklu KY grubu MDA düzeyine kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir. Mas05 ve Mas2 grupları MDA düzeyleri KY grubundan düşük, KD grubundan yüksek çıkmıştır ( $p<0,05$ ) (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4.** Kontrol ve deneme grupları kastaki MDA düzeyleri.

Yüksek stoklama yoğunluğundaki gruplarda kastaki MDA düzeyinin düşürülmesinde masere udi hindi yağı etkili bulunmuştur. MDA düzeyi azalışında en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak tespit edilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Bitkiler, antioksidan özellikler içeren birçok biyokimyasal bileşikler ihtiva eder ve organizmaların, çevresel stres faktörlerinin sebep olduğu oksidatif stresin üstesinden gelmesini sağlar. Böylece balıklarda fizyolojik yapıların bozulmasının önüne geçer. Bitki özleri, çevresel etkiyi azaltma, düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, balıklarda daha az kalıntı gibi birçok olumlu yöne sahiptir. Aynı zaman da yetiştiriciler için ekonomik ürünlerdir (Altief, 2018). Bu tez çalışması kapsamında, balık yemine farklı oranlarda ilave edilen masere udi hindi (*Aquilaria agallocha* Roxb.) yağının, yüksek yoğunlukta stoklanan Japon balıklarının (*Carassius auratus*) antioksidan durumuna ve büyüme parametrelerine olan etkileri incelenmiştir.

Balık yetiştiriciliğinde yüksek stoklama yoğunluğunun birim hacimde biyokütle artışı gibi avantajlı bir tarafı olsa da dezavantajlı durumları da vardır. Aşırı yoğunluktan dolayı azalan çözülmüş O<sub>2</sub> miktarı da bunlardan biridir (Altınterim ve Aksu, 2019a). Balıkların büyümesi ve hayatta kalmasındaki değişiklikler, çevresel bozulmaya verilen fizyolojik tepkilerdir (Wootton, 1990). Yüksek stoklama yoğunluğu üzerinde su kalitesinin karmaşık bir yan etkisi vardır (Huang ve Chiu, 1997). Yüksek stoklama yoğunluklarında sudaki çözülmüş O<sub>2</sub> seviyeleri düşerken, amonyak seviyeleri artmaktadır (Dawood ve ark., 2020). Miao (1992), daha yüksek stoklama yoğunluğunun daha düşük pH ve çözülmüş O<sub>2</sub>'e eşlik ettiğini bulmuş ve bunun sonucunda su kalitesinde meydana gelen değişikliklerin balıkların büyümesini ve hayatta kalmasını etkilemede önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmüştür. Tez çalışmasında ortalama su sıcaklığı yaklaşık 23,1°C olarak kaydedilmiştir. En yüksek çözülmüş O<sub>2</sub> ve pH değerleri düşük stoklama yoğunluğundaki KD grubunda bulunmuştur (Tablo 3.1). Yüksek stoklama yoğunluğundaki gruplarda çözülmüş O<sub>2</sub> ve pH değerleri KD grubuna kıyasla daha düşük ölçülmüştür. Bu bulgular, yüksek stoklama yoğunluğunun yetiştiricilik ortamı su kalitesini aşağı çekmede önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Birçok balık türü üzerinde yapılan çalışmalara göre yüksek stoklama yoğunluğu balık büyüme performansı üzerinde genellikle olumsuz etkilere sahiptir. Yüksek stoklama yoğunluklarında gökkuşağı alabalıklarının büyümesinin riske girdiği (Ellis ve ark., 2002), yüksek stoklama yoğunluğuna maruz kalmanın yem alımını ve canlı ağırlık artışını azalttığı bildirilmektedir (Sahin ve ark., 2014). Trenzado ve ark. (2006) iki farklı alabalık hattı üzerinde yaptıkları çalışmada, yüksek yetiştirme yoğunluğunun bir sonucu olarak düşük

büyüme kaydettiklerini ve spesifik büyüme oranının da bundan etkilendiğini bildirmektedir. Dawood ve ark. (2020), Nil tilapiasının stoklama yoğunluğunun artmasıyla büyüme parametrelerinin önemli ölçüde azaldığını rapor etmektedir. Bir diğer çalışmada, yüksek stoklama yoğunluğunda yetiştirilen kalkan balıklarının daha düşük spesifik büyüme hızı sergiledikleri bildirilmektedir (Liu ve ark., 2016). Tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre, yüksek stoklama yoğunluğundaki KY grubu, düşük stoklama yoğunluğundaki KD grubuna göre büyüme performansı açısından geride kalmıştır ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.2, Tablo 3.3, Şekil 3.1). Bu sonuç, Japon balıklarının büyüme performansında yüksek stoklama yoğunluğunun negatif etkisini göstermektedir ve diğer türlerle yapılan stoklama yoğunluğu çalışmalarında ortaya çıkan sonuçlarla benzerlik arz etmektedir.

Yüksek stoklama yoğunluğunun balık büyüme performansı üzerindeki negatif etkilerini azaltmada veya ortadan kaldırmada birçok doğal ürün çeşitli araştırmalarda besin takviyesi olarak test edilmiştir. Altınterim ve Aksu (2019a) masere sarımsak yağlarındaki antioksidan maddelerin, gerek yoğunluktan dolayı azalan O<sub>2</sub> miktarından kaynaklanan stresi, gerekse de yem için ortaya çıkan rekabet stresine bağlı olarak makrofajlar ve nötrofiller tarafından üretilen serbest radikallerin yüksek seviyelerini düşürerek normal düzeye getirdiğini göstermiştir.  $\beta$ -glukan diyetiyle beslenen yüksek stoklama yoğunluğunda tutulan balıklarda YDO'nun önemli ölçüde azaldığı (Dawood ve ark., 2020) ve yüksek stoklama yoğunluğunun büyüme performansı üzerindeki zararlı etkilerinin likopen takviyesi ile minimize edildiği (Sahin ve ark., 2014) bildirilmektedir. Benzer şekilde başka bir çalışmada da, yüksek stoklama yoğunluğunda Se takviyesinin balıkların büyümesini ve antioksidan durumunu iyileştirdiği kaydedilmektedir (Küçükbay ve ark., 2009). Tez çalışmasında en yüksek ortalama ağırlık %1 masere udi hindi yağı ilaveli yemle beslenen Mas1 grubunda, en düşük ortalama ağırlık KY grubunda elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). Yüksek stoklama yoğunluklu masere udi hindi gruplarında bulunan bütün ortalama final ağırlıkları KY grubuna göre yüksek çıkmıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1). Yüksek stoklama yoğunluklarına rağmen, masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen balıkların büyüme performans verileri pozitif görünmektedir. YDO, MB, RBO ve SBO parametreleri bakımından en iyi sonuçlar Mas1 grubunda elde edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.3). Bu sonuca göre, %1 oranında masere udi hindi yağı ilaveli yem ile Japon balıklarının beslenmesi, yüksek stoklama yoğunluğunda büyüme açısından olumlu sonuçlar vermektedir. Ayrıca, düşük stoklama yoğunluklu KD grubuna kıyasla yüksek stoklama yoğunluklu Mas2 grubu büyüme parametreleri bakımından daha iyi sonuç vermiştir. Büyüme parametreleri açısından en

olumsuz veriler yüksek stoklama yoğunluğundaki KY grubunda görülmüştür. Stoklama yoğunluğu balık refahını etkileyen önemli bir faktördür. Aşırı kalabalık ortam balığın büyümesini, bağışıklığını ve genel sağlığını olumsuz yönde etkileyebilecek bir sorun olarak kabul edilmektedir (Ardiansyah ve Fotedar, 2016; Jia ve ark., 2016). Tez çalışmasında elde edilen büyüme verilerine göre, yüksek stoklama yoğunluğunun olumsuz etkileri masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen gruplarda görülmemektedir. Büyüme performansı açısından en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak tespit edilmiştir.

Hücre sel fonksiyonlara faydalı özelliklerinin yanı sıra O<sub>2</sub>, ROS oluşumu ile bazı istenmeyen hasarlara sebep olabilir. Çeşitli oksidatif stresörlere maruz kalan balıklarda da bu hasarlar görülebilir (Chowdhury ve Saikia, 2020). Balık yetiştiriciliğinde aşırı stoklama yoğunluğundan dolayı azalan çözünmüş O<sub>2</sub> miktarından kaynaklanan stres ve yem kapma rekabeti stresine bağlı olarak makrofajlar ve nötrofiller tarafından serbest radikaller üretilir (Altınterim ve Aksu, 2019a). Yüksek stoklama yoğunluğunda yetiştirilen balıklarda antioksidan kapasitenin azalması, oksidatif savunmanın baskılandığını, muhtemelen uzun süreli aşırı kalabalık duruma maruz kalmanın ardından oksidatif savunma sisteminin zarar gördüğünü göstermektedir (Braun ve ark., 2010). Stoklama yoğunluğu balıklarda bir stres faktörüdür (Sahin ve ark., 2014) ve stres, antioksidan tepkinin önemli bir modülatörüdür (Braun ve ark., 2010). Yüksek stoklama yoğunluğunun bir stres kaynağı olduğu Çin mersin balığında yüksek kortizol, baskılanmış büyüme ve bozulmuş bağışıklık sistemi ile ifade edilmiştir (Long ve ark., 2019). Aşırı yüksek stoklama yoğunluğunun kalkan balığında metabolik ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini bloke edebileceği, fizyolojik strese ve immünsüpresyona neden olabileceği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2016). Artan stoklama yoğunluğu ile birlikte oksijen radikallerinin üretimi de artar (Ruane ve ark., 2002). Sahin ve ark. (2014), yüksek stoklama yoğunluğuna maruz kalmanın plazma ve hepatik MDA düzeylerini artırdığını ve hepatik SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerini azalttığını belirtmiştir. Yine benzer şekilde, Liu ve ark. (2016) yüksek stoklama yoğunluğunda yetiştirilen kalkan balıkları karaciğerinde SOD, CAT, GSH, G3PDH ve G6PDH aktivitelerinin azaldığını rapor etmiştir. Tez çalışmasında, en yüksek SOD enzim aktivitesi yüksek stoklama yoğunluklu Mas1 grubunda, en düşük SOD aktivitesi KY grubunda bulunmuştur (p<0,05). Mas05 ve Mas2 grupları SOD aktiviteleri KY grubundan yüksek, KD grubundan düşük çıkmıştır (Tablo 3.4, Şekil 3.2). En yüksek CAT enzim aktivitesi yüksek stoklama yoğunluklu Mas05 grubunda, en düşük CAT aktivitesi KY grubunda elde edilmiştir (p<0,05). Mas1 ve Mas2 grupları CAT aktiviteleri KY grubundan yüksek, KD

grubundan düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ) (Tablo 3.4, Şekil 3.3). Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen yüksek stoklama yoğunluğundaki bütün gruplarda kastaki SOD ve CAT enzim aktivitelerinin, yüksek stoklama yoğunluklu KY grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Yüksek stoklama yoğunluğundaki gruplarda kastaki SOD ve CAT antioksidan aktivitelerinin yükselmesinde masere udi hindi yağının etkili olduğu görülmüştür. SOD enzim aktivitesinin artmasında en etkili masere udi hindi yağı oranı %1, CAT enzim aktivitesi artışında en etkili masere udi hindi yağı oranı ise %0,5 olarak tespit edilmiştir. Balıkların aerobik durumu, onları, artan oksidatif metabolizmanın bir sonucu olarak reaktif oksijen türlerinin oluşumuna eğilimli hale getirir. Normal şartlar altında, balıkların antioksidan savunmaları, enzimler aracılığıyla kontrolsüz ROS oluşumunu engeller (Trenzado ve ark., 2009). ROS nötralize edici aktivite, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri ile ilişkilendirilmiştir (Jos ve ark., 2005). Altınterim ve Aksu (2019a), masere sarımsak yağının yoğun stoklanmış gökkuşağı alabalıklarında hücrelerdeki oksidatif stresi azalttığını bildirmiştir. Benzer şekilde, tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre, yoğun stoklama yoğunluğu stresine maruz kalmış Japon balıklarının, masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenmesi oksidatif stresi azaltmıştır.

Balıklarda antioksidan enzim aktivitelerinin azalması, aşırı kalabalığın kronik stresine maruz kaldığında bir tepki olup ROS dengesinin ve antioksidan koruyucu mekanizmanın bozulmasına neden olur (Andrade ve ark., 2015; Costas ve ark., 2013). Bu dengesizlik aşırı malondialdehit üretimine neden olabilir (Long ve ark., 2019). Malondialdehit içeriği, aşırı yüksek peroksidasyonun artan hücre bozulmasıyla sonuçlandığı bir geri bildirimdir (Nagasaka ve ark., 2004). Long ve ark. (2019)'nın yaptığı çalışmada, malondialdehit oluşumu stoklama yoğunluğundan etkilenmiş ve düzeyi, yüksek stoklama yoğunluğu grubunda önemli ölçüde artmıştır. Tez çalışmasında, Japon balığı kastaki MDA düzeyi en yüksek KY grubunda, en düşük ise yüksek stoklama yoğunluklu Mas1 grubunda çıkmıştır ( $p<0,05$ ). Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen yüksek stoklama yoğunluğundaki bütün gruplarda kastaki MDA düzeyinin, yüksek stoklama yoğunluklu KY grubuna kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir. Mas05 ve Mas2 grupları MDA düzeyleri KY grubundan düşük, KD grubundan yüksek çıkmıştır ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.4, Şekil 3.4). Yonar ve ark. (2012) propolis uygulamasıyla MDA düzeyinin düştüğünü belirtirken, Sahin ve ark. (2014) likopen takviyesinin hem düşük hem de yüksek stoklama yoğunluklarında antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını ve MDA konsantrasyonunu lineer olarak azalttığını bildirmektedir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre, yüksek stoklama

yoğunluğundaki Japon balıklarında kas dokusu MDA düzeyinin düşmesinde masere udi hindi yağı etkili bulunmuştur ve MDA düzeyinin azaltılmasında en etkili masere udi hindi yağı oranının %1 olduğu görülmüştür.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisi ülkemizde ve dünyada hızla gelişen ve büyüyen bir sektördür. Bu sektörün sürdürülebilir olması insan sağlığına verilen öneme, doğal ekosisteme zarar verilmemesine ve üretimi yapılan canlıların refahına bağlıdır. Bu kapsamda, olabildiğince doğal materyallerin ve ürünlerin kullanılması hayati önemdedir. Balık refahını ve aynı zaman da üretimi arttırmaya dönük olarak birçok bitkisel ürün dünya çapında incelenmekte, kimyasallara alternatifler oluşturulmaya çalışılmaktadır. Bu minvalde, tıbbi bitkilerden udi hindi (*Aquilaria agallocha* Roxb.) bitkisi de balık refahını yükseltme amaçlı olarak bu tez çalışmasında ele alınmış ve Japon balıklarında test edilmiştir. Bu tez çalışması konusu itibariyle bir ilk olma özelliğini taşımaktadır. Masere udi hindi yağının balıklarda büyümeye ve antioksidan duruma etkisi konusunda şimdiye kadar yapılmış herhangi araştırma yoktur. Tez çalışması sonuçlarına göre, masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle besleme yapılan yüksek stoklama yoğunluğundaki Japon balıklarının büyümesinde ve antioksidan durumunda genel olarak olumlu neticeler alınmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçları sıralayacak olursak;

- Masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenen ve yüksek stoklama yoğunluğunda tutulan Japon balıklarının büyüme performansı ve antioksidan durumu olumsuz etkilenmemiştir.
- Japon balıklarının yüksek stoklama yoğunluğunda büyüme performansının ve antioksidan durumunun iyileştirilmesinde masere udi hindi yağı etkili bulunmuştur.
- Yüksek stoklama yoğunluğunda stoklanan Japon balıklarının büyüme performansında en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak tespit edilmiştir.
- Yüksek stoklama yoğunluklarında SOD ve CAT antioksidan enzim aktivitelerinin artmasında en etkili masere udi hindi yağı oranları sırasıyla %1 ve %0,5 olarak tespit edilirken, kastaki MDA düzeyinin azaltılmasında en etkili masere udi hindi yağı oranı %1 olarak belirlenmiştir.
- Yoğun stoklama yoğunluğu stresine maruz kalmış Japon balıklarının masere udi hindi yağı ilaveli yemlerle beslenmesi oksidatif stresi azaltmıştır.
- Büyüme performansı ve antioksidan durumu göz önünde bulundurulduğunda, Japon balıkları için yemlerinde tavsiye edilebilecek masere udi hindi yağı optimal oranı %1'dir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan udi hindi bitkisinden mamul masere yağının Japon balığı refahı üzerinde pozitif etkileri olduğu görülmüştür. Farklı balık taksonlarının strese karşı farklı tolerans seviyelerine sahip olduğu belirtilmektedir (Schreck, 2001). Bu

nedenle, masere udi hindi yağının farklı balık türleri üzerinde de denenmesi ve etkilerinin ortaya konulması gerekmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Alam, J., Mujahid, M., Badruddeen, Rahman, M.A., Akhtar, J., Khalid, M., Jahan, J., Basit, A., Khan, A., Shawwal, M., Iqbal, S.S.,** 2015. An insight of pharmacognostic study and phytopharmacology of *Aquilaria agallocha*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(08):173-181.
- Altıf, T.A.S.,** 2018. Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) bazı tıbbi bitkilerin muhtemel immunostimulant ve antioksidan etkilerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kastamonu, 69s.
- Altınterim, B., Gulec, A.K., Aksu O.,** 2012. Determination of safety dose of *Eucalyptus camaldulensis* hydrosol on mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(5a):1219-1222.
- Altınterim B., Dörücü M.,** 2013. The Effects of nigella sativa oil on the immune system of rainbow trout with different application methods. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 7:209-215.
- Altınterim, B., Kutluyer, F., Aksu, O.,** 2018a. Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAK) seviyeleri farklı bitki masere yağlarının yoğun stoklanmış gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) bazı kan parametrelerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1):63-69.
- Altınterim, B., Öztürk, E., Kutluyer, F., Aksu, O.,** 2018b. Yeşil çay yağının gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) yem değerlendirme oranına ve hematolojik parametrelerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(2):159-164.
- Altınterim, B., Aksu, Ö.,** 2019a. Masere sarımsak (*Allium sativum* Limne) ve Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman) yağlarının yoğun stoklanmış gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* W.) bazı kan parametrelerine ve NBT (Nitroblue Tetrazolium) seviyelerine etkileri. *BAUN Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2):716-723.
- Altınterim, B., Aksu, Ö.,** 2019b. Effect of macerated tomato (*Lycopersicon esculentum*) and carrot (*Daucus carota*) oils on hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at high stocking density. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 5(2):85-90.
- Altınterim, B.,** 2019. Influence of macerated fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) oil added to trout feed at the different rates on the feed conversion rate (FCR), body length, blood parameters and nitroblue tetrazolium (NBT) values of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Wal). *Cellular and Molecular Biology*, 65(3):89-93.

- Altınterim, B., Aksu, Ö.,** 2020. Effects of macerate oil of garlic (*Allium sativum*, Limne), Tunceli garlic (*Allium tuncelianum*, Kollman) and onion (*Allium cepa*, Limne) on antioxidant enzyme activities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(1):61-65.
- Anastasiou, T.I., Mandalakis, M., Krigas, N., Vezignol, T., Lazari, D., Katharios, P., Dailianis, T., Antonopoulou, E.,** 2020. Comparative evaluation of essential oils from medicinal-aromatic plants of Greece: Chemical composition, antioxidant capacity and antimicrobial activity against bacterial fish pathogens. *Molecules*, 25:148.
- Andrade, T., Afonso, A., Perez-Jimenez, A., Oliva-Teles, A., de las Heras, V., Mancera, J.M., Serradeiro, R., Costas, B.,** 2015. Evaluation of different stocking densities in a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: implications for growth, humoral immune parameters and oxidative status. *Aquaculture*, 438:6-11.
- Ardiansyah, Fotedar, R.,** 2016. Water quality, growth and stress responses of juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch), reared at four different densities in integrated recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 458:113-120.
- Ashley, P.J.,** 2007. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104:199-235.
- Barton, B.A., Iwama, G.K.,** 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1:3-26.
- Barton, B.A.,** 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42:517-525.
- Betteridge, D.J.,** 2000. What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2):3-8.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O.,** 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1):9-19.
- Braun, N., Lima, R.L., Baldisserotto, B., Dafre, A.L., Nuner, A.P.O.,** 2010. Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. *Aquaculture*, 301:22-30.
- Chowdhury, S., Saikia, S.K.,** 2020. Oxidative Stress in Fish: A Review. *Journal of Scientific Research*, 12(1):145-160.
- Conte, F.S.,** 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86:205-223.

- Costas, B., Aragao, C., Dias, J., Afonso, A., Conceição, L.E.C.,** 2013. Interactive effects of a high-quality protein diet and high stocking density on the stress response and some innate immune parameters of Senegalese sole *Solea senegalensis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39:1141-1151.
- Çelik, Y.S.,** 2020. Tıbbi ve aromatik bitkilerin balık yetiştiriciliğinde kullanım potansiyelleri. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(2):86-94.
- Dawood, M.A.O., Metwally, A.S., Sharawy, M.E., Atta, A.M., Elbially, Z.I., Abdel-Latif, H.M.R., Paray, B.A.,** 2020. The role of  $\beta$ -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, 523: 735205.
- Dhabhar, F.S.,** 2007. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmune Biology*, 7:207-224.
- Dutordoir, M.R., Bates, D.A.A.,** 2016. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(12):2977-2992.
- Ellis, T.,** 2001. What is stocking density. *Trout News, CEFAS*, 32:35-37.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D.,** 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 61(3):493-531.
- Farmed Animal Welfare Council (FAWC),** Report on the Welfare of Farmed Fish, Department for Environment, Food & Rural Affairs, Independent Report, Surbiton, Surrey, 1996.
- Fisheries Society of the British Isles (FSBI),** Fish Welfare. Briefing Paper 2, Fisheries Society of the British Isles, Granta Information Systems, Sawston, Cambridge, 2002.
- Gornati, R., Papis, E., Rimoldi, S., Terova, G., Saroglia, M., Bernardini, G.,** 2004. Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Gene*, 341:111-118.
- Halliwell, B., Aruoma, O.I.,** 1991. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters*, 281(1-2):9-19.
- Hamidpour Dr. R., Hamidpour Dr. S., Hamidpour Dr. M., Shahlari, M., Sohraby, M., Shahlari, N., Hamidpour, R.,** 2017. Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.): From a variety of traditional medicinal applications to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and analgesic agent. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7:24-29.

- Harper, C., Wolf, J.C.,** 2009. Morphologic Effects of the Stress Response in Fish. *ILAR Journal*, 50(4):387-396.
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Doan H.V., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., Carnevali, O.,** 2021. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: The implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2):198-217.
- Huang, W.B., Chiu, T.S.,** 1997. Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry. *Aquaculture Research*, 28:165-173.
- Irwin, S., O'Halloran, J., FitzGerald, R.D.,** 1999. Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque). *Aquaculture*, 178: 77-88.
- Jahedi, A., Jaferian, A., Albooshoke, S.N.,** 2012. The effect of density on growth and survival of the goldfish (*Carassius auratus*, Bloch, 1783). *World Journal of Agricultural Sciences*, 8(4):375-377.
- Jia, R., Liu, B.L., Feng, W.R., Han, C., Huang, B., Lei, J.L.,** 2016. Stress and immune responses in skin of turbot (*Scophthalmus maximus*) under different stocking densities. *Fish Shellfish Immunology*, 55:131-139.
- Jorgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M.,** 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture*, 110:191-204.
- Jos, A., Pichardo, S., Prieto, A.I., Repetto, G., Vazquez, C.M., Moreno, I., Camean, A.M.,** 2005. Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.) under laboratory conditions. *Aquatic Toxicology*, 72:261-71.
- Khalil, A.S., Rahim, A.A., Taha, K.K., Abdallah K.B.,** 2013. Characterization of methanolic extracts of agar wood leaves. *Journal of Applied and Industrial Sciences*, 1(3):78-88.
- Kiriratnikom, S., Zaaou, R., Suwanpugdee, A.,** 2005. Effects of various levels of Spirulina on growth performance and pigmentation in goldfish (*Carassius auratus*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27(1):133-139.
- Korkut, A.Y., Kop, A., Demirtaş, N., Cihaner, A.,** 2007. Balık beslemede gelişim performansının izlenme yöntemleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 24(1-2):201-205.
- Küçükbay, F.Z., Yazlak, H., Karaca, I., Sahin, N., Tuzcu, M., Cakmak, M.N., Sahin, K.,** 2009. The effects of dietary organic or inorganic selenium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under crowding conditions. *Aquaculture Nutrition*, 15:569-576.

- Lee, K.J., Dabrowski, K., Sandoval, M., Miller, M.J.S.,** 2005. Activity-guided fractionation of phytochemicals of maca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utilization, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquaculture*, 244:293-301.
- Liu, B., Jia, R., Han, C., Huang, B., Lei, J.L.,** 2016. Effects of stocking density on antioxidant status, metabolism and immune response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 190:1-8.
- Livingstone, D.,** 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8):656-666.
- Long, L., Zhang, H., Ni, Q., Liu, H., Wu, F., Wang, X.,** 2019. Effects of stocking density on growth, stress, and immune responses of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in a recirculating aquaculture system. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 219:25-34.
- Lugert, V., Thaller, G., Tetens, J., Schulz, C., Krieter, J.,** 2016. A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application. *Reviews in Aquaculture*, 8:30-42.
- Lushchak, V.I.,** 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101:13-30.
- Manasi, D., Jayanta, K.P., Prasanna, P.P.,** 2008. Phytochemical and antimicrobial screening of extracts of *Aquilaria agallocha* Roxb. *African Journal of Biotechnology*, 2:3531-3534.
- Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A.,** 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1/2):75-88.
- Miao, S.,** 1992. Growth and survival model of redbtail shrimp *Penaens penicillatus* (Alock) according to manipulating stocking density. *Bulletin of the Institute of Zoology*, 31:1-8.
- Miles, A.M., Grisham, M.B.,** 1994. Antioxidant properties of aminosalicylates. *Journal Green Pharmacy Information*, 234:555-572.
- Miniyar, P.B., Chitre, H.J., Deuskar, P.S., Karve, S.S., Jain S.K.,** 2008. Antioxidant activity of ethyl acetate extract of *Aquilaria agallocha* on nitrite induced methaemoglobin formation. *International Journal of Green Pharmacology*, 1:116-117.
- Mishra, V., Shah, C., Mokeshe, N., Chavan, R., Yadav, H., Prajapati, J.,** 2015. Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(14):3615-3626.

- Mohanta, K.N., Subramanian, S.,** 2002. Field report effect of diets with protein from different sources on the growth of Goldfish, *Carassius auratus*. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 54(3):134-140.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M.,** 1999a. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20:53-60.
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M., Robaina, L., Vergara, J., Tort, L.,** 1999b. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, 171:269-278.
- Nagasaka, R., Okamoto, N., Ushio, H.,** 2004. Partial oxidative-stress perturbs membrane permeability and fluidity of fish nucleated red blood cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 139:259-266.
- Ogueji, E.O., Iheanacho, S.C., Dada, A. O., Yaji, A.J., Ifejimalu, A., Ibrahim, B.U., Mbah, E.C., Okafor, E.A., Nnatuanya, I.O.,** 2017. Effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) and ginger (*Zingiber officinale*) as feed additives, on growth and haematology of *Clarias gariepinus* Juvenile. *African Journal of Biotechnology*, 16(48):2242-2247.
- Ortuno, J., Esteban, M., Meseguer, J.,** 2001. Effects of short-term crowding stress on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response. *Fish Shellfish Immunology*, 11:187-197.
- Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., Vrettos, X., Athanasiou, A.,** 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquacultural Engineering*, 18:135-144.
- Pereira, E., Pimenta, A.I., Calhelha, R.C., Antonio, A.L., Verde, S.C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R.,** 2016. Effects of gamma irradiation on cytotoxicity and phenolic compounds of *Thymus vulgaris* L. and *Mentha x piperita* L. *LWT-Food Science and Technology*, 71:370-377.
- Pickering A., Pottinger T.,** 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7:253-258.
- Pickering, A.D.,** 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture*, 100:125-139.
- Ramsay, J.M., Feist, G.W., Varga, Z.M., Westerfield, M., Kent, M.L., Schreck, C.B.,** 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. *Aquaculture*, 258:565-574.

- Raseduzzaman, M., Mahfuj, M.S., Samad, M.A., Rahman, B.M.S., Sarower, M.G., Barman, A.K.,** 2014. Estimation of growth and survival of comet gold fish, *Carassius auratus* by using artificial and natural feeds in closed glass fiber aquaria. *American Journal of Zoological Research*, 2(2):33-36.
- Rema, P., Gouveia, A.,** 2005. Growth and survival of goldfish (*Carassius auratus*) larvae reared at different densities. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2):274-275.
- Ross, R.M., Watten, B.J.,** 1998. Importance of rearing-unit design and stocking density to the behavior, growth and metabolism of lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquacultural Engineering*, 19:41-56.
- Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordan M.J.,** 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, 19:681-687.
- Rowland, S.J., Mifsud, C., Nixon, M., Boyd, P.,** 2006. Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture*, 253:301-308.
- Ruane, N.M., Carball, E.C., Komen, J.,** 2002. Increased stocking density influence the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Aquaculture Research*, 33:777-784.
- Sahin, K., Yazlak, H., Orhan, C., Tuzcu, M., Akdemir, F., Sahin, N.,** 2014. The effect of lycopene on antioxidant status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under high stocking density. *Aquaculture*, 418-419:132-138.
- Satapathy, A.K., Gunasekaran, G., Sahoo, S.C., Kumar, A., Rodrigues, P.V.,** 2009. Corrosion inhibition by *Justicia gendarussa* plant extract in hydrochloric acid solution. *Corrosion Science*, 51:2848-2856.
- Scandalios, J.G.,** 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian journal of medical and biological research*, 38(7):995-1014.
- Schieber, M., Chande, N.S.,** 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10):R453-R462.
- Schreck, C.B., Patino, R., Pring, C.K., Winton, J.R., Holway, J.E.,** 1985. Effects of rearing density on indices of smoltification and performance of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, 45:345-358.
- Schreck, C.B., Contreras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M.S.,** 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*, 197:3-24.

- Shete, A.P., Verma, A.K., Tandel, R.S., Prakash, C., Tiwari, V.K., Hussain, T.,** 2013. Optimization of water circulation period for the culture of goldfish with spinach in aquaponic system. *Journal of Agricultural Science*, 5(4):26-30.
- Sies, H.,** 1986. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition*, 25(12):1058-1071.
- Subasinghe, R., Soto, D., Jia, J.,** 2009. Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1(1):2-9.
- Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., Abdeldahi, Y.M.,** 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. *Iranian Journal of fisheries Sciences*, 14(1):27-44.
- Takemoto, H., Ito, M., Shiraki, T., Yagura, T., Honda, G.,** 2008. Sedative effects of vapour inhalation of agar wood oil and spikenard extract and identification of their active components. *Journal of Natural Medical Science*, 62:41-46.
- Tamuli, P., Boruah, P., Nath, S.C., Samanta, R.,** 2000. Fungi from diseased agarwood tree (*Aquilaria agallocha* Roxb.): Two new records. *Advances Forest Research India*, 22:182-187.
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., Higuera, M.,** 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture*, 258:583-593.
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., Palma, J.M., Higuera, M.,** 2009. Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 149:440-447.
- Ural, M.Ş., Özdemir, Y.,** 2002. Japon balıklarından (*Carassius auratus auratus* L.) oranda, ryukin ve veiltail varyetelerinin melezlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(3-4):425-438.
- URL-1,** 2023. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2022-49678>. Su Ürünleri, 2022. 04 Temmuz 2023.
- URL-2,** 2023. <https://formulabotanica.com/how-to-make-macerated-oils/>. How to make macerated oils – Formula Botanica. 01.06.2023
- Yarahmadi, P., Miandare, H.K., Fayaz, S., Caipang, C.M.A.,** 2016. Increased stocking density causes changes in expression of selected stress- and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 48:43-53.

- Yonar, S.M., Yonar, M.E., Sağlam, N., Silici, S.,** 2012. Farklı su sıcaklıklarında tutulmuş pullu sazan (*Cyprinus carpio carpio* Linnaeus, 1758)'nın karaciğer ve böbreğindeki bazı antoksidan parametreler üzerine propolisin etkisi. *Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(1):11-16.
- Yüngül, M., Altınterim, B., Dörücü, M.,** 2014. The investigation of antibacterial effects of macerated and distilled oil obtained from endemic plants against *Yersinia ruckeri* with aromatoqram method. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 2(2):1-7.
- Zantar, S., Haouzi, R., Chabbi, M., Laglaoui, A., Mouhi, M., Boujnah, M., Bakkali, M., Zerrouk, M.H.,** 2015. Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Radiation Physics Chemistry*, 115:6-11.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M.,** 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2):178-189.
- Vazzana, M., Cammarata, M., Cooper, E.L., Parrinello, N.,** 2002. Confinement stress in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity. *Aquaculture*, 210:231-243.
- Vijayan, M.M., Leatherland, J.F.,** 1988. Effect of stocking density on the growth and stress-response in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture*, 75:159-170.
- Vijayan, M.M., Ballantine, J.S., Leatherland, J.F.,** 1990. High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture*, 88:371-381.
- Wendelaar-Bonga, S.E.,** 1997. The stress-response in fish. *Physiological Reviews*, 77:591-625.
- Westers, H.,** 2001. Production. In *Fish Hatchery Management*, pp. 31-89, ed. Wedemeyer, G.A., American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Williams, G., Iatropoulos, M., Whysner, J.,** 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9/10):1027-1038.
- Winston, G.W., Di Giulio, R.T.,** 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19(2):137-161.
- Wootton, R.I.,** 1990. Reproduction. In *Ecology of Teleost Fishes*, pp. 157-195, ed. Wootton, R.I., Chapman and Hall, London, New York.
- Zenteno-Savin, T., Saldierna, R., Ahuejote-Sandoval, M.,** 2006. Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 142(3/4):301-308.