

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANDIZ (*Juniperus sp*) KÖKÜ EKSTRAKTININ ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİĞİNİN VE GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*)
YARA GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ebru AVCI
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN

VAN-2020

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANDIZ (*Juniperus sp*) KÖKÜ EKSTRAKTININ ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİĞİNİN VE GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*)
YARA GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ebru AVCI

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FLY-2019-8440 nolu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN** danışmanlığında, **Ebru AVCI** tarafından sunulan “**Andız (*Juniperus sp*) kökü ekstraktının antimikrobiyal özelliğinin ve gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) yara gelişimi üzerine etkilerinin belirlenmesi**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 20/11/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Abdulkadir ÇİLTAŞ

İmza:

Üye: Prof. Dr. Muhammed ARABACI

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ebru AVCI



ÖZET

ANDIZ (*Juniperus sp*) KÖKÜ EKSTRAKTININ ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞİNİN VE GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) YARA GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

AVCI, Ebru

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN

Kasım 2020, 94 sayfa

Bu çalışmada, Andız ağacından elde edilen özütünü balık sağlığı açısından değerlendirilmiştir. Ekstraktın bileşenleri GS-MS ile analiz edilmiştir. Çalışmada kullanılan *Lactococcus garvieae* ve *Staphylococcus epidermidis* etkenlerinin fenotipik, biyokimyasal ve moleküler identifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Antibiyogram testinde ekstrakt Florfenikol (F) ve Ampisilin (AM) antibiyotikleri ile mukayese edilmiştir. Ekstraktın kesik yaraları üzerindeki etkisinin belirlenmesi için 80g ağırlığında 6'şar adet gökkuşağı alabalığından oluşan ekstrakt (EG), antibiyotik (AG), kesik (KG) ve kontrol (CG) grupları oluşturulmuştur. Sağıltım sonrasında karaciğer ve kas dokularında yara iyileşmesinde rol alan MDA ve GST enzimlerinin aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Çalışmada kullanılan izolatların API testi sonucunda *L. garvieae*'nin %86, *S. epidermidis*'in ise %90 oranında identifiye edilmiştir. İzolatlar, universal primerler ile gerçekleştirilen Real-Time PCR'da sigmoidal eğriler vermiştir. PCR ampikonlarının 16S rRNA sekansı sonunda %99 üzerinde moleküler identifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ekstraktın, *L. garvieae* üzerinde Amfisilin ile aynı etkiye sahip olduğu, Florfenikol'e göre %4 daha etkili olduğu, *S. epidermidis*'e göre ise Amfisilin ve Florfenikol antibiyotiklerinden %83 daha etkili olduğu görülmüştür. Ekstraktın %1 konsantrasyonunun bakteri gelişimini inhibe ettiği gözlenmiştir. Ekstrakt grubunda yara bölgesinin 2. gün kapandığı gözlenmiştir. MDA ve GST aktivitelerinin ekstrakt grubunda diğer gruplara göre pozitif farklılıklarının olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibiyogram, Balık hastalıkları, Enzim aktivitesi, Real-Time PCR, Yara iyileşimi.



ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF ANDIZ (*Juniperus sp*) ROOT EXTRACT AND ITS EFFECTS ON WOUND DEVELOPMENT IN RAINBOW TREATS (*Oncorhynchus mykiss*)

AVCI, Ebru
MSc. Thesis Fisheries Engineering
Supervisor: Assist. Prof. Dr. Şükrü ÖNALAN
December 2020, 94 pages

In this study, the extract obtained from Andız tree was evaluated in terms of fish health. Components of the extract were analyzed by GS-MS. The phenotypic, biochemical and molecular identifications of *Lactococcus garvieae* and *Staphylococcus epidermidis* agents used in the study were performed. In the antibiogram test, the extract was compared with Florfenicol (F) and Ampicillin (AM) antibiotics. In order to determine the effect of the extract on cut wounds, extract (EG), antibiotic (AG), cut (KG) and control (CG) groups consisting of 6 rainbow trout each weighing 80 g were formed. The activities of MDA and GST enzymes, which play a role in wound healing in liver and muscle tissues, were evaluated after the treatment.

As a result of the API test of the isolates used in the study, 86% of *L. garvieae* and 90% of *S. epidermidis* were identified. Isolates gave sigmoidal curves in Real-Time PCR performed with universal primers. At the end of the 16S rRNA sequence of PCR amplicons, more than 99% molecular identifications were performed. It was observed that the extract had the same effect on *L. garvieae* as Ampicillin, 4% more effective than Florfenicol, Extract was 83% more effective than Ampicillin and Florfenicol antibiotics compared to *S. epidermidis*. It has been observed that a 1% concentration of the extract inhibits the growth of both isolates. In the extract group, it was observed that the wound area was closed on the 2nd day. It was determined that MDA and GST activities had positive differences in the extract group compared to the other groups.

Keywords: Antibiogram, Enzyme activity, Fish diseases, Real-Time PCR, Wound healing.



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında ve aslında en başından itibaren bana inanıp güvenen, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübeleriyle yol gösteren, anlayış ve hoşgörüyü bitmek bilmeyen sorularıma sabırla cevap veren, cesaretlendiren, danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN'a teşekkür ederim. Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN'e teşekkürlerimi sunarım. Hep daha çok eğitim almam için teşvik eden, sevgisiyle yardımlarını esirgemeyen annem Zeynep KUTAY'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Bu tez çalışmam, oğlum Özer Kağan HATİPOĞLU ve kızım Alara Zeynep HATİPOĞLU'na adanmıştır.

2020
Ebru AVCI



İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | iii |
| ÖN SÖZ | v |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| ÇİZELGELER LİSTESİ | ix |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | xi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | xiii |
| EKLER DİZİNİ..... | xv |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ..... | 2 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 10 |
| 3.1. Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu..... | 10 |
| 3.1.1. Bakteriyel izolasyon..... | 10 |
| 3.1.2. Bakteriyel identifikasyon | 10 |
| 3.1.2.1. DNA izolasyonu..... | 16 |
| 3.1.2.2. Real-Time PCR işlemi | 16 |
| 3.1.2.3. Sekans analizi..... | 16 |
| 3.2. Andız Kök Ekstraktı (Juniperus sp) İdentifikasyonu | 17 |
| 3.3. Antibiyogram Testi | 18 |
| 3.4. Deneme Düzeni | 19 |
| 3.5. Kesik Yarası Oluşumu | 22 |
| 3.6. Enzim Aktivite Testleri | 22 |
| 3.6.1. Malondialdehit (MDA) testi..... | 23 |
| 3.6.2. GST (GlutasyonS-Transferaz) aktivite ölçümü | 24 |
| 3.7. Verilerin Değerlendirilmesi | 25 |
| 4. BULGULAR | 16 |
| 4.1. Çalışmada Kullanılan Bakteri İzolatlarının İzolasyon ve İdentifikasyonu | 16 |
| 4.1.1. Bakterilerin izolasyonu | 16 |
| 4.1.2. Çalışmada kullanılan izolatların moleküler identifikasyonları | 30 |
| 4.1.3. Çalışmada kullanılan ekstraktın GS-MS analizi sonuçları | 34 |

| | Sayfa |
|--|--------------|
| 4.2. Antibiyogram Testi Sonuçları..... | 35 |
| 4.3. MİK Testi Sonuçları | 36 |
| 4.4. Yara Oluşumu ve İyileşim Süreci Boyunca Meydana Gelen Değişimler..... | 36 |
| 4.5. Yara Gelişimi Üzerine Ekstraktın Etkilerinin Belirlenmesi | 38 |
| 4.6. Enzim sonuçları | 41 |
| 4.6.1. MDA sonuçları | 42 |
| 4.6.2. GST enzim aktivite testi sonuçları | 43 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 28 |
| 6. KAYNAKLAR | 46 |
| ÖZ GEÇMİŞ | 56 |



ÇİZELGELER LİSTESİ

| Çizelge | Sayfa |
|--|-------|
| Çizelge 1.1. Gökkuşığı alabalığında optimum su kalite kriterleri..... | 2 |
| Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yem bileşenleri ve miktarları | 21 |
| Çizelge 3.2. Çalışmada oluşturulan deneme gruplar | 21 |
| Çizelge 3.3. Enzim aktivitesi amacıyla alınan örnekler ve özellikleri | 23 |
| Çizelge 3.4. MDA aktivite ölçümü için kullanılan çözeltiler | 24 |
| Çizelge 3.5. GST enzim aktivite testinde kullanılan tamponlar ve özellikleri..... | 24 |
| Çizelge 4.1. İzolatların API kitleri kullanılarak elde edilen biyokimyasal test sonuçları... | 30 |
| Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan ekstraktın disk difüzyon sınır değerlerine (CLSI ve EUCAST) göre oluşturduğu zon alanları | 35 |
| Çizelge 4.3. Deneme grubu örneklerinde karaciğer ve kas dokularında MDA aktivitesinin yara sağaltımı süresince elde edilen spektrofotometrik sonuçları | 42 |
| Çizelge 4.4. Deneme grubu örneklerinde karaciğer ve kas dokularında GST aktivitesinin yara sağaltımı süresince elde edilen spektrofotometrik sonuçları..... | 43 |



ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 1. 1. Kemikli balıklarda derinin yapısı | 5 |
| Şekil 3. 1. Çalışmada kullanılan bakterilerin izolasyon ve mikrobiyal identifikasyonunun şematize gösterimi | 10 |
| Şekil 3. 2. Çalışmada kullanılan bakterilerin moleküler identifikasyon şeması | 17 |
| Şekil 3. 3. Çalışmada kullanılan ekstraktın hazırlanması ve GC-MS analizi şematize gösterimi..... | 18 |
| Şekil 3. 4. Antibiyogram ve MİK testi şematize gösterimi | 19 |
| Şekil 3. 5. Denemede kullanılan akvaryumlar ve ölçüleri..... | 20 |
| Şekil 4. 1. <i>S. epidermidis</i> ve <i>L. garvieae</i> izolatlarının katalaz testi sonucu elde edilen görüntüleri (<i>S. epidermidis</i> : pozitif, <i>L. garvieae</i> negatif) | 28 |
| Şekil 4. 2. <i>S. epidermidis</i> ve <i>L. garvieae</i> izolatlarının oksidaz testi sonuçları (Her iki bakteri negatif sonuç vermiştir)..... | 28 |
| Şekil 4. 3. <i>S. epidermidis</i> (A) ve <i>L. garvieae</i> (B) izolatlarının Gram boyama sonucu pozitif görüntüsü..... | 29 |
| Şekil 4. 4. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının Real-Time PCR görüntüsü..... | 31 |
| Şekil 4. 5. <i>L. garvieae</i> ve <i>S. epidermidis</i> 16S rRNA sekans ve blast analiz sonuçları (A: <i>S. epidermidis</i> blast sonucu, B: Çalışmada kullanılan <i>S. epidermidis</i> 'e ait sekans sonucu, C: <i>L. garvieae</i> blast sonucu, D: <i>L. garvieae</i> 'ye ait sekans sonucu)..... | 32 |
| Şekil 4. 6. <i>L. garvieae</i> ve <i>S. epidermidis</i> izolatlarına ait dendrogram (<i>L. garvieae</i> %99.8, <i>S. epidermidis</i> % 99.3)..... | 34 |
| Şekil 4. 7. Çalışmada kullanılan ekstraktın GS-MS analizi sonucu elde edilen bileşenleri | 35 |
| Şekil 4. 8. Antibiyogram testi sonrasında çalışmada kullanılan ekstrakt ve antibiyotiklerin <i>L. garvieae</i> (A) ve <i>S. epidermidis</i> (B)'e karşı oluşturdukları zon alanları ve uzunlukları | 35 |
| Şekil 4. 9. MHA besiyerine katılan ekstraktın MİK testi sonuçları (A: %25, B: %5, C: %1)..... | 36 |

| Şekil | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 4. 10. Gökkuşığı alabalıklarının anesteziye giriş ve çıkışları esnasındaki görüntüleri | 37 |
| Şekil 4. 11. Gökkuşığı alabalıklarının anestezi ve pansuman sonrası yem alma anları | 37 |
| Şekil 4. 12. Çalışmada kurulan deneme düzeni | 38 |
| Şekil 4.13. Gökkuşığı alabalıklarının anestezi altında tedavi uygulamalarının gerçekleştirilmesine ait görüntüler (A: Kontrol Grubu, B: Kesik Grubu, C: Antibiyotik Grubu, D: Ekstrakt Grubu) | 39 |
| Şekil 4.14. Çalışmada K, E ve A gruplarına ait başlangıç ve bitiş sürelerinde elde edilen yara bölgesi resimleri (A: Kesik gurubu ilk gün, B: Kesik grubu 7. gün, C: Antibiyotik grubu ilk gün, D: Antibiyotik grubu 7. gün, E: Ekstrakt grubu ilk gün, F: Ekstrakt grubu 3. gün)..... | 40 |
| Şekil 4.15. Karaciğer ve kas dokularından MDA ve GST aktivite testleri için gerçekleştirilen laboratuvar aşamaları | 41 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| Simgeler | Açıklama |
|--------------------|---------------------------------------|
| ul | Mikrolitre |
| M | Molarite |
| nm | Nanometre |
| cm | Santimetre |
| kg | Kilogram |
| mg | Miligram |
| µg | Mikrogram |
| °C | Santigrat derece |
| Kısaltmalar | Açıklama |
| TSA | Triptik Soy Agar |
| MHA | Müller Hinton Agar |
| TÜİK | Türkiye İstatistik Kurumu |
| FAO | Dünya Gıda ve Tarım Örgütü |
| MİK | Minimum İnhibisyon Konsantrasyon |
| DAYTAM | Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Merkezi |
| F | Florfenikol |
| AM | Amfisilin |
| UV | Ultraviyole |
| DMSO | Dimetil Sülfoksit |
| MDA | Malondialdehit |
| GST | Glutasyon S- Transferaz |
| BHIA | Beyin Kalp İnfizyon Agar |



EKLER DİZİNİ

| Ekler | Sayfa |
|---|--------------|
| Ek-1. Etik kurul onay belgesi | 67 |
| Ek-2. Lisansüstü tez orjinallik raporu..... | 69 |





1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun her geçen gün hızla artması, sınırlı olan gıda kaynaklarının daha verimli kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir. Günümüzde gıda maddelerinin hijyenik ve ekonomik olmasının yanında protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineral maddeleri gibi besinsel içeriklerini korunmuş olarak tüketiciye ulaştırılması önem arz etmektedir. Su ürünleri içerdiği protein, esansiyel yağ asidi, mineral madde ve vitaminler nedeniyle çok önemli bir gıda maddesidir ve bu gıda grubu içinde de ön sırayı balık almaktadır. Balık eti, besin değerinin ve özellikle protein kalitesinin yüksek olmasının yanında vitamin, mineral ve büyüme faktörü içermesi açısından da mükemmel bir gıdadır (Varlık ve ark., 2004). Su ürünleri yetiştiriciliği, dünyada en hızlı büyüyen gıda üretim sektörü olarak belirlenmiş olup, sektör hemen her bölgede gelişip yaygınlaşmaktadır (Subasinghe ve ark., 2009). Yeryüzünde doğal kaynaklardan etkin ve rasyonel biçimde yararlanmak ekonomik bir zorunluluk iken, bunu yeterince başaramayan ülkelerin gelişimi sınırlı kalmaktadır. Üç tarafı sularla çevrili olan ve 8.333 km'lik kıyı şeridine sahip olan nehir, göl ve barajlar da dikkate alındığında 25 milyon hektarlık su kaynağına sahip olan Türkiye'nin balıkçılık alanında da gerek üretim gerekse tüketim ve dış ticaret yönünden ön sıralarda olması gerekmektedir (Mert, 1991; Kayapınar, 2007). FAO kayıtlarına göre 2017 yılı Dünya su ürünleri üretimi yetiştiriciliği 80.138,782 ton/yıl olup, Türkiye'nin TÜİK verilerine göre 2018 yılı avcılık ve yetiştiriciliği 628.631 ton/yıl olarak bildirilmiştir (TÜİK, 2017).

Dünyada kültürü en fazla yapılan gökkuşuğu alabalığı diğer salmonid balıklara göre kuluçka süresinin kısalığı, çevre koşullarına adaptasyonunun kolay olması, doğal ve yapay yemden yararlanma yeteneğinin yüksek olması ve hastalıklara karşı dayanıklılığı sebebiyle tercih edilmektedir (Edwards, 1978). Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Salmonidae familyasının *Oncorhynchus* genusuna mensup Kuzey Amerika kökenli bir balıktır. Salmonid balıkların vücutları ince uzun olup ışınlı dorsal yüzgeci ile kuyruk yüzgeci arasında ışınsız adipoz yüzgeci bulunmaktadır. Sırt yüzgeci 10-12, anal yüzgeci ise 8-12 yumuşak ışına sahiptir. Pulları, sikloit ve küçüktür. Yanal çizgide 100 ile 150 adet pul yer almaktadır. Bıyıkları yoktur. Vücut kenarları gümüşü, beyaz veya soluk sarı-yeşilden griye eğilimli bir skalaya sahiptir. Vücut kenarlarında bulanık pembe,

mavimsi veya geniş açık bir pembe bant ile çok sayıda küçük lekeler mevcuttur. Anaçlarda yumurtlama zamanı renk çok koyu ve yanal çizgi ise çok kırmızı renk alır. Bu balıkların Avrupa’da en fazla 70 cm boya ve 7 kg ağırlığa ulaştığı bildirilmiştir (Arabacı, 2007).

Alabalık yetiştiriciliğinde ideal yetiştirme ortamı, aynı özellikteki suyun aynı miktarda ve sürekli sağlanabilmesiyle mümkündür. Ayrıca, suyun miktarı ile kalitesi arasındaki ilişki de çok önemlidir. Bu bakımdan su miktarındaki ani değişimler suyun kalite değerlerini pozitif veya negatif yönde etkileyebilmektedir. Alabalıklar için optimum su kalite kriterleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Horst-Emme, 1990).

Çizelge 1. 1. Gökkuşaağı alabalığında optimum su kalite kriterleri

| Su Kalite Kriterleri | Optimum Değerler |
|----------------------------------|------------------------------------|
| Sıcaklık | 20 °C’a kadar |
| Oksijen | 7 mg/L’nin üzerinde |
| pH | 5,5-8,5 |
| Asit Bağlama Kapasitesi | 1,5 Vol/m ³ ’ün üstünde |
| Amonyum | 1,0 mg/L’e kadar |
| Demir | 0,5 mg/L’e kadar |
| Nitrit | 0,2 mg/L’e kadar |
| Nitrat | 10 mg/L’e kadar |
| Potasyum permanganat tüketimi | 40 mg/L’e kadar |
| Kimyasal oksijen gereksinimi | 40 mg/L’e kadar |
| Biyokimyasal oksijen gereksinimi | 15 mg/L’e kadar |
| Oksijen tüketimi | 6 mg/L’e kadar |
| Serbest CO ₂ | 30 mg/L’nin altında |

Kültür balıkçılığının hızlı yayılıp gelişmesiyle birlikte balıkların hastalık problemlerine maruz kalma oranı artmakta, bilinen patojen türlere yenileri eklenmektedir (Austin ve Austin, 1999; Woo ve Bruno, 2003). Kültür balıkçılığında çok sayıda balığın bir arada bulunması, doğada serbest yaşayanlara oranla, daha fazla hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Balıkların doğal yaşam ortamlarının besleyici, fiziksel,

kimyasal, biyotik ve abiyotik optimum yaşam koşullarının olumsuz yönde değişimi bunların kısa süre içinde düzelmemesi ve devam etmesi birçok hastalık etkeninin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Arda ve ark., 2005).

Hastalık sorunları içerisinde bakteriyel etkenler önemli bir yer tutmakta olup, son on yıl içerisinde gram pozitif koklar önemli balık patojenleri olarak tanımlanmışlardır. Dünyanın çeşitli yerlerinde gram pozitif patojenlerin neden olduğu birçok epidemik ve sporadik vakalar rapor edilmiştir (Arda ve ark., 2005).

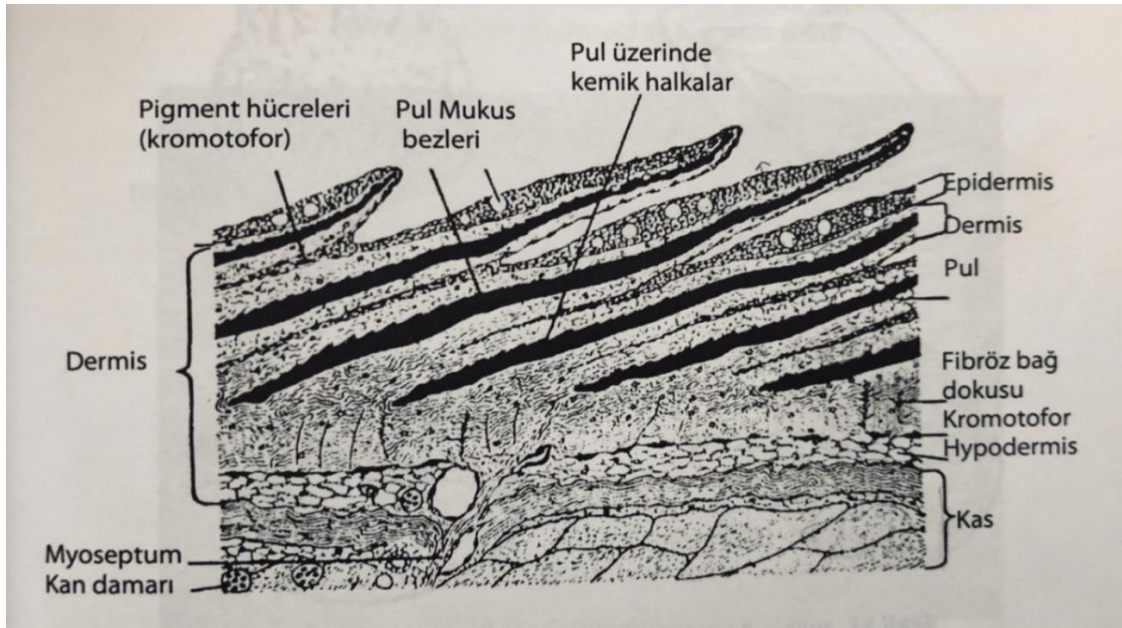
Doğal bağışıklık sisteminin önemli bileşenleri olan makrofajlar, monositler, granülositler ve lizozim gibi humoral elementler balıklarda patojenlerin mevcudiyetine karşı ilk savunma mekanizmasını oluştururlar. Tıbbi bitkiler bir immunostimulant olarak spesifik ve non-spesifik savunma mekanizmasıyla hastalıklara karşı direnci artırmaktadırlar. Bitkilerin aktif bileşenleri lizozim, B ve T lenfositleri, doğal öldürücü hücreler ve fagositoz gibi bağışıklık sisteminin çeşitli komplementlerini etkinleştirebilirler. Bu bağlamda, bitkiler ve yan ürünleri bağışıklık sistemini güçlendirmek için tercih edilebilmektedir. Bitkiler; fenolik, polifenolik, alkaloid, kinon, terpenoid, lektin ve polipeptit bileşikleri içermektedirler. Bu bitkilerin çoğu antibiyotiklere, kimyasallara, aşılarla ve diğer sentetik bileşiklere oldukça etkili alternatif maddeler olarak bilinmektedirler. Su ürünleri yetiştiriciliğinde bitkisel ilaçların aynı zamanda antimikrobiyal aktivite gösteren, gelişmeyi kolaylaştıran ve kültür edilen türlerin olgunlaşmasında etkisi olduğu bilinmektedir. Ayrıca, yoğun yetiştiricilik yapılan çiftliklerde stres faktörü oluşturmadan kullanıldıkları da bildirilmiştir. Bitki ekstraktları ya da onların ürünlerinin çeşitli konsantrasyonlarda oral ya da enjeksiyon yolu ile uygulanması farklı tatlı su ve deniz balıklarında bakteriyel, viral ve parazitik hastalıklara karşı doğuştan ve adaptif immün cevabı artırdığı bildirilmiştir (Baba, 2017).

Bitki ekstraksiyon yöntemleri uçucu yağların elde edilmesi için kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemler sırasıyla Destilasyon yöntemi; sıvıların kaynama noktalarındaki farklardan yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma yöntemidir. Destilasyon yöntemleri, su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu olmak üzere 3'e ayrılmaktadır. Ekstraksiyon yöntemi; Ekstraksiyon işlemini geleneksel ve yeni metotlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Sokselet ekstraksiyonu işlemi geleneksel yöntemler arasında olup işlem süresi uzundur ve büyük miktarlarda çevreyi kirletici çözücüler kullanılmaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve mikrodalga

ekstraksiyonu ise son yıllarda geliştirilen hızlı, etkin ve modern yöntemler arasındadır (Moyler, 1993). Etkin bir ekstraksiyon için sıcaklık önemli bir faktördür. Uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin olduğu sıcaklık değerleri sırası ile 40-60 °C ve 80-100 °C arasında olmalıdır. Sıcaklığın artması artefak oluşumlarına neden olmaktadır. Çok yönlü ekstraksiyon yöntemleri; 1964 yılında Likens ve Nickerson tarafından ortaya konulan bu yöntemde hem zaman hem de harcanan kimyasal miktarı bakımından ciddi azalmalar söz konusudur. Yöntemin çalışma prensibine göre örnek, aparatın sol tarafına su dolu cam balonun içerisine konularak kaynatılmaktadır. Uçucular, buharla destile olarak sol kolondan yukarıya doğru hareket ederken aynı zamanda aparatın sağ tarafındaki çözücüde buharlaştırılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi aparatın üst kısmında yer alan soğutucunun cidarlarında su ve çözücü buharının yoğunlaşmasıyla gerçekleşmektedir. Yoğunlaşan su ve çözücü tekrar buldukları cam balonlara dönmekte, su ve çözücü kısmı ayrı ayrı yoğunlaştırılarak uçucu bileşikler elde edilmektedir. Mekanik yöntem; limon ve portakal gibi bazı turunçgillerin kabuklarındaki uçucu bileşiklerle, destilasyon yöntemi uygulandığında bozunmaktadır. Bu gibi meyvelerin kabukları bez bir torbaya koyularak soğuk hidrolik preslerde sıkılarak uçucu yağlar elde edilebilmektedir (Ceylan, 1983; Kılıç, 2008). Su ürünleri alanında hastalıkların tedavisi ve yetiştiricilik alanları başta olmak üzere farklı amaçlarla bitki ekstraktları kullanılmaktadır. Bu çalışmalar; kan parametreleri (Talas ve Gülhan, 2009), bakteriyel hastalıklar (Goudarzi ve ark., 2011; Önalın ve Çevik, 2019; Bilen ve ark., 2019), viral hastalıklar (Valdes ve ark., 2003; Rodríguez-Gandarilla ve ark., 2020) ve paraziter enfestasyonlar (Zahir ve ark., 2009) üzerine büyüme ve hastalık direncini pozitif olarak etkilediğini gösteren sonuçlar ortaya konmuştur (Turan, 2006; Terzioğlu ve Diler, 2016; Fadeifard ve ark., 2018).

Balık derisi vücudun dış örtüsünü oluşturmaktadır. Derinin yapısı balık türlerine göre bazı değişiklikler gösterse de temelde epidermis ve dermis olmak üzere iki ana tabakadan oluşmaktadır. Dış tabaka veya epidermis balığın vücudunu örterken, iç tabaka diğer adıyla dermis epidermisin altında yer almaktadır. Deride, deriye özgü yardımcı organ olarak duyu reseptörleri, pullar, mukus, zehir bezleri ve ışık organları bulunmaktadır. Ektodermden köken alan epidermis, iki tabakadan oluşmaktadır. Çok katlı yassı epitelyum hücrelerinden meydana gelen birinci tabaka dökülme nedeniyle normal kalınlığını korumak için devamlı çoğalmaktadır. Epidermisin bu çok katlı epitelyum tabakasının altında yer alan ikinci tabaka olarak epitelyum hücrelerini örten

bazal membran bulunur ve epidermisi dermisten ayırır. Bazal membran tabakası farklılaşmamış hücrelerden oluşmaktadır. Derinin altındaki hipodermis bağ dokusu septalarla lobüllerle ayrılmış değişken miktardaki yağ dokusunu içermektedir. İyi beslenmiş ve soğuk iklimlerde yaşayan balıklarda yağ dokusu çok kalın olabildiği bildirilmiştir (Timur, 2013). En üst tabakayı oluşturan epidermis, tipik olarak çok incedir. Epidermiste, glikoprotein yapısında mukoid madde salgılayan hücreler (goblet hücreleri, mukus hücreleri) bulunmaktadır. Bu nedenle üst deri mukoid bir tabakayla kaplanmıştır ve çok kaygandır. Bu tabaka tipik olarak yüzeysel birkaç kat yassı epitel hücrelerden oluşup, ortalama kalınlığı 250 µm kadardır. Epidermis altta stratum bazale ve onun üzerindeki stratum germinativumdan oluşmaktadır. Balıklarda genellikle epidermisi tümüyle örten bir stratum korneum (keratin tabaka) tabakası yoktur ve epidermin yüzeyinde daima canlı hücreler bulunur. Dermis tabakası epidermisten daha kalın ve daha komplike bir yapıya sahiptir. Genellikle epidermin hemen altında bulunan stratum spongyosum (sponjiyöz süngerimsi tabaka) ile daha alttaki stratum kompaktumdan oluşur. Dermis tabakasında, pigment hücreleri, kan damarları, sinirler, kutan duyu organları ve bağ doku bulunmaktadır. Bu tabaka pulların oluşumunda önemli role sahiptir. Epidermin yassı hücreleri arasındaki dağınık bir şekilde bulunan mukoz bez hücrelerinin dermise kadar da uzandığı bildirilmiştir (Sarneyyüpoğlu ve ark., 2017).



Şekil 1. 1. Kemikli balıklarda derinin yapısı (Timur, 2008).

Balıklarda deneysel olarak kesik yarası oluşumu farklı sebeplerden meydana gelebilmektedir. Bunların başlıcaları, coğrafik bilgi sistemleri çalışmaları kapsamında balık takibi ve hastalık teşhisi alanında doku örnekleme gösterilebilir. Bunun dışında doğal olarak hastalık etkenlerinden meydana gelen deri yaralanmaları, balıklar arasında sahiplenme sebepli deri yaralanmaları, su kalite kriterlerindeki bozukluklardan meydana gelen deri yaralanmaları veya pul döküntüleri sebebiyle oluşabilmektedir (Paweena ve ark., 2008).

Omurgalı hayvanlarda, yara iyileşmesinin primer ve sekonder formu bilinmektedir. Primer form iyileşme veya epitelizasyon, epidermiste oluşan derin olmayan yaralardan ve sekonder form ise dermise kadar uzanan derin yara açılmasından meydana gelmektedir (Phromsuthirak, 1977; Bullock ve ark., 1978).

Balıklarda meydana gelen bu deri hasarlarının incelenmesinde enzim aktiviteleri sıklıkla kullanılmaktadır. Enzim çalışmalarında MDA aktivitesi lipit peroksidasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Bu ilişkide serbest radikallerin; hücre zar yapısında bozulma, enzim çalışma kapasitesinde değişiklikler yapma, protein ve diğer moleküller ile kovalent bağlar oluşturma, koenzimlerin etkilerini yavaşlatma, sinir iletisini azaltma, DNA zedelenmesi ve buna bağlı mutasyonlar oluşumuna ve lipit peroksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015).

MDA proteinin amino gruplarına, nükleik asitlere ve fosfolipitlere bağlanarak etkileşim göstermektedir. Bununla birlikte, membran bileşenlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olmaktadır. Membranlardan kolaylıkla difüze olarak, DNA yapısında yer alan nitrojen bazlarla reaksiyona girerek mutajenik ve genotoksik etkiler göstermektedir. Serbest radikallerden en fazla etkilenen bileşik lipitlerin olduğu bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarın geri dönüşümsüz olduğu bildirilmiştir (Akkuş, 1995). Lipid peroksidasyonunun ölçülmesi doku hasarının iyi bir göstergesi kabul gördüğünden; peroksidasyon sırasında oluşan konjugedienlerin ölçümü, hücre içi lipit peroksidasyonun ölçümü için kullanılan bir yöntemdir. MDA miktarının tiyobarbitürik asit testi ile ölçümü bu amaçla kullanılmaktadır (Gümüştas ve Atukeren, 2008).

Serbest radikaller, elektronlarını arttırabilecekleri atomu bulmak için, proteinlere ve DNA'ya zarar vermektedir. Canlılarda devamlı olarak kontrollü bir şekilde reaktif oksijen türleri (ROT) ve antioksidan üretimi gerçekleşmektedir. Doku bütünlüğünün

sağlanabilmesi için, oluşan ROT'un endojen glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPO), glutatyon S transferaz (GST), glutatyon reduktaz (GRx), katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve diğer antioksidanlar (A, C ve E vitaminleri gibi) tarafından nötralize edilmeleri gerekmektedir (Urso ve Clarkson, 2003). GST izoenzimleri elektrofilik ksenobiyotik detoksifikasyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Bu ksenobiyotiklere antikanser ilaçlar, kanserojenler, pestisitler örnek verilebilir. Bu özellikleri GST'nin doğal koruyucu olarak nitelendirilmesini sağlamaktadır (Gyamfi ve ark., 2004).

Bu tez çalışmasında, gökkuşacağı alabalıklarında deneysel olarak oluşturulan kesik yaralarının tedavisi amacıyla daha önce hiç denenmemiş andız kök ekstraktının (*Juniperus sp*) ticari olarak bilinen preparatlardan Teramisin antibiyotiği ile kıyaslaması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekstraktın antibakteriyel etkisini belirlemek için bakteriyel etkenlerin (*L. garvieae* ve *S. epidermidis*) izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. İdentifiye edilen bakteriler ile andız kök ekstraktının antimikrobiyal özellikleri karşılaştırılmış ve MİK testi ile konsantrasyon aralıkları belirlenmiştir. Yara iyileşim sürelerinin makroskobik incelenmesi amacıyla andız ekstrakt grubu (E), antibiyotik (Teramisin) grubu (A), tedavi uygulaması gerçekleştirilmeyen kesik grubu (K) ve ensizyon işlemi yapılmamış olan kontrol grubu (C) olacak şekilde deneme düzeni oluşturulmuştur. Çalışmada ortalama ağırlıkları 80 gr olan toplam 24 adet gökkuşacağı alabalığı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan balıkların linea lateralis yaklaşık 0.5 cm uzaklıktan 1 cm genişliğinde tüm deri katmanları ensize edilmiştir. Yara iyileşim süresi boyunca her grupta yer alan balıkların yara dudaklarının kapanma süreleri belirlenmiş, her gruptan günlük nekropsi işlemi ardından alınan balık örneklerinin MDA ve GST enzim aktivite testleri gerçekleştirilmiştir.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Gökkuşığı alabalığı cinsi olgunluğa genellikle 2-3 yılda ulaşmaktadır. Üreme dönemindeki alabalıklarda cinsiyet farkı kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. Erkek bireylerde renkler daha parlak olurken daha yaşlı bireylerde üreme döneminde alt çenede bir çengel oluşumu meydana gelmektedir. Dişi bireylerde ise karın kısmı oldukça şişkindir. Ayrıca genişlemiş olan anüs, üreme döneminde kırmızı bir renk almaktadır. Cinsi olgunluğa ulaşan balıkların üreme dönemi Kasım-Nisan ayları arasındadır ve canlı ağırlığa göre değişmekle birlikte 1500-2000 adet yumurta verirler. Karnivor olan bu balık özellikle hayvansal gıdalarla beslenir. Alabalık göl ve nehirlerde zooplanktonla beslenirken daha sonraki dönemlerinde böcek, krustase ve diğer balıklarla beslenmektedirler (Purser ve Forteach, 2005).

Juniperus sp., andız ya da andız ağaçları olarak da sınıflandırılmaktadır. Andızlar, Cupressaceae familyasından olup genellikle 10–15 m boyunda olup bazı türlerinin 25 m ye kadar boylandıkları bilinmektedir. Doğu Akdeniz bölgesinde, Yunanistan, Batı Suriye ve Lübnan'da 800-1700 m yükseklikteki kayalıklarda dağılım göstermektedir (Anonim-a, 2019).

Türkiye'de ise andız ağaçları 900-1200 m rakımlarda görülmektedirler. Ardıç, meşe, kızılçam, sedir ağaçlarıyla birlikte bulunabildikleri bilinmektedir. Ülkemizde en çok Anamur, Gülnar, Silifke, Tarsus, Karaisalı, Aladağlar ve Kozan'da yayılım göstermektedirler. Andız türünün tomurcukları yumurta, yapraklar ise iğne şeklinde, uçları sivri, yaprakların üst yüzeyinde stoma çizgisi olup, koyu yeşil görünümüne sahiptirler. Olgun kozalakları oldukça büyük ve etlidir. Kozalak pulları odunlaşmış sert muhafaza içerisinde saklı olup, etli kısmında şeker bulunmaktadır ve etli kısmı buruk tat vermektedir. Ardıç odunu çok sert, dayanıklı ve az kokulu olduğundan mobilya elde edilmekte daha fazla kullanıldığı görülmektedir (Anonim-b, 2019).

Kışın yapraklarını dökmeyen andız türünün ise, Adana ve Antalya yörelerinde meyvelerinden pekmezi, odunundan katranı, kozalaklarından ise tespihi yapılmaktadır. Diğer türlerinden farklı olarak tomurcukları sivri pullarla örtülü; erkek çiçekleri yaprak koltuklarında, 3-6'sı bir arada demet halinde; dişi çiçekler yine yaprak koltuklarında kısa

bir sürgünün ucunda tek tek yer almaktadır. Meyvelerinin kozalak formlu, yuvarlak, 1.5-2.5 cm çapında ve tohumlu olduğu bildirilmektedir (Anonim-b, 2019).

L. garvieae'nin neden olduğu Laktokokkozis dünyanın birçok ülkesinde yaz aylarında su sıcaklığı arttığında yetiştiriciliği yapılan tatlı su ve deniz balıklarında ekonomik kayıplara neden olan septisemik bir hastalıktır (Çağırğan, 2004; Vendrell ve ark., 2006). *Lactococcus* genusuna ait türler *Streptococcaceae* familyası içinde yer almaktadırlar. Gökkuşacağı alabalığında Streptokokkozis ilk defa 1958 yılında Japonya'da Hoshina tarafından bildirilmiştir. Türkiye'de ilk defa Eylül 1992'de Aydın'ın Karacasu ilçesindeki küçük bir aile işletmesinde görülmüştür (Çağırğan, 1994). Aynı yıl işletmede 5 ayrı epizooti görülmüştür. 1993 yılında su sıcaklığı 12 °C iken izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. Su sıcaklığı 15 °C'ye yükseldiğinde 3 gün içerisinde %60 mortaliteye neden olmuştur. Laktokokkozis 2000 yılında su sıcaklığı 15 °C ve üzerine çıktığında diğer alabalık işletmelerinde de görülmeye başlamış, patojen balık nakilleri ile hemen tüm alabalık işletmelerine yayılarak ciddi kayıplara neden olmuştur. Halen alabalık kültürünü tehdit eden en önemli balık patojenlerinden biri olma özelliğini korumaktadır (Çağırğan, 2007).

Staphylococcus ailesine ait bakterilerin neden olduğu bir enfeksiyon olan Stafilokokkozis ilk defa Japonya'da kültürü yapılan sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) ve kırmızı çipura (*Chrysophrus major*) balıklarında bildirilmiştir (Austin ve Austin, 1999). Daha sonra hastalık farklı ülkelerde farklı balık türlerinde görülerek, hasta balıklardan daha çok *Staphylococcus epidermidis* (Kusuda ve Suguyami, 1981; Kubilay ve Uluköy, 2004; Mousavi ve ark., 2004) izole edilmiş olmakla birlikte günümüzde farklı *Staphylococcus* türlerinin de balıklarda hastalığa neden olduğu rapor edilmiştir (Austin ve Austin, 1999). *Staphylococcus* büyük çoğunluğu zararlı değildir ancak bazı türleri ürettikleri toksinler ve enzimler vasıtasıyla konak hücre ve dokulara yerleşerek çeşitli hastalıklara sebep olmakta ve canlının bağışıklık sistemini baskılayıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (Kloos ve Bannerman, 1995). Genellikle bahar dönemlerinde su sıcaklığı ve diğer çevresel faktörler ile ortaya çıkan semptomlar ile seyrettiği bildirilmiştir (Varvarigos, 2001).

Su ürünlerinde bakteri identifikasyonu amacıyla PCR metodunun kullanıldığı birçok araştırma bildirilmiştir. Gökkuşacağı alabalıklarında *L. garvieae* suşların identifikasyonunu tür spesifik primerler dizayn ederek 16S rRNA spesifik gen bölgelerini

çoğaltan çalışmalar bildirilmiştir (Durmaz ve Kiliçoğlu, 2015). Türkiye'nin değişik bölgelerinden balık patojenlerinin PCR yöntemi ile genotiplendirme çalışmalarının yapıldığı da bildirilmiştir (Köstereli ve Onuk, 2019). *L. garvieae* izolatlarının antimikrobiyal direnç profillerinin fenotipik ve genotipik olarak PCR metoduyla belirlenmiş olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Hancı ve Onuk, 2018). Başka bir çalışmada kültür gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) bazı kok türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tespiti üzerine bir çalışma yapıldığı ve izolatların PCR yöntemi ile tanımlandığı bildirilmiştir (Korun ve Yardımcı, 2018). Gökkuşağı alabalığında görülen *Motil aeromonas* (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Y. ruckeri* ve *L. garvieae* bakterilerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ve duyarlılıkta rol oynayan genlerin tespitinde izolatları tanımlamak için PCR testi yapıldığı ve ayrıca çalışmada kullanılan tüm izolatların sulfanomid, tetrasiklin, florfenikol ile sulfamethoksazol-trimetoprim antibiyotiklerinde MİK testleri ve antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç genlerinin PCR yöntemi ile araştırıldığı bildirilmiştir (Duman, 2017).

Su ürünlerinde yapılan çalışmalar, gökkuşağı alabalığından izole edilen *Vibrio anguillarum* suşlarının antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanıldığı ve duyarlılıklarının belirlendiği bildirilmiştir (Balta ve Dengiz, 2017). Yapılan başka bir çalışmada gökkuşağı alabalığından izole edilen *Y. ruckeri*'nin antimikrobiyal duyarlılığını disk difüzyon yöntemi ile MHA besiyerinde saptandığı bildirilmiştir (Balta ve ark., 2016). Bir diğer çalışmada, 25 adet *L. garvieae* izolatının 14 antibiyotiğe karşı duyarlılıkların Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendiği bildirilmiştir (Hancı ve Onuk, 2018). Araştırmacıların yapmış oldukları bu çalışmalarda, ilaç direncinin yüksek oranda saptanması balık hastalıklarının tedavisinde uygun antimikrobiyal ajanların seçilmesinin önemini ortaya koyduğu görülmektedir. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin olup olmadığının araştırılması için bitki ekstraktları hazırlanıp boş antibiyotik disklerine emdirilerek hazırlanan bakteri ve maya örnekleriyle petri kabında inkübasyona bırakılmış, besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirildiği ve belirlendiği bildirilmiştir (İlçim ve ark., 1998). Başka bir çalışmada, kekik bitkisinin antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı ve disk difüzyon yöntemi ile damlatma şeklinde oluşturulan zon çaplarının karşılaştırılarak belirlendiği bildirilmiştir (Benli ve Yiğit, 2005). Juniperus ve diğer 4 farklı bitki

ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin ölçümü için bakteri ve mayalar kullanılmış, yapılan çalışmada disk difüzyon yöntemiyle zon çapları karşılaştırılarak belirlendiği bildirilmiştir (Esen ve Diğrak, 2009).

Balıklarda deri yaralanmaları üzerine yapılmış bazı çalışmalarda jelatin özellikleri (Sarabia ve ark., 2000), infrared özellikli çalışmalar (David ve ark., 1995), mukus ve mikrograf çalışmaları (Buchmann, 1999), parazit kaynaklı (*Larneae sp*) hastalık etkenleri (Ürkü ve Önalın, 2018), deri üzerindeki kollajen kaynaklı çalışmalar (Paweena ve ark., 2008) ve deri üzerinde hormon çalışmaları gibi birçok çalışma araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Gabbiani ve ark., 1976; Pissios ve Eleftheria-Maratos, 2003). Bir başka çalışmada, balıklarda deri yaralarının 3 mm'den kısa olanlarında deri altı iğnesi veya cerrahi bir bıçak kullanıldığı, epidermiste 3 saat içinde küçük yaralar oluştuğu ve ensizyondan 5 gün sonra dermiste fibroblastlar belirginleştiği, 22 gün sonra yaraların histolojik olarak normale döndüğü bildirilmiştir (Billingham ve Russel, 1956; Montandon ve ark., 1977). Bir diğerk çalışma neticesinde ise (Marly ve Summerfelt, 1988), olgunlaşmamış granülasyon dokusunda miyofibroblastların sitoplazmasında bol aktin filamanlarının bulunduğunu bildirilmiştir. Beyaz bulut dağ balıklarında (*Tanichthys albonubes*) ve Atlantik somonu (*Salmo salar*)'da integüment ve kas içeren yara iyileşme oranının sıcaklıkla orantılı olduğunu bildirmiştir (Roubal ve Bullock, 1988). Atlantik somonunda yüksek seviyelerde hidrokortizonun dermal onarımı (fibrozis) geciktirdiğini, ancak epidermal migrasyon ile yara kapanması üzerinde hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir. Kanal yayın balığına vericilerin implantı amacıyla gerçekleştirilen insizyon çalışmasında verici kapsül bağırsaktan atıldıktan sonra ameliyattan 14 gün sonra ayrı bir insizyon hattı şekillendiği bildirilmiştir (Marty, 1990). Balıklarda yara iyileşmesinin doğasını anlamak için temel değerin yanı sıra, yara bölgesinde epidermal hücrelerin, granülasyon dokusunun ve kollajenin kapsam ve tipinin ölçülmesi, sıcaklık ve stres etkilerinin sağlanması, yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Anderson ve Roberts, 1975). Deride tam kalınlıkta yaralar, kan kaybını ve altta yatan dokuların yabancı partiküller ve patojenler tarafından kontaminasyonunu önlemek için onarılması gerekmektedir. Yetişkin memelilerde kutanöz yara iyileşmesi, genellikle pıhtı oluşumu, iltihaplanma, yeniden epitelizasyon, granülasyon doku oluşumu, neovaskülarizasyon ve yeniden modelleme gibi birçok aşamadan oluştuğu bildirilmektedir (Martin, 1997; Singer ve Clark, 1999; Shaw ve Martin, 2009).

Yara oluşturulan dokular arasında yeni dokular şekillenerek sikatrizasyon meydana gelmektedir. Sikatrizasyonun yaralanmış dokuların iyileşme çabalarına destek vererek bu süreci hızlandırdığı bildirilmektedir. Yara dudakların arasında yabancı bir cismin bulunmasını engellemek ve yara dudaklarını birbirine yaklaşmasını sağlamak amacıyla iyileşme sürecine olumlu katkı sağladığı da bildirilmektedir (Samsar ve Akın, 2003). Dikişlerde bu amaca yönelik olarak bütünlüğü bozulan dokularda sikatrizasyonu hızlandırmaya yardımcı olmak, dokuların anatomik yönden normal haline dönmesine katkı sağlamak ve fizyolojik fonksiyonunu tekrardan eski haline getirmek için yapılan uygulamalardır (Önalın ve Sancak, 2020).

Serbest radikaller, bu radikallerin yapıları, organizmadaki zararları ve bu zararları ortadan kaldıran antioksidan savunma sistemi, bu savunma sisteminde yer alan alt gruplar ve antioksidanların büyüme faktörleri ile ilişkisi konusunun incelendiği bildirilmiştir (Aydemir ve Sarı, 2009).

Su ürünleri alanında yapılan MDA enzim çalışmaları normal ve albino balıklardan alınan örneklerle enzim karşılaştırmaları gerçekleştirilmiştir (Karataş ve Kocaman, 2012). Başka bir çalışmada, DMN toksisitesinin (nörotoksik etkilere ve metabolik bozukluklara) kan biyokimyası, malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerindeki etkilerini bildirmektedir (Karataş ve ark., 2019). Diğer bir çalışmada balık larvalarının bisfenol A toksisitesinin antioksidan savunma MDA ve GST üzerindeki etkileri bildirilmiştir (Kankaya ve ark., 2015). Biyopestisit ile gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, süperoksitdismutaz (SOD), glutatyonperoksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin, oksidatif DNA hasarı (8-hidroksi-2), antioksidan enzim parametreleri ve toksisite mekanizmalarının belirlenmesinde önemli rol aldığı bildirilmiştir (Alak ve ark., 2017). Balık dokularında meydana gelen tahribat sonrasında, lipid peroksidasyon ve protein karbonil bileşiminin arttığı bildirilmiştir. Civaya maruz bırakılan dokularda gelişen oksidatif stres, bu metalin balıklarda toksisitenin en önemli göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (Monteiro ve ark., 2010).

Ağır metal ve pestisitlerin balıklarda birikmesi oksidatif strese nedeni olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına sebep olmaktadır. Bu tip çevresel kirleticiler, reaktif oksijen türlerin hücrelerde direkt olarak artmasına neden olur ve antioksidan kapasiteyi azalttığı bildirilmiştir (Akbulut ve ark., 2014). Kongo kırmızısı kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada *Gammarus pulex*'un GST, Sitokrom-A1 enzimleri ile MDA

seviyelerinde artırıcı bir etkide bulunduğunu bildirilmiştir (Tatar ve ark., 2019). Karboksinin gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkileri bildirilmiştir (Uçar ve ark., 2012). Ağır metallerin solungaç ve karaciğer dokularındaki oksidatif strese neden oldukları ve MDA seviyelerini değiştirdikleri bildirilmiştir (Kaya, 2016). Gökkuşuğu alabalığı yavrularının yem rasyonlarına beta-karoten (β -karoten) katkısının serum, kas, karaciğer ve böbrek dokularında MDA üzerine pozitif etkili olduğunu belirtmiştir (Keleştemur, 2012).

Gökkuşuğu alabalığında stres faktörlerinin ve bağışıklık sistemi üzerine etkili maddelerin MDA ve GST üzerine etkilerinin olduğu MDA aktivitesinin yaz aylarında ve stres koşullarında arttığı, GST enzim aktivitesinin spesifik olmayan bağışıklık sistemi etkileşmesinde yükseldiği bildirilmektedir (Alı, 2019; Önalın, 2019).

kullanılmıştır. Real-Time PCR sonucunda PCR amplikonlarının sekans analizi ile tür bazında identifikasyon işlemi tamamlanmıştır.

3.1.2.1. DNA izolasyonu

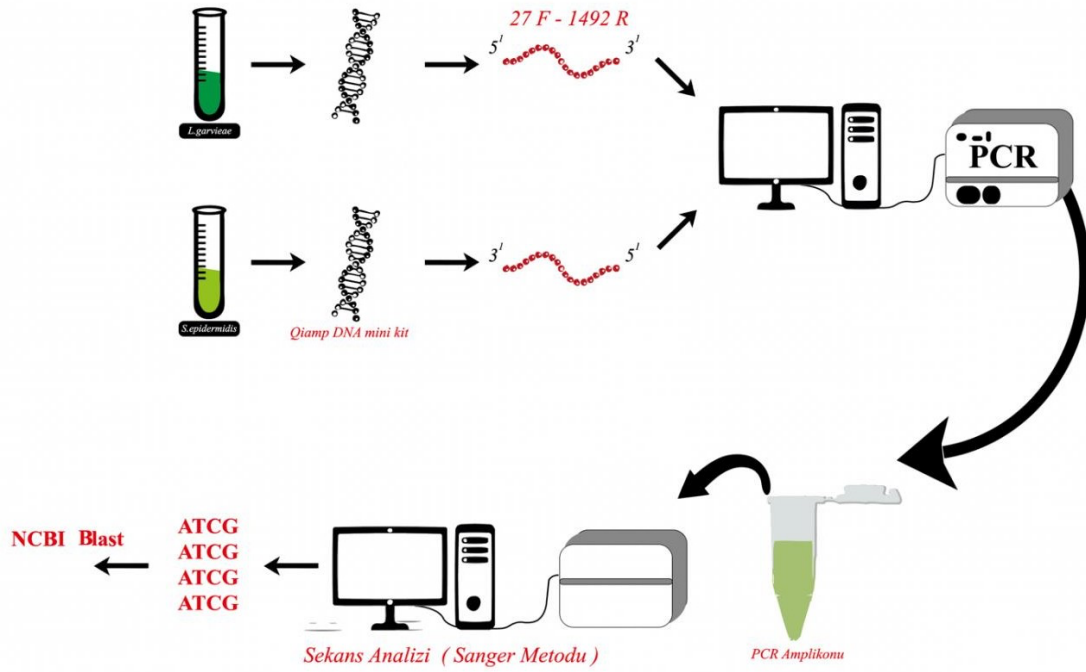
TSA besiyerinde 37 °C’de 24 saat inkübasyonun ardından gelişen kolonilerden DNA Mini Plus Kit (Qiagen) ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda QIACube cihazında total genomik DNA’lar izole edilmiştir. DNA saflıkları nano-spektrofotometre (QIaxpert) ile ölçülmüştür (Önalın ve Yavuz, 2019).

3.1.2.2. Real-Time PCR işlemi

İzole edilen DNA’lar, bakteri spesifik Forwad ve Reverse primerler (27F-1492R), 2x SYBRGreen Master mix, DNase-Rnase free su kullanılarak 25 ul toplam hacim olarak ayarlanmıştır. Ardından, gerçekleştirilecek Real-Time PCR işleminde 95 °C ön denatürasyon işlemini takiben 94 °C’de denatürasyon, 55 °C’de bağlanma ve 72 °C uzama işlemi 45 cycle olarak tamamlanmıştır. Son basamak olarak 72 °C de 7dk son uzama basamağı ile PCR işlemi tamamlanmıştır. Negatif kontrol olarak non-template kontrol tüpleri hazırlanarak kullanılmıştır. Rotor Gene Q 9000 yazılımında grafikler değerlendirilmiştir (Gülaydın ve ark., 2018). Real-Time PCR grafiğinde eşik değerinin (0.5) üzerinde olan sigmoidal eğriler pozitif olarak değerlendirilmiş ve PCR amplikonları sekans analizi için hazırlanmıştır.

3.1.2.3. Sekans analizi

PCR amplikonu ve kullanılan primer çiftleri ile hedef bölgenin sekans analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla PCR amplikonu temizleme amacıyla Real-Time PCR işlemi gerçekleştirilmiş ve melting curve HRM analizi sonuçları ile çalışmanın doğruluğı belirlenmiştir. Sanger metodu ile gerçekleştirilen çift yönlü sekans analizi sonuçları pdf ve sekans dosyası (ABI) formatında alınmıştır. Fasta formatına dönüştürülen sekans sonuçları NCBI web sayfasında Blast ile blastlama işlemine tabii tutulmuştur. Blastlama sonucunda sekans verisine en yakın 5 verinin erişim numarası alınmış ve CLC Main Workbench yazılımı ile aynı türler arası benzerlik oranları belirlenmiştir (Balta ve Balta, 2017).



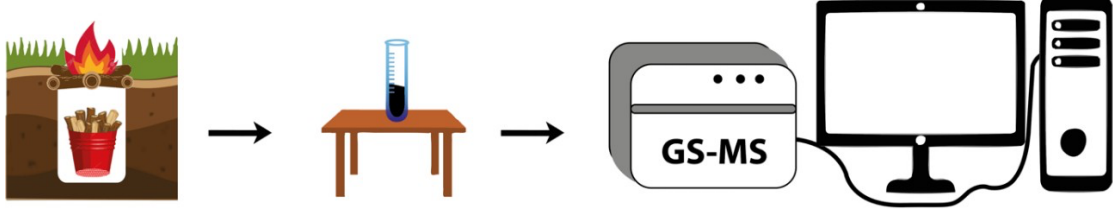
Şekil 3. 2. Çalışmada kullanılan bakterilerin moleküler identifikasyon şeması.

3.2. Andız Kök Ekstraktı (*Juniperus sp*) İdentifikasyonu

Akdeniz bölgesinde dağların yüksek kesimlerinde yetişen andız ağacı kullanılarak elde edilen ekstrakt, aile işletmecisi Ali Bey'den ücretsiz temin edilmiştir. Ekstraksiyon elde etmek için kullanılan işlemler özetle şu şekilde ifade edilmiştir. Bu ağacın kesilmiş eski kökleri çıkarılarak parmak boyunda parçalanmıştır. Altı demir delikli tenekler içerisine kökler yerleştirilmiştir. Tenekenin etrafı özel bir malzeme ile çevrelenerek toprağa yerleştirilmiştir. Tenekenin etrafında ve çevresinde belirli bir sıcaklığa maruz bırakılarak akan özüt temiz kaplara alınmıştır. Bu çalışmada kullanılan andız kök ekstraktı ticari olmayan ve kendi üretimini gerçekleştiren üretici tarafından bu çalışmada kullanılmak üzere alınmıştır. Ekstrakt ile ilgili ağacın tam özellikleri, tam ekstraksiyon metodu ve bölgesi, temin edilen kişi talebi ve patent başvuru sürecinin devam etmesinden dolayı açık olarak verilmemiştir.

Andız kökünden (*Juniperus sp.*) elde edilen ekstrakt 0,05 M oranında DMSO ile dilüe edilmiştir. Süspansiyondan 1 ml örnek GS-MS cihazında spesifik kolonlar ile fenolik bileşikler yönünden incelenmiştir (Fetter ve ark., 2019). GS-MS analizi Atatürk

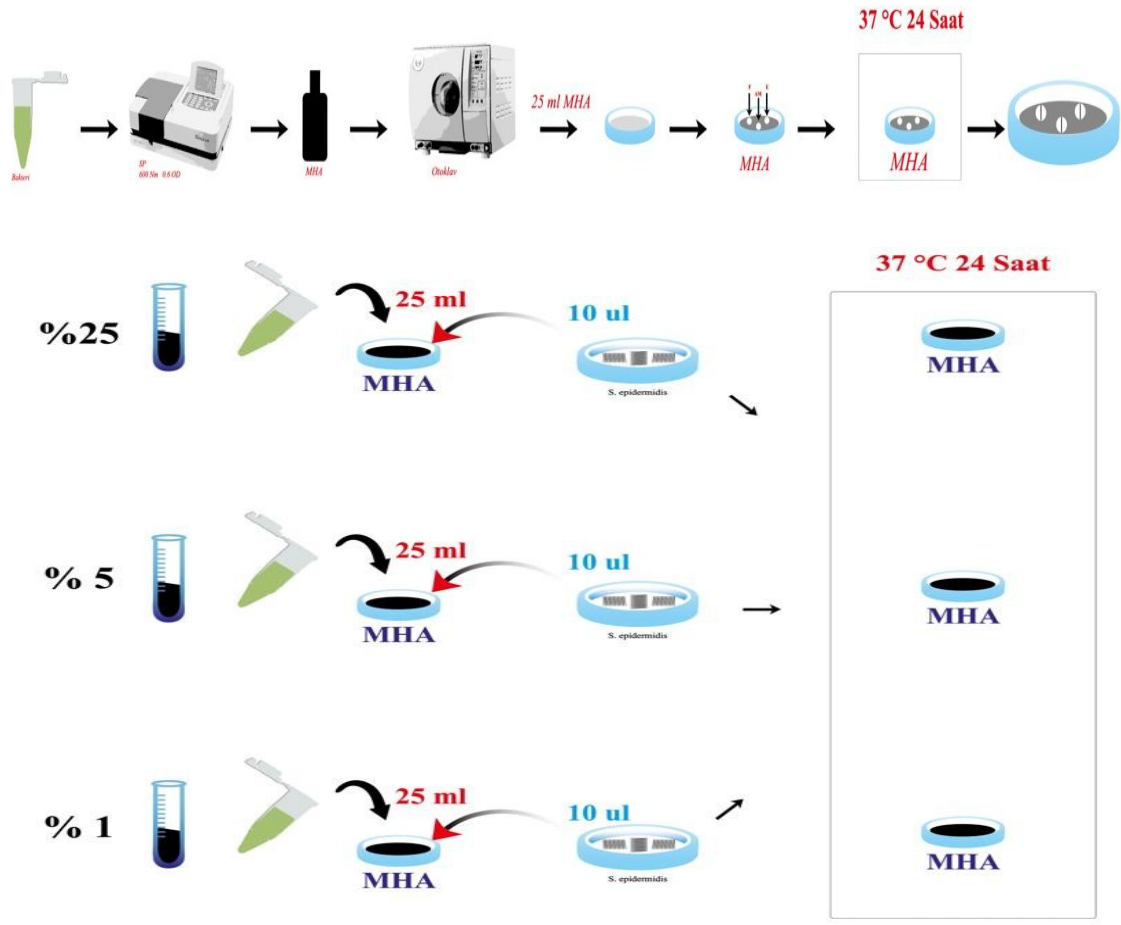
Üniversitesi, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Merkezi'nde (DAYTAM) hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 3. Çalışmada kullanılan ekstraktın hazırlanması ve GC-MS analizi şematize gösterimi.

3.3. Antibiyogram Testi

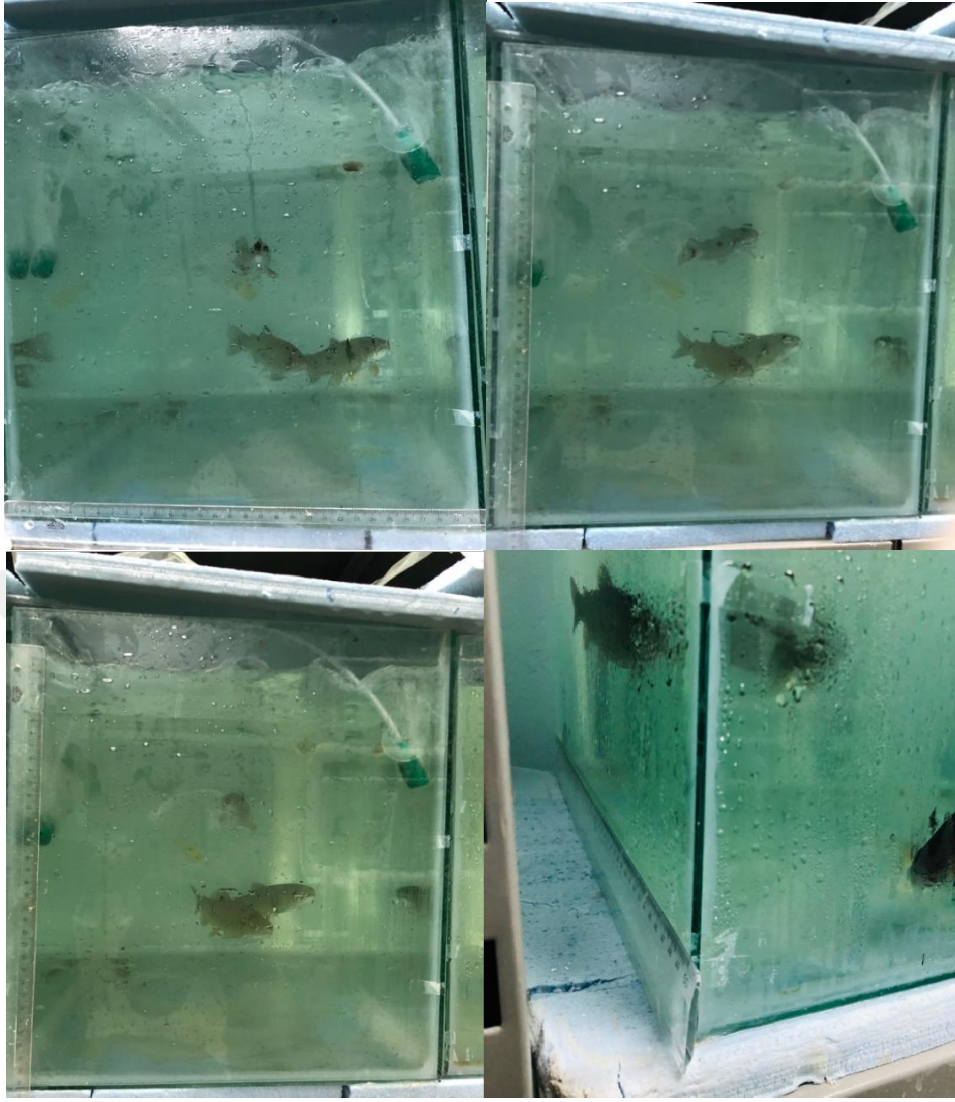
Çalışmada kullanılan *L. garvieae* ve *S. epidermidis* izolatları TSB besiyerinde 37 °C'de 24 saat inkübasyonun ardından 600 nm'de 0.6 OD yoğunluğuna eşitlenmiştir. Ardından, Müller Hinton Agar (MHA) besiyerine 10 ul olacak şekilde inoküle edilmiş ve drigaski ile yayılmıştır. MHA besiyerlerine bakteri ekiminin ardından eşit uzaklıklarda Ampisilin, Florfenikol ve çalışmada antimikrobiyal etkinliği araştırılan andız kök ekstraktının %17 oranında DMSO ile sulandırılmış şekli boş antibiyotik disklerine otomatik pipet yardımı ile 10 ul eklenmiştir. MHA besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon sonrasında oluşan zon çaplarının anlamlı hale dönüştürülebilmesi amacıyla çalışmada Antibiotic Zone Diameter Table'de bulunan Florfenikol (F) ve Ampisilin (AM) antibiyotiklerinin direnç durumları ile ekstrakt zon çapları karşılaştırılmıştır. İnkübasyon sonrası oluşan zone alanları Antibiyotik Zone Diameter Table ile antibiyotiklerin oluşturdukları zon alanlarına göre etken maddenin duyarlılık ve dirençlilik oranları kıyaslanmıştır (Önalın ve Çevik, 2019).



Şekil 3. 4. Antibiyogram ve MİK testi şematize gösterimi.

3.4. Deneme Düzeni

Deneysel çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Canlıları Deneme Ünitesi ve Yerel Etik Kurulunun 25.07.2019 tarih ve 2019/07 nolu kararı ile gerçekleştirilmiştir. Ortalama 80 gr ağırlığındaki gökkuşağı alabalıkları 7 gün boyunca adaptasyona maruz bırakılmıştır. Bu sürenin ilk 3 gününde balıklar aç bırakılmıştır. Ardından, yem alımları kontrol edilerek *ad libitum* yemleme ile balıklar beslemeye başlanmıştır. Akvaryum tabanında oluşan yem ve dışkı artıkları her akşam sifonlama ile temizlenmiştir. Adaptasyon süresinin ardından deneme akvaryumlarında her bir akvaryuma 3 balık konulmuştur. Çalışmada 50x40x30 cm ebatlarında eşit hacimli cam akvaryumlar kullanılmıştır (Sarıyüpoğlu ve ark., 2017).



Şekil 3. 5. Denemede kullanılan akvaryumlar ve ölçüleri.

Balıkların yemlemesi amacıyla Özpekler marka ticari yem kullanılmıştır. Kullanılan yemin bileşenleri aşağıda (Çizelge 3.1) verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Denemede kullanılan yem bileşenleri ve miktarları

| Bileşenler | Miktarları |
|-------------------------|-------------------|
| Ham protein | %44 |
| Ham yağ | %18 |
| Ham selüloz | %1.99 |
| Ham kül | %9.32 |
| Kalsiyum | %1.39 |
| Fosfor | %0.75 |
| Sodyum | %0.57 |
| Vitamin A | 8.000 IU/kg |
| Vitamin D3 | 3.000 IU/kg |
| Vitamin E | 350 mg/kg |
| Manganez (Mangan oksit) | 30 mg/kg |
| Çinko | 60 mg/kg |
| Demir | 20 mg/kg |
| İyot | 2 mg/kg |
| Bakır | 6 mg/kg |
| Selenyum | 0.2 mg/kg |

Çalışmada kullanılan ekstraktın yara iyileşimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla 4 grupta ve 2 tekerrürden oluşan bir deneme ortamı oluşturulmuştur. Bu amaçla 80 g ağırlıkta gökkuşuğu alabalığından her grupta 6 adet (3+3) olmak üzere toplam 24 balık ile deneme düzeni kurulmuştur.

Çizelge 3. 2. Çalışmada oluşturulan deneme grupları

| Grup-1 | Grup-2 | Grup-3 | Grup-4 |
|----------------------------|-------------------------------|--|----------------------------------|
| Kontrol (C) 3 balık | Kesik Grubu (K) 3 balık | Antibiyotik Teramisin Grubu (A) 3 balık | Ekstrakt Grubu (E) 3 balık |
| Grup-1 Tekerrür | Grup-2 Tekerrür | Grup-3 Tekerrür | Grup-4 Tekerrür |
| Kontrol (C) 3 balık | Kesik Grubu (K) 3 balık | Antibiyotik Teramisin Grubu (A) 3 balık | Ekstrakt Grubu (E) 3 balık |

Birinci grupta sağlıklı bireylerden oluşan kesik yarasının oluşturulmadığı kontrol (C) grubu, 2. grupta yara oluşturulan ve herhangi bir tedavi uygulanmayan Kesik grubu (K),

3. grupta kesik yarası oluşturulup teramisin antibiyotiği uygulaması gerçekleştirilen Antibiyotik (A) grubu ve 4. grupta kesik yarası oluşturulup ekstraktın uygulandığı Ekstrakt grubu (E) olarak deneme dzenini hazırlanmıştır.

3.5. Kesik Yarası Oluşumu

Deneme dzeninin hazırlanması ve adaptasyon suresinin bitiminin ardından kesik oluşturulması amacıyla balıklar anestezi altına alınmışlardır. Anestezi öncesinde balıklar akşamdan aç bırakılmışlardır. Anestezi işlemi 2- fenoksietanol ile gerçekleştirilmiştir (Nemli ve ağırgan, 2017). 10 L'lik kovalarda 0.4 ml/L oranında 2-fenoksietanol eklenmiş suya 1'er dakika aralıklarla aynı gruptaki balıklar sırasıyla alınmıştır. Anesteziye giren her balık örneği hemen kesik yarası oluşturulması amacıyla operasyon odasına alınmıştır. Kesikler 1 cm eninde ve deri katmanının tamamı kesilinceye kadar ortalama 0.5 cm derinliğinde ensize edilmiştir (Sarreyyüpoğlu ve ark., 2017).

Kesik oluşturulmuş balıklar bol oksijen ilavesi yapılmış 53 L'lik akvaryumlarda anestezi den çıkış süresinde bekletilmiştir. Anestezi den çıkan balıklar kendi grup akvaryumlarına bırakılmıştır. Akvaryumlara bırakılan balıklar anestezi çıkış sürecinden sonraki ilk 15 dk boyunca konjesyon ve hemoraji oluşumu gözlenmiştir. Kesik oluşturulan gruplara 7 gün boyunca pansuman amacıyla aynı anestezi prosedürü tekrar edilmiştir.

3.6. Enzim Aktivite Testleri

Çalışmada oluşturulan kesik gruplarının yara iyileşimi süresince rol oynayan MDA ve GST enzim aktivite düzeyleri her gruptan günlük alınan balık örneklerinde karaciğer dokularında ölçülmüştür.

Enzim aktivite düzeylerinin belirlenmesi amacıyla gruplardan oluşturulan örneklemeler ve kodları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3. 3. Enzim aktivitesi amacıyla alınan örnekler ve özellikleri

| Kod | Grup Adı | Doku Adı | Gün sayısı |
|-----|-------------|-----------|------------|
| 1 | Kontrol | Karaciğer | 1. gün |
| 2 | Kesik | Karaciğer | 1. gün |
| 3 | Antibiyotik | Karaciğer | 1. gün |
| 4 | Ekstrakt | Karaciğer | 1. gün |
| 5 | Kontrol | Karaciğer | 3. gün |
| 6 | Antibiyotik | Karaciğer | 3. gün |
| 7 | Ekstrakt | Karaciğer | 3. gün |
| 8 | Kontrol | Karaciğer | 6. gün |
| 9 | Kesik | Karaciğer | 6. gün |
| 10 | Antibiyotik | Karaciğer | 6. gün |
| 11 | Ekstrakt | Karaciğer | 6. gün |
| 12 | Kontrol | Kas | 1. gün |
| 13 | Ekstrakt | Kas | 1. gün |
| 14 | Ekstrakt | Kas | 2. gün |
| 15 | Ekstrakt | Kas | 3. gün |

3.6.1. Malondialdehit (MDA) testi

Lipit peroksidasyonunda aldehit ürünlerinden biri olan MDA'nın ölçümü tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu esasına dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda MDA'nın TBA ile etkileşimi sonucunda pembe renkli kompleks oluşumu ve bu kompleksin absorbansının 532 nm'de spektrofotometrik ölçümü ile lipit peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır.

Bu çalışmada MDA ölçümlerinde Yoshiko ve arkadaşlarının (1979) lipit peroksidasyon ölçüm metodu olarak bildirdikleri metot uygulandı ve ölçümler gerçekleştirildi. Analiz için numunelerden 250 µl vidalı kapaklı cam tüplere konuldu, üzerine 1.25 ml triklorasetikasitin (TCA) %10'luk çözeltisinden ilave edilip karıştırıldı ve 0.5 ml %0.67'lik tiobarbitürik asit ilave edildi. Kör tüpüne ise TCA'dan 1.5 ml ve TBA'dan 0.5 ml konuldu. Tüplerin ağızları sıkıca kapatılıp 30 dakika kaynar su banyosunda tutulduktan sonra çeşme altında soğutuldu ve 2 ml n-butanol ilave edilip karıştırılarak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz 535 nm'de okundu. Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı ve sonuçlar µmol/gr doku olarak hesaplandı (Alak ve ark., 2017).

Çizelge 3. 4. MDA aktivite ölçümü için kullanılan çözeltiler

| | Kör (ml) | Standart (ml) | Örnek (ml) |
|------------------|----------|---------------|------------|
| Örnek | ----- | ----- | 0.250 |
| Standart | ----- | 0.250 | ----- |
| Serum Fizyolojik | 0.250 | ----- | ----- |
| Ayıraç | 2.250 | 2.250 | 2.250 |

3.6.2. GST (GlutatyonS-Transferaz) aktivite ölçümü

Balıkların karaciğer doku örneklerinden 0.5 gram tartılıp cam tüplere konuldu. Doku örnekleri on katı oranında fosfat tamponu ile homojenize edildi. Kullanılan fosfat tamponu (50 mM KH₂PO₄ ve 10 mM EDTA) pH 7'ye ayarlanarak hazırlandı. Homojenizatör ile homojen hale getirilen doku örnekleri 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminden sonra üstte kalan sıvı kısım alınıp 4 °C'de biyokimyasal analizler için saklandı. GST aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere aşağıdaki şekilde eklendi. Numune küvetine GST kaynağı olan süpernatant numunesinden 25:1 oranında ilave edilerek, hafifçe karıştırıldı ve 340 nm'de 3 dk boyunca meydana gelen absorbans artışları ölçüldü. Üç dakika sonunda ölçülen absorbans 3'e bölünerek dakika başına düşen absorbans değeri tespit edildi (Habig ve ark., 1974).

Çizelge 3. 5. GST enzim aktivite testinde kullanılan tamponlar ve özellikleri

| Çözeltiler | Numune | Kör |
|----------------|--------|---------|
| Fosfat Tamponu | 2.1 mL | 2.15 mL |
| CDNB | 25 µl | 25 µl |
| GSH | 25 µl | 25 µl |
| Süpernatant | 50 µl | ----- |

Dokuda GST aktivitesi, Glutatyon ve 1-2 dikloro,4 nitrobenzenin (CDNB) konjugasyonu sonucu oluşan ürünün 340 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanan metotla gerçekleştirildi (Habig ve ark., 1974; Çiltaş ve Balık, 2016).

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışma sonucunda elde edilen sayısal veriler Microsoft Excell, GraphPad (V8) ve CLC Main Workbench yazılımları kullanılarak değerlendirilmiştir.



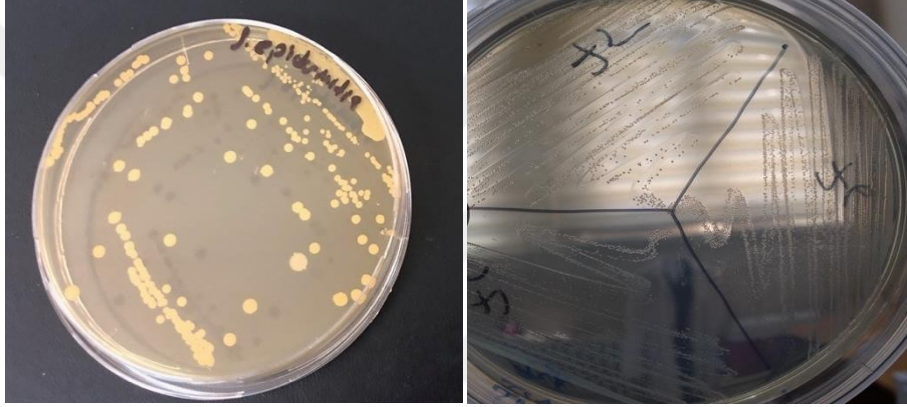


4. BULGULAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Bakteri İzolatlarının İzolasyon ve İdentifikasyonu

4.1.1. Bakterilerin izolasyonu

Kültüre alınmış olan *S. epidermidis* ve *L. garvieae* izolatları TSA besiyerine ekilerek 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında izole edilen bakterilerin görüntüleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1. *S. epidermidis* ve *L. garvieae* izolatlarının TSA besiyerinde oluşturduğu koloniler.

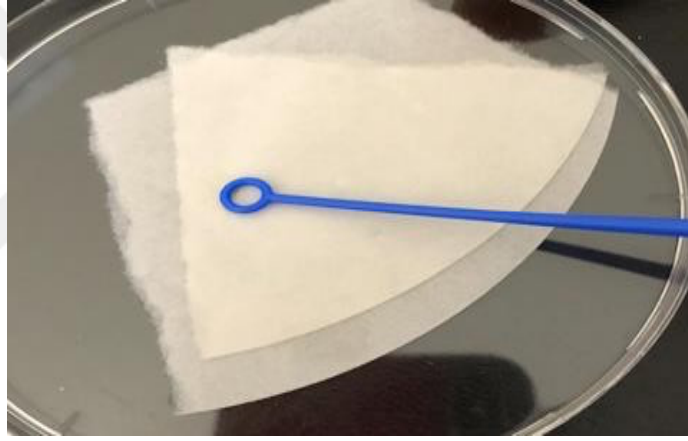
TSA besiyeri ekimleri sonucunda tipik kolonilerin her iki bakteri türünde de olduğu görülmüştür. *S. epidermidis* kolonilerinin dağınık şekilli sarımsı renkte 1mm’den büyük koloniler oluşturdukları görülmüştür. *L. garvieae* kolonilerinin ise 1mm’den küçük düzgün kenarlı krem renkli oldukları gözlenmiştir.

TSA besiyerinde geliştirilmiş bakterilerin, bazı mikrobiyolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, katalaz, oksidaz ve Gram boyama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Katalaz testi sonucunda, *S. epidermidis* izolatının hidrojen peroksit ile etkileşime girerek O₂ açığa çıkardığı gözlenmiştir. *L. garvieae* izolatının ise hidrojen peroksit ile etkileşime girmediği ve O₂ açığa çıkarmadığı gözlenmiştir.



Şekil 4. 2. *S. epidermidis* ve *L. garvieae* izolatlarının katalaz testi sonucu elde edilen görüntüleri (*S. epidermidis*: pozitif, *L. garvieae* negatif)

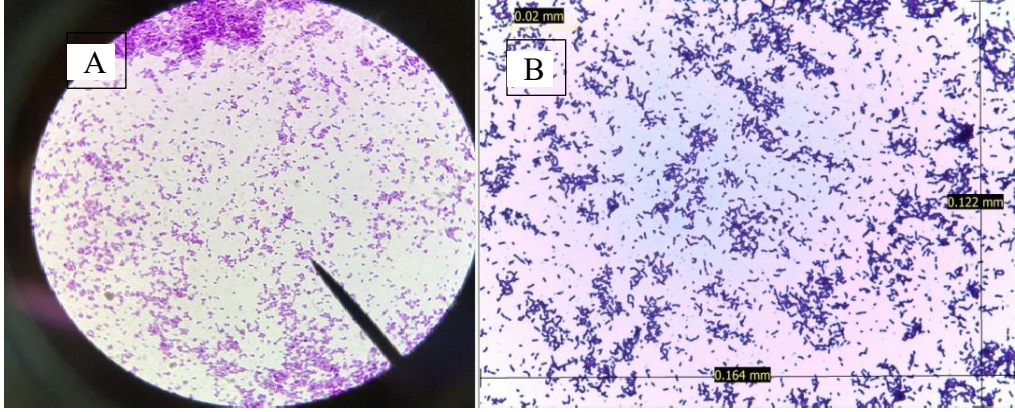
Oksidaz testi amacıyla Bactident (Merck) ticari kiti kullanılarak bakteri izolatlarının Tetremetil-parafenilen diamin di-hidroklorit (Kovac reaktifi) ile etkileşimi sonucunda renk değişimi yönünden incelenmiştir. Her iki bakteri için aynı test kağıdında elde edilen oksidaz testi sonuçları aşağıda verilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4. 3. *S. epidermidis* ve *L. garvieae* izolatlarının oksidaz testi sonuçları (Her iki bakteri negatif sonuç vermiştir)

Oksidaz testi sonucunda her iki bakterininde 1-2 dk bekleme süresinin ardından renk değişimi olmadığı ve negatif sonuç verdiği görülmüştür.

Gram boyama testi amacıyla *S. epidermidis* ve *L. garvieae* etkenleri TSA besiyerinde taze kültür olarak elde edilmiştir. Sırasıyla; kristal viole, lugol, alkol ve sulufuksin reaktifleri ile 1'er dk boyama sonucunda elde edilen görüntüler aşağıda verilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4. 4. *S. epidermidis* (A) ve *L. garvieae* (B) izolatlarının Gram boyama sonucu pozitif görüntüsü

Gram boyama testi sonucunda her iki bakterininde hücre duvarının polisakkarit yapısından dolayı mavi-mor renk aldığı ve her iki bakterinin gram pozitif olduğu görülmüştür. Saflaştırılan ve bazı mikrobiyolojik özellikleri belirlenen bakteriler, PCR ile identifikasyonunun ardından çalışmada yara iyileşimi amacıyla kullanılan ekstraktın antimikrobiyal özelliğinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

İzolatların biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla API kitleri (Biomerioux) ile gerçekleştirilen biyokimyasal test sonucunda elde edilen test sonuçları aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. İzolatların API kitleri kullanılarak elde edilen biyokimyasal test sonuçları

| | PHS | URE | GLS | MNE | MAN | TRE |
|-----------------------|------|----------|----------|----------|----------|------|
| <i>S. epidermidis</i> | + | + | - | - | - | - |
| | SAL | GLC | ARG | NGP | NOV | COAG |
| | - | - | + | - | - | - |
| | ADH | B GLU | B GAR | B GUR | A GAL | PAL |
| <i>L. garvieae</i> | + | + | - | - | - | - |
| | RIB | MAN | SOR | LAC | TRE | RAF |
| | + | + | - | - | + | - |
| | SAC | LARA | DARL | CDEX | VP | APPA |
| | + | - | - | - | + | + |
| | BGAL | PyrA | bNAG | GTA | HIP | GLYG |
| | - | + | - | - | + | - |
| | PUL | MAL | MEL | MLZ | MbDG | TAG |
| | - | + | - | - | + | + |
| | bMAN | URE | | | | |
| - | - | | | | | |

O/F: oksidasyon/fermentasyon, ADH: L-arjinin, β GLU: β -glukosidaz, β GAR: β -galaktosidaz, β GUR: β -glukuronidaz, α GAL: α -galaktosidaz, PAL: alkalın fosfataz, RIB: D-riboz, MAN: mannitol, SOR: sorbitol, LAC: laktoz, TRE: D-trehaloz, RAF: D-rafinoz, VP: voges proskaur, APPA: L-alanil-L-fenilalanil-L-proline- β -naftahalamid, β GAL: β -galaktosidaz, PYRA: piyroglyutamik asit- β -naftalamid, β -NAG: N-asetil β -glukosaminidaz, GTA: gliseril-triptofan arilamidaz, HIP: hippurat hidrolizi, GLYG: glikojen; PUL: pullulan, MAL: D-maltoz, MEL: D-melibioz, MLZ: D-melezitoz, SAC: D-sakkaroz, LARA: L-arabinoz, DARL: D-arabitol, MBDG: metil- β D-gluko-pyranosid, TAG: D-tagatoz; β MAN: β -mannosidaz, CDEX: D-siklodekstirin, URE: Ureaz.

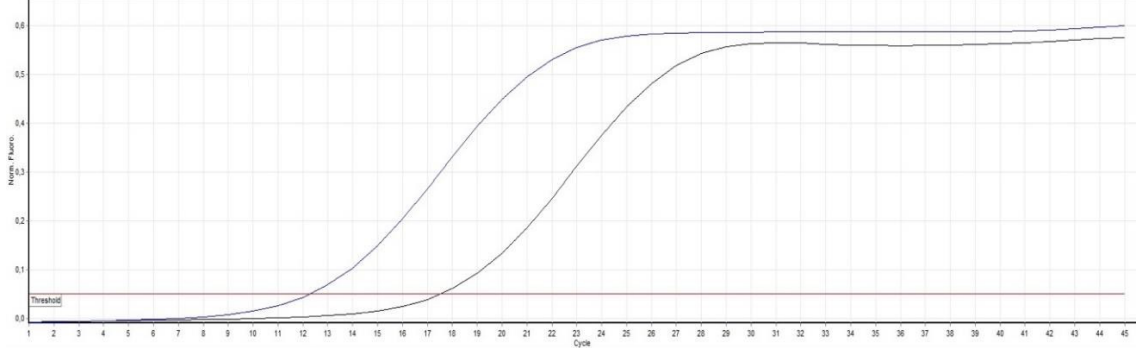
API testi sonucunda *L. garvieae*'nin %86, *S. epidermidis*'in ise %90 oranında identifiye olduğu görülmüştür. API identifikasyonu işlemleri APItm web sayfasından online olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.2. Çalışmada kullanılan izolatların moleküler identifikasyonları

Çalışmada ekstraktın antimikrobiyal özelliğini belirlemek amacıyla kullanılan *S. epidermidis* ve *L. garvieae* izolatlarının bazı mikrobiyolojik testlerinin ardından moleküler olarak identifikasyonu amacıyla Real-Time PCR testi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, her iki bakteriden DNA izolasyonları DNA Mini Plus Kit (Qiagen) ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'ların A260/280 nm saflık oranları *L. garvieae* için 1.84, *S. epidermidis* için 1.89 olarak ölçülmüştür.

DNA izolasyonunun ardından üniversal bakteri primerleri ile Real-Time PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR ampikonları sekans analizine gönderilerek elde edilen nükleik asit dizilimleri NCBI blastlama sonuçlarına göre yüzdelik identifikasyonları belirlenmiştir.

Antimikrobiyal testte kullanılan bakteri identifikasyonlarının Real-Time PCR sonucunda elde edilen sigmoidal eğrilerin görüldüğü pozitif sonuçlar aşağıda verilmiştir.



■ *L. garvieae* ■ *S. epidermidis*

Şekil 4. 5. Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının Real-Time PCR görüntüsü.

Real-Time PCR grafiğine göre her iki bakteri DNA'sında üniversal primerlerle pozitif sonuç verdiği ve 0.5 eşik değerine göre sigmoidal eğri vererek pozitif oldukları görülmüştür. Sekans analizi sonucundan *S. epidermidis* ve *L. garvieae*'ye ait nükleik asit dizilimleri ve blastlama sonuçları aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.6).

A

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Manage Columns Show 100

select all 100 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results

| Description | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Accession |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|------------|------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain A-1-6B-AP 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2006 | 2006 | 68% | 0.0 | 98.67% | MT492075.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain A-2-7B-AP 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2004 | 2004 | 73% | 0.0 | 96.48% | MT492086.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain 2322 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT604781.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus saprophyticus strain LS150 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT409907.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain LS040 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT409896.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain NA4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT270438.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain NA3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT269645.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain OsEnb_HZB_E3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN889374.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain Kajar1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MT068202.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus sp. strain EnB-sy1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | KJ662329.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain PCK188 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN913858.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain EDH 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN795756.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain NRLFDD301 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN515417.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain brh_25n 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 67% | 0.0 | 98.76% | MN427629.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus sp. CSQXZR8.4.12 gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | LC484765.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Bacterium strain S-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN148627.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus sp. strain RABA2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MN022539.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain P32_BA1H 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MK883070.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain IAE142 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MK414837.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain CG17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MK618611.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus sp. strain A16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MH447097.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus sp. strain KGS-43-13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | KJ840467.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain L15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MG719542.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain CLC-F3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MH518188.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain H11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MH045848.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain S1-38 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MF327691.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Staphylococcus epidermidis strain S1-25 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 2001 | 2001 | 68% | 0.0 | 98.59% | MF327690.1 |

B

```

1 CCTACATTGT AAATCCAGCG CCTCATATGG AAATATGGAG ACAATAAGTA GTGCATACAT
61 ATATTCACTC TCACCTTTCTC TTCTCTCTCT CCTCTCTATT TCATACAATC ACAACCTCGC
121 CCATGTAATC TCATCCAGCC ACTCACCCAC ACGCGCGCTT AAATTTTATA TTTTGTGTGG
181 CACACACGTG TGCTAAGTAC ATCACCGCAC CGTACGTTTT GTTCTACATT AACCAACTAT
241 TTCACAGCAC CCGCGCGCTC GTCTCACTTG ACACATACGT TTGCTCCGGT CATTATAGGT
301 CTGTTAATCT AGTACACAAT CGTATCTCAT ATGTGATGTG CAGTGGACAA CAGTCTAGGT
361 CATGAAATAC CATTCGTGTC GCGCGCTTTG TTCAAATTTA GTCAAGTTCC GTATTCAFTA
421 ATACGTTAAG TCTCTCTTCC TACTATCGGT CGCAAGATAT CCTAAGAACG AAAAANAAGC
481 TCACTTCTCC TTCCTGTTAC ATTTCTGTGT TCATCGTCTT ACCCTCTCA TCACTCTTA
541 ATATCATCGT CCAATGGCCG GTTTCAGAAA CCGGCGATTA GTAAACTAAA CTAGCTTCA
601 CACATCTTTC GCTGCTCACT ATCTTCCGTT GTAGTTGATC GTAAACAGAG TGAATAGAT
661 GCGAAGTAGC CATACCACTA CTTAATTAAT TTTCACTGCT TCACTCTTTC TGTAAATTC
721 ATCATCCACA TTGCGCGCAT TCATTGTCAA ACAAAATTTT CCTTCTTAG TGTCAAATAT
781 ATGGTTACAC ACGTTGTTA AACGAACATA AGTTTCAATT CTCTGCTTT ATATCTTTCC
841 CGTTTTAATTT TCCATTAATA CTAGGAGATG GTCAGAGCAA CAAAATAGAC CACAACACC
901 TTCTTTCTTT TTCTCTCAGT TTTCTCTGCA TATAATAAAC TTCTTGTCTA AACGTGAAA
961 GAACTGGCAA AACAACAGA AGTGGTCA GAATCTCGC GTTACCTCTA CCTTATCTC
1021 ATATGTTGTT TCCCTTTTCC CTTTCTCTTC CTTCTATCCA CAGCTGAAA ACCGTGGCA
1081 GCTACCGTAA CATAGTATCT ATAAGCCCTC TCTTTCTTTC GAGATCCATC TTCGCGCAT
1141 AACCGTTTCA TACATGGCTT TGTATCTTTG GACCGACGAT GGTAAGTGAG CAAGAGTTA
1201 GTAGGAGGTG GTACCTATTC TTTTCTCTTC CCGAGAATCG ATGTTCTATA AGTATTTGAT
1261 GAAGGAGAAA GCAGGAGACC GCTATAGCAA CTTTATATAT CATATTGACA CTAGATCTTT
1321 TTGCTTTCTT CACCTCAAGA GGAATCTTAC GATACATTTG AAGCACTGCT CTCTCAAATG
1381 TCACTAAGAGA TAAGACTACT GGTCCGGCTG GCTTTTAAAC CCGGTGGACT AGTAAGATTA
1441 AAACCTCGTGA GGCATTCCAC CTTGGGTAGG GGGGGCGCGA CCTCGTAACA AAGCAGCAA

```

Şekil 4. 6. *L. garvieae* ve *S. epidermidis* 16S rRNA sekans ve blast analiz sonuçları (A: *S. epidermidis* blast sonucu, B: Çalışmada kullanılan *S. epidermidis*'e ait sekans sonucu, C: *L. garvieae* blast sonucu, D: *L. garvieae*'ye ait sekans sonucu)

C Options Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Manage Columns Show 100 ?

select all 100 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results

| Description | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per. Ident | Accession |
|---|-----------|-------------|-------------|---------|------------|----------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain HN01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 712 | 712 | 25% | 0.0 | 90.77% | MK368998.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain CAJ-172 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 712 | 712 | 25% | 0.0 | 90.77% | MF369832.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain CMGB-L25 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | MF348237.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain CMGB-L24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | MF348236.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain CMGB-L23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | MF348235.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain SU148 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | KX889962.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain FT255 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | KM207838.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain Pj32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 708 | 708 | 25% | 0.0 | 90.61% | JN001309.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 2542 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT811574.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 2332 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT804790.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 2311 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT804772.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1883 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597707.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1775 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597823.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1735 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597595.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1726 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597590.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1684 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597567.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1661 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597538.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1518 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597460.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1517 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597459.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1516 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT597458.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 970 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585625.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 841 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585602.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 830 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585594.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 826 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585526.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 799 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585517.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 756 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585486.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 703 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT585456.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1461 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT573851.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1460 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT573850.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Lactococcus garvieae strain 1418 16S ribosomal RNA gene, partial sequence | 706 | 706 | 25% | 0.0 | 90.59% | MT573826.1 |

D

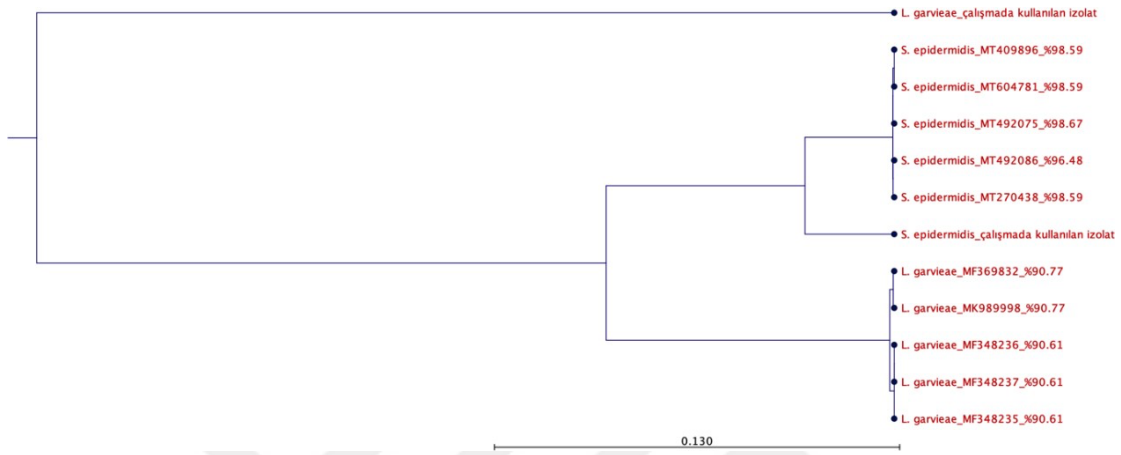
```

1. AATTCAACAA TAGGCCACAT TATCCCCCG CTCCTTACC CCCCACACCA AACGGGCCCG
51. CGCCGGGCCA CCACCACCAA CCAAACCAAG CCTCACGCGG AGAGGAGAGA GAGAGGGAAG
121. GCAGCGTATC TTTTTTTTTT TTATTTTATT TTCTGTTTCT TCTTTCCCTG CTCCTCCCTT
181. TCCCTCGCGC CCACGACAGC GCGCACACA GAAAACAAAA CAACATCTTT ATTCCTCCCT
241. TCTCGGGGGG GGGGGGGGGG GGGGAACCAG CGAAAATACT CTTTTTTAAG GGGGGGAAA
301. ATTCGGAATA ACGGGGAAT ATAACTCAA AAAAAATAA ACCCGGGGT TCAAAAGTGG
361. AAGAGGTTTT TTTTTTGATA TTAAGGGGGG TCCCCCGCG CCTTTTGGTT GGTGGGAAAG
421. TGTTACCGGT TTAACCAAAG GAAACGGGCG CCTAGCCCGA CTGGGGGAGG TGATTCGCC
481. CCAACGAAA CCAAACACC GTTCCCGATT CCTCCGGGAG GCAGCAGTAG GGAATCTTCT
541. GCAATGGGGC AAAGCCTGAA CGAAGCAACC GCGCTTGAG TGATGAAGGT CTTCGGATCG
601. TAAAACTCTG TTTATTAGGA AGAACAAATT TGTAAAGTAA TATGCACGTC TTGACGGTAC
661. CTAATCAGAA AGCAGCGGCT AACTACGTGC CAGCAGCCGC GGTAAATACGT AGGTGGCAAG
721. CGTTATCCGG AATTATTGGG CGTAAAGCGC GCGTAGGCGG TTTTTTAAGT CTGATGTAAA
781. AGCCACCGGC TCAACCGTGG AGGGTCATTG GAAACTGGAA AACTTGAAGT CAGAAGAGGA
841. AAGTGGAAAT CCAATGTGTA CGTGAAATG CCGCAGAGATA TGGAGGAACA CCAAGTGGCA
901. AGGCGACTTT CTGGTCTGTA ACTGACGCTG ATGTGCGAAA GCGTGGGGAT CAAACAGGAT
961. TAGATACCC TGTAGTCCAC GCGTAAACG ATGAGTGCTA AGTGTTAGGG GGTTCGCC
1021. CCTTAGTGCT GCACTAACCG CATTAAAGCAC TCCGCTGGGG GAGTACGACC GCAAGGTTGA
1081. AACTCAAAGG AATTGACGGG GACCCGCACA AGCGGTGGAG CATGTGGTTT AATTCGAAGC
1141. AACCGGGAAG ACCTTACCAA ATCTTGACAT CCTCTGACCC CTCTAGAGAT AGAGTTTTCT
1201. CCTTCGGGGG ACAGACTCAC AGGTGTGCA ATGTTGTGCT CAGCTCGTGT CGTGAGATGC
1261. TGGGTTAAGT CCGCAACGGA GCGCAACCTT TCAAGTTAGT TGCCATCATT AAGTTGGGCA
1321. CTCTAAGTTG ACTGCCGGTG ACAAACGGA GAAAGGTGGG GATGACGTCA AATCATATG
1381. CCCCATTATGA TTTGGGCTAC ACACGTGCTA CAATGGACAA TACAAGGGC AGCGAAACCG
1441. CGAGGTCAAAG CAAATCCCAT AAAAGTTGTT CAGTTCGGA TTGTAGTCTG CAACCTGCAGT

```

Şekil 4.6. *L. garvieae* ve *S. epidermidis* 16S rRNA sekans ve blast analiz sonuçları (A: *S. epidermidis* blast sonucu, B: Çalışmada kullanılan *S. epidermidis*'e ait sekans sonucu, C: *L. garvieae* blast sonucu, D: *L. garvieae*'ye ait sekans sonucu) (Devamı)

Sekans analizi sonucunda %99.8 oranında *L. garvieae* identifikasyonu ve % 99.3 oranında *S. epidermidis* identifikasyonu moleküler olarak gerçekleştirilmiştir. Sekans verileri elde edilen bakterilerin aynı tür bakteriler ile benzerlik oranları ve filogenetik ağacı aşağıda verilmiştir.

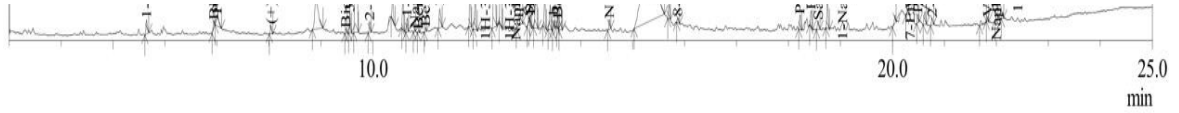


Şekil 4. 7. *L. garvieae* ve *S. epidermidis* izolatlarına ait dendrogram (*L. garvieae* %99.8, *S. epidermidis* % 99.3)

Elde edilen dendrogram sonuçlarına göre çalışmada kullanılan *L. garvieae* izolatının blastlama sonucunda en yakın 5 sonuca göre %99.8 oranında benzer olduğu görülmüştür. *S. epidermidis* izolatının ise blastlama sonucunda en yakın 5 sonuca göre %99.3 oranında benzer olduğu görülmüştür.

4.1.3. Çalışmada kullanılan ekstraktın GS-MS analizi sonuçları

Çalışmada kullanılan ekstraktın fenolik bileşiklerinin belirlenmesi için 0.5 ul numune (%17 DMSO ile sulandırılmış) Atatürk Üniversitesi, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Merkezi'nde (DAYTAM) tüm içerik yönünden analizi gerçekleştirildi. Ekstraktın GS-MS analizi sonucunda % alan şeklinde temin edilen içerik verileri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.8).

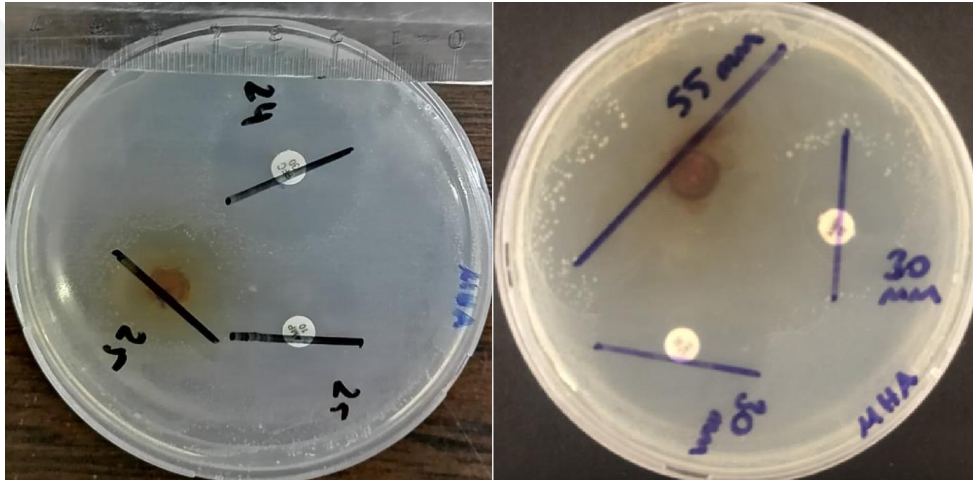


Şekil 4. 8. Çalışmada kullanılan ekstraktın GS-MS analizi sonucu elde edilen bileşenleri

Elde edilen GS-MS sonuçlarına göre ekstrakt içeriğinin 46 farklı bileşenden oluştuğu ve her bir bileşenin oranının bütüne oranla birbirine yakın oldukları görülmüştür.

4.2. Antibiyogram Testi Sonuçları

Çalışmada, gökkuşağı alabalığının yara iyileşiminde rol alan ekstraktın Ampisilin ve Florfenikol antibiyotikleri ile birlikte edilen sonuçları aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 9. Antibiyogram testi sonrasında çalışmada kullanılan ekstrakt ve antibiyotiklerin *L. garvieae* (A) ve *S. epidermidis* (B)'e karşı oluşturdukları zon alanları ve uzunlukları.

Çizelge 4. 2. Çalışmada kullanılan ekstraktın disk difüzyon sınır değerlerine (CLSI ve EUCAST) göre oluşturduğu zon alanları

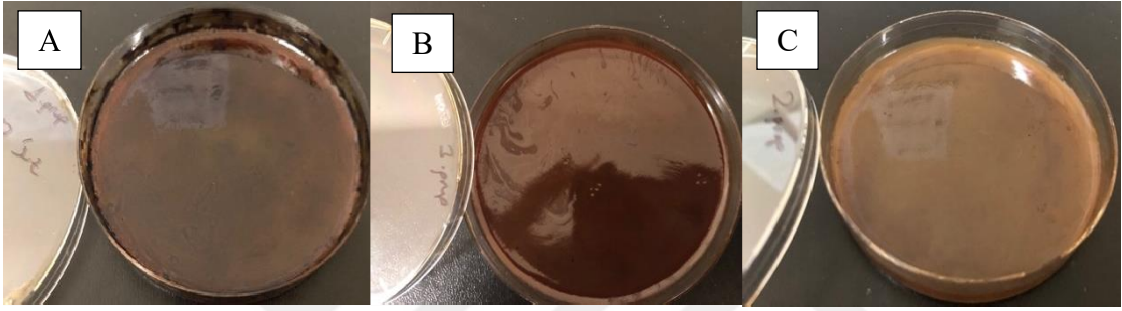
| Test edilen maddeler | Ölçülen sınır değerleri (mm) | CLSI disk içeriği (ug) | Sınır Değerler (mm) | | | | |
|----------------------|------------------------------|------------------------|---------------------|------|-----|---------|----|
| | | | *CLSI | | | *EUCAST | |
| | | | Du | Orta | Di | Du | Di |
| Ampisilin | 25 | 10 | >17 | - | <16 | >10 | <8 |
| Florfenikol | 24 | 30 | >18 | - | <18 | >10 | <8 |
| Andız ekstraktı | 25 | 10 | - | - | - | - | - |

*CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute, EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Du: duyarlı, Orta: orta duyarlı, Di: dirençli.

Ekstraktın, *L. garvieae* etkeni (A) üzerinde Amfisilin ile aynı etkiye sahip olduğu, Florfenikol antibiyotiğine göre %4 daha etkili olduğu, Ekstraktın, *S. epidermidis* etkenine göre ise Amfisilin ve Florfenikol antibiyotiklerinden %83 daha etkili olduğu görülmüştür.

4.3. MİK Testi Sonuçları

Yara iyileşimi amacıyla kullanılan ekstraktın çalışmada kullanılan *L. garvieae* etkenine karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunu belirlemek amacıyla gerçekleştirilen teste ait görüntüler aşağıda verilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. MHA besiyerine katılan ekstraktın MİK testi sonuçları (A: %25, B: %5, C: %1)

Andız ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla hazırlanan MHA besiyerine *L. garvieae* etkeni katılarak gerçekleştirilen test sonucunda bakteriyel gelişim gözlenmemiştir. Yüzde 1'e düşürülen konsantrasyonda hazırlanan MHA besiyerinde bakteri gelişiminin olmadığı görülmüştür. Antibiyogram testinde diske emdirilen ekstraktın etkisinin sıvı halde kullanımına göre daha az olduğu gözlenmiştir.

4.4. Yara Oluşumu ve İyileşim Süreci Boyunca Meydana Gelen Değişimler

Anestezi; yaklaşık 80 gram ağırlığındaki gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) çalışma kapsamında yara oluşturulması için 2-fenoksietenol ile (4 ml/L) anestezi işlemi yapılmıştır. Çalışmada tek tek anesteziye alınan balıkların anesteziye giriş sürelerinin 2-3 dakika anesteziden çıkış sürelerinin ise yaklaşık 4-6 dakika olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 11. Gökkuşığı alabalıklarının anesteziye giriş ve çıkışları esnasındaki görüntüleri.

Günlük pansuman işlemlerinin 1 saat sonrasında yemleme esnasında tüm gruplardaki balıkların yem aldıkları gözlenmiştir.



Şekil 4. 12. Gökkuşığı alabalıklarının anestezi ve pansuman sonrası yem alma anları.

Kesik yarası oluşturulması amacıyla aseptik şartlarda 10 numara bistüri kullanılmış 1cm eninde açılan kesik yaralarında 1 günlük sürede herhangi bir apse oluşumu gözlenmemiştir.

Oluşturulan kesik yaralarından nekropsi öncesinde her örnekten steril transport swap yardımıyla alınan numuneler TSA besiyerine ekilmiş ve 21 ve 37 °C’lerde 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda yara bölgelerinde tüm balık örnekleri için herhangi bir bakteriyel gelişme görülmemiştir. Kullanılan ekstraktın antimikrobiyal etkisinin bakteriyel gelişimi engellediği anlaşılmaktadır.



Şekil 4. 13. Çalışmada kurulan deneme düzeni.

4.5. Yara Gelişimi Üzerine Ekstraktın Etkilerinin Belirlenmesi

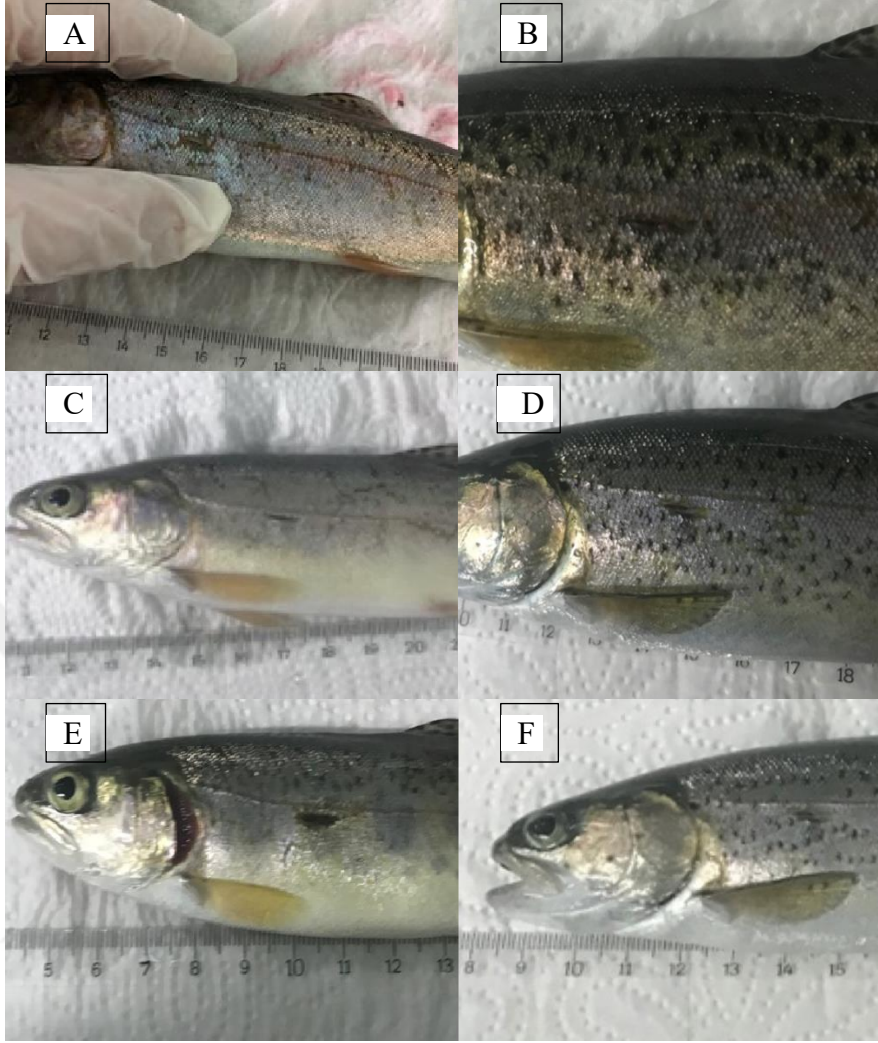
Çalışmada 4 farklı grupta (kontrol, kesik, antibiyotik ve ekstrakt) dizayn edilen deneme düzeninde kontrol grubu hariç diğer gruplardaki balıklar anestezi altına alındıktan sonra tedavi amacıyla 1 cm uzunluğundaki kesik yaralarına pansuman yapıp tekrar akvaryuma geri bırakılmıştır. Tedavi amacıyla gerçekleştirilen uygulamalar aşağıda verilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4. 14. Gökkuşığı alabalıklarının anestezi altında tedavi uygulamalarının gerçekleştirilmesine ait görüntüler (A: Kontrol Grubu, B: Kesik Grubu, C: Antibiyotik Grubu, D: Ekstrakt Grubu).

Kesik yarası oluşumunun 2. gününde ekstrakt muamelesi yapılan grup örneklerinde yara dudaklarının tamamen kapandığı görülmüştür. Teramisin uygulaması yapılan antibiyotik grubunda ise yara dudaklarının tamamen birleşmesi 5. günün sonuna doğru oluşmuştur. Kesik yarası oluşturulup tedavi amaçlı herhangi bir uygulama yapılmayan kesik grubu örneklerinde ise 7. günün sonunda yara dudaklarında kısmi birleşme olduğu gözlenmiştir. Kesik yarasının tamamen kapanmadığı örneklerde gözlenmiştir.

Çalışmada kesik yarası oluşumunun ardından 24 saatte bir pansuman ve ardından tekrar uygulama gerçekleştirilmiştir. K, A ve E gruplarında 1. gün ve 7. gün pansuman uygulaması sonrası elde edilen yara bölgesi resimleri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4. 15. Çalışmada K, E ve A gruplarına ait başlangıç ve bitiş sürelerinde elde edilen yara bölgesi resimleri (A: Kesik grubu ilk gün, B: Kesik grubu 7. gün, C: Antibiyotik grubu ilk gün, D: Antibiyotik grubu 7. gün, E: Ekstrakt grubu ilk gün, F: Ekstrakt grubu 3. gün).

Aynı anda ve aynı ebatlarda oluşturulan kesik yaralarının 2. gün sonunda yara dudaklarının E grubu dışında diğer gruplarda açık olduğu görülmektedir. E grubu örneklerinde kesik yarası bölgesi tamamen kapandığı gözlenmektedir. Diğer gruplara (K ve A) ait balıklarda aynı şekilde yaranın kapanma süresi farklılık göstermiştir. K grubu balıklarda 7. günde kısmi kapanma gözlenmiş, A grubu örneklerde ise 6. günde kapanma gözlenmiştir.

Bu sonuçlara göre, sikatrizasyon oluşumunun ekstrakt uygulaması yapılan balıklarda yara iyileşimi süresini çok daha kısa sürede kapanmasına sebep olduğu anlaşılmaktadır.

4.6. Enzim sonuçları

Enzim aktivite testleri, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiş olup, çalışmada kullanılan malzeme, cihaz ve çalışma düzeneği sırası ile aşağıda verilmiştir (4.16).



Şekil 4. 16. Karaciğer ve kas dokularından MDA ve GST aktivite testleri için gerçekleştirilen laboratuvar aşamaları.

4.6.1. MDA sonuçları

Lipid peroksidazından sorumlu olduğu bilenen MDA aktivitesinin kontrol grubuna göre en yüksek düzeyde ve anlamlı değişimi olan tek grup ekstrakt grubu olarak gözlenmiştir. Birinci günün sonundan yara oluşumunun vücutta meydana getirdiği oksidatif stres ve savunma mekanizmasının devreye girmesinden dolayı MDA aktivitesinin arttığı görülmektedir. Ancak, bu aktivite düzeyindeki değişim aynı muameleye maruz kalmış farklı grup örneklerinde farklı aktivite düzeyleri göstermektedir. Bunun sebebi ise yara sağaltımı sürecinin kısa olduğu grupta (E) aktivite daha çabuk başlayıp daha kısa zamanda bitmesidir. Buna paralel olarak, iyileşim sürecinin daha uzun sürdüğü K ve A gruplarında ise C grubuna göre MDA aktivitesinin artışı daha uzun sürdüğü görülmüştür.

Çizelge 4. 3. Deneme grubu örneklerinde karaciğer ve kas dokularında MDA aktivitesinin yara sağaltımı süresince elde edilen spektrofotometrik sonuçları.

| Karaciğer dokusu 1. gün | MDA (nmol/g) | Karaciğer Dokusu 3. gün | MDA (nmol/g) |
|--|---------------------|--|---------------------|
| Kontrol | 0,207744 | Kontrol | 0,235937 |
| Kesik | 0,191421 | Kesik | 0,219615 |
| Teramisin | 0,161743 | Teramisin | 0,261163 |
| Ekstrakt | 0,258196 | Ekstrakt | 0,182518 |
| Karaciğer Dokusu 6. gün | MDA (nmol/g) | Kas Dokusu | MDA (nmol/g) |
| Kontrol | 0,327938 | Kontrol | 0,158775 |
| Kesik | 0,222582 | Ekstrakt 1. gün | 0,169163 |
| Teramisin | 0,189937 | Ekstrakt 2. gün | 0,132066 |
| Ekstrakt | 0,154324 | Ekstrakt 3. gün | 0,10684 |

Yara oluşumunun 3. günü sonunda MDA aktivitesinin karaciğer dokularındaki değişimi ekstrakt grubunda anlamlı olarak değiştiği görülmüştür. Diğer gruplardaki değişim oranları kontrol grubuna göre anlamsız olmakla birlikte teramisin uygulamalı antibiyotik grubunun MDA aktivitesinin 3. günün sonuna doğru arttığı görülmüştür. Ekstrakt grubundaki MDA aktivitesinin azalmasının sebebi ise bir buçuk günde MDA aktivitesinin ve iyileşim sürecinin başlayıp, 2. günün sonunda iyileşim sürecinin tamamlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yara oluşumunun 6. gününün sonunda K, A ve E gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişimin olduğu görülmüştür. Teramisin grubunda makraskobik olarak yara dudaklarının iyileşimi 4. günün sonunda tamamlanmıştır. Buna bağlı olarak MDA aktivitesinin şekilde görüldüğü gibi anlamlı oranda düştüğü görülmüştür. K grubunda ise 6. günün sonunda yara dudaklarında makraskobik iyileşimi gözlenmiştir.

Karaciğer dokusunda MDA ve GST enzimi aktivitelerinin ölçümlerinin daha anlamlı olmasından dolayı tüm gruplarda aktiviteler ölçülmüştür. Kas dokularında ise daha çok tedavi sürecinde etkinliğini araştırdığımız ekstrakt grubu örneklerinin en önemli olan ilk 3 günü MDA ve GST aktivitesi ölçülmüştür. Çizelge 4.3'te görüldüğü üzere C grubuna göre E grubu örneklerin aktivitesinin 1. gün daha yüksek olduğu 2. ve 3. günlerde ise kontrol grubuna göre doğrusal olarak azaldığı görülmüştür. Çalışmada kullanılan ekstraktın yara üzerindeki etkilerinde bir buçuk günde etkisi tamamen gösterdiği dikkate alınrsa MDA aktivitesinin değişiminde etki süreciyle paralel olduğu grafikten anlaşılmaktadır.

4.6.2. GST enzim aktivite testi sonuçları

Çalışmamızda kesik yarası oluşumu ve iyileşimi sürecinde hem vücudun savunma sisteminde aktif rol alan hem de oksidatif stres kaynaklı tüm vücut olaylarında etkinliği bilinen GST enzim aktivite sonuçları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4. 4. Deneme grubu örneklerinde karaciğer ve kas dokularında GST aktivitesinin yara sağaltımı süresince elde edilen spektrofotometrik sonuçları

| Karaciğer dokusu 1. gün | GST (U/mg prot.) | Karaciğer Dokusu 3. gün | GST (U/mg prot.) |
|------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| Kontrol | 50,799 | Kontrol | 49,997 |
| Kesik | 52,250 | Kesik | 51,486 |
| Teramisin | 55,878 | Teramisin | 57,941 |
| Ekstrakt | 55,917 | Ekstrakt | 62,868 |
| Karaciğer Dokusu 6. gün | GST (U/mg prot.) | Kas Dokusu | GST (U/mg prot.) |
| Kontrol | 48,889 | Kontrol | 17,226 |
| Kesik | 43,160 | Ekstrakt 1. gün | 19,670 |
| Teramisin | 63,899 | Ekstrakt 2. gün | 17,378 |
| Ekstrakt | 19,326 | Ekstrakt 3. gün | 15,431 |

Yara oluşununun 1. günde kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda GST enzim aktivitesinin anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir. GST enzim aktivite düzeyinin E ve A grubu örneklerinde daha yüksek çıkması yara iyileşim süresinin K grubuna göre daha hızlı olmasıyla ilişkili olduğu düşünölmektedir. Yara oluşununun 3. günde GST enzim aktivitesinin E grubunda, diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. A ve K grubunun iyileşme sürelerinin daha uzun olması GST enzim aktivite düzeylerinin daha pik seviyelerine ulaşmadığını göstermektedir. Yara oluşununun 6. günde GST enzim aktivitesinin ekstrakt uygulanan grupta anlamlı olarak azaldığı, teramisin ile muamele edilen grupta ise arttığı görölmüştür. A örneklerinde ise, yara iyileşme süresinin tamamlanmamış olmasından dolayı GST enzim aktivitesinin hala anlamlı bir artışta olduğu görölmektedir. K grubunda enzim aktivitesinin pik seviyeye gelmediği görölmektedir. Bunun sebebi ise, kesik yarasının iyileşme süresinin daha uzun olduğu düşünölmektedir.

Çizelge 4.4'te göröldüğu üzere kontrol grubuna göre E grubu örneklerinde GST aktivitesinin 1. gün daha yüksek olduğu 2. ve 3. günlerde ise kontrol grubuna göre doğrusal olarak azaldığı görölmüştür. Çalışmada kullanılan ekstraktın yara üzerindeki etkilerinde bir buçuk günde etkisi tamamen gösterdiği dikkate alındığında GST enzim aktivitesinin değişiminde etki süreciyle paralel olduğu grafikten anlaşılmaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yara iyileşimi amacıyla ilk kez kullanılan *Juniperus* sp ekstraktının antimikrobiyal özelliğinin belirlenmesi amacıyla Su ürünleri alanında sıklıkla karşılaşılan hastalık etkenlerinden *L. garvieae* ve *S. epidermidis* kullanılmıştır. Aynı bakteriler kullanılarak su ürünleri hastalıkları alanında yapılmış çalışmalar bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Turgay ve ark., 2015; Akaylı ve ark., 2016; Yürüten, 2018; Önal ve Yavuz, 2019).

Juniperus türlerinin akademik çalışmalarda kullanımının oldukça az olması ile birlikte kullanılan türlerinin ise çalışmamızda kullanılan *Juniperus* türünden farklı oldukları görülmektedir. Modern tıp alanında *Juniperus oxycedrus* türü ile yapılan çalışmalar bildirilmiş (Kapdan ve ark., 2019) ancak etkinliğinin çok daha az olduğu görülmüştür. Benzer şekilde *Juniperus oxycedrus* ile antienflamatuar aktivite üzerine de yapılmış çalışmalar mevcuttur (Rufino ve ark., 2014). Ancak, bu çalışmalarda da elde edilen etkinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Balıkların taşınması veya incelenmesi sırasında, mevcut kesik ve sıyrıkların kontaminasyonu genellikle yara, kesik veya sıyrıkla ilişkili lokalize bir cilt enfeksiyonuna neden olduğunu bildirmiştir (Lowry ve ark., 2007). *Juniperus oxycedrus* L ile yapılan bir çalışmada katran ardıcı meyvesinden elde edilen yağ ve aromatik suyun antibakteriyel-antioksidan özelliklerinin kullanımı araştırılmış, elde edilen hem yağın hem de aromatik suyun antibakteriyel-antioksidan aktiviteye sahip olduğu, bildirilmiştir (Işık ve ark., 2020). Bello ve arkadaşlarının (1997) *Juniperus oxycedrus* üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında kuru yaprak ile köklerinin diklorometanol ve metanol yardımı ile elde edilen ekstraktlar farklı dozlarda enjekte edilerek, kan parametrelerinin üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir. Ekstraktın kök veya yapraktan alınmasının sonuçları etkilediği bildirilmiştir.

Juniperus communis ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise ağacın meyveleri kullanılmış ve kaynatma yöntemi ile elde edilen ekstraktın diyabet tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Özcan ve Ertekin, 2018). Chaouche ve sandık yapmış oldukları çalışmada (2014) Ardıç ağaç köklerinin metanol ile ekstraktının antioksidan olarak kullanılabileceğini bildirmişler ve laboratuvar şartlarında oluşturulabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan ekstraktın ise laboratuvar koşullarında bir araya getirilmesinin oldukça güç olduğu görülmektedir. Çünkü, çalışmada elde edilen etkinin

aynısının elde edilebilmesi için fenolik bileşiklerin tamamının bir araya getirilmesi gerekmektedir. Öyle ki, ekstraktın fenolik bileşiklerinin oranlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. Gülsoy ve Çıvğa (2016) yapmış oldukları çalışmalarında olgun diken ardıç (*Juniperus oxycedrus L. subsp. oxycedrus*) kozalaklarını kullanarak uçucu yağ ana bileşenlerinden monoterenler sınıfına giren β -mirsen ve α -pinen bulunduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. β -mirsen üzerinde Farmakolojik olarak analjezik (ağrı kesici), antiinflamatuar (iltihap önleyici) ve sakinleştirici gibi çeşitli etkilere sahip olduğunu, α -Pinen'in ise iyi bir bronkodilatör (bronş genişletici) özelliğe sahip olduğu ve bunun yanında antioksidan, antienflamatuar, antimikrobiyal, antimetastatik, apoptozu uyardığı, antialerjik ve antibiyotik etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise elde edilen ve ilk kez denenen ekstraktın yara iyileşimi yönünden denemesi gerçekleştirilmiş ve enzim aktivite düzeylerindeki değişimleri ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada bitkisel ekstrakt olarak, Çiya ve kurt üzümü ekstraktı Gökkuşacağı alabalığının raf ömrünü uzatma için kullanılmış, bu bitkisel ekstraktlarla kaplanmış filetoların duyu kaliteyi arttırabileceği bildirilmiştir (Ergül ve ark., 2020).

Başka bir çalışmada güçlü bir antioksidan ve antimikrobiyal olduğu bildirilen nar kabuğu ekstraktı kullanılarak alabalık burgerlerinin raf ömrünün uzatıldığı bildirilmiştir (İlknur, 2020). *Artemisia campestris* bitkisi ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise etanol ekstraktı kullanılarak yavru gökkuşacağı alabalıklarında paraziter etkenler üzerine etkileri araştırılmış ve olumlu sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Diler ve ark., 2018).

Bu çalışmadan farklı olarak, geleneksel tıpta sedatif ve anestezi etkileri olduğu bilinen alıç (*Crataegus monogyna*), limon otu (*Melissa officinalis*), haşhaş (*Papaver somniferum*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis*)'den elde edilen yağların farklı konsantrasyonlarının gökkuşacağı alabalıklarına verildiği ve kanlarında biyokimyasal ve hematolojik yönden olumlu değişimler gözlendiğini araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Gülhan, 2018).

Bu çalışmada kullanılan bakteri izolasyonları TSA besiyerlerine ekilmiş ve tipik koloniler elde edilmiştir. TSA besiyeri birçok araştırmacı tarafından izolasyon aşamasında tercih edildiği bildirilmiştir (Diler ve ark., 2000; Akaylı ve Korun, 2004; Can, 2006; Çanak ve Yardımcı, 2011; Ürkü ve Yardımcı, 2013; Filik ve Kubilay, 2020). Bazı araştırmacılar ise izolasyon amacıyla *L. garvieae* için BHIA besiyeri kullandıklarını bildirmişlerdir (Timur ve ark., 2011; Korun ve ark., 2018; Duman ve ark., 2018).

Çalışmada kullanılan bakterilerin katalaz, oksidaz ve Gram boyama sonuçları izolatların özelliklerine uygun olarak gözlenmiştir. *L. garvieae* ve *S. epidermidis* ile gerçekleştirilen birçok araştırmada Gr (+) ve katalaz, oksidaz testlerinin aynı sonuç verdiği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Dolgun, 2015; Duman, 2017).

Çalışmadaki bakterilerin moleküler identifikasyonu amacıyla üniversal primer seti (27F-1492R) kullanılmıştır. Bu primerler yalnızca PCR identifikasyonu amacıyla değil, aynı zamanda sekans analizi amacıyla bakteriler için spesifik primerler olarak kullanılmaktadır. Bakterilerin identifikasyonu amacıyla birçok araştırmacı Real-Time PCR tekniğini kullandıklarını ve güvenilirliğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Gecili, 2014; Satıcıoğlu, 2018). Farklı araştırmacılar ise bakterilerin identifikasyonu amacıyla ELISA gibi farklı teknikleri kullandıklarını bildirmişlerdir (Albayrak ve Özan, 2010).

Bu tez çalışmasında QIACube otomatik izolasyon cihazı (Qiagen) ile DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Otomatik izolasyon robotu ile gerçekleştirilen çalışmalarda sonuçların daha kaliteli ve güvenilir olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Geçili, 2014; Önalın ve Yavuz, 2019). Bakteriyel çalışmalarda hem identifikasyon hem de tür içi farklılıkların belirlenmesinde sekans analizlerinin en net sonucu verdiği bildirilmiştir (Didinen ve ark., 2018). Bu tez çalışmasında üniversal primerler ile gerçekleştirilen PCR amplikonları Sanger sekans metodu ile dizileme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ancak, sekans analizi işleminde NGS gibi üst düzey sekans çalışmalarının daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Kaya, 2019). Bu metodun dezavantajı ise aşırı maliyetli olmasıdır.

Bu tez çalışmasında yara iyileşimi üzerine gökkuşacağı alabalıklarında oluşturulan kesik bölgesinin tedavisi amacıyla kullanılan andız kök ekstraktının fenolik bileşiklerinin belirlenmesi amacıyla GS-MS analizi yapılmıştır. Yapılan GS-MS analizinde 46 farklı bileşikten oluştuğu görülmüştür. Bu bileşiklerin oranlarının birbirine olan yakınlığı ekstraktın önemini ortaya koymaktadır. Çünkü, birkaç önemli etken değil tamamının bir araya gelmesiyle oluşan bu madde kan durdurma, yara iyileşimi, antimikrobiyal etki gibi özellikleri ortaya çıkarmaktadır. Bu içeriklerden bazıları ile gerçekleştirilmiş çalışmalar ve bileşiklerin etkileri özetlenecek olursa; Benzen ve diğer organik uçucular, solunum yollarında tahrişe, böbreklerde, karaciğerde merkezi sinir sisteminde ve kan sisteminde hasara neden olabileceği ile ilgili bazı sonuçlar araştırmacılar tarafından bildirilmiştir

(Olgun, 2014). Yapılan başka bir çalışmada benzenin propolisi çözücü etkisi olduğu ve bu amaçla kullanıldığı bildirilmektedir (Yonar, 2017). Phenanthren maddesi, bazı PAH bileşikleri (p-hidroksibenzoik asit, naftalen, fenantren ve piren) ve bunların metabolitleri hücre bölünmesini kontrol eden mekanizmalar üzerinde onarılamaz hasarlara yol açarak balık ve memelilerde tümör oluşumuna, dolayısıyla kansere yol açtığı bildirilmiştir (Erdoğan, 2012). Krizol ise dezenfekte edici özelliğinin olduğuna dair bazı kaynaklarda yer verilmiştir (Anonim-c, 2020). Son yıllarda çoklu antibiyotik direncine sahip mikroorganizmaların artması yüzünden bu mikropların neden olduğu enfeksiyonun tedavisi giderek içinden çıkılmaz hale gelmektedir. Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, ilaç dirençliliği artmakta ve yayılmaktadır.

Bitkisel tedavi uygulamaları, güvenilir ve yeni bir teknik olması yanısıra yakın gelecekte balık çiftlikleri için etkisi gelişen bir uygulama olacağı bildirilmiştir (Wu ve ark., 2007). İlaçlara alternatif olarak tıbbi bitkiler önerilmekte ve bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak hali hazırda kullanılmaktadır. Bazı çalışmalar, bitkilerin tedavi edici etkilerinin tek bir etken maddeden ziyade çok sayıda bileşimin sinerjik etkisinden kaynaklandığını, bu nedenle bitkisel bileşimlerin tek bir antibiyotikle öldürülmesi zor olan mikroorganizmaların dirençliliğine karşı koyarak daha etkin bir tedavi sağladığını rapor etmektedir (Shanthi-Sree ve ark., 2010; Mohd-Nazri ve ark., 2011). Bu durum, araştırmacıları bitki özütlerinden elde edilen doğal antimikrobiyal ajanların inhibitör etkiye sahip bileşimlerini araştırmaya yöneltmektedir (Dash ve ark., 2011). Yara iyileşmesi ve dokuların oksidatif hasardan korunması için antioksidan içeren bileşiklerin topikal uygulanmasının faydaları olduğunu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Kumar, 2007). Bazı bitkiler taze yaraların tedavisinde kullanılırken, bazıları ise kronikleşmiş yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (Khalil, 2007). Bakterilerde antibiyotiklerde olduğu gibi esansiyel yağlara karşı direnç oluşmamaktadır. Antibiyotikler bakterinin kromozom yapısını etkileyerek bakteriyi imha ederken, fenolik bileşikler bakterinin hücre duvarını etkileyerek bakterinin imhasına yol açtığı için herhangi bir kromozom transferine neden olmamaktadır (Yığıtarıslan ve ark., 2011).

GS-MS analizinin fenolik birleşikleri açısından bitki örneklerinde kullanıldığı bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Selli ve ark., 2001; Gülsoy ve ark., 2008; Selimoğlu ve ark., 2015; Bozarı, 2016; Akkuş, 2018). Bu araştırmalardan farklı olarak bazı araştırmacıların ise fenolik bileşiklerin analizinde ICP-MS cihazını kullandıklarını

bildirmişlerdir (Çelik, 2004; Güzelsoy, 2013; Teğın ve ark., 2018). Bazı araştırmacılar tarafından Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) olarak bilinen spektroskopik yöntemin de bu çalışmalarda kullanıldığı bildirilmiştir (Gürdeniz ve ark., 2008; Büyüksınt ve Kuleaşan, 2014; İçyer ve Durak, 2020).

Bu çalışmada kullanılan gökkuşaağı alabalığında yara iyileşiminde rol alan ekstraktın ampisilin ve florfenikol skala alınarak antibiyogram testine tabii tutulmuştur. Antibiyogram testi sonucunda ekstraktın ampisilin ve florfenikole göre %17 DMSO ile sulandırılmış formunun dahi daha etkili olduğu görülmüştür. Antibiyotic Zone Diameter Table'a göre elde edilen sonuçlar doğrultusunda andız kök ekstraktının balığın sağlığı açısından alternatif tedavi maddesi olarak kullanılabilereği görülmüştür. Son yıllarda akuakültürde antimikrobiyallerin sık kullanıma bağlı olarak oluşan sağlık sorunları Avrupa Birliği ülkelerinde yasal düzenlemelerin yürürlüğe girmesine neden olmuş ve buna bağlı olarak birçok ülkede antimikrobiyallerin kullanımı sınırlandırılmıştır (Avrupa komisyonu No 1831/2003). Avrupa Birliği ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de antimikrobiyal kullanımına sınırlamalar getiren düzenlemeler yapılmıştır. Bitki ekstraktlarıyla gerçekleştirilen birçok çalışmada antimikrobiyal testleri gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Berber ve ark., 2009; Uçar ve ark., 2015; Yavuzcan ve Kaynar, 2016; Aşkar ve Deveboynu, 2018; Çiçek, 2018; Korun ve ark., 2019). Yapılan bazı çalışmalarda, ampisilin ve florfenikol antibiyotikleri kullanılarak antibiyogram testlerinin gerçekleştirildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Akşit ve Cavit, 2008; Özcan, 2011; Ersoy ve ark., 2014; İpek, 2015; Dolgun, 2015; Balta ve Dengiz, 2016; Balta ve Yılmaz, 2019).

Bitki ekstraktları ile gerçekleştirilen akademik çalışmalarda MİK testlerinin öneminin büyük olduğuna değinilmiştir (Walnut, 1993). Çünkü, kullanılan bitki ekstratlarının bakteriler üzerine hangi konsantrasyonlarının ne kadar etkili olduğunun bilinmesi, doz ayarlamaları gibi önemli çalışmalarda zorunlu kriterdir. Yapılan çalışmalarda, *L. garvieae*'nin farklı suşlarının MİK konsantrasyonlarının belirlendiği bildirilmiştir (Kubilay ve ark., 2005).

Çalışmada yara oluşumu ve tedavi süreleri dikkate alındığında, deneme düzeninin Chiller ile sıcaklığın 12 ± 0.1 °C'de tutulduğu gözlenmiştir. Deneme düzeneği kurulumundan balık örneklerinin akvaryumdan çıkarıldıkları zamana kadar su sıcaklığının 12 ± 0.1 °C'de kaldığı gözlenmiştir. Suyun pH'sı günlük olarak otomatik prob

ile 8.0 olarak ölçülmüştür. Deneme süresi boyunca kontrol grubunda (kesik oluşturulmayan grup) balık ölümlerinin gerçekleşmediği gözlenmiştir. Gerçekleştirilen bazı çalışmalarda gökkuşağı alabalığının optimum yetiştirme şartlarından su sıcaklığının 12-20 °C olduğu bildirilmiştir (Tekeli, 2019). Gökkuşağı alabalığı örneklerinde oluşturulan kesik yarası 1 cm eninde ensize edilmiştir. Gökkuşağı alabalığı ile gerçekleştirilen yara çalışmaları cinsiyet ve cinsi olgunluğu belirlemek, cerrahi müdahalelerde özellikle karaciğerinin biyopsisiyle histolojik yapısının, enzimatik ve hormonal özelliklerinin incelenebileceği belirlenmiştir (Saricyüpoğlu ve ark., 2017). Bazı araştırmacılar ise balıklarda yara oluşumunu elektronik etiketleme için yaptıklarını bildirmişlerdir (Cooke ve ark., 2003; Wagner ve ark., 2011). Ultrasonik vericiler, radyo vericiler ve pasif entegre transponderlerin intraperitoneal cerrahi implantasyonu, tek bir balığın hareketini ve habitat kullanımını izlemek için yaygın bir teknik haline gelmiştir (Winter, 1996; Rav ve ark., 2011). Deneysel olarak balıklarda yara oluşturma tekniklerini, kısmi ve derin yaralar oluşturarak çeşitli kâğıt mendil, zımba biyopsi iğneleri, neşter, lazer yöntemlerini karşılaştırmışlar ve iyileşme sürecini balığın türüne, yaranın kısmi ya da derin olmasına göre değişeceğini bildirmişlerdir. Zupanc ve arkadaşları (1998), *Apteronotus leptorhynchus*'larda nöronal rejenerasyon ve Proliferatif aktiviteyi belirlemek için cerrahi bıçak ile serebellumda 1 mm derinliğinde yara oluşturmuş, uygulamanın ardından ilk 30 dakikada lezyon bölgesinde TÜNEL pozitif hücrelerin arttığını ilk 5 günde yüksek seviyede olduğunu ve dokuyu onardığını bildirmiştir. Verma ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada sazanlarda deri yaralarının iyileşmesine etkisini araştırmış, asiaticoside ile muamele edilen balıklarda iyileşmenin daha hızlı görüldüğünü bildirmişlerdir.

Tez çalışmasında kullanılan ekstraktın uçucu yağlar, kompleks bileşikler, terpenoidler, alkoller, laktonlar ve aldehitler ve esterlerden meydana geldiği GS-MS analizi ile belirlenmiştir. Ekstraktın antimikrobiyal özelliğini belirlemek amacıyla kullanılan bakteri izolatlarının identifikasyonları Real-Time PCR ile gerçekleştirilmiştir. *L. garvieae* %90.67 oranında ve *S. epidermidis* %99.78 oranında PCR ile identifiye edilmiştir. Biyokimyasal özellikleri göstermek amacıyla gerçekleştirilen API testi sonucunda *L. garvieae*'nin %85 oranında, *S. epidermidis*'in ise %90 oranında identifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

Antibiyogram testi sonucundan ekstraktın *L. garvieae*'ye karşı 17 mm, *S. epidermidis* için ise 15 mm zon çapı oluşturduğu ve çalışmada kullanılan Ampisilin (AM) ve Florfenikol (F)'e göre daha dirençli olduğu görülmüştür. Ekstraktın MİK testi sonucunda *L. garvieae* ve *S. epidermidis*'nin gelişimi, %25, %5 ve %1'lik konsantrasyonlarının inhibe ettiği görülmüştür.

Bu tez çalışmasında gökkuşığı alabalıklarında deneysel olarak oluşturulan kesik yarasının tedavi süresince enzim aktivite testleri yönünden MDA ve GST aktiviteleri ölçülmüştür. Araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen birçok çalışmada anti-bakteriyel, anti-paraziter, büyüme performansı, antioksidan aktiviteler ve bağışıklık sistemi ile ilgili MDA ve GST aktiviteleri üzerine incelemeler gerçekleştirilmiştir. MDA üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada viral hemorajik septisemi virüsünün (VHSV) gökkuşığı alabalığı dokularında MDA düzeyleri araştırılmış ve MDA aktivitesinin virus olan gruplarda daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Özcan ve Ertekin, 2018). Bir diğer çalışmada ise juvenil gökkuşığı alabalıklarının oksidatif stresini belirlemek amacıyla farklı dönemlerde MDA düzeylerinin aktiviteilerinin farklı sonuçlar verdiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Keleştemur ve Yıldırım, 2016). Başka bir çalışmada, gökkuşığı alabalıklarında kadmiyum toksisitesinin kalp ve kas üzerine etkilerine bakıldığı ve alınan örneklerde MDA düzeylerinin küçük dozlarda bile artmış olduğunu ve strese neden olduğu bildirilmiştir (Taysi ve ark; 2020). Yapılan başka bir çalışmada gökkuşığı alabalıklarında büyüme performansı ve antioksidan savunma sistemini incelemek amacıyla okside olmuş balık yağı içeren yemlere fındık yağı ilave edilip büyümede olumlu etki yaptığı ve lipid peroksidasyon seviyesinin büyük ölçüde düştüğünün görüldüğü bildirilmiştir (Arslan, 2017). *Luciobarbus esocinus* ile yapılan bir çalışmada ise aynı türün dişi ve erkek bireyleri arasında farklılıklar araştırılmış vitamin yönünden birçok parametrenin farklılık gösterdiği ancak lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA seviyesinin cinsiyete göre farklılık göstermediği bildirilmiştir (Barata ve ark., 2017). Civa toksisitesi ve bu toksisite üzerine selenyumun koruyucu rolünü belirlemek için bu tezde kullanılan balık türünden farklı olarak *Oreochromis niloticus*'un dokularındaki oksidatif stres parametreleri araştırılmış, oksidatif stres parametresi olarak MDA düzeyleri karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışma sonucunda, solungaç ve karaciğer dokularında daha yüksek olduğunu, selenyumun koruyucu rolü olduğunu bildirilmiştir (Kaya, 2016).

Balık hastalıkları ve tedavi süreçleri ile ilgili gerçekleştirilen bir çalışmada formaldehitin hematolojik ve antioksidan parametreler üzerine etkisi araştırılmış, gökkuşağı alabalıklarına farklı dozlarda uygulama yapılmış ve kontrol grubuna göre kan parametrelerinin azalıp, oksidatif strese karşı vücudun savunmaya geçerek GST seviyesini artırdığını bildirmişlerdir (Yonar ve ark., 2014). Bir diğer çalışmada, curcuminin gökkuşağı alabalığına bazı antioksidan parametrelere etkisi incelenmiş, curcuminin belirli dozlarda ve günlerde balığa verilerek, deneme sonunda balıklardan karaciğer, böbrek ve dalak dokularında GST enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (Yonar ve ark., 2014). Bağışıklık sistemi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise spirulinanın bakır sülfat üzerine etkisi araştırılmıştır. Subletal dozda bakır sülfata maruz bırakılmış gökkuşağı alabalıklarının stres indikatörü olarak GST seviyesine bakılmıştır. Spirulina uygulanan gruplarda GST aktivite düzeyinin kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Gökhan, 2015).

Tez çalışmasında lipit peroksidasyonunu belirlemek amacıyla MDA ve GST enzim aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada, deneme gruplarında 1 cm enindeki ensize yaranın 2. gününde en hızlı E grubunda sikatrizasyon gözlenmiştir. Bunu takiben Antibiyotik (A) grubunda 5. günde, Kesik (K) grubunda ise 7. günün sonunda sikatrizasyon gözlenmiştir. Tedavi uygulanan (E, A ve K) gruplardan alınan karaciğer ve kas dokusu MDA ve GST aktivite düzeyleri açısından incelenmiştir. Karaciğer dokusunda, MDA aktivite testi sonuçlarına göre E grubunda 2., K grubunda 6., A grubunda ise 5. günde anlamlı artışlar gözlenmiştir. Kas dokusu örneklerinde MDA aktivitesinin E grubu örneklerinde 1. gün anlamlı olarak arttığı, 2. ve 3. gün ise doğrusal olarak azalığı gözlemlenmiştir. Bu, hem ekstrakt hem de teramisin gruplarında vücut savunma sistemi ve oksidatif faktörlerin normal seviyelerine döndüğü şeklinde yorumlanabilir. Karaciğer dokularında GST enzim aktivitesinin ise E grubunda 2., A grubunda 4. ve K grubunda 6. günde anlamlı artışların olduğu gözlenmiştir. E grubunda bir buçuk günde iyileşmenin makroskopik olarak bitmesi enzim aktivitesinin oksidatif stres, vücut savunma sistemi gibi etkenlerin normal düzeye gelmesinden dolayı düştüğü şeklinde yorumlanabilir. E grubunda kas dokusu örneklerinde ölçülen GST enzim aktivitelerinin 1. gün anlamlı olarak arttığı 2. ve 3. gün doğrusal olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Enzim aktivitelerinin pik yaptığı günler yara iyileşiminin makroskopik olarak kapanmasını takip eden günlere karşılık geldiği gözlenmiştir.

Çalışma sonucunda, balık hastalıkları alanında andız ekstraktının yaralar üzerinde anlamlı pozitif sonuçlarının olduğu gözlenmiştir. Yara iyileşimi üzerine su ürünleri alanında ilk kez denemesi gerçekleştirilen ekstraktın balık sağlığı açısından alternatif bir tedavi ürünü olabilir. Ekstraktın su ürünleri alanında bakteriler için antibiyotikler yerine alternatif bir ürün haline dönüştürülmesi için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.





KAYNAKLAR

- Akaylı, T. ve Korun, J., 2004. Bir lepistes üretim ünitesindeki balıklarda (*Poecilia Reticulata*) *Pseudomonas fluorescens* ile birlikte görülen flavobakteriosis Olgusu. ***İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi***, **30(2)**, 133-142.
- Akaylı, T., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., Sönmez, E., ve Erk, M.H., 2016. *Micrococcus luteus*'un Bazı Gram Pozitif Balık Patojenlerine Karşı Etkisinin Araştırılması. ***Kocatepe Veterinary Journal***, **9(2)**: 74-79.
- Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H.E., Yön, N.D., Kayhan, F.E., 2014. Balıklarda ağır Metal ve Pestisitler Tarafından İndüklenen Oksidatif Stres Mekanizmaları. ***Su Ürünleri Dergisi***, **31(3)**: 155-160.
- Akkuş, H., 2018. ***Bazı Ağır Metal Uygulamalarının İnvitro Ortamda Çoğaltılmış Juvenil Sakız Ağacı (Pistacia Lentiscus L.) Eksplantlarında Triterpenoit Miktarları Üzerine Etkisinin Belirlenmesi*** (Yüksek Lisans Tezi, Batman Üniversitesi).
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. ***Mimoza Yayınları***, **38(5)**: 1-12.
- Akşit, D., Cavit, K., 2008. Gökkuşığı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. ***Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi***, **19(1)**: 1-7.
- Alak, G., Uçar, A., Parlak, V., Yeltekin, A.Ç., Taş, İ.H., Ölmez, D., Yanık, T., 2017. Biyopestisite maruz kalan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) dokularında 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin aktivitesi, Gen Ekspresyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesinin Değerlendirilmesi. ***Karşılaştırmalı Biyokimya ve Fizyoloji Bölüm C: Toksikoloji ve Farmakoloji***, **203**: 51-58.
- Albayrak, H., Özan, E., 2010. Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) İnfeksiyöz pankreatik nekrozis ve infeksiyöz hematopoyetik nekrozis virus enfeksiyonlarının varlığının araştırılması.
- Alı, M., Ali, G., 2019. ***Menengiç (Pistacia terebinthus) sulu metanolik özütünün gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) sindirim sistemi ve antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkileri*** (Doktora Tezi, Kastamonu Üniversitesi).
- Anonim-A, 2020. <https://www.wikiwand.com/tr/And%C4%B1z>. Erişim tarihi: 17.09.2020, Saat: 23.15.
- Anonim-B, 2020. <http://www.agaclar.net/forum/igne-yaprakli-agaclar/6143.htm> Erişim tarihi: 17.09.2020, Saat:23.30
- Anonim-C, 2020. <https://Tr.Wikipedia.Org/Wiki/Krizol>. Erişim Tarihi: 28.08.2020, Saat:14:23.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M., 2005. ***Balık Hastalıkları***. Medisan Yayınları, 230s. Ankara.
- Arslan, D.M., 2017. ***Okside Olmuş Balık Yağı İçeren Yemlere Fındık Yağı İlavesinin Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus Mykiss) Büyüme, Yağ Asidi Kompozisyonu ve Antioksidan Savunma Sistemine Etkisi*** (Doktora Tezi).
- Aşkar, Ş., Deveboynu, Ş.N., 2018. Türkiye'de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea Europaea* yaprağından elde edilen ticari ekstraktların in-vitro antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması. ***Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi***.

- Austin, B., Austin, D.A., 1999. *Characteristics of The Pathogens: Gram-Negative Bacteria*. In: *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*. (Eds: B. Austin. And D.A. Austin). Third (Revised) Edition. Praxis Publishing Ltd. Pp. 102-118, New York.
- Aydemir, B., Sarı, E.K., 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **2**(2): 56-60.
- Baba, E., 2017. Su ürünleri yetiştiriciliğinde bitkisel immunostimulant kullanımı, *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* **7**(3): 249-256.
- Balta, F., Balta, Z.D., Özgümüş, O.B., ve Çağırğan, H., 2016. The Antimicrobial Resistance and Investigation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the eastern black sea region. *Journal Of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **1**(3):72-76.
- Balta, F., Dengiz-Balta, Z., 2016. Deniz suyuna nakledilen gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularında görülen vibrio enfeksiyonu ve tedavisi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, **1**(1): 14-20.
- Balta, F., Dengiz-Balta, Z., 2017. Doğu Karadeniz’de yetiştiriciliği yapılan gökkuşacağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)’ndan izole edilen *Vibrio anguillarum* suşlarının serotiplendirilmesi, genetik karakterizasyonu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **64**: 321-328, 2017.
- Balta, F., ve Yılmaz, H., 2019. Kültür levreklerinde (*Dicentrarchus labrax*) *Vibrio parahaemolyticus* enfeksiyonu. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(2): 104-110.
- Barata, S., Şahin, H., Köprücü, S., 2017. *Luciobarbus esocinus* (Heckel, 1843)’un dokularındaki oksidatif stress, vitamin A, E, C ve β -Karoten seviyelerinin tespiti. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **6**(2): 476-482.
- Bello, R., Moreno, L., Beltran, B., Primo-Yuferra, E., Espugues, J., 1997. Effects on Arterial Blood Pressure of Methanol and Dichloromethanol Extracts from *Juniperus oxycedrus* L. *Phytotherapy Res.* **11**(1): 161-162.
- Benli, M., ve Yiğit, N., 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **3**(8):1-8.
- Berber, İ., Özgökçe, F., Şeker, A., 2009. Van yöresinde yetişen bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **14**(2): 117-121.
- Bilen, S., Sirtiyah, A.M.A., ve Terzi, E., 2019. The rapeutic effects of *Beard lichen*, *Usnea barbata* extract against *Lactococcus garvieae* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, **87**: 401-409.
- Bozarı, S., 2016. *Melissa officinalis* L. uçucu yağ kompozisyonunun ve *Amaranthus retroflexus* L. tohumlarının çimlenmeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Alatarım*, **15**(2): 17-27.
- Buchmann, K., 1999. Immune Mechanisms in fish skin against monogeneans-A *Model. Folia Parasitologica*, **46**(1): 1-8.
- Bullock, A.M., Marks, R., Roberts R.J., 1978. The cell kinetics of teleost fish epidermis: epidermal mitotic activity in relation to wound healing at varying temperatures in plaice (*Pleuronectes platessa*). *Journal of Zoology*, **185**(1):197-204.
- Büyüksint, T., Kuleaşan, H., 2014. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *Gıda/TheJournal of Food*, **39**(4).

- Büyükuslu, N., Yiğitbaşı, T., 2015. Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. ***Clinical And Experimental Health Sciences***, 5(3): 197-203.
- Can, E., 2006. Levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) larvalarında nükleotid katkılı ürün kullanımının gelişime etkisi. ***Su Ürünleri Dergisi***, 23(3): 399-402.
- Chaouche, T.M., Haddouchi, F., Bekara, F.A., Ksouri, R., Azzi, R., Boucherit, Z., Tefiani, C., Larbat, R., 2015. Antioxidant, haemolytic activities and HPLC–DAD–ESI–MS characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus* subsp. *Oxycedrus*. ***Industrial Crops and Products***, 64(1):182-187.
- Cooke, S.J., Graeb, B.D.S., Suski, C.D., Ostrand, K.G., 2003. Sütür materyalinin minyatür radyo vericileriyle implante edilen genç büyük ağızlı levreklerin kesi iyileşmesi, büyümesi ve hayatta kalması üzerindeki etkileri: acemi ve deneyimli bir balık cerrahının vaka çalışması. ***Balık Biyolojisi Dergisi***, 62 (6): 1366-1380.
- Çanak, Ö., Yardımcı, R.E., 2011. Kültürü yapılan denizel türlerin patojeni olan *Vibrio harveyi* üzerine bir derleme. ***Journal of Fisheries Sciences.com***, 5(2): 131.
- Çelik, C., 2004. *Bursa Büyükşehir Sınırları İçinde Kalan Derelerde Ağır Metal Kirliliğinin Bitkilerle İzlenmesi ve Değerlendirilmesi Üzerine Araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi.
- Çiçek, S., 2018. *Anadolu'da Kültürü Yapılan Bazı Üzüm (Vitis vinifera L.) Çeşitlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi* (Doktora Tezi, Kastamonu Üniversitesi).
- Çiltaş, A., Balık, Y.Z., 2016. Effects of oxytetracycline antibiotic on GST enzyme activity and gene expression levels in rainbow trout. ***Proc. of The Fifth Intl. Conf. On Advances in Applied Science and Environmental Technology***. ISBN: 978-1-63248-106-1 doi: 10.15224/ 978-1-63248-106-1-32.
- Didinen, B.I., Çiftci, A., Morsümbül, E., 2018. Gökkuşığı alabalıklarından izole edilen potansiyel probiyotik bakterilerin hidrofobisite, safra ve pH toleranslarının tespiti. ***Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi***, 29(1): 5-11.
- Diler, Ö., Altun, S., Çalığı, F., Diler, A., 2000. A study on qualitative and quantitative bacterial flora of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in different fish farms. ***Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences***, 24(3): 251-260.
- Diler, Ö., Görmez, Ö., Terzioğlu, S., Bayrak, H., 2018. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiriciliğinde görülen Spironucleosis enfeksiyonlarının tedavisinde *Artemisia campestris* (L)'in kullanımı. ***Act Aqua Tr.*** 14(4): 312-23.
- Dolgun, O., 2015. *Gökkuşığı Alabalıklarından Lactococcus garvieae İdentifikasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Duman, M., 2017. Gökkuşığı Alabalıklarında Görülen Motil Aeromonas (*Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*), *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* Bakterilerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları ve Duyarlılıkta Rol Oynayan Genlerin Tespiti. (Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Duman, M., Saticioglu, I.B., Altun, S., 2018. Biochemical differences and rapid identification of *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* isolated from aquaculture. ***Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi***, 37(1): 37-47.

- Durmaz, Y., Kılıçoğlu, Y., 2015. Bir alabalık çiftliğinde doğal enfekte gökkuşağı alabalıklarından (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Lactococcus garvieae*'nin kültür ve PCR ile saptanması ve etkenin antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **10**(2).
- Erdoğan, S.F., 2012. *Bazı Halofilik ve Halotolerant Mikroorganizmaların, Fenantren, Piren ve Naftalen Parçalayabilme Yeteneklerinin Araştırılması*, (Afyon Karatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi)
- Ergür, N., Çoban, Ö.E., 2020. Gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) duyu kalitesi üzerine kurt üzümü ekstraktı içeren çiya (*Salvia hispanica*) müsilaj kaplamanın etkisi. *Ecological Life Sciences*, **15**(4): 134-142.
- Ersoy, A.T., Metin, S., Onuk, E.E., 2014. Ege ve akdeniz bölgesindeki gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *Flavobacterium psychrophilum* suşlarının fenotipik ve genetik farklılıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **14**(4): 265-275.
- Esen, M., Diğrak, M., 2009. Kahramanmaraş yöresindeki bazı orman ağaçlarından elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi. *Firat University Journal of Science*, **21**(1).
- Fadeifard, F., Raissy, M., Jafarian, M., Boroujeni, H.R., Rahimi, M., Faghani, M., 2018. Effects of black seed (*Nigella sativa*), ginger (*Zingiber officinale*) and cone flower (*Echinacea angustifolia*) on the immune system of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*, **70**(1): 199-204.
- Filik, N., Kubilay, A., 2020. Determination of quorum sensing system via biosensor strains and virulence factors in fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**(1): 29-36.
- Goudarzi, M.A., Hamed, B., Malekpoor, F., Abdizadeh, R., Pirbalouti, A.G., Raissy, M., 2011. Sensitivity of *Lactococcus garvieae* isolated from Rainbow Trout to Some Iranian medicinal herbs. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(14): 3067-3073.
- Gökhan, H.B., 2015. *Bakır Sülfat Uygulanan Gökkuşağı Alabalığı (Oncorhynchus Mykiss, Walbaum, 1792)'Nda Bazı İmmun ve Antioksidan Parametrelere Spirulina'nın Etkisinin Araştırılması*. (Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi).
- Gülhan, M.F., 2018. Bazı sedatif ve anestetik aromatik bitki yağlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, L.) kan parametreleri üzerine etkileri. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **20**(1): 471-482.
- Gülsoy, S., Çıvğa, A., 2016. Diken ardıç (*Juniperus oxycedrus* L. subsp. oxy) kozalaklarının uçucu yağ özellik ve çevresel faktörlerle ilişkileri. *Türkiye Ormanlık Dergisi*, **17**(2): 142-152.
- Gülsoy, S., Özkan, K., Mert, A., Eser, Y., 2008. Chemical compounds of volatile oil obtained from fruit of crimean juniper (*Juniperus excelsa*) and leaves of turkish plateau oregano (*origanum minutiflorum*) and allelopathic effects on germination of anatolian black pine (*Pinus Nigra* Subsp. *Pallasiana*). *Biological Diversity and Conservation*, **1**(2): 105-114.
- Gümüştas, K., Atukeren, P., 2008. Oksidatif ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklar ile İlişkisi. İstanbul Üniversitesi, *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar. Sempozyum Dizisi*; **62**:329-340.

- Gürdeniz, G., Tokatlı, F., Özen, B., 2008. Zeytinyağında tağışış tespiti için fourier-dönüşümlü kızıl ötesi (FTIR) spektroskopi kullanımı. *Türkiye*, **10**: 21-23.
- Güzelsoy, N.A., 2013. *Icp-MS ile Bazı Gıda Takviyelerinde Element Analizleri ve Analitik Problemler* (Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi).
- Gyamfi, M.A., Ohtani, I.I., Shinno, E., Aniya, Y., 2004. Inhibition of glutathione s-transferases by thonningianin a, isolated from the african medicinal herb, *Thonningia sanguinea*, in vitro. *Food and Chemical Toxicology*, **42** (9): 1401-1408.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, **249**: 7130-7139.
- Hancı, İ., Onuk, E.E., 2018. *Lactococcus garvieae* izolatlarının antimikrobiyal direnç profillerinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi. *Etlık Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **29**(2): 94-103.2018
- Horst-Emme, W., 1990. *Forellenzucht. Verlag Paul Parey*. 157 S. Hamburg Und Berlin.
- Işık, A.R., Özkaya, S., Erbaş, S., Koknaroğlu, H., 2020. Katran ardıcı meyvesi (*Juniperus oxycedrus L.*) aromatik yağı ve aromatik suyunun antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **17**(2): 88-94.
- İçyer, N.C., Durak, M.Z., 2020. Bitkisel yağlarda tağışış belirleme metotları: Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi. *Helal ve Etik Araştırmalar Dergisi*, **1**(2): 1-6.
- İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E., 1998. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, **22**(1998): 119-125.
- İlknur, U., 2020. Soğukta depolanan (4±1 °C) alabalık burgerlerde nar kabuğu ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. *Su Ürünleri Dergisi*, **37**(4): 1-1.
- İpek, Z.Z., 2015. *Doğu Karadeniz Bölgesindeki Gökkuşağı Alabalığı (Onchorhynchus mykiss) Çiftliklerinde Hastalık Oluşturan Pseudomonas Türlerinin Genetik Analizi* (Doktora Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı).
- Kankaya, E., Kaptaner, B., Doğan, A., ve Çelik, İ., 2015. *Chalcalburnus tarichi*'nin erken yaşam aşamalarında bisfenol a'nın toksisitesi (Pallas, 1811). *Fresenius Çevre Bülteni*, **24**: 977-985.
- Kapdan, E., Sezgin, M., Kâhya, M., 2019. Ardıç (*Juniperus L.*) türlerinin halk arasında ve modern tıp'ta hastalıkların tedavisinde kullanımı.
- Karataş, T., Kocaman, E.M., 2012. Aynı koşullar altında kültüvüle normal ve albino gökkuşağı alabalığında paraoksonaz aktivitesi, malondialdehit ve yüksek yoğunluklu lipoprotein düzeylerinin karşılaştırılması. *Kafkas Üniv Veteriner Fak Derg*, **18** (1): 87-90.
- Karataş, T., Yıldırım, S., Arslan, H., Ağgöl, A.G., 2019. Farklı konsantrasyonlarda deltametrin kahverengi alabalık (*Salmo trutta fario*) üzerindeki etkiler. *Karşılaştırmalı Biyokimya ve Fizyoloji Bölüm C: Toksikoloji ve Farmakoloji*, **226**: 108606.
- Kaya, H.İ., 2019. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Patojene Spesifik Bakteriyosinlerin Karakterizasyonu ve Kokteyl Olarak Kullanımı.

- Kaya, Ö., 2016. *Cıva Toksisitesi Üzerine Selenyumun Koruyucu Rolünün Oreochromis niloticus'un Solungaç ve Karaciğer Dokularındaki Oksidatif Stres Parametreleri ile Değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi).
- Kaya, Ö., 2016. *Cıva toksisitesi üzerine selenyumun koruyucu rolünün Oreochromis niloticus' un solungaç ve karaciğer dokularındaki oksidatif stres parametreleri ile değerlendirilmesi* (Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi).
- Keleştemur, G.T., 2012. Gökkuşluğu Alabalığı Yavrularının (*Oncorhynchus mykiss*, W., 1792) Diyetlerine Katılan B-Karotenin Doku MDA Düzeyine Etkisi. *Fü Sağ Bil Vet Derg.*, **26**, 61-64.
- Keleştemur, G.T., Yıldırım, I., 2016. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Yavrularının Kan Vitamin C ve malondialdehit düzeylerine karanlık periyodun etkisi. *Balkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **12**(2): 55-60.
- Kılıç, A., 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, **10**(13): 37-45.
- Korun, J., Okudan, E.Ş., Yardımcı, R.E., Timur, G., Ulutaş, A., Gökoğlu, M., Balcı, B.A., 2019. Bazı deniz alg türlerinin etanol ve metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin *Yersinia ruckeri* üzerinde araştırılması. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **12**(3): 226-234.
- Korun, J., Timur, G., Yardımcı, R.E., Balcı, B.A., 2018. Kültür gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda bazı kok türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tespiti üzerine bir çalışma. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, **13**(2): 149-158.2018
- Köstereli, S., Onuk, E.E., 2019. *Yersinia ruckeri* izolatlarının genotiplendirilmesinde PCR tabanlı DNA fingerprinting tekniklerinin karşılaştırmalı analizi. *Acta Aquatica Turcica*, **15**(3): 262-271.2019
- Kubilay, A., Altun, S., Uluköy, G., Diler, Ö., 2005. *Lactococcus garvieae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **1**(1).
- Lowry, T., Smith, S.A., 2007. Yiyecek, yem, süs ve tropikal balıklarla ilişkili su zoonozları. *Amerikan Veteriner Hekimler Birliği Dergisi*, **231** (6): 876-880.
- Marty, G.D., 1990. Wound healing in channel catfish by epithelialization and contraction of granulation tissue. *Transactions of The American Fisheries Society*, **119**(1): 145-150).
- Monteiro, D.A., Rantin, F.T., Kalinin, A.L., 2010. Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical fresh water fish matrinxã, brycon amazonicus (Spix and Agassiz, 1829). *Ecotoxicology*, **19**(1): 105.
- Olgun, P., 2014. *Benzin İstasyonlarında Çalışanların Maruz Kaldıkları Kimyasallar ve Bunların Sağlık Üzerine Etkileri* (Yüksek Lisans Tezi, Halk Sağlığı Enstitüsü).
- Önalın, Ş., 2019. Expression differences of stress and immunity genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) with different bacterial fish diseases. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. **71**(1): 1-10. DOI: hdl.handle.net/10524/62913.
- Önalın, Ş., Sancak, T., 2020. The use of different sewing methods in tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fish. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5** (3): 373-377. DOI: 10.35229/jaes.736513.

- Önalın, Ş., Yavuz, H.İ., 2019. Nanopartikül içerikli sıvı besiyerlerinde *Lactococcus garvieae* izolatlarının gelişim farklılıklarının spektrofotometrik olarak belirlenmesi. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5(1): 6-15.
- Özcan, M., 2011. *Bazı Alabalık İşletmelerindeki Yavru Gökkuşığı Alabalığında (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792) Flavobacterium psychrophilum Bakterisinin Belirlenmesi, Fenotipik ve Genotipik Özelliklerinin Araştırılması* (Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Özcan, M., Ertekin, A., 2018. Viral hemorajik septisemi virüsünün gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) doku malondialdehit ve antioksidan düzeylerine etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2): 17-23.
- Pissios, P., Maratos-Flier, E., 2003. Melanin-concentrating hormone: from fish skin to skinny mammals. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 14(5): 243-248.
- Rodríguez-Gandarilla, M.G., Rodríguez-Negrete, E.A., Rivera-Bustamante, R.F., 2020. Super infection by phyvv alters the recovery process in pepgmv infected pepper plants. *Viruses*, 12(3): 286.
- Rufino, A.T., Ribeiro, M., Judas, F., Salgueiro, L.L., Cavaleiro, C., Mendes, A.F., 2014. Anti-inflammatory and chondroprotective activity of (+) A-pinene: structural and enantiomeric selectivity. *Journal of Natural Products*, 77(2): 264-269.
- Sağlam, Y.S., Işık, N., Arslan, A., Erer, H., 2006. Erzurum bölgesindeki gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* izolasyonu ve patolojik incelemeler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1): 6-10.
- Sarabia, A.I., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P., 2000. the effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. *Food Chemistry*, 70(1): 71-76.
- Satıcıoğlu, İ.B., 2018. *Gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792) Kuluçkahanelerinde Hastalık Oluşturan Flavobacterium Türlerinin Genotipik Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Direnç Gelişiminde Rol Oynayan Genlerin Varlığı-Yaygınlığının Belirlenmesi*. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Selimoğlu, T., Gökçe, A., Yanar, D., 2015. Fumigant toxicity of some plant essential oils to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 39(1): 109-118.
- Selli, S., Cabaroğlu, T., Canbaş, A., 2001. Kalecik karası sırasındaki serbest aroma maddelerinin tayininde iki farklı ekstraksiyon yönteminin kıyaslanması. *Gıda*, 26(6).
- Talas, Z.S., Gülhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on Biochemical and Hematological Parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7): 1994-1998.
- Tatar, Ş., Serdar, O., Yıldırım, N.C., 2019. Kongo kırmızısına maruz bırakılan tatlı su amphipodu *Gammarus pulex*'in antioksidan ve detoksifikasyon sistemindeki değişiklikler. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2): 76-81.
- Taysı, M.R., Kırıcı, M., Kırıcı, M., Sögüt, B., Bozdayı, M.A., Taysı, S., Gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) kadmiyum toksisitesi: kalp ve kasüzereine bir araştırma. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(4): 983-987.

- Teğin, İ., Canpolat, G., Fidan, M., 2018. Eruh bölgesinden toplanan *Allium ampeloprasum* L. bitkisinin element içeriklerinin ICP-MS ile belirlenmesi. **Şehri Nuh Uluslararası Multidisipliner Çalışmalar Kongresi**, 8-9 Eylül 2018.
- Tekeli, H., 2019. **Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme genlerinin (GH, IGF-1, IGF-2) ekspresyonu ile serum kortizol düzeyleri üzerine yaş ve mevsimsel değişimlerin etkisi**. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Terzioğlu, S., Diler, Ö., 2016. Effect of Dietary Sage (*Salvia officinalis* L.), licorice root (*Glycyrrhiza glabra* L.), blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and echinacea (*Echinacea angustifolia* Hell) on nonspecific immunity and resistance to *Vibrio anguillarum* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Süleyman Demirel Üniversitesi Egirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi**, 12(2): 110-118.
- Timur, G., 2008. *Balık anatomisi*. Nobel Yayın Dağıtım.
- Timur, G., 2013. *Balık Histolojisi ve Embriyolojisi*, İstanbul Üniversitesi Yayın No:5155, Fen Bilimleri Enst. Yayın No:15, ISBN:978-975-404-942-8,79,82
- Timur, G., Yardımcı, R., Ürkü, Ç., Çanak, Ö., 2011. Marmara bölgesi kültür gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Lactococcosis'in bakteriyolojik ve histopatolojik metodlarla teşhisi. **Aquatic Sciences and Engineering**, 26(2): 63-81.
- Turan, F., 2006. Improvement of growth performance in tilapia (*Oreochromis aureus linnaeus*) by supplementation of redclover (*Trifolium pratense*) in diets. **Israeli Journal of Aquacul-Bamidgeh**. 58(1):34-38.
- Turgay, E., Steinum, S.K., Candan, A., 2015. Kültürü yapılan gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Staphylococcus hominis* Subsp. *hominis* enfeksiyonu. **Aquatic Sciences and Engineering**, 30(1): 11-22.
- Uçak, İ., 2020. Soğukta depolanan (4±1 °C) alabalık burgerlerde nar kabuğu ekstraktının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. **Su Ürünleri Dergisi**, 37(4), 1-1.
- Uçar, A., Al-Hamdani, A.H.A., Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H., Şensurat, T., 2012. Karboksın'ın gökkuşluğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nda süperoksit dismutaz enzim aktivitesi üzerine etkisi. **Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi**, 5(2): 83-85.
- Uçar, E., Odabaş, Köse, E., Özyiğit, Y., Turgut, K., 2015. Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. **Süleyman Demirel University Journal of The Faculty of Agriculture**, 10(2).
- Urso, M.L., Clarkson, P.M., 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**. 189(1):41-54.
- Ürkü, Ç., Önalın, Ş., 2018. First Report of *Lernaea cyprinacea* (Copepoda: Lernaeidae) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from the Sarı Mehmet dam lake in Van-Turkey. **European Journal of Biology**, 77(1): 42-45.
- Ürkü, Ç., Yardımcı, R.E., 2013. Melek balıklarında (*Pterophyllum scalare*) capilaria Sp. enfestasyonu ve bakteriyel septisemi. **Journal of Fisheriesciences.com**, 7(3): 232.
- Valdes-García, S., Del-Barrio-Alonso, G., Gutiérrez-Gaitén, Y., MorierDíaz, L., 2003. Evaluación preliminar de la actividad antiviral del extracto acuoso de *Phyllanthus orbicularis* frente al virus Vhs-1. **Revista Cubana De Medicina Tropical**, 55(3): 169-173.

- Verma, N., Kumari, U., Mittal, S., Mittal, A.K., 2017. *Cirrhinus mrigala*'da asiaticoside'in deri yaralarının iyileşmesine etkisi: immünohistokimyasal bir araştırma. *Tissue and Cell*, **49** (6): 734-745.
- Wagner, G.N., Cooke, S.J., Brown, R.S., Deters, K.A., 2011. Balıklarda elektronik etiketler için cerrahi implantasyon teknikleri. *Balık Biyolojisi ve Balıkçılık İncelemeleri*, **21**(1): 71-81.
- Walnut, A.A.O., 1993. Ceviz (*Juglans regia* L.)'in antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, **39**(1-2): 7-11.
- Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 2003. *Fish Disease and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. Cabi Publishing, Oxfordshire, UK.
- Wu, G., Yuan, C., Shen, M., Tang, J., Gong, Y., Li, D., Sun, F., Huang, C., Han, X., 2007. Immunological and biochemical parameters in carp (*Cyprinus carpio*) after qompsell feed ingredients for long-term administration, *Aquacult Res.*, **38**: 246-255.
- Yavuzcan, H.T.D., Kaynar, S.Y., 2016. *Zostera Spp. Ekstraktı Uygulanan Artemia Larvalarına Ait Baskın Bakteri Türlerinin DNA Barkodlama Tekniği ile Analizi* (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı).
- Yiğitarıslan, K.D., Azdural, K., Yavuz, U., Turan, F., 2011. Alabalıklarda fitoterapi uygulamaları. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, **4**(1): 63-68.
- Yonar, M.E., 2017. General properties of propolis and usage in fish. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, **5**(9): 1015-1023.
- Yonar, S.M., Sağlam, N., Yöntürk, Y., Aytemur, A., Kosar, A., 2014. Formaldehit uygulanan gökkusağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda bazı hematolojik ve antioksidan parametrelerin araştırılması. *Journal of FisheriesSciences*. **8** (4): 317.
- Yonar, S.M., Yöntürk, Y., Yonar, M.E., 2014. Gökkusağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)'nda curcuminin bazı antioksidan parametreler üzerine etkisi. *Fırat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*. **26**(1): 53-57, 2014.
- Yürüten-Özdemir, K., 2018. *Kantaron (Hypericum perforatum) ve Hatmi Çiçeği (Althaea officinalis) Sulu Metanolik Özütünün Gökkusağı Alabalığının (Oncorhynchus mykiss) Büyüme Performansı, Sindirim Enzimleri ve Bazı Bağışıklık Parametreleri Üzerine Etkileri* (Doktora Tezi, Kastamonu Üniversitesi).
- Zahir, A.A., Rahuman, A.A., Kamaraj, C., Bagavan, A., Elango, G., Sangaran, A., Kumar, B.S., 2009. Laboratory determination of efficacy of indigenous plant extracts for parasites control. *Parasitology Research*, **105**(2): 453-461.
- Zupanc, G.K., Kompass, K.S., Horschke, I., Ott, R., Schwarz, H., 1998. Yetişkin teleost balığının serebellumundaki yaralanmalardan sonra apoptoz. *Deneysel Nöroloji*, **152** (2): 221-230.



ÖZ GEÇMİŞ

Ebru AVCI 1983 yılında Adana'da doğdu. İlköğretimini İsmet İnönü İlkokulu'nda, ortaokulunu Gazi Orta Okulu'nda, lise öğrenimini ise Adana Kız Lisesi'nde tamamladı. 2008 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden mezun oldu. 2012 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı'nda göreve başladı. 2018 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen Van İli Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde görevine devam etmektedir. Evli ve 2 çocuk annesidir. Yabancı dili İngilizce'dir.




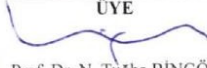
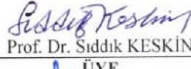






EKLER

Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

| | |
|------------------------------------|--|
| Araştırmanın Adı | Andız (<i>Juniperus drupacea</i>) Ekstraktının Antimikrobiyal Özelliğinin ve Gökkuşuğu Alabalıklarındaki (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yara Gelişimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi |
| Araştırmanın Yürütücüsü | Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN |
| Yardımcı Araştırmacılar | Yük. Lis. Öğr. Ebru AVCI |
| Kurumu | Su Ürünleri Fakültesi |
| Araştırmanın Tahmini Süresi | 12 Ay |
| Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı | Balık 96 Adet |
| Destekleyecek Kuruluş (lar) | Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı |
| Başvuru Tarihi | 22/07/2019 |

| | | |
|---|---|---|
| KARAR BİLGİLERİ | Karar No:2019/07 | Tarih:25.07.2019 |
| | Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen yüksek lisans projesi, gereke, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deneysel hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıcı ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi. | |
| | BAŞKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE | |
| ÜYE  Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL | ÜYE  Prof. Dr. Sıddık KESKİN | ÜYE Prof. Dr. Nalan ÖZDAL |
| ÜYE  Prof. Dr. Atilla DURMUŞ | ÜYE  Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ | ÜYE  Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN |
| ÜYE  Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR | ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU | ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN |
| ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT | ÜYE Vet. Hek. Kerem OĞRAK | ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET |
| ÜYE Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU | | |

*Bu form VAN YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.



Ek-2. Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu

| T.C VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU | |
|--|----------------------------------|
| Tarih: 01/12/2020 | |
| Tez Başlığı / Konusu: “Andız (<i>Juniperus sp</i>) Kökü Ekstraktının Antimikrobiyal Özelliğinin ve Gökkuşığı Alabalıklarında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yara Gelişimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi” | |
| Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 92 sayfalık kısmına ilişkin, 20/11/2020 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 10 (On)’dur. | |
| Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: | |
| <ul style="list-style-type: none">- Kabul ve onay sayfası hariç,- Teşekkür hariç,- İçindekiler hariç,- Simge ve kısaltmalar hariç,- Gereç ve yöntemler hariç,- Kaynakça hariç,- Alıntılar hariç,- Tezden çıkan yayınlar hariç,- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words) | |
| Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. | |
| Gereğini bilgilerinize arz ederim. | |
| 01.12.2020 Tarih ve İmza | |
| Adı Soyadı : Ebru AVCI | |
| Öğrenci No : 17910001213 | |
| Anabilim Dalı: Su Ürünleri Mühendisliği | |
| Programı. : Su Ürünleri | |
| Statüsü. : Y. Lisans <input checked="" type="checkbox"/> | Doktora <input type="checkbox"/> |
| DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR | ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR |
| Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN (Unvan, Ad Soyad, İmza) | (Unvan, Ad Soyad, İmza) |

