



Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) Şurubunun Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Balıklarında Büyüme Performansı, Hematolojik, Serum Biyokimyası ve Bağışıklık Parametrelerine Etkisi

Sevdan Yılmaz*, Sebahattin Ergün, Ekrem Şanver Çelik

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, 17020 Çanakkale, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 17 Ağustos 2018
Kabul 26 Eylül 2018

Anahtar Kelimeler:

Tilapia
Keçiboynuzu
Büyüme performansı
Serum biyokimyası
Bağışıklık parametreleri

*Sorumlu Yazar:

E-mail: sevdanyilmaz@comu.edu.tr

ÖZ

Bu çalışmada, tilapia, *Oreochromis mossambicus* yemlerine keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) şurubu takviyesinin balıkların büyüme performansı, hematolojik, serum biyokimyasal ve immünolojik parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Balık yemlerine keçiboynuzu şurubu %0, %5, %2,5, %1,25 ve %0,625 oranlarında ilave edilerek beş farklı izonitrojenik ve izokalorik yem yapılmıştır. Balıklar 60 gün boyunca deney yemleriyle beslenmişlerdir. Deneme yemleri balıkların ağırlık artışına, yem dönüşüm oranına, spesifik büyüme oranına, kırmızı kan hücresi sayısına, hematokrit oranına (%), serum total protein, albümin ve globulin düzeylerine belirgin bir etki göstermemiştir. Bununla birlikte, yemlere özellikle %1,25'lik keçiboynuzu şurubu ilavesinin serum glikoz, trigliserit ve kolesterol seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü belirlenmiştir. Özellikle %1,25 keçiboynuzu şurubu ilavesi balıkların fagositik aktivitesini, fagositik indeksini, respiratöri büst aktivitesini ve potansiyel öldürme aktivitesini önemli ölçüde arttırmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma tilapia balıklarının 60 günlük süreyle %1,25 oranında keçiboynuzu şurubu içeren yemlerle beslemenin, büyüme performansı ve hematolojik parametrelerini olumsuz yönde etkilemeksizin, balıkların bağışıklık parametrelerini ve serum biyokimyasal değişkenlerini geliştirmede yeterli olabileceğini göstermiştir.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(12): 1820-1826, 2018

The Effect of Dietary Carob (*Ceratonia siliqua*) Syrup on Growth Performance, Haematological, Serum Biochemical and Immunological Parameters in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*)

ARTICLE INFO

Research Article

Received 17 August 2018
Accepted 26 September 2018

Keywords:

Tilapia
Carob syrup
Growth performance
Serum biochemistry
Immune parameters

*Corresponding Author:

E-mail: sevdanyilmaz@comu.edu.tr

ABSTRACT

The present study investigated the effects of dietary carob (*Ceratonia siliqua*) syrup supplementation on growth performance, haematological, serum biochemical and immunological parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Five isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated to contain carob syrup at levels of 0%, 5%, 2.5%, 1.25%, and 0.625%. Fish were fed experimental diets for 60 days. There were no particular differences in weight gain, feed conversion ratio, specific growth rate, red blood cell count, haematocrit ratio (%), serum total protein, albumin, and globulin levels of fish fed experimental diets. However, dietary carob syrup especially with 1.25% incorporation significantly decreased serum glucose, triglyceride, cholesterol levels. The dietary carob syrup especially at 1.25% significantly increased the phagocytic activity, phagocytic index, respiratory burst and potential killing activity. In conclusion, findings of the present study indicate that feeding tilapia with a diet containing 1.25% carob syrup over a period of 60 days might be adequate to improve immune parameters and serum biochemical variables without any adverse effect on growth performance and haematological parameters of fish.

Giriş

Dünya nüfusundaki artış ile birlikte gıda kaynaklarına olan talepte artmaktadır. Bu durum sınırlı yetiştiricilik alanlarından daha fazla ürün alınmak istenmesine neden olmaktadır. Artan stok yoğunluğu balık yetiştiriciliğinde stres ve buna bağlı hastalıkların artmasına ve sonuçta balık ölümleriyle birlikte ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Yılmaz ve ark., 2016).

Balık yetiştiriciliğinde hastalıklarla mücadele de antibiyotik kullanımı yaygındır. Dünyanın birçok yerinde hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı sınırlandırılmış veya yasaklanmıştır (Ng ve Koh, 2016). Türkiye’de ise florfenikol, sulfadiazin+trimetoprim, oksitetrasiklin, amoksisilin, oksolinik asit ve enrofloksasin etken maddelerini kapsayan ruhsatlı 41 balık preparatı olduğu rapor edilmiştir (Akşit, 2016).

Tilapia üretimi 5,9 milyon tona ulaşmış ekonomik olarak önemli bir türdür (FAO, 2015). Özellikle az gelişmiş ülkelerde yetiştirilen tilapia balıklarında hastalıklarla mücadelede antibiyotik kullanımı yaygındır (Wamala ve ark., 2018). Bu nedenle antibiyotik kullanımı yerine alternatif olabilecek yem katkılarının araştırılması önemlidir. Son dönemlerde yapılan balık besleme ve yetiştiricilik çalışmalarında, balıkların beslenme ortamı, yetiştiricilik şekli ve yemlere ilave edilen etken maddelerin balıklarda büyüme parametreleri, besin içerikleri, kan parametreleri, sperm parametreleri ve hasat sonrası balıkların raf ömrü üzerine etkileri incelenmektedir (Öz ve ark., 2018; Acar ve ark., 2018; Acar, 2018; Yılmaz ve Ergün, 2018; Yılmaz ve ark., 2018; Öz ve ark., 2017; Dikel, 1997; Öz, 2018; Dikel ve ark., 2003; Öz ve Dikel., 2015). Keçiyoynuzu vitamin, mineral, tannin vb., içeriklerinin yanı sıra antimikrobiyal, antiseptik, antitoksik, antiviral, glikoz azaltıcı, yağlanma azaltıcı, kolesterol düşürücü ve özellikle sindirim artırıcı (Duke, 2003) özellikleriyle balık yemi katkısı olarak önemli bir doğal kaynak olarak görülmektedir. Keçiyoynuzu daha önce keçi ve koyun yemlerinde kullanılmıştır (Silanikove ve ark., 2001; Priolo ve ark., 2002). Ancak literatürde balıklarda bugüne kadar keçiyoynuzu şurubunun kullanımıyla ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada keçiyoynuzu şurubunun tilapia (*Oreochromis mossambicus*) da büyüme performansı ve kan parametrelerine etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme Yeri, Deney Sistemi ve Balık

Deneme Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi Canlı Kaynaklar Üretim Ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Denemede 450 adet 30,70±1,58 g (ortalama ± standart sapma) ağırlığında tilapia (*Oreochromis mossambicus*) kullanılmıştır. Besleme denemesinden önce balıklar 15 gün boyunca deneme ortamına adapte edilmişlerdir. Deneme kapalı devre sistemde yürütülmüştür. Sistemde 15 adet 140 L hacminde fiberglas tank olup bu tanklar çökeltme havuzu, kaba filtrasyon, kum filtre, biyolojik filtre ve ısıtma-soğutma ünitesine (Tuna Mac®, Çanakkale) bağlıdır.

Deneme sisteminin günlük olarak su değişimi %10-15 oranında yapılmıştır. Deneme ünitesinin bulunduğu ortamın aydınlatılması 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olarak otomatik zamanlayıcılar yardımıyla sağlanmıştır. Denemede her bir tanka 30 adet balık 3 tekrarlı olacak şekilde konmuştur. Kontrol yemine herhangi bir katkı ilave edilmemiştir. Keçiyoynuzu şurubu ise yeme %5, %2,5, %1,25 ve %0,625 oranlarında ilave edilmiştir. Bu çalışmanın Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğu Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Karar Numarası 2017/02-06) tarafından onaylanmıştır.

Deneme Yemleri

Keçiyoynuzu şurubu Hünnap firmasından (Hünnap Doğal Ürünler, İstanbul) temin edilmiştir. Tilapia yemleri balık ihtiyacına uygun olarak %36 protein ve %9 yağ içeriğine sahip olacak şekilde izokalorik ve izonitrojenik olarak hazırlanmıştır (Çizelge 1). Deneme yemlerinin La Monferrina - P3 yem makinesinde hazırlanmıştır. Öncelikle Çizelge 1 deki hammaddeler ve katkı maddeleri yem makinesinin karıştırma haznesi yardımıyla homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Su ilave edilen karışımın karıştırma işlemine devam edilmiş ve uygun kıvama geldikten sonra 2 mm ayna yardımıyla yemler hazırlanmıştır. Sonrasında pelet yemlerin kurutma işlemi 40°C’lik hava sirkülasyonlu kurutma kabini içinde nem oranları %10 oluncaya kadar devam edilmiştir. Yem hammaddelerinin ve yemlerin besin değeri analizleri AOAC (1998) ve Folch ve ark. (1957)’e göre yapılmıştır.

Balıklardan Kan Örneklerinin Alınması

60 günlük besleme denemesinden sonra balıklar 1 gün aç bırakılmış ve kan örnekleme yapılmıştır. Her bir tanktan 3 adet olmak üzere toplamda her bir deney grubu için 9 balık kan örnekleme için kullanılmıştır. Örnekleme için rastgele ve hızlıca yakalanan balıklar en kısa sürede 20 mg/L dozunda karanfil yağı ile 10 L’lik plastik kova içinde bayılmışlardır (Iversen ve ark., 2003). Bayıtılan balıkların kanları alınmadan önce kana mukoza karışmasını önlemek amacıyla anal yüzgecinin hemen arkası %70’lik alkol emdirilmiş pamuk ile temizlenmiştir. Kaudal venadan kan örnekleme 2,5 mL lik plastik enjektörler yardımıyla yapılmıştır. Kan örnekleri hematolojik ve immunolojik analizler için K₃EDTA, serum biyokimyası analizleri için ise jelli serum tüpleri içerisine alınmıştır. Serum analizleri için jelli tüplerdeki kan örnekleri 5000 g devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum – 80°C de analiz edilinceye kadar saklanmıştır.

Fiziksel ve Kimyasal Su Kalitesi Analizleri

Deneme süresince deneme tanklarının sıcaklık, oksijen ve iletkenlik ölçümleri YSI Pro2030 su analiz cihazı yardımıyla gün aşırı olarak takip edilmiştir. pH ölçümleri HANNA (HI 2221) masa üstü pH metre ile iki günde bir ve toplam amonyak, nitrit ve nitrat ölçümleri ticari kit (Spectroquant®) kullanılarak Optizen POP UV/VIS spektro fotometre ile haftalık olarak ölçülmüştür.

Çizelge 1 Deneme yemlerinin rasyonları ve kimyasal kompozisyonları

Table 1 Chemical composition and ration of experimental diets

Yem rasyon içeriği (%)	Kontrol	%5 KŞ	%2,5 KŞ	%1,25 KŞ	%0,625 KŞ
Balık unu	33,00	33,00	33,00	33,00	33,00
Soya küspesi	19,00	19,00	19,00	19,00	19,00
Buğday unu	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Mineral karışımı	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Vit karışımı	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Koruyucu (BHT)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Nişasta	7,999	2,999	5,499	6,749	7,374
Balık yağı	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Keçiboynuzu şurubu	0,00	5,00	2,50	1,25	0,625
Kimyasal kompozisyon (% , kuru madde)					
Protein	36,09	36,26	36,17	36,13	36,11
Yağ	9,47	9,49	9,48	9,5	9,46
Kül	5,23	5,45	5,34	5,29	5,26
NÖM	36,4	36,37	36,4	36,39	36,41
Enerji (GE)	18,45	18,49	18,47	18,47	18,45

KŞ: Keçiboynuzu Şurubu, Hamsi balık unu, hamsi balık yağı, yağsız soya fasulyesi küspesi, buğday unu, buğday nişastası, BHT Sibal A.Ş. (Sinop/Türkiye) den temin edilmiştir. Vitamin Karışımı: Vitamin A. 18,000 IU/kg yem; Vitamin D3. 2500 IU/kg yem; Vitamin E. 250 mg/kg yem; Vitamin K3. 12 mg/kg yem; Vitamin B1. 25 mg/kg yem; Vitamin B2. 50 mg/kg yem; Vitamin B3. 270 mg/kg yem; Vitamin B6. 20 mg/kg yem; Vitamin B12. 0,06 mg/kg yem; Vitamin C. 200 mg/kg yem; Folik asit. 10 mg/kg yem; Kalsiyum d-pantotenat. 50 mg/kg yem; Biotin. 1 mg/kg yem; İnositol. 120 mg/kg yem; Kolin klorür. 2,000 mg/kg yem. Mineral Karışımı (mg/kg): Fe. 75,3 mg; Cu. 12,2 mg; Mn. 206 mg; Zn. 85 mg; I. 3 mg; Se. 0,350 mg; Co. 1 mg. Nitrojensiz Öz Madde (NÖM) = Kuru madde– (yağ+kül+protein). Enerji 23,6 kJ/g protein, 39,5 kJ/g yağ, ve 17,0 kJ/g NFE' e göre belirlenmiştir.

Büyüme Performansı, Yemden Yararlanmanın Hesaplanması

Denemede büyüme performansı ve yemden yararlanmanın hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır (Yılmaz ve ark., 2018):

$$CAA = \frac{(SA - BA)}{BA} \times 100$$

CAA: Canlı Ağırlık Artışı (%)

SA : Son ağırlık (g)

BA : Başlangıç ağırlığı (g)

$$SBO = \frac{[\ln(SOA) - \ln(BOA)]}{DGS} \times 100$$

SBO : Spesifik Büyüme Oranı (%Gün⁻¹)

SOA : Son Ortalama Ağırlık (g)

BOA : Başlangıç Ortalama Ağırlık (g)

DGS : Deneme Gün Sayısı

$$YDO = \frac{YM}{AK}$$

YDO: Yem Dönüşüm Oranı

YM : Yem Tüketimi (g)

AK : Ağırlık Kazanımı (g)

Hematolojik Analizler

Kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hematokrit (Hct) ve hemoglobin (Hgb) analizleri otomatik kan sayım cihazı (Mindray/BC 3000 Plus) ile yapılmıştır. Bu cihaz daha önce laboratuvarımızdaki balık çalışmalarında kullanılmıştır (Yılmaz ve ark., 2018; Yılmaz ve Ergün 2018). Cihaz analizlerden önce manuel yöntemler ile kıyaslanarak tilapia için kalibre edilmiştir.

Biyokimyasal Analizler

Serum biyokimyası analizleri glikoz, albümin, globülin, toplam protein, trigliserit ve kolesterol daha önce balık çalışmalarında kullanılan ticari kit (Bioanalytic Diagnostic Industry, Almanya) yardımıyla spektrofotometrik olarak (Optizen POP UV/VIS) belirlenmiştir (Yılmaz ve Ergün, 2012). Bu çalışmada serumda biyokimyasal parametreleri belirlenmiştir.

İmmunolojik Analizler

Fagositik aktivite ve fagositik indeks

Fagositik aktivite ve fagositik indeks daha önce literatürde bildirilen mikroskopik sayım yöntemine göre yapılmıştır (Siwicki ve ark., 1993). Analiz için 100 µL bakteri (*E. coli* SY-EC4, gen bankası erişim numarası: MG855664) içeren 1,5 × 10⁸/PBS süspansiyon ile 100 µL kan örneği eppendorf tüp içerisine ilave edilmiştir. 30 dakika karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında inkübasyon yapılmıştır. Sonrasında bir miktar kan lam üzerine ilave edilmiş ve sürme preparat hazırlanmıştır. Preparatlar etil alkol (%95) ile 5 dakika fikse edilmiş ve giemsa boyası (%10'luk) ile 10 dakika boyanmışlardır. Boyanan örneklerin daimi preparasyonu hazırlandıktan sonra immersiyon yağı kullanılarak 1000 × büyütmede 100 hücre sayılarak % fagositik aktivite hesaplanmıştır. Fagositik indeks için ise fagositik hücrelerin yuttukları bakteri miktarı sayılmıştır. Kullanılan formüller aşağıda gösterilmiştir.

$$FA = \frac{BFHS}{TFHS} \times 100$$

FA : Fagositik Aktivite

BFHS : Bakteri yutmuş fagositik hücre sayısı (%)

TFHS : Toplam fagositik hücre sayısı

$$Fİ = \frac{BFHS}{YBS}$$

Fİ : Fagositik İndeks
BFHS : Bakteri yutmuş fagositik hücre sayısı (%)
YBS : Yutulmuş bakteri sayısı

Respiratöri Burst Aktivitesi

Fagositlerin respiratöri burst aktivitesi kandaki aktif lökositlerin 96 kuyulu yapışması ve NBT pozitif hücrelerin verdiği tepkinin spektrofotometrik ölçümü ile tespit edilmiştir (Stasiak ve Baumann 1996). Kısaca, analizden 10-12 saat önce her bir örnek için 50 µL poli-L-lizin 96 kuyucuklu plakalara ilave edilmiş ve plaka +4°C de bekletilmiştir. Sonrasında her bir balık için 50 µL kan örneği poli-L-lizin kaplı 96 plaka kuyucuklarına yerleştirilmiştir. Devamında örnekler 1 saat inkübasyona bırakılmış ve üst faz atılıp örnekler HBSS ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 100 µL NBT solüsyonu ilave edilmiş ve plaka 1 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. Devamında hücreler %100 metanol ile 5 dakika fikse edilmiş ve 3 kez %70 lik metanol ile yıkanmıştır. Plakalar kuruduktan sonra her bir kuyucuğa 60 µL 2 M potasyum hidroksit ve 70 µL DMSO sırasıyla ilave edilmiş ve okumalar multiskan spektrofotometrede 620 nm de yapılmıştır.

Potansiyel Öldürme Aktivitesi

Potansiyel öldürme aktivitesinin tespit edilmesi için Siwicki ve Anderson (1993)'un bildirdikleri metod kullanılmıştır. Analizden 10-12 saat önce her bir örnek için 50 µL poli-L-lizin 96 kuyucuklu plakalara ilave edilmiş ve plaka +4°C de bekletilmiştir. Sonrasında her bir balık için 50 µL kan örneği poli-L-lizin kaplı 96 plaka kuyucuklarına yerleştirilmiştir. Devamında örnekler 1 saat inkübasyona bırakılmış ve üst faz atılıp örnekler HBSS ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 100 µL NBT [içerisinde formalin ile öldürülmüş ve PBS ile yıkanmış *E. coli* bakterisi (NBT solüsyonu içindeki bakteri yoğunluğu: $1,5 \times 10^8$) bulunan] solüsyonu ilave edilmiş ve plakalar 150 g de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. 30 dakika daha inkübasyondan sonra

hücreler %100 metanol ile 5 dakika fikse edilmiş ve 3 kez %70 lik metanol ile yıkanmıştır. Plakalar kuruduktan sonra her bir kuyucuğa 60 µL 2 M potasyum hidroksit ve 70 µL DMSO sırasıyla ilave edilmiş ve okumalar multiskan spektrofotometrede 620 nm de yapılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Analizlerden elde edilen verilere tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Verilerin normal dağılım göstermesi ve homojen olması durumunda Tukey çoklu karşılaştırma testi, normal dağılım göstermeyen, homojen verilerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve homojen olmayan verilerin karşılaştırılmasında Tamhane testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 19 (IBMM SPSS Statistics 19) programı kullanılarak $P < 0,05$ önemlilik seviyesinde değerlendirilmiştir.

Bulgular

Fiziksel ve Kimyasal Su Kalitesi Bulguları

Deneme süresince, su sıcaklığı 28,0-29,1°C, oksijen 7,0-7,5 mg/l, iletkenlik 400-450 µs cm⁻¹, pH 7,0-7,5, toplam amonyak 0,012-0,019 mg/l, Nitrit 0,02-0,03 mg/l ve Nitrat 0,1-0,4 mg/l olarak tespit edilmiştir.

Büyüme Performansı Bulguları

Keçiboynuzu şurubu katkılı (%5, %2,5, %1,25 ve %0,625) ve katkısız (kontrol) yemlerle beslenen balıkların büyüme performansı ve yem değerlendirme bulguları Çizelge 2'de gösterilmiştir. Yeme farklı oranlarda keçiboynuzu şurubu ilavesi balıkların canlı ağırlık artışını (%), yem dönüşüm oranını (YDO) ve spesifik büyüme oranını (SBO) etkilememiştir ($P > 0,05$).

Hematolojik Bulgular

Besleme denemesi sonunda tilapia balıklarının hematolojik parametrelerinden RBC, Hgb ve Hct bulguları Çizelge 3'de verilmiştir. Deneme gruplarının balıkların hematolojik parametreleri üzerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir ($P > 0,05$).

Çizelge 2 Deneme gruplarına göre büyüme performansı parametrelerdeki değişimler

Table 2 Changes in growth performance parameters according to experimental groups

Büyüme Performansı Parametreleri	Deneme grupları				
	Kontrol	%5 KŞ	%2,5 KŞ	%1,25 KŞ	%0,625 KŞ
Deneme başı ortalama balık ağırlığı (g)	30,60±1,84 ^a	29,39±0,32 ^a	32,15±1,39 ^a	30,57±0,58 ^a	30,79±0,82 ^a
Deneme sonu ortalama balık ağırlığı (g)	109,61±8,66 ^a	100,97±5,05 ^a	108,29±7,71 ^a	111,93±2,90 ^a	101,71±2,68 ^a
CAA (%)	257,53±10,62 ^a	243,43±15,75 ^a	236,04±9,77 ^a	265,19±16,58 ^a	230,54±7,31 ^a
YDO	1,00±0,02 ^a	1,02±0,03 ^a	1,07±0,01 ^a	0,98±0,07 ^a	1,08±0,03 ^a
SBO (% gün ⁻¹)	2,12±0,05 ^a	2,05±0,07 ^a	2,02±0,05 ^a	2,14±0,16 ^a	1,99±0,04 ^a

KŞ: Keçiboynuzu Şurubu, n=3, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır. CAA: Canlı ağırlık artışı, YDO: Yem dönüşüm oranı, SBO: Spesifik büyüme oranı.

Çizelge 3 Deneme gruplarına göre hematolojik parametrelerdeki değişimler

Table 3 Changes in haematological parameters according to experimental groups

Hematolojik Parametreler	Deneme grupları				
	Kontrol	%5 KŞ	%2,5 KŞ	%1,25 KŞ	%0,625 KŞ
RBC (10 ⁶ mm ³)	2,89±0,04 ^a	2,99±0,12 ^a	2,96±0,04 ^a	2,92±0,04 ^a	2,97±0,04 ^a
Hgb (g/dL)	10,53±0,18 ^a	10,88±0,29 ^a	10,95±0,16 ^a	10,60±0,17 ^a	10,90±0,11 ^a
Hct (%)	31,28±0,61 ^a	31,78±0,80 ^a	31,46±0,59 ^a	29,10±0,64 ^a	31,15±0,51 ^a

KŞ: Keçiboynuzu Şurubu, n=9, Ortalama ±standart hata. RBC: kırmızı kan hücre sayısı, Hb: hemoglobin, Hct: Hematokrit. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır.

Çizelge 4 Deneme gruplarına göre serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimler

Table 4 Changes in serum biochemical parameters according to experimental groups

Serum biyokimyası Parametreleri	Deneme Grupları				
	Kontrol	%5 KŞ	%2,5 KŞ	%1,25 KŞ	%0,625 KŞ
GLI (mg/dL)	109,49±1,67 ^{ab}	112,83±3,87 ^{ab}	101,16±6,13 ^b	83,75±3,72 ^c	123,72±2,61 ^a
Tprot (g/dL)	6,62±0,14 ^a	6,58±0,13 ^a	6,27±0,36 ^a	6,50±0,33 ^a	6,23±0,09 ^a
ALB (g/dL)	0,19±0,01 ^a	0,18±0,02 ^a	0,16±0,02 ^a	0,18±0,01 ^a	0,17±0,02 ^a
GLO (g/dL)	6,43±0,14 ^a	6,40±0,12 ^a	6,10±0,35 ^a	6,31±0,32 ^a	6,06±0,09 ^a
TRIG (mg/dL)	168,61±5,88 ^a	142,82±6,09 ^{ab}	149,38±9,38 ^{ab}	130,16±8,61 ^b	151,10±2,73 ^{ab}
KOL (mg/dL)	78,22±2,54 ^a	72,63±0,92 ^{ab}	75,22±3,36 ^{ab}	68,47±0,52 ^b	68,55±0,88 ^b

KŞ: Keçiboynuzu Şurubu, n=9, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır. GLI: Glikoz, Tprot: Toplam protein, ALB: Albumin, GLO: Globulin, TRIG: Trigliserit, KOL: Kolesterol

Çizelge 5 Deneme gruplarına göre immunolojik parametrelerdeki değişimler

Table 5 Changes in immunological parameters according to experimental groups

İmmunolojik Parametreler	Deneme grupları				
	Kontrol	%5 KŞ	%2,5 KŞ	%1,25 KŞ	%0,625 KŞ
Fagositik aktivite (%)	25,66±0,75 ^c	30,70±0,50 ^b	33,80±0,95 ^{ab}	35,69±1,36 ^a	36,38±0,97 ^a
Fagositik indeks	2,26±0,14 ^c	3,45±0,15 ^b	4,53±0,27 ^a	4,99±0,36 ^a	5,01±0,31 ^a
Respiratöri bürst aktivitesi (OD 620)	0,18±0,01 ^b	0,19±0,01 ^b	0,22±0,02 ^{ab}	0,25±0,02 ^a	0,23±0,01 ^{ab}
Potansiyel öldürme aktivitesi	0,18±0,01 ^c	0,23±0,01 ^{bc}	0,28±0,01 ^{ab}	0,32±0,01 ^a	0,31±0,02 ^a

KŞ: Keçiboynuzu Şurubu, n=9, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır.

Serum Biyokimyası Bulguları

Deneme sonunda balıkların serum biyokimyası bulguları Çizelge 4'de verilmiştir. Deneme gruplarının serum toplam protein, albümin ve globülin üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). Ancak, serum glikozun %1,25 keçiboynuzu şurubu ilaveli grupta diğer tüm deneme gruplarına göre önemli oranda düşüş gösterdiği bulunmuştur ($P<0,05$). Serum trigliseritin ise sadece %1,25 oranında keçiboynuzu şurubu içerikli yemlerle beslenen balıklarda kontrol yemi ile beslenen balıklara göre önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Deneme balıklarının serum kolesterol düzeylerinin ise %1,25 ve %0,625 oranında keçiboynuzu şurubu içerikli yemlerle beslenen balıklarda kontrol balıklarına göre önemli düzeyde azaldığı görülmüştür ($P<0,05$).

İmmunolojik Bulgular

Besleme denemesi sonunda tilapia balıklarının immünolojik parametrelerden fagositik aktivite (%), fagositik indeks, respiratöri bürst aktivitesi ve potansiyel öldürme aktivitesi bulguları Çizelge 5'de verilmiştir. Deneme yemlerine keçiboynuzu şurubu ilavesinin tüm dozlarda fagositik aktivite ve fagositik indeksi kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli oranda arttırdığı belirlenmiştir ($P<0,05$). Respiratöri bürst aktivitesinin sadece %1,25 oranında keçiboynuzu şurubu içerikli yemlerle beslenen balıklarda kontrol yemi ile beslenen balıklara göre önemli oranda arttığı bulunmuştur ($P<0,05$). Potansiyel öldürme aktivitesinin ise %0,625, %1,25 ve %2,5 oranında keçiboynuzu şurubu içerikli yemlerle beslenen balıklarda kontrole göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma sonucunda yeme farklı oranlarda keçiboynuzu şurubu ilavesinin balıkların büyüme performansı üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Benzer olarak farklı çalışmalarda

balık yemine ilave edilen bitkisel kökenli katkıların büyüme performansı üzerinde etki göstermediği bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2012a; Yılmaz ve ark., 2012b; Baba ve ark., 2016). Ancak daha uzun süreli besleme denemeleri yapılarak keçiboynuzu şurubunun balıkların büyüme performansı üzerine etkisinin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Çünkü, bazı çalışmalarda yeme ilave edilen katkı maddelerinin balıkların büyüme performansına uzun süreli besleme denemelerinde olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (Büyükevci ve ark., 2018; Öz ve ark., 2018; Dikel ve ark., 2003).

Hematolojik parametreler ve serum biyokimyası parametreleri balık yemine ilave edilen katkıların balık sağlığı üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde kullanılan önemli göstergelerdir (Yılmaz ve ark., 2016). Bu çalışmada tilapia yemlerine keçiboynuzu şurubu ilavesi balıkların hematolojik parametrelerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Benzer sonuçlar farklı çalışmalarda da elde edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2016; Baba ve ark., 2016; Baba ve ark., 2017; Yılmaz ve ark., 2018).

Bu çalışmada serum biyokimyası parametrelerinden glikoz seviyelerinin özellikle %1,25 keçiboynuzu şurubu içerikli yemlerle beslenen balıklarda düşük olduğu belirlenmiştir. Glikoz balıkların beslenmesi ile değişebilmekle birlikte, sekonder olarak stresin de bir göstergesidir. Glikozun balıkların boylanması, bir yerden farklı bir yere canlı olarak götürülmesi, sudaki oksijen seviyelerinin azalması, hastalık durumlarında ve stok yoğunluğunun fazla olduğu zamanlarda artış gösterdiği bildirilmiştir (McDonald ve Milligan, 1992). Ayrıca, serum glikoz seviyelerindeki artışın kaslardaki kortizolün ve karaciğerde adrenalin ve stres hormonlarının artmasına sebep olduğu rapor edilmiştir (Morgan ve Iwama, 1997). Bu çalışmada %1,25 keçiboynuzu şurubu ile beslenen balıkların serum glikoz seviyelerindeki azalma keçiboynuzu şurubunun hipoglisemik etkisiyle açıklanabilir (Qasem ve ark., 2018). Benzer olarak, tıbbi bitki veya baharat ilaveli yemlerle beslenen balıkların serum glikoz seviyelerinin azaldığı görülmüştür (Yılmaz

ve Ergün 2012; Baba ve ark., 2016; Yılmaz ve ark., 2016). Bununla birlikte, %1,25 oranında keçiyoynuzu ilavesi balıkların hem serum trigliserit hem de kolesterol seviyelerinde azalma sağlamıştır. Balık serumunda azalan serum trigliserit veya kolesterol düzeyleri balıkların daha sağlıklı olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilmektedir (Yılmaz ve ark., 2016). Yeme ilave edilen katkıların balıklarda kan yağlarının seviyelerini azaltıcı etkisi birçok çalışmada rapor edilmiştir (Cho ve ark., 2007; Immanuel ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2016).

Bu çalışmada keçiyoynuzu şurubu ilaveli yemlerle beslenen balıkların fagositik aktivitesi ve indeksi artış göstermiştir. Respiratöri bürst ve potansiyel öldürme aktivitelerinin ise %1,25 oranında keçiyoynuzu ilaveli grupta kontrole göre önemli oranda yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar balık yemine keçiyoynuzu şurubu ilavesinin balık bağışıklığını olumlu etkilediğinin birer göstergesi olarak kabul edilebilir. Benzer sonuçlar yeme ilave edilen alternatif yem katkı maddeleri ile beslenen balıklarda da elde edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2018; Yılmaz ve Ergün, 2018).

Sonuç olarak bu çalışmada tilapia yemlerine %1,25 oranında keçiyoynuzu şurubu ilavesi balıkların hematolojik ve büyüme parametrelerine olumsuz bir etki göstermeden, balıkların serum biyokimyası ve bağışıklık parametrelerini geliştirdiği belirlenmiştir. İleriki çalışmalarda keçiyoynuzu şurubunun bağışıklık artırıcı etkisinin moleküler düzeyde araştırılmasına ve balıkların hastalıklara karşı direnç kazanımlarına etkisinin incelenmesine ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir (Proje No: FBA-2017-1205). Çalışma süresince bizden yardımını esirgemeyen Çağatay BAYİZİT'e teşekkür ederim

Kaynaklar

Acar Ü. 2018. Effects of diet supplemented with ethanolic extract of propolis on growth performance, hematological and serum biochemical parameters and disease resistance of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) against *Streptococcus iniae*. Aquaculture. AOAC 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC Int., Gaithersburg MD.

Acar Ü. 2018. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*) Yağının Sazan Yavrularının (*Cyprinus carpio*) Büyüme Performansı Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. Alinteri Journal of Agriculture Sciences, 33(1).

Akşit D. 2016. Balık Yetiştiriciliğinde Antibakteriyel Direnç ve Önemi. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics, 2(1): 47-54.

Baba E, Acar Ü, Öntaş C, Kesbiç OS, Yılmaz S. 2016. Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. Aquaculture, 465: 13-18.

Baba E, Acar Ü, Yılmaz S, Öntaş C, Kesbiç OS. 2017. Pre-challenge and post-challenge haemato-immunological changes in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed argan oil against *Lactococcus garvieae*. Aquaculture Research, 48(8): 4563-4572.

Bui HTD, Khosravi S, Fournier V, Heralut M, Lee K. J. 2014. Growth performance feed utilization innate immunity digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. Aquaculture, 418: 11-16.

Büyükdavacı ME, Balcázar JL, Demirkale İ, Dikel S. 2018. Effects of garlic-supplemented diet on growth performance and intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 486: 170-174.

Cho SH, Lee SM, Park BH, Ji SC, Lee J, Bae J, Oh SY. 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Fish Physiology and Biochemistry, 33: 49-57.

Dikel S. 1997. Havuz İçine Yerleştirilmiş Yüzer ağ Kafeslerde Farklı Stok Yoğunluklarının Melez Tilapia (*Oreochromis aureus x Oreochromis niloticus*)'ların Gelişmeleri Üzerine Etkileri. Journal of Veterinary and Animal Sciences, 21: 247-250.

Dikel S, Alev M, Kiriş G, Çelik M. 2003. Kafes koşullarında L-carnitine'nin Nil tilapialarının (*Oreochromis niloticus*) besi performansları üzerine etkileri. Turk. J. of Veterinary and Animal Sciences, 27(3): 663-669.

Duke JA, Godwin MJB, Cellier J, Duke PAK. 2003. CRP Handbook of Medicinal Spices, second ed. CRC Press, New York.

FAO. 2015. Total Fishery Production. Fishery Statistics. Fishstat Plus.

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497-509.

Immanuel G, Uma RP, Iyapparaj P, Citarasu T, Punitha Peter S. M, Michael Babu M, Palavesam A. 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. Journal of fish biology, 74(7): 1462-1475.

Iversen M, Finstad B, McKinley RS, Eliassen RA. 2003. The efficacy of metomidate clove oil aqui-s™ and benzoak® as anaesthetics in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture, 221: 549-566.

Ma X, Liu X, Zhang Y, Zhu P, Ye W, Lin H. 2007. Two growth hormone receptors in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): molecular characterization, tissue distribution and expression profiles in the gonad during the reproductive cycle. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 147(2): 325-339.

McDonald DG, Milligan CL. 1992. Chemical Properties of the Blood. In: Hoar W.S., Randall D.J. and Farrel A.P., Eds. Fish Physiology: The Cardiovascular System Part B volume XII. Academic Press Inc., California. 56-113.

Morgan JD, Iwama GK. 1997. Measurements of Stressed States in the Field. In: Iwama G.K.; Pickering A.D.;

Öz M. 2018. Effects of garlic (*Allium sativum*) supplemented fish diet on sensory, chemical and microbiological properties of rainbow trout during storage at - 18 C.LWT, 92: 155-160.

Öz M, Dikel S. 2015. Comparison of body compositions and fatty acid profiles of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Science and Technology, 3(4): 56-60.

Öz M, Dikel S, İnanan BE, Karaşahin T, Durmuş MUY. 2017. Borik asidin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerleri üzerine etkileri. Journal of Advances in VetBio Science and Techniques JAVST, 2(1): 6-10.

Öz M, İnanan BE, Dikel S. 2018. Effect of boric acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance. Journal of Applied Animal Research, 46(1): 990-993.

- Priolo A, Lanza M, Bella M, Pennisi P, Fasone V, Biondi L. 2002. Reducing the impact of condensed tannins in a diet based on carob pulp using two levels of polyethylene glycol: lamb growth, digestion and meat quality. *Animal Research*, 51(4): 305-313.
- Qasem MA, Noordin MI, Arya A, Alsalahi A, Jayash SN. 2018. Evaluation of the glycemic effect of *Ceratonía siliqua* pods (Carob) on a streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat model. *PeerJ*, 6: e4788.
- Silanikove N, Gilboa N, Nitsan Z. 2001. Effect of polyethylene glycol on rumen volume and retention time of liquid and particulate matter along the digestive tract in goats fed tannin-rich carob leaves (*Ceratonía siliqua*). *Small Ruminant Research*, 40(1): 95-99.
- Siwicki AK, Anderson DP. 1993. Nonspecific Defense Mechanisms Assay in Fish: II. Potential Killing Activity of Neutrophils and Macrophages Lysozyme Activity in Serum and Organs and Total Immunoglobulin Level in Serum. *Disease Diagnosis and Prevention Methods. FAO-project GCP/INT/JPA IFI Olsztyn Poland* pp. 105–112.
- Siwicki AK, Anderson DP, Antychowitz J. 1993. Non-Specific Defence Mechanisms Assay in Fish: I. Phagocytic Index, Adherence and Phagocytic Ability of Neutrophils (NBT test) and Myeloperoxidase Activity Test. Siwicki A.K., Anderson D.P. and Waluga J., Eds. *Disease Diagnosis and Prevention Methods. FAO-project GCP/INT/JPA. IFI Olsztyn Poland*. 95-103.
- Wamala SP, Mugimba KK, Mutoloki S, Evensen Ø, Mdegela R, Byarugaba DK, Sørum H. 2018. Occurrence and antibiotic susceptibility of fish bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) and *Clarias gariepinus* (African catfish) in Uganda. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1): 6.
- Yılmaz S, Ergün S. 2012. Effects of garlic and ginger oils on hematological and biochemical variables of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 24: 219-224.
- Yılmaz S, Ergün S, Çelik EŞ. 2016. Effect of dietary spice supplementations on welfare status of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B: Biological Sciences* 86: 229-237.
- Yılmaz S, Ergün S. 2018. Trans-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 78: 140-157.
- Yılmaz S, Ergün S, Yığıt M. 2018. Effects of dietary FARMARIN® XP supplement on immunological responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 496: 211-220.