

**DİLUDİN MADDESİNİN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI YAVRULARI ÜZERİNDE
ANNE VE DİYET KÖKENLİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Aydın Aytaç GÜRDAL

**Yüksek Lisans Tezi
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Murat ARSLAN**

2014

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DİLUDİN MADDESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI YAVRULARI
ÜZERİNDE ANNE VE DİYET KÖKENLİ ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Aydın Aytaç GÜRDAL

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2014**

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**DİLUDİN MADDESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI YAVRULARI
ÜZERİNDE ANNE VE DİYET KÖKENLİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Prof. Dr. Murat ARSLAN danışmanlığında, Aydın Aytaç GÜRDAL tarafından hazırlanan bu çalışma 26/12/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

İmza :

Üye : Prof. Dr. Murat ARSLAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali ATASEVER

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 31.../12.../2014 tarih ve 52.../.../1754... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DİLUDİN MADDESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI YAVRULARI ÜZERİNDE ANNE VE DİYET KÖKENLİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Aydın Aytaç GÜRDAL

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat ARSLAN

Bu çalışma gökkuşağı alabalığı yavrularında (başlangıç ağırlığı 0,16g) diludin maddesinin anneden gelen ve diyetel etkisini araştırmak için 2x3 faktöriyel desenle yapılmıştır. Yavruların elde edildiği dişi damızlıklar 0 ve 1mg/kg diludin içeren yemlerle 1 yıl boyunca beslenmiştir. Bu dişilerden elde edilen yavrular ilk beslemeden itibaren 8 hafta boyunca, içerisinde 0 (D0), 1 (D1) ve 2 (D2) mg/kg diludin içeren yemlerle beslenmiş ve bu periyot sonunda yemlerdeki diludin oranı 2 katına çıkarılarak (D0; 0mg/kg, D1; 3mg/kg, D2; 6mg/kg) balıklar 6 hafta daha beslenmiştir.

İlk 8 haftalık dönem sonucunda gerek annenin beslenme geçmişi, gerekse diyetel diludin seviyesi büyümeyi önemli derecede etkilemiştir ($p<0,05$). Son 6 haftalık dönemde ise büyüme sadece diyetel diludin tarafından önemli derecede etkilenmiştir ($p<0,05$). İlk 8 haftalık dönemde en iyi büyüme D0 ve D2 yemleriyle beslenen balıklarda gözlenirken, son 6 haftalık dönemde en iyi büyüme D1 yemiyle beslenen balıklarda gerçekleşmiştir. 14 haftalık besleme sonunda D0 yemiyle beslenen balıkların yağ oranı D1 ve D2 yemi ile beslenenlere oranla önemli derecede yüksek çıkmıştır ($p<0,05$). Balıkların yağ asidi kompozisyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri deneysel yemlerden etkilenmemiştir. 14 haftalık beslenme periyodu sonunda balıklara uygulanan stres, diyetlerden bağımsız olarak karaciğer yağlanmasına sebep olmuştur. Karaciğer yağında oleik asit (18:1n-9) ve dokozahekzaenoik asit (22:6n-3) oranı stresten önemli derecede etkilenmiştir ($p<0,05$). Stres 18:1n-9 oranını azaltırken 22:6n-3 oranını artırmıştır.

Elde edilen sonuçlara gökkuşağı alabalığı yavruları için yemde 3 mg/kg diludin düzeyinin büyümede pozitif etki yapabileceği söylenebilir.

2014, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, büyüme, diludin, stres, yağ asitleri

ABSTRACT

Master Thesis

THE MATERNAL AND DIETARY EFFECT OF DILUDINE ON RAINBOW TROUT JUVENILES

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Murat ARSLAN

In this study, we investigated the maternal and dietary effects of diludine in rainbow trout fry (initial weight 0,16g) in 2x3 factorial design.

Female broodstocks providing the off-springs were fed two different doses of dietary diludine (0mg/kg and 1mg/kg) for one year. The fish obtained from these broodstocks were fed 3 levels of diludine: 0 (D0), 1 (D1) and 2 (D2) mg/kg for 8 weeks. Then diludine levels were increased twice as much as the initial doses (D0; 0mg/kg, D1; 3mg/kg, D2; 6mg/kg) and feeding trial was kept running for another 6 weeks.

After the first 8-week period, growth performance was significantly affected by both maternal and dietary diludine while only dietary diludine influenced the growth performance during the last 6-week feeding trial ($p < 0.05$). The highest growth was observed in fish fed D0 and D2 diet for the first 8-week feeding trial while D1 diet provided the highest growth performance for the last 6-week period. At the end of 14-week feeding trial, lipid content of the whole body of fish fed D0 diet was significantly higher than those fed the other diets ($p < 0.05$). Antioxidant enzyme activities and fatty acid composition of fish were not influenced by dietary diludine. As the response to the stress fish were exposed at the end of the 14-week feeding trial, there was a significant increase in liver lipid level independent of the dietary diludine. Regarding fatty acids of liver lipids, oleic acid (18:1n-9) and docosahexaenoic acid (22:6n-3) were influenced by the stress. The ratio of 22:6n-3 significantly increased while 18:1n-9 decreased as the response to the stress ($p < 0.05$).

According to the preliminary results, 3mg/kg diludine might be suggested as growth promoter in rainbow trout fry diets.

2014, 64 pages

Keywords: Rainbow trout, growth, diludine, stress, fatty acid

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın araştırma konusunun belirlenmesi, planlanıp yürütülmesi ve tez haline getirilmesinde bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat ARSLAN'a

Gen ekspresyonu analiz çalışmasında yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN ve Ekrem SULUKAN'a, kimyasal analizlerdeki yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Gonca ALAK ve Hürrem YUMUK'a, enzim aktivitesi analizlerindeki yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali ATASEVER'e, çevirilerimdeki yardımlarından ve tez yazım aşamasında ki yardımlarından dolayı Sayın Arş. Gör. Harun ARSLAN'a

Çalışmalarım süresince benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aydın Aytaç GÜRDAL

Aralık, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Araştırma yeri.....	20
3.1.2. Yarı kapalı yetiştiricilik sistemi ve su	20
3.1.3. Balık materyali	21
3.1.4. Yem materyali	21
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Deneme düzeni	23
3.2.2. Yemleme ve tankların temizliği	24
3.2.3. Stres testi	25
3.2.4. Örneklerin alınması ve muhafazası	26
3.2.5. Büyüme parametrelerinin hesaplanması	26
3.2.6. Kimyasal analizler	27
3.2.6.a. Örneklerden alınan yağın ekstrakte edilmesi.....	27
3.2.6.b. Örneklerden ekstrakte edilen yağın miktarının belirlenmesi	27
3.2.6.c. Yağ asidi metil esterlerinin (FAME) hazırlanması.....	28
3.2.6.d. Yağ asitlerinin tayini	28
3.2.6.e. Ham protein miktarının belirlenmesi.....	30
3.2.6.f. Su ve kuru madde miktarının belirlenmesi	36
3.2.6.g. Ham kül içeriğinin belirlenmesi	36
3.2.7. Enzim aktiviteleri tayini	36

3.2.7.a. Glutasyon peroksidaz tayini.....	36
3.2.7.b. Superoksit dismutaz tayini	40
3.2.7.c. Katalaz tayini	43
3.2.8. Balık dokusundan total RNA izolasyonu yöntemi	44
3.2.9. İstatistiki analiz.....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1. Büyüme ve Yem Değerlendirme Verileri	46
4.3. Yağ Asidi Kompozisyonu	49
4.4. Antioksidan Enzim Aktiviteleri.....	52
4.4.1. Katalaz (CAT) aktivitesi	52
4.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	53
4.4.3. Glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi.....	54
4.5. Stresin etkileri.....	55
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	58
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AK	Ağırlık kazancı
ALG	Alg
AST	Astaksanthin
ASTFI	Astaksantin-Balık yağı
Ax	Astaksantin
BY	Balık yağı
CAT	Katalaz
CD	Konjuge dien
Cx	Kantaksantin
D0	Diludin içermeyen yem
D1	1 mg/kg diludin içeren yem
D2	2 mg/kg diludin içeren yem
DHA	Dokosaheksaenoik asit
dk	Dakika
EPA	Eikosapentaenoik asit
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
FCR	Yem değerlendirme değeri
FI	Balık yağı
GC	Gaz kromatografisin
GPx	Glutasyon peroksidaz
gr	Gram
GR	Glutation redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glütation S-transferaz
HO	Fındık yağı
HO ⁻¹	Heme-oxygenase
HUFA	Yüksek doymamış yağ asitleri
IRC	İmmunreaktif kortikosteroid konsantrasyonu

IU	İnternasyonal ünite
kg	Kilogram
km	Kilometre
KY	Kanola yağı
L	Litre
LO	Keten tokumu yağı
m ³	Metreküp
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Milimetre
MO	Ringa balığı yağı
ng	Nanogram
NS	İstatistiki olarak önemsiz
°C	Santigrat derece
OL	Zeytinyağı
PL	Fosfolipit
PO	Karaciğer yağı
PTY	Pamuk tohumu yağı
RNA	Reoksinibonükleik asit
s	Saat
S	İstatistiki olarak önemsiz
SA	Son Ağırlık
SAP	Antioksidan peptit çözeltisi
SB	Spesifik Büyüme Oranı
SGR	Spesifik büyüme oranının
SO	Soya yağı
SOD	Süper oksit dismutaz
SUR	Kurtulan oranı
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif maddeleri
TGC	Termal büyüme katsayılarını
TÜİK	Türkiye istatistik kurumu

WG	Ağırlık kazancı
YDK	Yem değerlendirme katsayısı
YG	Yaşama gücü
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Sistemde kullanılan akvaryumlar	20
Şekil 3.2. Oksijen jeneratörü, biyolojik ve mekanik filtreler.....	21
Şekil 3.3. Boyutlarına göre ayrılmış yemler	23
Şekil 3.4. Balıklarda biomas ölçümü	24
Şekil 3.5. Balıkların strese maruz bırakılması	25
Şekil 3.6. Örneklerin sıvılaştırılmış azotta dondurulması.....	26
Şekil 3.7 Gaz kromatografi cihazı	29
Şekil 3.8. GSH standart grafiği.....	38
Şekil 4.1. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşaağı alabalığı yavrularının karaciğer katalaz (CAT) aktivitesi.....	53
Şekil 4.2. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşaağı alabalığı yavrularının karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi.....	54
Şekil 4.3. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşaağı alabalığı yavrularının karaciğer glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi.....	55
Şekil 4.4. Stres testinin karaciğer yağlanmasına etkisi	56
Şekil 4.5. Strese maruz bırakılan gökkuşaağı alabalığı yavrularının karaciğerindeki OA ve DHA miktarı arasındaki değişim.	56
Şekil 4.6. Strese maruz bırakılan gökkuşaağı alabalığı yavrularının karaciğerindeki HSP 70 mRNA ekspresyonunun referans gene karşı (GAPDH) relatif değişimi.	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Balıkların ilk 8 hafta beslenmesinde kullanılan yemin içeriği (%)	22
Çizelge 3.2. Deneme düzeni	24
Çizelge 3.4. Glutasyon peroksidaz deney şeması.....	38
Çizelge 3.5. GSH'nin ölçüm için kullanılan deney şeması	39
Çizelge 3.6. Superoksit dismutaz deney şeması	42
Çizelge 3.7. Katalaz ölçüm deney şeması.....	44
Çizelge 4.1. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren kazein-jelatin tabanlı yemlerle ilk 8 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığı yavrularının (başlangıç ağırlığı 0,16g) büyüme performansı	47
Çizelge 4.2. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren ticari yemle 6 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığı yavrularının (başlangıç ağırlığı 3,09g) büyüme performansı	48
Çizelge 4.3. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığı yavrularının tüm vücut kimyasal madde kompozisyonu (%).....	49
Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan formüle dilmiş ve ticari yemin yağ asidi içeriği (%)	50
Çizelge 4.5. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığı yavrularının yağ asidi kompozisyonu (%)..	51

1. GİRİŞ

Günümüzde, gelişmiş ülkelerde yaşayan insanlar sağlıklı beslenmeye özen göstermekte ve beslenmelerinde çoklu doymamış yağ asitlerince zengin gıdaları tercih etmektedirler. Bu tercih edilen gıdalar arasında başta balık ve diğer su ürünleri gelmektedir. Balık eti proteince zengin olması ve yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olduğu için vücudun temel besin maddeleri ihtiyacını karşılayabilmektedir. Beslenme değeri ve protein kalitesi bakımından balık eti son derece önemli bir gıdadır. Ayrıca birçok vitamin ve omega-3 yağ asidince de zengindir (Yavuzcan vd. 2010).

İnsan vücudu 50'ye yakın türde besin ögesine ihtiyaç duymaktadır. Besinler içerdiği protein, vitamin ve mineral gibi öğeler yönünden büyük önem taşımaktadır. Etler; biyolojik değeri yüksek, iyi kalitede protein kaynağıdır. Ayrıca A ve özellikle B grubu vitaminleri ile demir, çinko, fosfor ve magnezyum mineralleri bakımından da zengindirler. Yeterli ve dengeli beslenmede protein tüketiminin en az yarısının hayvansal kaynaklı olması önerilmektedir (Sahin *et al.* 2014).

Büyüme ve gelişme çağındaki çocuklar başta olmak üzere tüm insanlar için biyolojik değeri yüksek olan su ürünleri; iyi kalitede protein içermektedir. Protein içeren besinlerin çoğu aynı zamanda yağ da içermektedir. Birçok araştırma kırmızı et yerine beyaz etin tüketilmesini önermektedir. Özellikle de su ürünlerini tercih eden topluluklarda koroner kalp hastalığının daha az görüldüğü saptanmıştır. Doymuş yağların, kan kolesterol düzeyine etkisi yüksek kolesterolü diyetten daha fazladır. Beslenmede kolesterolden çok, toplam yağ miktarı ve doymuş yağ asitleri oranına dikkat etmek gerekir. Su ürünleri çoğu etlere, kümes hayvanlarına hatta balıklara göre daha az doymuş yağ içerir. Aynı zamanda eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) açısından son derece iyi bir kaynaktır. Su ürünleri iyi kalitede protein, niasin, E ve B₁₂ vitamini ile iyot, çinko ve fosfor minerali açısından zengindir. Özellikle büyüme ve gelişme çağındaki bireyler için yararlı bir yiyecektir. Sağlıklı bireyler için haftada en az 2 kere, kalp-damar hastalığı, hipertansiyon,

karaciğer yağlanması gibi sağlık problemleri bulunan kişilere de haftada 3 kere balık veya karides gibi su ürünlerini tüketmeleri önerilmektedir (Sahin *et al.* 2014).

Dünya nüfusu giderek artmaktadır. İnsanların besin ihtiyaçlarını karşılayacak olan kaynaklar ise sınırlıdır. Dünyada bu besin ihtiyacını karşılayabilecek yeni kaynaklara olan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır. Su ürünleri sektörü, Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda üretim sektörü olarak belirtilmiştir. Dünyanın birçok yerinde, yaygınlaşmakta ve yoğunlaşmaktadır

FAO verilerine göre 2012 yılında dünya su ürünleri üretimi toplam 90 430 000 ton oldu. Bunun 66 630 000 tonu sofralık balık, 23 780 000 tonu sucul alg (çoğunlukla deniz makro alg/yosunlar) ve 22,4 bin tonu ise gıda dışı ürünlerden (inci ve kabukları vb.) oluşmaktadır. Dünya su ürünleri sektörü 2012 yılı için kişi başına 9,41 kg üretim gerçekleştirdiği kaydedilmiştir. Üretilen bu ürünlerin dağılımı ise kıtalara ve bölgelere göre son derece düzensiz dağılmaktadır FAO verilerine göre dünya yetiştiriciliğinin ve avcılığının su ürünlerine katkısı 2000 yılında %25,7 oranındaydı. Bu oran 2012 yılında %42,7 seviyesine ulaşmıştır. Asya kıtasında yetiştiriciliğin avcılıktan daha iyi olduğu belirtilmiştir. Su ürünleri sektöründe Asya kıtası dünya üretiminin %54 ünü, Avrupa kıtası %18'i, diğer bölgelerde %15 ile üretime katkı sağlamaktadır. Birçok gelişmekte olan ülkede su ürünleri kaliteli protein kaynağı olarak görülmektedir. (FAO 2012). Bu veriler ışığında su ürünleri sektörünün zamanla daha büyük bir sektör haline geleceği görülmektedir.

Türkiye üç tarafı denizlerle çevrili bir yarımadadır. 8 333 km'lik kıyı şeridi ve 177 714 km uzunluğa sahip nehirleri bulunmaktadır. Bu açıdan su kaynaklarının fiziki büyüklüğü itibariyle su ürünleri ve balıkçılık üretimine uygun zengin su kaynaklarına sahiptir. Fakat bu imkânlarla karşın, balıkçılıkta gelişmiş bir ülke değildir (Şahin 2011).

Ülkemizde toplam su ürünleri üretimi (avcılık ve yetiştiricilik birlikte) 2013 yılında bir önceki yıla göre %5,8 azalarak 607 515 ton olarak gerçekleşmiştir. Diğer yandan yetiştiricilikle elde edilen su ürünleri üretimi bir önceki yıla oranla %9,9 artış göstermiş ve 233 394 ton olarak gerçekleşmiştir. Son 11 yılda (2002-2013) avcılıkla elde edilen su ürünleri miktarı üst sınıra ulaşan bir görüntü sergilemiş, artış göstermeyip düşme eğiliminde iken, aynı dönemde yetiştiricilikle elde edilen su ürünleri miktarı yaklaşık %282 gibi önemli oranda bir artış göstermiştir (TÜİK 2014). Su ürünleri yetiştiriciliğimiz aynı hızla büyürse, 10 yıldan daha kısa bir sürede avcılıkla elde edilen su ürünleri miktarını geçmiş olacaktır.

Avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri üretim maliyetlerinin yükselme eğiliminde olması, iklim değişiklikleri ve kullanılan kaynakların sınırlı olması gibi sebepler kültür balıkçılığının ön plana çıkmaya başlamasına zemin hazırlamıştır (Kaymak 2013).

Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliği toplam yetiştiriciliğimizin %52'sini oluşturmakta olup Avrupa ülkeleri arasında da Türkiye önemli üretici ülkeler arasında yer almaktadır. Üretimimizin sürekli artmasından dolayı yem hammaddeleri ve yem formülasyonları üzerinde farklı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. FAO 2012 verilerine göre bu türlerin üretiminin yapıldığı işletmelerin en önemli maliyetini yem teşkil etmektedir. İşletme giderlerinin yaklaşık olarak %40-60'ını kullanılan yemler oluşturmaktadır. Ancak balık yemi fiyatları da formülasyonlarda yüksek oranlarda kullanılan balık unu ve balık yağı fiyatlarının artması nedeniyle bu maliyet giderek artmaktadır. (Meyers 1994; Tacon and Metian 2008; Köse 2011). Kullanılan kaynakların petrole bağımlılığı da maliyeti arttıran bir diğer faktördür. Şu anda, üretimi yapılan karnivor türlerin protein ve enerji gereksinimleri temel olarak küçük pelajik balıkların avcılığı ile elde edilen balık unu ve yağının kullanımı ile karşılanmaktadır (Yavuzcan vd. 2010). Balık yetiştiriciliğinde kar oranının maksimum seviyede olabilmesi için, işletme masraflarının en büyük kısmını oluşturan yemin en verimli şekilde kullanılması gerekmektedir (Alagil 2005). Yüksek proteinli yemler hızlı büyümesinin yanında maliyeti artırmakta, düşük proteinli yemler ise yavaş büyüme dolayısıyla maliyeti düşürmektedir. Su ürünleri yetiştiricilik sektörünün büyüklüğü ve potansiyeli dikkate alındığında yapılan araştırmaların daha da

artacağı anlaşılmaktadır. Konunun ekonomik boyutlarının yanında hazırlanan yemlerin esasını teşkil eden hammaddelerin yetersiz oluşu ve her geçen gün miktarlarının azalarak fiyatlarının artması balık kültürünün önündeki aşılması gereken önemli bir problem olarak gözükmemektedir. Bunun yanında balığın pazar boyuna ulaşma süresi de dikkate alınmak durumundadır. Hayvansal gıda endüstrisinin amaçlarından biri, yemdeki proteini uygun ve ekonomik bir şekilde yüksek kalitede tutarak verimi artırmak, iş ve büyük yatırımları minimuma indirmek suretiyle uygun değer de ürün sağlamaktır. Beslemede verim artırıcı olarak, genelde yem katkı maddelerinden hormon veya hormon etkisine sahip büyüme ajanları kullanılmaktadır. Özellikle sanayileşmiş batılı ülkeler, çiftlik hayvanlarında et ve süt verimini artırmak amacıyla yaygın olarak hormon kullanılmaktadırlar. Amaç olarak, hayvanın metabolik sistemini etkileyerek birim hayvandan kısa zamanda ve daha az yemle, yağ nispeti düşük, fakat daha fazla et ve süt sağlamaktır (Arıman ve Aras 2002).

Su ürünleri sektöründe maliyeti düşürebilmek ve kullanılan yemin en iyi şekilde değerlendirilebilmesi için yeni katkı maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu katkı maddelerinin etkileri ve yan etkileri birçok araştırma ile denenmiş, insan sağlığına zarar vermeyen, dokularda ve toprakta kalıntı bırakmayacak, kolay parçalanabilen, toksik sınırları belirli ve miktar tayini yapılabilen maddeler olması aranan şartlardandır (Arıman ve Aras 2002).

Bu bilgiler ışığında örnek verilebilecek bir madde olan diludin (2,6-dimetil-3,5-dikarboksi-1,4-dihidropiridin, $C_{13}H_{19}NO_4$) yeni bir yem katkı maddesi türüdür. Sperm canlılığı yükseltme, büyüme ve üreme performansını artırma (Goncharova *et al.* 2002; Hisar *et al.* 2012) gibi işlevlerinin olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca vücutta yağ oranını düşürdüğü rapor edilmiştir. Bu maddenin antimutajen ve antioksidan olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Diludin, çevresel kirleticilerin mutajenik etkilerini azaltmak, üretimde ki verimliliği artırmak, anaç bireyler ve yavrularının üreme sistemi kalitesini korumak için kullanılabilecek bir ajan olduğu rapor edilmiştir (Goncharova *et al.* 2002).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Alternatif lipit kaynaklarının etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, en az %50 balık yağı kullanılarak lipit sindirilebilirliği, karaciğer, kas ve dokularda histolojik yağ asidi profillerine bakmak için, %60-%80 oranında balık yağı yerine farklı bitkisel (soya, kolza, hurma ve zeytin) ve hayvansal (domuz yağı ile capelin ve hamsi) yağlar kullanılarak, dört deneysel diyet formüle edildiği bildirilmiştir. Çalışmada saf balık yağı (capelin yağı) ile hazırlanan diyetin kontrol diyeti olarak görev yaptığı belirtilmiştir. Diyetlerde 30 tane ortalama 250 gr ağırlığında gökkuşuğu alabalıklarının 64 gün boyunca 12°C'lik bir sıcaklıkta görsel doygunluk oluncaya kadar yemlenecek şekilde verildiği ve bağımsız olarak büyümenin olumlu bulunduğu bildirilmiştir (termal büyüme katsayılarını (TGC) 33,7–3,9). Son vücut ağırlığı ortalama 760 gr ve yem dönüşüm oranlarının (FCR) ise 0,72-0,79 arasında olduğu ve bunun yanında diyetle belirgin düşük lipit sindirilebilirliğinin olduğu (%79'e karşı 91-Diyetlerin geri kalanı için %94) ifade edilmiştir. Karaciğer ve kas yağ asidi kompozisyonlarının diğer diyet grupları ile benzerlik gösterdiği fakat zeytinyağı ve balık yağı kullanılan diyet gruplarının FCR oranında kayda değer farklılık görülmediği bildirilmiştir (Caballeroa *et al.* 2002).

Kiron *et al.* (2004) farklı lipitlerin spesifik olmayan immün sistemin diyetel E vitamininin etkilerini incelemek için bir çalışma tasarlamışlar. Karaciğer yağı (PO), keten tohumu yağı (LO) ve papağanyemi yağı (SO)'ndan oluşan 3 lipit kaynağının, E vitamininin iki seviyesi ile birlikte (100 ve 1000 mg α -tocopheryl asetat kg diyet 1): altı grup diyet hazırlamışlar ve 9 hafta boyunca 17 gr'lık balık gruplarını beslemişlerdir. Büyüme performansları bakılmaksızın E vitamini içeriğinin, PO ve SO ile beslenen balıklara nazaran LO gruplarında önemli oranda fazla olduğunu belirtmişler ve bunun yanında PO ve LO ile beslenen balıklarda hematokrit değerlerini de daha yüksek bulduklarını, n-3 yağ asitlerinin de bu yağlarla eritrositlere dâhil olduğunu ifade etmişlerdir.

Kombina stres etkilerini tespit etmek için yapılmış bir deneyde 120 günlük, karışık cinsiyette, parmak boy yavru balıklar, kronik ve akut stres kombinasyonlarından başa çıkma yeteneğini incelemek için denemeye tabii tutulmuşlardır. 240 yavru balık 6 tane eşit hacimli 2000 L beton tanklara dağıtılmış, 6 tanktan 3 tanesi 20 gün boyunca mekânsal kısıtlama, yavaşça rahatsız etme gibi kronik strese maruz bırakılmış ve bunu takip eden 21. günde yavrular su dışında 60 saniye boyunca bekletilerek tekrar kronik strese maruz bırakılmışlardır. Diğer 3 tanktaki balıklar ise ilk 20 gün boyunca herhangi bir rahatsızlığa maruz bırakılmadan bekletilmişler ve 21. gün de diğer gruplarla birlikte aynı akut strese maruz bırakılmışlardır. Her iki grupta da havaya maruz bırakma işlemi karakteristik akut stres yanıtını provoke ettiği ve 1 saat sonra plazma kortizol seviyesinin 130 ng/ml'ye ulaştığı bildirilmiştir. Stres uygulanmayan balık grubunda akut tepkilerin kronik stresli balıklarda gözlenen değerlerle aynı motifte olduğu ve deneyde kullanılan *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard) balıklarının akut strese tabii tutulduğunda bile stressiz grupla benzer salgı örneği gösterdiği, balık yavrularının ise (hypothalamus–pituitary–interrenal kapasitesini tamir edemediği belirtilmiştir. Bu çalışma da balıkların kronik strese yanıt yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Barcellos *et al.* 2006).

İki farklı deneysel yağ tipi (balık yağı FI ve zeytinyağı OL) kullanılarak yeşil mikro alg den (*Haematococcus pluvialis*) gelen astaksantin pigment etkisini ve sentetik astaksantin serum konsantrasyonuna, uyarılmış kas rengine etkisi ile astaksantin kaslarda tutulmasını tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, balıkların kullanılan bu farklı yağ kaynakları ile hazırlanan diyetleri kabul ettiği belirtilmiştir. Deney sonunda farklı diyetler ile beslenen balıklarda nihai ortalama ağırlığı, spesifik büyüme oranı ve yem dönüşüm oranı arasında önemli bir fark olmadığı, AST (astaksanthin) ile beslenen balıkların ALG (alg) ile beslenen balıklara göre daha yüksek (Pb0,05) serum konsantrasyonu gösterdiği, ayrıca diyetset OL ile beslenen balıkların FI ile beslenen balıklara göre daha yüksek (Pb 0,05) serum astaksantin seviyesi gösterdiği, ayrıca balık diyetlerine göre kas renk parametrelerinin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan 6 haftalık fazladan yemlemede görülmüştür ki ilk örneklemede ALG-FI, AST-FI'dan daha fazla farklılık meydana geldiği, ALG ile beslenen balıkların astaksantin

konsantrasyonlarının sentetik astaksantin ile beslenenlere göre daha düşük bulunduğu ve 6 haftalık deneme sürecinde kastaki astaksantin seviyesinin balık yağı ve zeytinyağı ile beslenen balıklarda farklılık göstermediğı, kaslarda tutunan astaksantin seviyesinin ALG ile beslenen balıklara göre AST ile beslenen balıklarda daha fazla bulunduğu belirtilmiştir (Choubert *et al.* 2006).

Yapılan bir çalışmada 8 günlük yumurtalardan çıkan larvaların organlarında yapılan ilk taramada kortikosteroid stres tepkisi gözlemlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan yöntem yaygın akut strese tabi tutulan Atlantik morinalarının (*Gadus morhua*) tüm vücut immunreaktif kortikosteroid konsantrasyonlarını (IRC) ve kortizol plazma seviyelerini değerlendirmek için geliştirilmiş olduğu bildirilmiştir. Yavrular iki grup halinde stresörlere maruz bırakılmışlar ve tüm vücut IRC ile plazma kortizol seviyeleri ölçülmüştür. Stres sonrası küçük balıklarda IRC seviyesinin 14 kat artmış olduğu ve 1 saatte en yüksek orana ulaştığı, 3-6 saat arasında ise bu şekilde devam ettiğı, 24 saatte de tekrar stres öncesi duruma döndüğü belirtilmiştir. Stres sonrası plazma kortizol seviyesi de 18 kat artmış, 0,5-1 saat boyunca en yüksek seviyeyi gösterip 1-3 saat boyunca aynı seviyede devam edip, 24 saat sonra stres öncesi duruma yakın bir değere geldiğı tespit edilmiştir. Ayrıca juvenil bireylerin suyun tuzluluk oranında oluşan azalmaya karşı yanıt vermediğı, Atlantik morinalarının akut stres cevabı olarak diğer kemikli balıklarla benzer cevabı verdiğı, IRC değışikliklerinin belirlenmesinde bütün vücut içerisindeki stres uyarılarının önemli olduğu ve bu uyarıların plazma içerisinde ki kortizol konsantrasyonundan farklı olarak IRC’de kayıt altında olduğu belirtilmiştir (King and Berlinsky 2006).

Yapılan bir çalışmada uzun süreli strese (suyun üzerinden 15s, her gün, 4 hafta) tabi tutulan mezigit balıklarında (*Melanogrammus aeglefinus*) serbest ve toplam plazma kortizol düzeyleri, plazma glukozu, solungaç hsp70 düzeyleri ile mezigit balığının akut strese cevap verme yeteneğı parametrelerine bakılmış, balıkların stres sonrası 1, 6 ve 12 saatlik zaman dilimlerinde örneklendiğı belirtilmiştir. Yapılan bu stres çalışmasında, serbest kortizol seviyesinin ilk haftada önemli ölçüde arttığı (kontrol %17, stresli %55), ikinci haftadan itibaren serbest ve toplam kortizol seviyelerinin de önemli ölçüde (10

kat) arttığı (kontrol %35 ve %65 stresli) tespit edilmiştir. Uygulanan stresten 3-4 hafta sonra serbest ve toplam kortizol düzeylerinin azaldığı, bu değerlerin stres öncesi değerlerden önemli ölçüde farklılık göstermediği belirtilmiştir. 4 haftalık çalışma sonrasında kontrol grubunda büyümenin daha fazla görüldüğü, bu oranın sırasıyla %18 ve %32 olduğu, ayrıca kondisyon faktörünün de sadece kontrol grubunda arttığı, akut stresten 1 saat sonra toplam kortizol seviyelerinin yükselmesine rağmen stresli balık seviyelerinin, kontrol grubu seviyesi değerleri ile birbirine yakın değerde olduğu belirtilmiştir. Uzun süreli strese maruz kalan grupta plazma kortizol seviyesinde önemli bir artış olduğu, akut stres sonrasında her iki grupta da serbest plazma kortizol seviyelerinde önemli bir artışın olmadığı, bununla birlikte 6 saat sonra, stres grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serbest kortizol düzeylerinin uzun süreli stres grubunda önemli derecede yüksek olduğu ve plazma glikoz ile solungaç hsp70 seviyesinin uzun süreli stres grubunda değişmediği rapor edilmiştir (Hosoya *et al.* 2007).

Lakeh *et al.* (2010) gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) larvasında büyüme performansı, mortalite ve karotenoid pigmentasyonu üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, başlangıç ağırlıkları 113-118 gr dişi anaçları 45 gün boyunca karotenoid ile desteklenmiş beş farklı grup yemle (0,07, 12,5, 33,3, 65,1 ve 92,9 mg astaksantin/kg) beslemişlerdir. Başlangıç örnekleme takiben 15 gün aralıklarla durum faktörlerinin ağırlıkları, spesifik büyüme oranları (SGR) ve TGC belirlemek için örnekleme yapmışlar ve çalışma sonunda astaksantin eklenen gruplarda TGC ve SGR oranlarının %33-38 seviyelerine çıktığını tespit etmişlerdir.

Choubert (2010) ortalama ağırlıkları 160 g olan gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ile yapmış olduğu bir çalışmada, keto-karotenoidler astaksantini (Ax)/ kantaksantin (Cx) içeren diyetler ile balıkları 42 gün boyunca besleme denemesine tabi tutmuştur. Diyetlerde kullanılan maddelerin değerleri; Ax %100: Cx %0; Ax %75: Cx %25; %Ax 50: Cx %50; Ax %25: Cx %75 ve Ax %0: Cx %100 şeklinde olduğunu belirtmiştir. Deneyde karatenoidlerin kaslarda tutunması üzerinde durulmuş, diyetlere farklı dozlarda astaksanthin–kantaksantin eklendiği ve karaciğerdeki C ile E vitamini düzeylerine bağlı

olarak As A ve α -Toc düzeylerinde artış olduğu belirtilmiştir. Kaslarda karotenoid birikimi gözlemlenmiş, diyetel kantaksantin seviyesi arttıkça, kasta toplam karotenoid tutulmasının azaldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak kas rengi ve astaksantin besleme için elde edilen değerlerle karşılaştırılması sonucu gökkuşağı alabalığı beslenmesi için diyetel astaksantin/kantaksantin oranının değiştirilmesinin kaslardaki karotenoid kalıcılığı açısından faydalı olmadığı rapor edilmiştir.

Hisar *et al.* (2012), yaptıkları 10 haftalık çalışmada gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) diludin yem katkı maddesinin potansiyel etkilerini değerlendirmek, büyüme performansı, yem kullanımı, hayatta kalma oranı, karaciğer antioksidan enzim, faaliyetleri süper oksit dismutaz (SOD), EC 1.15.1.1; katalaz (CAT), EC 1.11.1.16; glutatyon peroksidaz (GPx), AK 1.11.1.9; glutatyon redüktaz (GR), EC 1.6.4.2; glüköz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), EC 1.1.1.49 ve glütation S-transferaz (GST) EC 1.5.1.18) düzeylerinin bir lipid peroksidasyon markırı olarak MDA ve düşük su sıcaklığında kas iz elementleri değerlerini incelemişlerdir. 10 hafta sonunda hayatta kalma oranında önemli ölçüde geliştirilebilirlik ve yemden yararlanma tespit etmişler, ayrıca antioksidan enzimlerinin karaciğer dokusunda artan bir hareketlilik gösterdiğini, GPx aktivitesinin tespit edilmediğini, SOD ve GST aktivitelerinin diludin ile beslenen diyet gruplarında GR aktivitesinin yüksek olma eğiliminde olduğunu belirtmişlerdir.

Hoogenboom *et al.* (2012) omurgalılarda, üremenin endojen hormonlar tarafından aracılık edilen ve potansiyel olarak oksidatif stres ile sonuçlanan enerji gerektiren bir işlem olduğunu belirtmişler ve oksidatif stres parametrelerinin (antioksidan kapasite ve reaktif oksijen metabolitleri düzeyleri) ortak ve yaygın teleost balık testesteron ve kortizol arasındaki ilişkiyi tespit etmek için bir çalışma yapmışlardır. Aldıkları sonuçlara göre yumurtlama zamanında yüksek testesteron seviyesinde oksidatif hasarın daha fazla olduğunu, kortizol seviyelerinin doğrudan oksidatif hasar veya antioksidan kapasitesi ile ilgili olmadığını, ama bu hormonun konsantrasyonunun olumlu olduğu, mantar enfeksiyonunun düzeyleri ile ilişkili olduğunu, diğer bir deyişle düşük antioksidan kapasitesi ve oksidatif hasarın düşük seviyeleri ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Qiu *et al.* (2013) Sierra (*Scomberomorus niphonius*) balık filetosunu, %1,5 gümüş antioksidan peptit çözeltisi(SAP),%0,5 karnozinin çözeltisi,%0,02 propil galat solüsyonuna tabi tutmuşlar ve 1 saat için ayrı ayrı damıtık su ve daha sonra ki aşamada 4°C'de 150 gün boyunca -18°C'de saklamışlardır. Düzenli aralıklarla, tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS), konjuge dien (CD) değeri, serbest yağ asidi içeriği, serbest yağ asidi bileşimi, floresan bileşiği ve a-tokoferol değerlerini belirlemişlerdir. SAP, depolama sırasında önemli ölçüde ($p<0,05$) bir serbest yağ asidi içeriği, CD oluşumu, TBARS değeri ve floresan bileşiğini azaltabileceğini tespit etmişlerdir. Ayrıca SAP'ın, EPA ve DHA miktarındaki azalmayı önlediğini, endojen α -tokoferol içeriğini koruduğunu, SAP antioksidant faaliyetinin karnozin etkisi ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu ve bu nedenle SAP'ın, dondurulmuş depolama sırasında balık örneklerindeki yağ oksidasyonunu önlemek için etkili bir doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Yıldız *et al.* (2013), diyetlerde balık yağı yerine %50 oranında kullanılan pamuk tohumu yağı (PTY) ve kanola yağı (KY) ya da bu yağların eşit karışımlarının juvenil gökkuşağı alabalığının büyümesine, yağ asidi kompozisyonuna ve sindirim sistemi histolojisine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, farklı 5 adet izonitrojenik ve izolipidik diyetler hazırlamışlardır. Kontrol diyetinde sadece balık yağı (BY) ve hazırlanan diğer diyetlerde sırasıyla sadece PTY, sadece KY, %50 PTY %50 KY ve %50 BY belirtilen bitkisel yağların eşit karışımını kullanmışlardır. Deneyde ortalama ağırlıkları yaklaşık 15 g olan gökkuşağı alabalığı yavruları kullanmışlardır. Deneyi paralel ve her deney tankında 50 adet balık olacak şekilde 84 gün süreyle yürütmüşlerdir. Balıklara günlük olarak doyuncaya kadar ve elle yem verilmiştir. Deneme sonunda aldıkları sonuçlara göre balıkların büyüme performansı, yem kullanımı ve viserosomatik indeks değerleri kullanılan diyetlerden etkilenmemiştir ($p>0,05$). Ancak PTY ve PTY50/KY50 diyetleriyle beslenen balıkların hepatosomatik indeks değerlerinin diğer gruplardan daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir ($p<0,05$). PTY ya da KY içeren diyetlerle beslenen balıkların tüm vücudundaki n-3 serisindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin düzeyini düşük ve 18:2n-6 yağ asitlerinin düzeyini ise yüksek bulmuşlardır ($p<0,05$). Ayrıca balıkların karaciğerlerindeki DHA ve araşidonik

asit düzeyleri balığın tüm vücudundaki düzeylerden daha yüksek seviyede tespit etmişlerdir. Sonuç olarak juvenil gökkuşağı alabalığı diyetlerinde balık yağı yerine %50 oranında kullanılan pamuk tohumu yağı ile kanola yağının balıkların büyüme performansında herhangi bir olumsuz etki göstermediği ifade edilmiştir.

Keleştemur and Özdemir (2013) yavru gökkuşağı alabalıklarının (*O. mykiss*) büyüme performansı üzerine yapmış oldukları bir çalışmada, A ve E vitamini takviyesinin etkilerini akış stresi olmadan ve iki farklı akış hızına (0,9 ve 2,1 lt/dk) maruz bırakarak araştırmışlardır. Serumda MDA seviyesinin yanı sıra plazma SOD aktivitelerine bakmışlar. 12 hafta boyunca balıkları üç deneysel diyetle beslemişler (30E+A, 60E+A, E+A), stres altında ki gruplarda ağırlık farklılığı olmadığını belirtmişlerdir. E vitamini ile beslenen stres gruplarında düşük ağırlık gözlemlemişler. Stresli ve stressiz gruplarda SUR (kurtulan oranı)'un A+60E ve A+30E gruplarında oldukça dikkate değer olduğunu, A-E gruplarında ise SUR oranının düşük olduğunu belirtmişlerdir. Tüm diyet gruplarının serumundaki vitamin konsantrasyonunun her iki akış hızı çalışmasında anlamlı bir fark olmadığını ifade etmişlerdir. Stresli ve stressiz gruplarda, en düşük E vitamin serumu ile en yüksek MDA düzeyi değerlerini A ve E diyet gruplarında belirlemişler ve SOD aktivitesini ise E vitamini gruplarında benzer seviyelerde tespit etmişlerdir. Ayrıca stres koşullarında plazma SOD aktivitesinin A+60E grubunda yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Sahin *et al.* (2013) büyüme performansı üzerinde, normal (20 kg/m³) ve yüksek stoklama yoğunluğunda (100 kg/m³) bulunan gökkuşağı alabalıklarında antioksidan durumuna diyetel likopen (0, 200, 400 mg/kg) takviyesinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, likopenin, antioksidanlar sayesinde sağlık için yararlı etkiler sergilemesi üzerinde durmuşlardır. Deney sonunda GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerini değerlendirmişler ve lipid peroksidasyonu olarak MDA seviyesini ölçmüşlerdir. B hücreleri aktivitesi için Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer (NF-κB), erythroidderived 2-like 2 (Nrf2) ve HO⁻¹ (heme-oksygenase) seviyelerini, oksidatif stres ile başa çıkmak için detoksifiye/antioksidan savunma mekanizmalarının bir göstergesi varsaydıklarını bildirmişlerdir. Aldıkları sonuçlara göre yüksek stoklama

yoğunluğunun depresyona maruz kalmada, yem alımını %6,8 oranında, vücut ağırlığı artışı %12,1 oranında, artan plazmayı 88,5, karaciğer MDA düzeyini 124,3, azalmış hepatik SOD 22,1, CAT aktivitesini 43,4, GSH-Px aktivitesi 51,7 olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Kalabalık koşullarda balığın durumunda hepatik NF-KB sentezlenmesinin %71,5 arttığını, likopen takviyesinin düşük ve yüksek stoklama yoğunluğunda, balık büyüme performansını ve antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını, MDA konsantrasyonunu azalttığını ifade etmişlerdir. Ayrıca NF-KB düzeylerinin azaldığını, hepatik Nrf2 ve HO⁻¹ düzeylerinin ise düşük stoklama koşulları altında balıkta daha büyük bir oranda likopen takviyesi ile doğrusal olarak artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Keleştemur and Seven (2013), iki farklı akış hızlarına maruz yavru gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) diyetlerinde propolis ve E vitamini desteğinin büyüme performansı üzerine olan etkileri (0,9 ve 2,1 L/dk) ve dokularda A, C ve E vitamini konsantrasyonları yanı sıra, MDA seviyelerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, 12 hafta boyunca yavru gökkuşağı alabalıklarını 10 ve 30 gr propolis/kg ve 60 mg/kg E vitamini (Rovimiks E-50 adzorbati; min.%50 dla-tokopherly asetat) içeren diyetler ile beslemişlerdir. Her iki akış hızında, P10, P30 ve E60 gruplarına göre C grubunda ağırlık kazancında (WG) önemli derecede düşük ($p<0,05$) olduğunu tespit etmişlerdir. 2,1 L/dk grubunun C grubunda diğer gruplara göre, spesifik büyüme oranının (SGR) önemli derecede düşük ($p<0,05$) bulmuşlar fakat 0,9 L/dk gruplarında SGR oranlarında fark olmadığını tespit etmişlerdir ($p>0,05$). Yaşama oranının 0,9L/dk kontrol grubuna göre, propolis ve E vitamini takviye diyet gruplarında daha yüksek olduğunu saptamışlardır. ($p<0,05$). Diyet E60 ile beslenenlerde E vitamini birikim konsantrasyonunun diğer gruplara göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Gökkuşağı alabalığı dokularında C vitamini konsantrasyonunun 30 gr propolis takviye diyet grubunda önemli ölçüde etkilendiğini ve bunu 10 gr propolis takviyeli diyet grubunun takip ettiğini, E60 grubunda MDA düzeyinde diğer gruplara göre önemli ölçüde azalma meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak A, C, E vitamini ve dokuların MDA düzeylerinin 0,9 L/dk akış hızından olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada Japon pisi balığı (*Paralichthys olivaceus*) yavrularında E ve C vitaminin interaktif etkilerinin büyüme üzerindeki etkileri, yağ asidi kompozisyonu ve oksidatif durumu incelenmiştir. Başlangıç ortalama vücut ağırlığı $1,1 \pm 0,1$ g olan balıklar üçlü tekerrür halinde 60 gün boyunca 5 farklı diyet grubuyla beslenmişlerdir. Kontrol diyetinin taze balık yağı ile birlikte 100 mg α -tocopherol eşdeğer / kg E vitamini ve 500 mg askorbik asit eşdeğer / kg C vitamini içermekte olduğu, diğer dört diyetin ise oxidizedfish yağı ve çeşitli düzeylerde E ve C vitamini içermekte olduğu belirtilmiştir (OFO100E/500C, OFO200E/500C, OFO100E/1000C ve OFO200E/1000C). FFO100E/500C ve OFO100E/500C gruplarında ağırlık artışının farklılık göstermediği, FO200E/1000C ve OFO100E/1000C diyet gruplarına göre FFO100E/500C diyet gruplarında daha az ağırlık artışının saptandığı, C ve E vitamini eklenen diyetlerle beslenen balıkların karaciğerlerinde $20:5n-3$, $22:5n-3$ ve $22:6n-3$ düzeylerinde azalma görüldüğü tespit edilmiştir. Artan diyetssel C vitamini ile karaciğerdeki α -Toc içeriği artmış, karaciğerdeki C vitamini içeriği α -Toc üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. C ve E vitamini eklenen diyetlerle beslenen Japanese flounder balıkların da büyüme ve sağlık şartlarında iyileşmenin olabileceği belirtilmiştir. Bununla beraber oksidatif stres şartları altında bu iki vitamin ile beslenen balıkların lipid peroksidasyonunu indüklediği ifade edilmiştir (Gao *et al.* 2014).

Sahin *et al.* (2013) yaptıkları bir çalışmada gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) kasında, antioksidan, ısı şok proteini 70 (Hsp70), nükleer faktörü (eritroid-türevi 2) 2-benzeri (Nrf2) ve HO^{-1} düzeyleri üzerinde likopen etkisini belirlemek için bir çalışma tasarlamışlardır. Çalışmanın sonuna kadar balıkları düşük (20 kg/m^3) ve yüksek (100 kg/m^3) stoklarda bekletip, diyetssel likopen (200 veya 400 mg/kg) içeren takviye bazal diyetle beslemişlerdir. Yüksek ve düşük stoklama yoğunlukların da tutulan gökkuşağı alabalıklarının kaslarında protein, yağ ve kül içeriklerinde likopen takviyesinin bir etkisinin söz konusu olmadığını, artan ek likopen seviyesine yanıt olarak, likopen seviyelerinde SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri (Pb 0,001) ile Nrf2'nin ve HO^{-1} kas düzeylerinde lineer artışlar gözlemlendiğini, kas MDA ve Hsp70 düzeylerinde lineer düşüşlerin olduğunu belirtmişlerdir (Pb 0,001). Sonuç olarak, likopen takviyesi

stoklama yoğunluklarından kaynaklanan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerini hücresel düzeyde konakçı savunma sistemini aktive yoluyla azalttığını rapor etmişlerdir.

Li *et al.* (2013), üç grup halinde juvenil darkbell yayın balıkları (*Pelteobagrus vachelli*) ($0,99 \pm 0,01$ g) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, balıkları iki farklı amonyak konsantrasyonu altında (0,01 ve 5,70 mg / L, toplam amonyak azotu, TA-N), çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin keten tohumu yağının üç farklı seviyesiyle (%2, 4 ve 6) ve E vitamininin üç farklı seviyesiyle (50, 200 ve 400 mg/kg) hazırladıkları diyetlerle 60 gün boyunca beslemişlerdir. Düşük amonyak koşulları altında büyüme performansı, immün yanıt ve balıkların patojen direncini yüksek bulduklarını belirtmişlerdir. Yüksek amonyak koşulları altında 400 mg/kg vitamin E ile beslenen balıklarda büyüme performansı ve bağışıklık tepkisinin yüksek olduğunu, %6 keten tohumu yağı ile beslenen balıklarda kan durumunu ve immün yanıt seviyelerini daha ileri düzeyde bulduklarını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte amonyak düzeylerinden bağımsız olarak malondialdehit seviyesi, %2 keten tohumu yağı ve 400 mg/kg E vitamini ile beslenen balıklarda daha düşük bir seviyede olduğunu, yüksek amonyağa maruz kalan ve %4-6 oranında keten tohumu yağı ile beslenen balıklarda 14 gün sonra *Edwardsiella ictaluri* enfeksiyonu gördüklerini bildirmişlerdir. %6 keten tohumu yağı ve 400 mg/kg E vitamini ile beslenen balıklarda ki antikor titresi seviyesini, amonyak konsantrasyonundan bağımsız olarak yüksek bulduklarını belirtmişlerdir. Sonuç olarak %2 balık-keten tohumu yağı ve 400 mg/kg vitamin E ile beslenen balıklarda amonyağın zararlı etkilerinin azaldığı kanısına varılmıştır.

E vitamininin büyüme üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, vücut kompozisyonu üzerine olan etkisi ve antioksidan savunma mekanizmasına olan etkisini araştırmak için selenyum ile ilişkilendirilen okside balık yağı ile hazırlanan 6 diyet formüle edilmiştir. Diyetler 160, 280 ve 400 mg/kg ile birlikte 1,2 veya 1,8 mg/kg selenyum (Se) kullanılarak hazırlanmıştır. Kontrol diyetinin içeriğinde ise 160 mg/kg E vitamini ve 1,2 mg/kg (Se) bulunduğu belirtilmiştir. 12 haftalık besleme sürecinde, diyetsetel OxSe1.2/VE160 ile beslenen grubun yaklaşık %5'lik kısmında *Micropterus*

salmoidefed tespit edilmiş, dorsal, pektoral ve kuyruk yüzgecinin dibinde iltihap ve kanama belirtileri gözlemlenmiştir. Tedavi sürecinde balıkların kurtulduğu ifade edilmiştir (%90 üzerinde). Tüm denemeler için yem alımının kıyaslanabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir. Büyüme performansları (ağırlık kazancı ve spesifik büyüme oranı) ve yem kullanımının (yem ve protein verimlilik oranı) önemli ölçüde diyetel yağ oksidasyonu ile engellendiği ve diyetlerdeki vitamin E ile selenyum eksikliğinde hepatomatik somatik indeks ve kas içi yağ oranında belli bir şekilde azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Karaciğer ve kas içeriği kaynaklı okside yağ alımının düşük olduğu ve bu etkilerin Se alımı ile hafifletilebilir olduğu, yemdeki yağ oksidasyonunun enzim aktivitesini tetiklediği ifade edilmiştir. Kontrol grubunda hepatik glutatyon içeriği oldukça yüksek olarak bulunmuş, karaciğerdeki azalan glutatyon içeriğinin kontrol grubuna göre deneme gruplarından daha fazla olduğu bildirilmiştir. Hepatik GPx aktivitesi ve karaciğer Se konsantrasyonu profilinin diyetel Se ile yansıtıldığı, karaciğer profili seviyesinin ise diyetel E vitamini ile yansıtıldığı belirtilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslama yapıldığında beslemede kullanılan OxSe1.2 / VE160 diyetinin belirgin olarak karaciğer ve kas serumunda MDA, vitamin E ve selenyum eklenmesi ile açık bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada E vitamini ve Se yem içeriklerinin canlıyı oksidatif hasardan koruyabildiği sonucuna varılmıştır (Chen *et al.* 2013).

Falahatkar and Poursaeid (2013) yaptıkları bir çalışmada kortizol, glikoz konsantrasyonları ölçümü için stres öncesi ve sonrası kan alımı yapıldığı belirtilmiştir. Sonuçlara göre birçok stres durumunun, birincil (kortizol) ve ikincil (glikoz) yanıtlarını önemli ölçüde arttırdığı, bazı tepkilerin düşük ve yüksek yoğunluklarının yanı sıra erkek ve dişi bireyler arasında da farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Birçok durumda stres metabolitlerinin stresten 9-12 saatten sonra başlangıç seviyelerine kadar gerilediği tespit edilmiştir. Sonuçlara göre mersin balığının stresör yanıtları kemikli balıklardaki gibi yüksek olmadığı, büyük mersin balığının boyut olarak sınıflandırılmasında stres faktörünün önemli bir payı olduğu bildirilmiştir. Stres yönetiminin belirlenmesi kadar hormonların etkilerinin de belirlenmesinin kortizol profili için belirleyici bir faktör olduğu ifade edilmiştir. Bu bilgi ile balık üretim performansına müdahale eden stresörlerin ortadan kaldırılabilir olduğu ve böylece su ürünlerinde hayvan refahının

sağlanabilir, yönetim uygulamalarının gelişiminin başlatılabilir olduğu belirtilmiştir. Bunu başarmak için potansiyel streslerden kaçınılması gerektiği ve mümkün olduğu kadar balıklarda stresi azaltan olası prosedür ve tekniklerin kullanılabileceği veya değiştirilebileceği önerilerinde bulunulmuştur.

Dindia *et al.* (2013) kemikli balıklarda yaptıkları kapsamlı çalışmaların stres faktörünün sebebi olan en büyük etkenin genomik sinyalin aktivasyonu olduğu belirtmişler ve streot tarafından bu sinyalin hızlı bir şekilde açığa çıkartıldığı ancak bunun hakkında çok az bilginin olduğu vurgulamışlardır. Yaptıkları çalışmada balık karaciğerinde akut strese cevaben kortizol anahtar stresle ilişkili sinyal yollarının modülü hipotezini test etmişlerdir. Bu amaçla gökkuşağı alabalığı karaciğerinde plazma zarı biyofizik özellikleri ve stres-ilişkili protein fosforilasyonuna akut stres faktörünün etkisini araştırmışlardır. Metyrapone tarafından salgılanan streoidin yükselmesinin engellenmesinde stres, hücrelerin yapısındaki kortizolün rolünün olmadığını, akut strese maruz kalma durumunda plazma düzeyleri ve karaciğer membranı akışkanlık düzeylerinde artış tespit etmişlerdir. Fakat bu tepkilerin metirapon tarafından kaldırıldığını bildirmişlerdir. Atomik kuvvet mikroskobu membran alanı topografya değişiklikleri de dâhil olmak üzere strese yanıt olarak, karaciğer plazma membranında başka biyofizik değişikliklerini doğruladığını ifade etmişlerdir. Bu değişikliklerin hiç birinden, stresin ana unsurlarını oluşturan ve hücre zarının içerisinde bulunan yağ asitlerinin değişikliğinin sorumlu olmadığını açıklamışlardır. İki tabakalı yağın içerisindeki kortizolün birleştirilmesi, hücre zarının yapısındaki değişikliklerle ilişkilendirilebilir olduğunu, hücre içerisindeki kritik sinyal yollarının aktivasyonu ile pozitif bir şekilde plazma içerisinde kortizol miktarında artış olduğunu tespit etmişlerdir. Bu artışın akt proteinlerini değil, kabul edilen birkaç Protein kinaz A ve protein kinaz C'nin yanı sıra kinaz ile ilişkili hücre dışı sinyallerin fosforilasyon artışını içerdiğini ve bununla birlikte sonuç olarak plazma kortizol düzeyi, plazma zarı akışkanlık değişiklikleri ve alabalık karaciğerinde stresle ilişkili sinyal yollarının hızlı aktivasyonunun stres kaynağının yükselmesi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Atasever *et al.* (2014) diyetel yağ kaynaklarının kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta*) heksokinaz, glucose-6-phosphatedehydrogenase (G₆PD) ve 6-phosphogluconate dehidrojenaz (6PGD) gibi metabolik enzimler üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında, hazırlanan yemlerin tek farklarının içerdikleri yağ kaynağı olduğunu, dört iso-nitrojenaz ve iso-lipidik kazein-jelatin tabanlı yemleri formüle ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışmada diyetel yağ kaynağı olarak, ringa balığı yağı (MO diyeti, çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin), fındık yağı (HO diyeti, başlıca oleik asit içeren), keten tohumu yağı/soya yağı karışımı (1:1) (LO+SO diyeti, linoleik asit ve linolenik asit bakımından zengin) ve soya lesitini (LE diyeti, forfolipid yapısında ve çoğunlukla linoleik asit içeren) kullanmışlardır. Başlangıç ağırlıkları yaklaşık 1g olan balıkları, 50 litrelik cam akvaryumlara 30'ar adet, üç tekerrürlü olarak dağıtmışlar ve balıkları deneysel yemlerle 6 hafta boyunca beslemişlerdir. Yaptıkları altı haftalık besleme denemesi sonunda, bütün grupların metabolik enzim aktivitelerinin başlangıç değerlerine göre önemli derecede artış gösterdiğini, enzimlerin en yüksek aktivitelerinin LO+SO diyeti ile beslenen balıklarda gözlemlendiğini, en düşük aktivitelerin HO diyeti ile beslenen balıklarda meydana geldiği ve çalışmalarında ki enzim aktivelerindeki artışların diyetel yağ kaynaklarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin artışına paralel olarak gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, Nil tilapia balığı üzerinde (*Oreochromis niloticus* ve *Streptococcus iniae*) etkilerinin A vitamininin (0, 2500, 5000, 10 000, 20 000 IU/kg diyeti) ek düzeylerinin etkisini değerlendirmek için büyüme performansı, hematoloji, bağışıklık tepkisi ve direnç parametreleri üzerinde durulmuştur. Her bir diyet, günde iki kez 10 hafta boyunca belirgin doygunluğuna ulaşana kadar, canlı ağırlığın dört katı olacak şekilde uygulanmıştır (Başlangıç ağırlığı, 5,26±0,10g). Çalışma sonunda, A vitamininin tilapia diyeti açısından esas olduğu belirtilmiştir. Beslemeden 2 hafta sonra A vitamini ile beslenmeyen balıklara göre önemli oranda düşük kilo alımı gözlemlenmiştir. Yem alımı ve yem etki değişimi kontrol grubuna kıyasla diğer gruplara göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Diyetel A vitamininin hayatta kalma oranı üzerine etkisinin görülmediği bildirilmiştir. 10 haftalık deneme sırasında ağırlık alımı yetersizliği, kanamalar, operkulum deformitesi, yüzgeç erozyon,

koyu vücut renklenmesi ve uyuşukluk gözlemlenmiştir. Ayrıca A vitamini ile beslenmeyen balıklarda hepatosomatik indeksi ve hematolojik parametrelerinde önemli derecede düşüş olduğu kaydedilmiştir (beyaz kan hücresi sayımı hariç). Vitamin A eklendiği zaman eritrositlerin hipotonik solüsyonunda hemolize karşı dirençlerinin arttığı, 3910 IU/kg diyet A vitamini takviyesi juvenil Nil tilapia balıklarında bu yetersizlik belirtilerini önlemek için yeterli olduğu, serum protein, lizozim aktivitesi ve süperoksit anyon üretimi A vitamini takviyesi ile artırılabilir iken serum total immunglobulin ve spontan kompleman aktivitesinin etkilenmediği belirtilmiştir. A vitamini diyet takviyesinin *S. tilapia*'nın direnci üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı ifade edilmiştir (Guimarães *et al.* 2014).

Puangkaew *et al.* (2005) yaptıkları bir çalışmada antioksidan sistem ve fizyolojik değişikliklerle ilgili modülasyonun gökkuşağı alabalıklar üzerinde diyetel n-3 çoklu doymamış yağ asitleri ve E vitamini ile ilişkisi incelemişlerdir. İçerisinde, 100 ve 1000 mg α -tokoferol asetat kg ve normal balık yağı tarafından sağlanan %20 veya %48 n-3 HUFA (yüksek doymamış yağ asitleri) ve DEHA ile hazırlanmış 6 farklı diyet kullanmışlardır. 100 gr'lık balıklar 15 hafta boyunca besleme denemesine tabi tutulmuşlardır. n-3 HUFA'nın her iki düzeyinde de vitamin E eksikliğinde balık büyümelerinde yavaşlama olduğu görülmüş, bu azalışa hematokrit değerlerindeki azalış, karaciğer ve dalaktaki büyüme, kırmızı kan hücrelerindeki yükseliş, lipid hidroperoksit düzeyinde ve antioksidan enzim aktivitesinde ki artışın eşlik ettiği belirtilmiş, E vitamini takviyesinin, bu olumsuz etkilerden balığı koruyabildiği ve bununla birlikte yüksek doz, orta doz ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuç alındığı belirtilmiştir. Çeşitli markırlar tarafından yapılan araştırma ile n-3 HUFA ile beslemede oksidatif stresin açıkça görüldüğü, enzim aktivitesi artışının vitamin E–oksidatif stres-psikolojik mekanizma ve antioksidanlar arasındaki ilişkiden kaynaklandığını saptamışlardır.

Genç ot sazanları (*Ctenopharyngodon idellus*) üzerinde yapılan 8 haftalık bir besleme denemesinde büyüme performansı ve antioksidan durum üzerine diyetel E vitamini etkileri araştırılmıştır. All-rac- α -tokoferol asetat içeren 6 diyet (0, 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg) üç kopya halinde hazırlanmış, büyüme performansı, vücut kompozisyonu,

antioksidan aktivitesi ve serum biyokimyası parametreleri belirlenmiştir. Maksimum WG, spesifik büyüme oranı (SGR) ve yem alımı (FI) verileri 100 mg E vitamini kg^{-1} ile desteklenmiş diyetler ile beslenen balıklardan elde edilmiştir. Vitamin E'nin, önemli ölçüde hepatik GPx etkinliğini arttırdığı belirlenmiştir. E vitamini diyetleri ile beslenen balıklarda hepatik SOD değerlerinin aşırı arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, serum SOD ve CAT aktivitesinin 50 mg vitamin E kg^{-1} diyeti ile beslenen balıklarda arttığı ve diyetel E vitamini içeriğinin arttıkça önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Artan E vitamini takviyesi ile beslenen balıklarda hepatik ve serum MDA içeriğinde tutarlı bir düşüş gözlemlendiği belirtilmiştir. Ek olarak, E vitamini seviyesinin artırılması ile serum alanin aminotransferaz oranının indirildiği, 50 ve 100 mg vitamin E kg^{-1} diyeti ile beslenen balıklarda serum alkalın fosfataz (AKP) faaliyetinin arttığı gözleniyor iken diyetel E vitamini içeriğinin arttıkça azaldığı belirlenmiştir. 100,36 mg E vitamini kg^{-1} juvenil ot sazan optimum gereksinimi olduğu WG kırık hat regresyon analizine dayalı olarak saptandığı bildirilmiştir. Fazla E vitamini düzeylerinin faydalarının dikkatle hesap edilmesi gerektiği ve bunun antioksidan kapasitesini arttırırken büyümeyi azaltabildiği bildirilmiştir (Li *et al.* 2014).

Diyetel pro-oksidan koşullar altındaki gökkuşağı alabalıklarında yapılan bir çalışmada (*O. mykiss*) erken dönem gelişim sırasında diyetel fosfolipit (PL) varlığında ya da yokluğunda antioksidan savunma sistemin tepkisini karakterize etmek amaçlanmıştır. İlk beslemede yavru ve parmak boy aşamasındaki gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) (ağırlığı ortalama 66 ± 2 mg, ağırlığı ortalama $1,5 \pm 0,4$ gr) %12 FreshFish yağı, %12 oxidizedfish yağı, %6 soya fasulyesi lesitini ve %6 soya fasulyesi yağı içeren 4 yarı saflaştırılmış diyetle 12°C 'de 4 hafta boyunca beslenmiş ve yavru aşamasındaki balıklarda PL den muaf diyetlerle beslenenlere göre (sırasıyla $0,37 \pm 0,07$ ve $0,27 \pm 0,03$ g) PL-takviye diyetlerde önemli ölçüde yüksek nihai vücut ağırlığı belirlendiği bildirilmiştir. Çalışmada gökkuşağı frylarının, fingerlinklere göre oksidatif strese daha az dayanıklı olduğu tespit edilmiş, karşılaşılan bu sonucun balıkların antioksidan savunma sistemlerinin tam gelişmemiş olmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Dicharry *et al.* 2014).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri

Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum balıkları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Yarı kapalı yetiştiricilik sistemi ve su

Yetiştiricilik sistemi olarak Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezindeki yarı kapalı devre yetiştiricilik sisteminde gerçekleştirilmiştir. Deneme ünitesi olarak 35L'lik akvaryumlar kullanılmıştır (Şekil 3.1). Sistem, oksijen jeneratörü ile mekanik ve biyolojik filtrelerle donatılmıştır (Şekil 3.2) Çalışma boyunca sistemin ortalama su sıcaklığı $14,6\pm0,6^{\circ}\text{C}$ ve ortalama oksijen $10,2\pm0,2$ olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.1. Sistemde kullanılan akvaryumlar



Şekil 3.2. Oksijen jeneratörü, biyolojik ve mekanik filtreler

3.1.3. Balık materyali

Araştırmada farklı düzeylerde diludin (0 ve 1mg/kg) içeren yemlerle beslenen dişi gökkuşağı alabalıklarından (*O. mykiss*) elde edilen yavrular kullanılmıştır. Adı geçen yavrular, 112O414 numaralı TÜBİTAK projesi kapsamında elde edilen yavruların bir kısmı olup, proje araştırmalarından arta kalan kısmı teşkil etmektedir. Yavrular, besin keselerini absorbe etmesini takiben 5 gün boyunca ticari yemle beslendikten sonra çalışma başlatılmıştır.

3.1.4. Yem materyali

Yavru balıkların ilk 8 haftalık beslenmesinde kullanılan yem laboratuvar ortamında hazırlanmıştır. Yem formülasyonu yüzde olarak Çizelge 3.1’de verilmiştir. Kazein-jelatin tabanlı formüle edilen yeme 0 (D0), 1 (D1) ve 2 (D2) mg/kg oranında diludin ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Balıkların ilk 8 hafta beslenmesinde kullanılan yemin içeriği (%)

	Yemler		
	D0	D1	D2
<i>İçerik</i>			
Kazein	40	40	40
Jelatin	7	7	7
Dekstrin ^a	6,25	6,25	6,25
Buğday unu	15	14,9	14,8
CPSP ^b	5	5	5
Kod karaciğer yağı	10	10	10
Lesitin	5	5	5
Diludin	0	0,1	0,2
Vitamin karışımı ^c	4	4	4
Mineral karışımı ^d	3	3	3
Phosphitan C ^e	0,05	0,05	0,05
Karboksimetil selüloz	2	2	2
L-Arginin	0,5	0,5	0,5
L-Metiyonin	0,4	0,4	0,4
L-Lisin	0,8	0,8	0,8
Kolin klorid	1	1	1
<i>Kimyasal kompozisyon</i>			
Nem	13,9	14,2	14,5
Protein	65,5	63,2	63,3
Yağ	16,2	15,9	16,1
Kül	6,38	6,15	6,11

^aSuda Çözülebilir %80

^bÇözülebilir balık proteini konsantresi (CPSP 90: ham protein, %82-84WW; ham lipit, 9-13%WW), Sopropêche S.A., Boulogne-sur-mer, Fransa.

^cAlabalık besleme karışımı (Ankara, Türkiye), gram başına düşen vitamin karışımı: vitamin A, 2645,50 IU; vitamin D₃, 220,46 IU; vitamin E, 44,09 IU; Vitamin B₁₂, 13 µg; riboflavin, 13,23 mg; niasin, 61,73 mg; D-pantotenik asit, 22,05 mg; menadion, 1,32 mg; folik asit, 1,76 mg; fridoksin, 4,42 mg; tiyamin, 7,95 mg; D-biotin, 0,31 mg.

^dBernhart tomarelli tuz karışımı (ICN farmackatikals, Costa Mesa, CA), kompozisyon (g/100g): kalsiyum karbonat, 2,1; dibazik kalsiyum fosfat, 73,5; sitrik asit, 0,227; bakır sitrat, 0,046; ferrik sitrat (%16-17 Fe), 0,558; magnezyum oksit, 2,5; mangan sitrat, 0,835; potasyum iyodür, 0,001; Dibazik potasyum sülfat, 8,1; potasyum oksit, 6,8; sodyum klorit, 3,06; sodyum fosfat, 2,14; ve çinko sitrat, 0,133. Tuz karışımının kilogram başına beş mg Se ilave edildi.

^eC vitamini (Mg-L-ascorbyl-2-phospahte), Sigma, Almanya.

Yem hazırlanırken maddelerin homojen olarak dağılmasına özen gösterilmiştir. Işık ve diğer dış faktörlerden etkilenebilecek maddeler en son katılmıştır. Yem daha sonra liyofilizatörde 24 saat kurutularak, 1mm, 800µm, 500µm, 300 µm, 125 µm eleklerden geçirilmiş (Şekil 3.3) ve balıkların ağız açıklıklarına göre fraksiyonlanmıştır. Yem, boyutlarına göre farklı kutularda -20°C’de ışık almayacak şekilde saklanmıştır. Balıklar ilk 8 haftalık süreden sonra yemlerindeki diludin oranı 2 katına çıkarılarak 4 hafta daha deneye devam edilmiştir. Bu aşamada kullanılan yem, ticari (Sibal–Sinop/Türkiye, protein oranı %55, yağ oranı %16) yemin öğütülmesinden sonra içerisine diludin maddesi ilavesi ile üretilmiştir.



Şekil 3.3. Boyutlarına göre ayrılmış yemler

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme düzeni

Deneme diludin maddesinin anne ve diyet kökenli etkisini test etmek için 2x3 faktöriyel desenle 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır (Çizelge 3.2). Kullanılan balıkların elde edildiği dişi damızlıklar 0 ve 1 mg/kg diludin içeren yemlerle 1 yıl beslenmiştir. Elde edilen yavrular besin kesesini çektikten sonra ilk 5 gün ticari yemle beslenmiş ve daha sonra deneysel yemlerle beslenmeye başlanmıştır. Çalışmanın ilk 8 haftasında kullanılan yemler 0 (D0), 1 (D1) ve 2 (D2) mg/kg içerecek şekilde kazein-jelatin tabanlı olarak formüle edilmiştir (Çizelge 3.2).

8 haftalık dönem sonucunda deneysel yemlerdeki diludin maddesi 2 katı oranında arttırılmıştır (D0: 0 mg/kg, D1: 3 mg/kg, D2: 6 mg/kg). Ticari yemlere diludin ilavesi şeklinde hazırlanan diyetlerin kullanıldığı çalışmanın ikinci kısmı 6 hafta devam etmiştir. Deneme boyunca her 15 günde bir biomas ölçümü gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4).

Çizelge 3.2. Deneme düzeni

	TK1	TK2	TK3	TK4	TK5	TK6	TK7	TK8	TK9	TK10	TK11	TK12
Anne yem	D0	D1	D0	D1	D0	D1	D0	D1	D0	D1	D0	D1
Yem	D0	D0	D1	D1	D2	D2	D0	D0	D1	D1	D2	D2



Şekil 3.4. Balıklarda biomas ölçümü

3.2.2. Yemleme ve tankların temizliği

Balıklar ilk hafta ticari yem ile beslemeye tabi tutulmuştur. Deneyin başlamasından itibaren ağırlıklarının %4'ü kadar yem, her 3 günde bir hesaplanarak 3. günün sonunda

bitirilecek şekilde verilmiştir. Yemleme sırasında balıkların tüm verilen yemi yemesi için yemleme süresi uzun tutulmuş ve yemin tüketilip tüketilmediği gözlemlenmiştir. Yemleme günde 4 sefer olmak üzere 09.00, 11.00, 14.00, 16.30 saatlerinde yapılmıştır.

Tanklarda sifonlama günde bir kere, tankların su çıkış filtreleri 2 günde bir, sistemin genel filtresi haftada bir kez temizlenmiştir. Ayrıca her 15 günde bir tankların iç temizliği de gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Stres testi

Besleme çalışmasının sonunda balıklar, 1 gün boyunca 8 saatte bir sudan çıkarılarak 2 dk'lık bir süre su dışında tutulup strese maruz bırakılmışlardır (Şekil 3.5). Stres uygulaması tamamlandıktan 12, 24 ve 48 saat sonra balıklar sıvı azot içerisinde örneklenerek -80°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.5. Balıkların strese maruz bırakılması

3.2.4. Örneklerin alınması ve muhafazası

Deneme sonunda örnekler sudan çıkarılarak sıvı azotta -273°C 'ye kadar soğutularak şoklanmış (Şekil 3.6) ve daha sonra analizler yapılncaya kadar -80°C 'de hava almayacak şekilde muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.6. Örneklerin sıvılaştırılmış azotta dondurulması

3.2.5. Büyüme parametrelerinin hesaplanması

Denemeye ait büyüme parametreleri Arslan *et al.* (2012)'ye göre değerlendirilmiştir.

A. Ağırlık Kazancı: $([\text{Son Ağırlık} - \text{Başlangıç Ağırlığı}] * 100) / \text{başlangıç ağırlığı}$

B. Spesifik Büyüme Oranı: $([\log_e(\text{son ağırlık}) - \log_e(\text{başlangıç ağırlığı})] * 100) / \text{denemede geçen gün sayısı}$

C. Ölüm Oranı: $100 - ((\text{Deneme başındaki balık sayısı}) - (\text{Deneme sonundaki balık sayısı})) * 100 / (\text{Deneme başındaki balık sayısı})$

3.2.6. Kimyasal analizler

3.2.6.a. Örneklerden alınan yağın ekstrakte edilmesi

Örneklerden toplam yağ Folch *et al.* (1957) metoduna göre yapılmıştır. Örnekler saf olarak elde edilen yağlardan yaklaşık 100 mg yağ alınarak Metcalfe and Schmitc (1961)'e göre metil esterleri (FAME) hazırlanarak viallere aktarılmış ve gaz kromatografisinde (GC; Marka: Agilent, Model:6890) yağ asitleri analizleri için kullanılmıştır.

3.2.6.b. Örneklerden ekstrakte edilen yağın miktarının belirlenmesi

Araştırma materyallerinin yağ ekstraksiyonu Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Alınan örneklerden toplam yağ elde etmek için 1 gr ağırlığındaki numuneler 50 ml'lik tüplere aktarılmış ve üzerlerine %0,01 (w/v) butylated hydroxytoluen içeren kloroform/methanol (2:1 v/v) karışımından 20 ml ilave edilmiştir. Daha sonra örnekler 1 dakika ultraturaks ile parçalanmış ve parçalama işleminden hemen sonra vakum altında Whatman No:1 filtre kâğıdı kullanılarak süzölmüştür. Süzme işleminden sonra numuneler temiz ve kuru tüplere aktararak her bir çözeltinin (numunenin) %2'si kadar $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 'dan (20 ml çözelti için 4 ml olacak şekilde) ilave edilmiştir. Sonra tüplere nitrojen doldurulup ve kapakları gazı kaçırmayacak şekilde kapatıldıktan sonra 1 dk vortekslenerek oda sıcaklığında bir gün süreyle faz oluşumu için depolanmıştır. Toplam iki aşamadan oluşan yağ ekstraksiyon işleminin birinci aşaması yukarıda belirtilen şekilde tamamlandıktan sonra pastör pipetiyle tüplerde oluşan alt faz alınarak temiz ve kuru tüplere aktarılmıştır. Aktarma işleminin ardından örnekler azot evaporatör sistem içerisine yerleştirilerek ısıtma ve nitrojen gazına tabi tutulmuştur. Bir süre evapore edildikten sonra tüplerin daraları alınmış küçük tüplere aktararak mini evaporatörde evaporasyon işlemine devam edilerek belli aralıklarla tartımlar yapılmıştır. Tartımlar ağırlıklar sabitleninceye kadar devam edilmiştir. Yağ miktarları tüplerin ağırlıklarının sabitlenmesi ile birlikte

gravimetrik metotla hesaplanmıştır. Ağırlıkları sabitlenen örnekler üzerine kloroform ilave edilerek depolanmıştır (Folch *et al.* 1957).

Lipid Ektraksiyon Çözeltisi ve Hazırlanışları: Kloroform-metanol karışımından (2:1 v:v) 3lt hazırlanmış ve bu çözeltinin her litresi için 0,25 gr BHT ilave edilmiştir.

3.2.6.c. Yağ asidi metil esterlerinin (FAME) hazırlanması

Örneklerden saf olarak elde edilen yağlardan 50 mg tartılarak temiz tüplere aktarılmış, ardından 19:0 Methyl nonadecanoate ilave edilmiştir (Fluka 74208). Her 50 mg örnek için 100 ml 19:0 kullanılmıştır (8 mg 19:0, 500 ml hekzan içinde çözülmüştür). Üzerine 1,5 ml 2 M NaOH ilave edilmiştir. Sonra tüplere nitrojen gazı doldurularak 1 saat süreyle 80°C'lik sıcaklığa tabi tutulmuş, böylece sabunlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi takiben soğumaya bırakılan örnekler üzerine 2 ml BF₃ (Brontrifluoride methanol %25'lik) ilave edilerek tüplere tekrar nitrojen doldurulmuş ve 80°C'de yarım saat daha bekletilmişlerdir. İnkübasyon süresinin bitmesinden sonra örnekler tekrar soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan örneklerin üzerine 1 ml hekzan ilave edilip vortekslendikten sonra 1 ml ultra saf su ilave edilerek tekrar vortekslenmiştir. Daha sonra tüp içerisindeki hekzan tabakası alınarak sodyum sülfat içeren yeni tüplere aktarılmış ve 1 ml hekzan daha ilave edilerek tekrar vortekslenmiştir. Tüm örnekler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra üstte kalan hekzan tabakası 2 ml'lik GC viallerine aktarılmış ve viallere nitrojen gazı doldurulmuştur (Metcalf and Schmitz 1961). Bütün bu işlemler tamamlandıktan sonra vialler gaz kromatografisine (GC) analizler için yerleştirilmiştir.

3.2.6.d. Yağ asitlerinin tayini

Enjeksiyon için hazırlanan örnekler 100'lü otomatik örnek tablasına yerleştirilerek gaz kromatografisinde (GC/MS) yürütülmüştür (Şekil 3.7). Supelco Component FAME Mix standartının yürütüldüğü sistem piklerin çıkış zamanlarına göre yağ asitlerine kalibre

edilmiş ve kromatogramlarda % alan olarak ifade edilen değerler sonuç olarak verilmiştir.

A. Gaz kromatografisi koşulları

Cihaz: Agilent 6980 Mass Gaz Kromatografisi (GC/MS) 23

Dedektör: FID

Kolon: DB-23 (60mx0,25mmx0,25 µm)

Dedektör Sıcaklığı: 200°C

Kolon Sıcaklığı: 165°C’de15 dk bekletilir, dakikada 5°C artışla 200°C 47 dk bekletilir.

Taşıyıcı Gaz: Hidrojen (5psi)

Zaman Sabiti: 200

Akış Hızı: 1/50 (azot/kuru hava)

Hava Basıncı: 350 ml/dk

Taşıyıcı Gaz Basıncı: 35 ml/dk



şekil 3.7 Gaz kromatografi cihazı

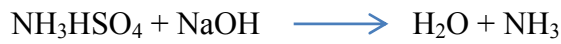
3.2.6.e. Ham protein miktarının belirlenmesi

Ham protein analizi için Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile protein yapısında olmayan N miktarı da belirlenmektedir. Bu nedenle, protein fraksiyonu bazen tri-kloro asetik asit ile presipite ettirilir, süzülür. Sıvı kısımda protein tabiatında olmayan N miktarı belirlenir ve deney sonucunda ham protein değerinden çıkarılır.

1. Bir parça filtre kağıdını hassas (0,0001 g) olarak tartılmıştır. Üzerine 2,5 g civarında et örneği koyularak tekrar tartılmıştır.
2. Filtre kâğıdı hafifçe katlanarak, kâğıt ile beraber örnek 800 ml Kjeldahl balonuna aktarılmıştır.
3. Balon içerisine;
 - a) 1 g (1/4 çay kaşığı) kataliz karışımı ilave edilmiştir (Kataliz karışımı; 10:1 K_2SO_4 : $CuSO_4$; K_2SO_4 kaynama noktasını yükseltme ve oksidasyonu hızlandırma görevi yapar, $CuSO_4$ kataliz olarak görev üstlenir).
 - b) 3 adet kaynama cam boncuğu koyulmuştur.
 - c) 25 ml konsantre H_2SO_4 ilave edilir. Yağ oranı yüksek olan örnekler 10 ml daha fazla asit gerektirebilir. Asit organik maddeyi okside eder.
4. Balonu Kjeldahl ünitesinin yakma kısmına yerleştirilir, önce düşük ateşte (30 dk kadar) ve sonra ateşi yükselterek yakmaya devam edilir.
5. Yakma ünitesi çeker- baca altında olmalıdır. Yakma sırasında balon kendi ekseninde etrafında, eldiven takılarak çevrilmelidir. Tüm örneğin yanması sağlanmalıdır.
6. Yakma işlemine, balon içeriği berrak mavi-yeşil (bakır sülfat rengi) olana kadar devam edilir. Bundan sonra yine 30 dk yakmaya devam edilir. Eğer balon boynuna sıçrayan ve yanmayan parçacıklar var ise, balon hafif soğutulur ve saf su ile bu parçacıklar balon içerisine yıkanır. Tamamen yanmaları sağlanır. Organik N, formülde görüldüğü üzere amonyum tuzuna çevrilir.



7. Ocak kapatılır ve balonlar çok iyi soğutulur.
8. Soğutulmuş balonların üzerine (eğer balon içeriği kristalize olmuş ise hafifçe ısıtılıp eritilir) 400 ml saf su yavaş yavaş ilave edilir. Gerekir ise, işleme bu safhada ara verilebilir. Ancak, balonların ağzı alüminyum folyo veya uygun bir tıpa ile kapatılmalıdır.
9. 400-500 ml'lik erlenmayer flask içerisine indikatör (A) ihtiva eden %4'lük borik asitten (H_3BO_4) 50 ml koyulur. Bu flaski Kjeldahl ünitesinin destilasyon kısmına kondensatörünün altına yerleştirilir. Kondensatör cam tüpünün ucunun borik asit içerisine tamamen dalmış olmasına dikkat edilmelidir.
10. Sistem soğutucu suyu açılır.
11. Kjeldahl balonuna 2 parça çinko parçacığı (patlamayı önleyici) ilave edilir. Eğer köpürme problemi oluyor ise antifoem (köpük kırıcı) spreyi kullanılır.
12. Kjeldahl balonuna yavaş yavaş, balonun iç kenarından aşağı akacak şekilde 75 ml doymuş NaOH (çözelti B) ilave edilir. Bu aşamada dikkatli olunmalı, fazla karışıma müsaade edilmemeli ve balon çalkalanmamalıdır.
13. Balon Kjeldahl ünitesinin destilasyon kısmının üzerine, kondensatörün cam ucu geçmiş lastik tıpasını sıkıca yerleştirilerek takılır ve balon iyice çalkalanır, karışımın homojen olması ve renk oluşması sağlanır.
14. 200 ml civarında, toplam destilat hacmi 250 ml olacak kadar destilat toplanmalıdır. Destilasyon sırasında amonyum tuzu NH_3 'a parçalanır ve oluşan NH_3 gazı soğutucu da soğuyup sıvı hale dönüşerek borik asit tarafından tutulur.



İndikatör içeren borik asit pembemsi-kırmızı iken, NH_3 toplanması ile yeşilimsi bir renge dönüşecektir.

15. Destilat toplanan erlenmayer flasks alınır. Bunun yerine, başka erlenmayer flaskler, içerisinde 400 ml saf su yerleştirilir. Isıtıcı kapatılır, vakum oluşması sağlanarak suyun kondansatör kısmından emilip balona aktarımı sağlanır. Böylece sistem temizlenmiş olur.

16. Toplanan destilat 0,1 N HCl ile çelik rengi oluşuncaya kadar titre edilir. Rengin pembemsi-kırmızıya dönüşmesi, titrasyonun aşırı olduğuna işaretler.



17. Deneyde, içinde filtre kağıdı dahil her şeyi içeren, yalnız et örneği içermeyen, birde şahit numuneyi bütün işlem basamaklarından geçirerek hazırlanır. Şahit numunenin de titrasyonu yapılır. Titrasyonlarda kullanılan HCl miktarı belirlenir.

18. Total N oranını formülden bulunur.

$$\%N = \frac{(\text{Örnek İçin Harcanan ml HCl} - \text{Şahit İçin Harcanan HCl}) \times 0,014 \times (\text{HCl'nin N}) \times F}{\text{Örnek Ağırlığı}}$$

F= 0,1 N HCl'nin faktörü

%Protein= %N x 6,2

İndikatör A

0,25 g Metil kırmızısı

0,25 g Brom kresol yeşili

250 ml etil alkol içerisinde eritilip karıştırılır. Bu indikatörün 1 ml si 150 ml %4 lük borik asit için yeterlidir.

Doymuş NaOH (Çözelti B)

- a) 1500 ml destile su alınır
- b) 1600 gr civarı NaOH
- c) 300 gr kadar NaOH 1500 ml suya katılır, devamlı karıştırılarak çözülür.
- d) Tekrar 300 gr civarında NaOH ilave edilerek, işleme tüm 1600 gr çözünene kadar işleme devam edilir. Çözelti sıcak iken, ısıcağa dayanıklı bir şişeye aktarılır ve ağzı hemen kapatılır.

0,1 N HCl Çözeltisi

%37 lik, $d = 1,19 \text{ g/cm}^3$ olan HCl asitten 1 litre 0,1 N HCl çözeltisinin hazırlanması

Burada $N=M$ olduğundan litre.N =Mol sayısı

$1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mol HCl}$ ihtiyaç vardır.

$$\text{mol sayısı} = \frac{g}{\text{mol ağı.}}$$

$g = \text{mol ağırlığı} \times \text{mol sayısı}$

$$g = 36,5 \times 0,1 = 3,65 \text{ gr saf HCl}$$

$$\%37\text{'lik olduğundan } \frac{3,65}{0,37} = 9,86 \text{ g HCl gerekir.}$$

$$M (\text{ağırlık}) = v \cdot d \quad v = \frac{m}{d} \rightarrow v = \text{hacim}$$

$$v = \frac{9,86}{1,19} = 8,289$$

%37 lik HCl den alınır 1 lt ye tamamlanır.

0,1 N HCl Çözeltisinin Faktörünün Ayarlanması

a) Faktörü belli olan 0,1 N NaOH çözeltisi ile ayarlama

Bunun için faktörü belli olan 0,1 N NaOH dan 250 ml'lik bir erlene 20-25 ml alınır. Üzerine 1-2 damla fenolftalein indikatörü damlatılarak renk dönüşümüne kadar yeni hazırlanmış, faktörü belli olmayan 0,1 N HCl çözeltisi ile titre edilir. Aynı şekilde, birkaç tekrarlama daha yapılır ve çıkan sonuçların ortalaması alınır.

$$f_1 = \frac{f_2 \cdot S_2 \cdot N_2}{S_1 \cdot N_1} \text{ formülünden faktör hesaplanır}$$

F1: HCl çözeltisinin faktörü (bilinmeyen)

S1: Sarf edilen HCl çözeltisinin miktarı

N1: HCl çözeltisinin normalitesi

F2: NaOH çözeltisinin faktörü

S2: Alınan NaOH çözeltisinin miktarı (ml)

N1: NaOH çözeltisinin normalitesi

b) Saf Na₂CO₃ ile Ayarlama

Na₂CO₃ ten belli bir miktar alınır. 260-270°C'de 1-2 saat kurutulur, desikatörde soğutulur.

Bu numuneden 250 ml'lik bir erlene hassas (0,0001) olarak 0,1-0,2 g arasında bir tartım alınır. Üzerine 100 ml saf su ilave edilir. 3-4 damla metil oranj veya metil kırmızısı indikatörü ilave edilerek 0,1 N HCl ile kırmızı renge kadar titre edilir. Bu çözelti kaynayınca kadar ısıtılır (CO₂'nin ortamdan uzaklaşması için). Renk sarıya dönerse tekrar titre edilir ve toplam sarfiyat okunur. Aynı şekilde birkaç deneme daha yapılır ve çıkan sonuçların ortalaması alınır.

$F = \frac{T}{\frac{Na_2CO_3}{2000} S.N}$ formülünden faktör hesaplanır.

T: Alınan Na_2CO_3 miktarı (g)

S: Titrasyon için sarfedilen 0,1 N HCl miktarı (ml)

N: HCl çözeltisinin normalitesi

F: Çözeltinin faktörü (denemeye alınan HCl'in faktörü)

Faktörün 0,995-1,005 arasında olması tercih edilir. Bu değerler arasına getirmek için şu işlemler yapılır.

Eğer $f > 1$ ise $F = 1$ olması için ;

Eklenecek su miktarı = sarf edilmesi gereken HCl miktarı- sarf edilen HCl miktarı işlemi yapılır, eklenecek su miktarı tespiti yapılır.

veya;

$S = \frac{C (A-B)}{B}$ formülünden hesaplanır.

S: ilave edilecek su miktarı

A: Faktörü belli olan çözeltiden sarf edilen miktar (ml)

B: Faktörü belli olmayan çözeltiden kullanılan miktar (ml)

C: Faktörü belli olmayan çözeltinin toplam hacmi (ml)

Eğer $f < 1$ ise $F = 1$ olması için gerekli olan madde miktarı ;

Fazla u miktarı = (Faktör x Şişedeki çözelti miktarı)–Mevcut çözelti Miktarı

Elde edilen fazla su miktarı için asit miktarı hesaplanır, hazırlanan çözeltiye katılır ve tekrar faktör ayarlanır.

%4 H₃BO₄ çözeltisi: 40 gr H₃BO₄ tartılır, 960 ml saf suda çözülür.

3.2.6.f. Su ve kuru madde miktarının belirlenmesi

10 gr örnek 100±2°C'deki kurutma fırınında sabit tartıma ulaşınca kadar kurutulup toplam kuru madde ve su yüzdeleri hesaplanmıştır (Gökalp vd 2001; Alak 2011; Yumuk 2014).

3.2.6.g. Ham kül içeriğinin belirlenmesi

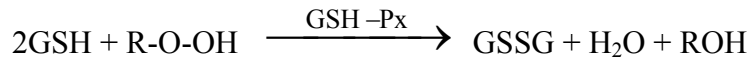
5 gr balık örneği tartılmış ve 100°C'lik kurutma fırınında 12 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutma fırınından çıkarılan örnekler kül fırınına yerleştirilmiş ve sıcaklık kademeli olarak artırılarak 525°C'de 18 saat süreyle yakılmıştır (Alak 2011; Yumuk 2014).

3.2.7. Enzim aktiviteleri tayini

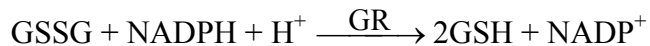
3.2.7.a. Glutasyon peroksidaz tayini

A. Prensip

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) oksidasyonunu katalizler.



GSSG'nin oluşum hızı GR reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür.



Reaksiyon ortamındaki t-butilhidroperoksidin (Bu enzim ölçümlerinde en uygun peroksid substratıdır) her bir molekülünün redüksiyonu için 1 mol GSSG oluşur. GSSG'nın GSH'a redüksiyonu ise GR enzimin katalizlediği reaksiyonla oluşur. Bu reaksiyonda GSSG'nin her bir molunun redüksiyonu için 1 mol NADPH okside olur. GSH-Px aktivitesi de NADPH oksidasyonunu takiben spektrofotometrik olarak 340 nm de sistemin optik dansitesindeki düşüş, köre karşı okunarak hesaplanır.

B. Kullanılan Çözeltiler:

1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA, pH= 8,0

Glutatyon redüktaz (GR), 10 U/ml

0,1 M GSH

NADPH, 2 mM

7 mM t- Butil hidroperoksid

0,27 M EDTA

0,15 M NaCl

β -Merkaptoetanol

C. Enzim Aktivitesi Analizlerinde Kullanılacak Balıklardan Karaciğer Numunelerinin Alınması

-80°C'de muhafaza edilen balıkların karın bölgeleri steril bir bisturi yardımıyla yarılmış ve karaciğerleri çıkarılıp ependorf tüplerine aktarılmıştır. Tüpler daha sonra hızlıca -80°C ye aktarılmıştır. Her doku örneği alımında ayrı ve steril malzemeler kullanılmıştır. Balıktan alınan karaciğer ependorf tüplerinde deney gününe kadar -80°C'de derin dondurucuya konuldu ve çalışılacağı güne kadar burada saklandı.

D. Deneyin Yapılışı:

Deney gününe kadar derin dondurucuda -80°C'de saklanan dokular Sedlak ve Lindsay'in geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi (Sedlak and Lindsay 1968).

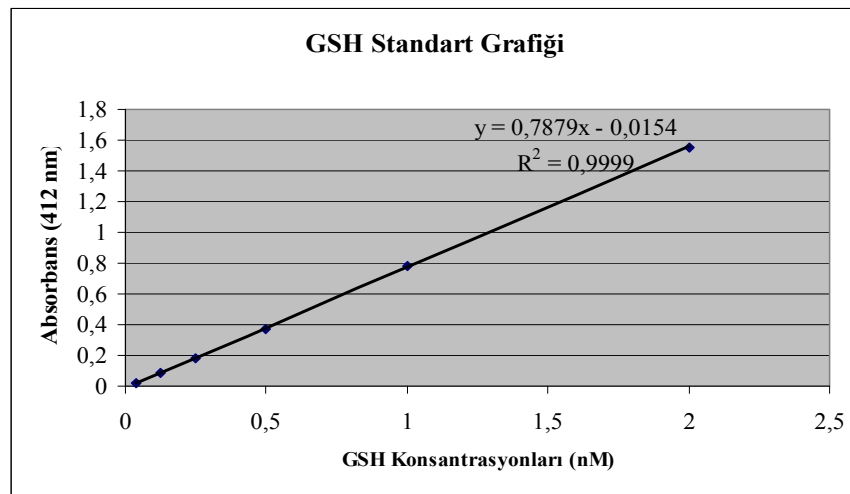
25 mg doku üzerine 2,5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar, 3000 g 4°C’de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

Kapaklı deney tüpleri içerisine 375 µl ölçüm tamponu (0,2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH=8,2), 125 µl süpernatant, 25 µl DTNB ve 1975 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37°C’ta 30 dakika inkubasyona bırakıldı ve sonra 412 nm’de absorbans ölçümleri alındı. Aşağıdaki deney şemasına göre (Çizelge 3.4.) hazırlanıp glutatyon peroksidaz tayini yapıldı.

Çizelge 3.4. Glutatyon peroksidaz deney şeması

	KÖR	NUMUNE
Süpernatant	-	125µl
Homojenat Tamponu	125µl	-
Ölçüm Tamponu	375µl	375µl
DTNB	25µl	25µl
Metanol	1975µl	1975µl

E. Standart grafiğın hazırlanması:



Şekil 3.8. GSH standart grafiği

100 mM GSH Stok çözelti (MA: 307,33 g): 0,061 g GSH alınır. 2 ml homojenat tamponunda çözülür.

50 mM GSH: 100 mM stoktan 1 ml alınır. Üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilir.

25 mM GSH: 50 mM stoktan 1 ml alınır. Üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilir.

12,5 mM GSH: 25 mM stoktan 1 ml alınır. Üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilir.

6,25 mM GSH: 12,5 mM stoktan 1 ml alınır. Üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilir.

3,125 mM GSH: 6,25 mM stoktan 1 ml alınır. Üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilir.

Çizelge 3.5. GSH'nin ölçüm için kullanılan deney şeması

	Kör	100 mM	50 mM	25 mM	12,5 mM	6,25 mM	3,125 mM
GSH	-	125µl	125µl	125µl	125µl	125µl	125µl
Homojenat Tamponu	125µl	-	-	-	-	-	-
Ölçüm Tamponu	375µl	375µl	375µl	375µl	375µl	375µl	375µl
DTNB	25µl	25µl	25µl	25µl	25µl	25µl	25µl
Metanol	1975µl	1975µl	1975µl	1975µl	1975µl	1975µl	1975µl

F. Sonuçların Hesaplanması:

Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 ml'lik kuartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten (Şekil 3.8) yararlanarak ölçümler yapıldı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak belirlendi.

G. Hesaplanma

Glutasyon derişimi mmol/g protein biriminden hesaplanır.

$$C/1000=(OD_2-OD_1)/13600 \times E_1 \times 5/2 \times$$

$$C \text{ (mmol/mg protein)}=(OD_2-OD_1) \times 0.092$$

$$\text{Protein(g/mL)}$$

13600: GSH ile DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı

E_1 : Eni 6 nm'den büyük olan bant kullanılırsa hem ışık yolu hem de bant genişliği farklarını düzelten bir türev ekstrinksiyon katsayısı kullanılır. Bizim kullandığımız 2 nm'dir. Hesaplamalarda E_1 kullanılmamıştır.

C: mmol glutasyon

OD_1 : DTNB ilave edilmeden önce 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

OD_2 : DTNB ilave edildikten sonra 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite

1000: mmol'e dönüşüm katsayısı

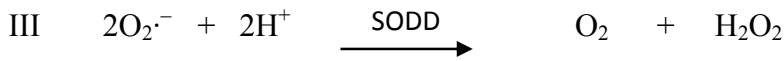
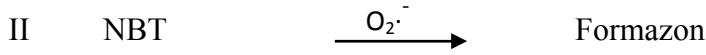
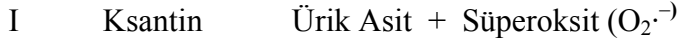
Aktivite değerleri/mg doku veya mg protein X seyreltme faktörü ile çarpılarak ifade edilir. (EU / mg protein veya EU / mg doku)

3.2.7.b. Superoksit dismutaz tayini

A. Prensip:

Ksantin, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri, şayet ortamda NBT (nitrobluetetrazolium) mevcutsa, NBT ile reaksiyona girerek formazon boyası oluştururlar. Bu bileşik 560 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Şayet ortamda SOD enzimi varsa süperoksit radikalleri bu enzim tarafından H_2O_2 'ye dönüştürüldüğü için formazon oluşumu azalacak buna bağlı

olarak da 560 nm’de ölçülen absorbans azalacaktır. Absorbanstaki azalmanın miktarı bize SOD aktivitesini $\frac{\chi O}{\chi O}$ verecektir. Özetle; SOD aktivitesi aşağıda verilen II nolu reaksiyonun inhibe edilme derecesiyle ölçülebilmektedir.



B. SOD ölçümü: SOD aktivitesi Sun *et al.* (1988) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü (Sun *et al.* 1988). Mide dokuları homojenize edildikten sonra 18.000 g’de 1 saat santrifüj edildi. Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0,3 mM ksantin, 0,6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0,4 M Na_2CO_3 , 1,2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika

inkubasyon bırakıldı ve 100 µl 0,8 mM $CuCl_2$ ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı.

C. Kullanılan Çözeltiler:

- Ksantin stok çözeltisi, 3 mmol/L
- EDTA, 0,6 mmol/L
- NBT, 150 µmol/L
- Na_2CO_3 , 400 mmol/L
- Sığır albumini, 1 gr/L
- Ksantin oksidaz, 0,166 U/ml

D. Deneyin Yapılışı:

25 mg doku alınır üzerine 50 mM, pH 7,8 olan, 150 ml 10mM EDTA içeren Fosfat tamponu ilave edilerek hacmi 2,5 ml'ye tamamlanır. Ultraturraks ile düşük devirde 45 saniye homojenize edilir. 5000g'de 4°C'de 60 dk santrifüj edilir. Süpernatant kullanıldı.

Sun ve arkadaşlarının metodu (43) kullanılarak aşağıdaki deney şemasına (Çizelge 3.6.) göre kör ve numune tüpleri hazırlanarak SOD tayini yapıldı.

Çizelge 3.6. Superoksit dismutaz deney şeması

	SOD Kör tüpü	SOD Numune Tüpü
Reaktif Karışımı	2.45 ml	2.45 ml
Numune	0.50 ml	-
Distile su	-	0.50 ml
Ksantin Oksidaz (-)	50 µl	50 µl
20°C 25 dakika inkübasyon		

E. Sonuçların Hesaplanması

Oluşan formazon miktarları 560 nm'de 3 ml'lik kuartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak aşağıdaki geliştirilen formülden aktivite değerleri (EU) elde edildi ve SOD aktivitesi mmol /dakika/mg doku olarak tarif edildi. Her bir faktörün etkisi 3 tekrar yapılarak verildi.

$$\text{EU/mg doku} = \frac{\Delta A_{\text{kör}} - \Delta A_{\text{numune}}}{\Delta A_{\text{kör}}}$$

Aşağıda verilen eşitlikten yararlanılarak numunede bulunan enzimin meydana getirdiği % inhibisyon hesaplanır.

3.2.7.c. Katalaz tayini

A. Prensip:

Uygun tampon içinde bulunan H_2O_2 ın numunede bulunan katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu, bu maddenin 240 nm'deki absorbansında azalma meydana gelir. Absorbansta gözlenen azalma hızı katalaz enzimi aktivitesi ile orantılıdır.

B. Kullanılan Çözeltiler:

- Fosfat tamponu, 1/15 mM; pH 7
- H_2O_2 , %30'luk

C. Numunenin Alınması:

Numuneler SOD (3.2.7.b.) tayinindeki gibi alınmıştır.

D. Deneyin Yapılışı:

CAT'ın aktivitesi Aebi'nin belirttiği kurallar uygulanarak ölçüldü (Aebi 1984). 0,025 g doku alınarak üzerine 2,5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7) ilave edilerek homojenize edildi. Oluşan homojenat 10 000 g'de 4°C'de 60 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar katalaz aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanıldı. CAT dokularında 1:1 etanol ile çöktürme yapılır. Sonra Fosfat tamponunda çözülerek ölçüme geçilir.

%30'luk H_2O_2 'den 0,16 ml alınarak daha önce hazırlanmış bulunan fosfat tamponunun 100 ml'sinde seyreltilir. Bu karışım 240 nm'de 0,5 absorbans verecek şekilde ayarlandı. Bunun için küçük miktarlarda H_2O_2 ilave edildi. Daha sonra aşağıdaki şemaya uygun

olarak küvetlere önce hazırlanan H_2O_2 çözeltisi kondu. Daha sonra numune ilave edilerek absorbanstaki düşüş 15'er saniye aralıklarla kaydedildi.

Çizelge 3.7. Katalaz ölçüm deney şeması

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	—	2.99
H_2O_2 (ml)	2.99	0.01
Süpernatant (ml)	0.01	—

E. Sonuçların Hesaplanması

Ölçümlerde lineer olarak absorbanstaki azalması olan aralıktan dakika başına absorbanstaki azalması hesaplandı. Işık yolu (b)= 10mm, azalma katsayısı ($\epsilon_{H_2O_2}$), 0,00394 ($mmol^{-1} \times mm^{-1}$) alınarak $A=\epsilon.b.c$ formülünden 240 nm'de, dakikada 1 mmol H_2O_2 'nin harcanmasını sağlayan enzim miktarı (=EÜ) hesaplandı. Formül seyrelme faktörleri dikkate alınarak 25 mg doku için $mmol/min=100 \times A/(0,00394 \times 25 \times 3)$ ile pratik olarak $A/3,283$ şekline getirildi ve bütün aktiviteler bu formülde yerine konulan absorbanstaki değerlerinden hesaplandı. KAT aktivitesi, $\mu mol/dakika/mg$ doku olarak tarif edildi. Deneyler 3 paralel tekrar halinde yapıldı.

3.2.8. Balık dokusundan total RNA izolasyonu yöntemi

Kas dokusu örnekleri alınıp TRIzol® Reagent solüsyonu içerisinde soğuk şartlarda ultraturaks yardımıyla parçalanmıştır. Total RNA'nın izolasyonu, ilgili solüsyon protokolünde belirtilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Total RNA konsantrasyonları ve varlığı, spektrofotometrik ölçümler ve elektroforez uygulamasıyla belirlenmiştir.

- 1- Her 4 ml Trizol başına 400-750 mg doku örneği kullanılmış ve örnek Trizol içinde homojenize edilmiştir.
- 2- Homojenizasyonun ardından 4°C'de 10 dk 11000 devirde santrifüj edilmiş ve supernatant alınmıştır.
- 3- 800 µl kloroform eklenmiş, tüplerin ağzıklarını güvenli bir şekilde kapatılarak 15 sn süreyle elle çok güçlü bir şekilde çalkalanmış ve oda sıcaklığında 2-3 dk inkübe edilmiştir.
- 4- İnkübasyondan sonra örnekler 4°C'de 15 dk 11000 rpm'de santrifüjlenip supernatant alınmıştır.
- 5- Örneklerle 2 ml izopropilalkol katılıp ve oda sıcaklığında 5-10 dk inkübasyona bırakılmıştır.
- 6- Örnekler 11000 rpm'de 4°C'de 15 dk santrifüj edilip üst faz tamamen uzaklaştırılmıştır.
- 7- Altta kalan kısma 4 ml %70 etanol ilave edilerek hafifçe vortekslenip 8000 rpm'de 4°C'de 5 dk santrifüj edilmiştir.
- 8- Etanol uzaklaştırılıp tüpler kurutma kâğıdında ters çevrilerek kurutulmuştur. Örneğe 40 µl DEPC su ilave edilerek -80°C'de stoklanmıştır (Erdoğan *et al.* 2008; Parlak 2010).

3.2.9. İstatistiki analiz

Büyüme parametreleri, vücut kimyasal kompozisyonu ve antioksidan enzim aktivitelerine annenin beslenme geçmişinin ve yavrulara verilen yemdeki diludin seviyesinin etkisini belirlemek için iki yönlü ANOVA testi uygulanmıştır. Adı geçen faktörlerin etkisinin önemli olduğu durumlarda ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yüzde değerle teste tabi tutulmadan önce arcsin transformasyonuna tabi tutulmuştur. Önem seviyesi 0,05 olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Büyüme ve Yem Değerlendirme Verileri

Farklı düzeylerde diludin içeren yemle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren kazein ve jelatin tabanlı yemlerle ilk 8 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularında (başlangıç ağırlığı 0,16g) diludin maddesinin anneden gelen ve diyetlerden gelen etkisinin son ağırlık miktarına (SA), ağırlık kazancına (AK) ve spesifik büyüme oranına (SB) etkisi 2 yönlü ANOVA testine göre istatistiksel olarak önemli bulunurken, yaşama gücü ve yem değerlendirme katsayısına etkisi önemsiz bulunmuştur. Bu iki faktörün interaksiyonu ise tüm parametrelerde önemsiz bulunmuştur. Diludin maddesinin anneden ve yemden gelen etkisinin yem değerlendirme katsayısına (YDK) ve yaşama gücüne (YG) etkisi görülmemektedir. Çalışmadan alınan sonuçlara göre (Çizelge 4.1) ağırlık kazancının en fazla olduğu grup annenin ve yavruların D0 (kontrol) yemi ile beslenmiş grupta olduğu, ağırlık kazancının en az olduğu grubun ise annenin ve yavruların D1 (%0,1 diludin) yemi ile beslenmiş grupta olduğu belirlenmiştir. Spesifik büyüme oranına bakıldığında ise en yüksek oranın annenin ve yavruların D0 (kontrol) grubunda olduğu, en düşük olan grubun ise annenin ve yavruların D1 (%0,1 diludin) yemi ile beslenen grupta olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren kazein-jelatin tabanlı yemlerle ilk 8 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının (başlangıç ağırlığı 0,16g) büyüme performansı

Anne/yem	SA (g)	AK ¹ (%)	SB ² (%)	YG (%)	YDK ³
D0/D0	3,10±0,01 ^a	1957,1±76,4 ^a	5,40±0,07 ^a	93,0±1,4	0,63±0,02
D0/D1	2,77±0,16 ^b	1634,4±34,4 ^b	5,09±0,04 ^b	98,0±2,8	0,65±0,00
D0/D2	3,02±0,11 ^{ab}	1813,1±110,3 ^a	5,27±0,10 ^a	96,0±5,7	0,65±0,01
D1/D0	3,03±0,02 ^{ab}	1641,0±27,0 ^b	5,10±0,03 ^b	98,0±0,0	0,66±0,01
D1/D1	2,68±0,06 ^c	1429,0±11,1 ^c	4,87±0,01 ^c	97,0±1,4	0,69±0,01
D1/D2	2,95±0,18 ^{abc}	1678,5±38,7 ^b	5,14±0,04 ^b	95,0±1,4	0,67±0,03
<i>2-yönlü</i>					
<i>ANOVA⁴</i>					
Anne	S	S	S	NS	NS
Diyet	S	S	S	NS	NS
İnteraksiyon	NS	NS	NS	NS	NS

¹%Ağırlık kazancı (AK) = [(son ağırlık – ilk ağırlık) x 100] / ilk ağırlık

²Spesifik büyüme (SB) = [(log_e son ağırlık – log_e ilk ağırlık) x 100]/deneme süresi (gün)

³Yem değerlendirme katsayısı (YDK) = tüketilen yem (g)/ağırlık kazancı (g)

⁴S istatistiki olarak önemli, NS istatistiki olarak önemsiz

Farklı düzeylerde diludin içeren yemle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren ticari yemle 6 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularında (başlangıç ağırlığı 3,09 g) diludin maddesinin etkisini değerlendirdiğimizde ise diyetten gelen etkinin AK ve SB parametrelerinde istatistiksel olarak önemli olduğu, anneden gelen etkisinin SA, YG ve YDK'ye etkisinin önemsiz olduğu görülmektedir. Bu iki faktörün interaksiyonu ise tüm parametrelerde önemsiz bulunmuştur. Çalışmadan alınan sonuçlara göre (Çizelge 4.2) ağırlık kazancının en fazla olduğu grup annenin ve yavruların D0 (kontrol) yemi ile beslenmiş grupta olduğu, ağırlık kazancının en az olduğu grubun ise annenin ve yavruların D1 (%0,1 diludin) yemi ile beslenmiş grupta olduğu belirlenmiştir. Spesifik büyüme oranına bakıldığında ise en yüksek oranın annenin ve yavruların D0 (kontrol) grubunda olduğu, en düşük olan grubun ise

annenine ve yavruların D1 (%0,1 diludin) yemi ile beslenen grupta olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren ticari yemle 6 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığı yavrularının (başlangıç ağırlığı 3,09g) büyüme performansı

Anne/yem	SA (g)	AK ¹ (%)	SB ² (%)	YG (%)	YDK ³
D0/D0	13,58±0,11	316,19±7,74 ^b	3,39±0,04 ^b	100	0,79±0,02
D0/D1	12,75±0,81	333,10±8,24 ^b	3,49±0,05 ^b	100	0,80±0,03
D0/D2	13,32±0,80	308,38±15,2 ^b	3,35±0,13 ^a	100	0,83±0,06
D1/D0	13,26±0,89	327,23±8,55 ^b	3,46±0,05 ^b	100	0,81±0,03
D1/D1	13,09±0,35	355,35±11,39 ^a	3,61±0,06 ^a	100	0,76±0,02
D1/D2	13,11±0,53	325,89±10,25 ^b	3,45±0,08 ^b	100	0,81±0,03
<i>2-yönlü</i>					
<i>ANOVA⁴</i>					
Anne	NS	NS	NS	NS	NS
Diyet	NS	S	S	NS	NS
İnteraksiyon	NS	NS	NS	NS	NS

¹%Ağırlık kazancı (AK) = [(son ağırlık – ilk ağırlık) x 100] / ilk ağırlık

²Spesifik büyüme (SB) = [(log_e son ağırlık – log_e ilk ağırlık) x 100] / deneme süresi (gün)

³Yem değerlendirme katsayısı (YDK) = tüketilen yem (g) / ağırlık kazancı (g)

⁴S istatistiki olarak önemli, NS istatistiki olarak önemsiz, $P < 0,05$

Çizelge 4.3. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının tüm vücut kimyasal madde kompozisyonu (%)

Anne/yem	Nem	Protein	Yağ	Kül
D0/D0	73,69±0,14 ^b	17,25±0,91	12,32±1,41 ^a	8,05±0,33
D0/D1	76,51±0,00 ^a	17,55±0,80	9,04±0,25 ^b	9,01±0,05
D0/D2	76,70±0,28 ^a	17,45±0,82	7,54±0,63 ^b	7,90±0,16
D1/D0	73,71±0,04 ^b	17,09±1,21	12,45±1,02 ^a	8,90±0,22
D1/D1	75,27±1,60 ^a	17,95±0,73	9,23±0,21 ^b	8,09±0,44
D1/D2	76,80±1,02 ^a	17,85±0,84	7,35±0,45 ^b	9,06±0,00
<i>2-yönlü ANOVA⁴</i>				
Anne	NS	NS	NS	NS
Diyet	S	NS	S	NS
İnteraksiyon	NS	NS	NS	NS

4.3. Yağ Asidi Kompozisyonu

Çalışmada formüle edilen yemlerin yağ asidi kompozisyonu Çizelge 4.4'deki gibidir.

Çizelge 4.4. Çalışmada kullanılan formüle edilen yemin ve ticari yemin yağ asidi içeriği (%)

Yağ asitleri	Yem	
	Formüle edilmiş yem (DO, D1, D2)	Ticari yem
14:0	4,5	4,7
14:1	0,3	0,1
16:0	17,3	13,5
16:1n-7	11,3	7,2
18:0	2,8	2,7
18:1n-9	12,5	23,5
18:2n-6	15,3	30,2
18:3n-6	0,5	0,2
18:3n-3	1,2	2,9
18:4n-3	2,6	0,5
20:0	1,1	0,9
20:1n-9	0,6	0,4
20:1n-11	0,2	0,1
20:3n-3	0,6	0
20:4n-6	2,0	0,6
20:4n-3	1,3	0
20:5n-3	7,9	2,5
22:0	0,7	0,5
22:1n-11	0,7	0,6
22:2n-6	0,2	0,3
22:4n-6	0,6	0,5
22:5n-3	2,7	1,3
22:6n-3	12,5	6,5
24:1n-9	0,6	0,3
ΣDoymuş	26,4	22,3
ΣTekli doymamış	25,6	32,5
ΣÇoklu doymamış	47,4	45,5
Σn3	28,8	13,7
Σn6	18,6	31,8
n3/n6	1,5	0,4

Farklı düzeylerde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeylerde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) yavrularında yağ asidi kompozisyonuna baktığımızda yemlerdeki yağ asidi içeriğini balıkların yağ asidi içeriğinin yansıttığını, yemlere eklenen diludin maddesinin balıkların yağ asidi içeriğine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığı yavrularının yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ asitleri	Yemler		
	D0	D1	D2
14:0	5,3±0,2	5,2±0,3	5,3±0,1
14:1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2
15:0	0,3±0,2	0,3±0,2	0,3±0,2
15:1	1,1±0,2	1,2±0,3	1,1±0,1
16:0	17,9±0,1	18,0±0,2	17,9±0,3
16:1n-7	10,3±0,2	10,3±0,2	10,5±0,4
17:0	0,2±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2
17:1	0,2±0,2	0,2±0,1	0,2±0,2
18:0	3,4±0,5	3,5±0,4	3,4±0,3
18:1n-9	17,6±0,2	17,7±3,1	18,1±0,1
18:2n-6	13,3±0,7	13,8±0,5	13,1±0,5
18:3n-6	0,8±0,0	0,7±0,1	0,8±0,0
18:3n-3	2,5±0,1	2,3±0,1	2,4±0,2
18:4n-3	0,4±0,2	0,4±0,3	0,4±0,1
20:0	0,3±0,2	0,2±0,2	0,3±0,2
20:1n-9	0,3±0,3	0,3±0,2	0,2±0,3
20:1n-11	0,2±0,1	0,2±0,1	0,2±0,2
20:2n-6	0,4±0,2	0,4±0,2	0,3±0,1
20:3n-3	0,4±0,1	0,5±0,2	0,4±0,2
20:4n-6	0,2±0,1	0,3±0,2	0,3±0,1

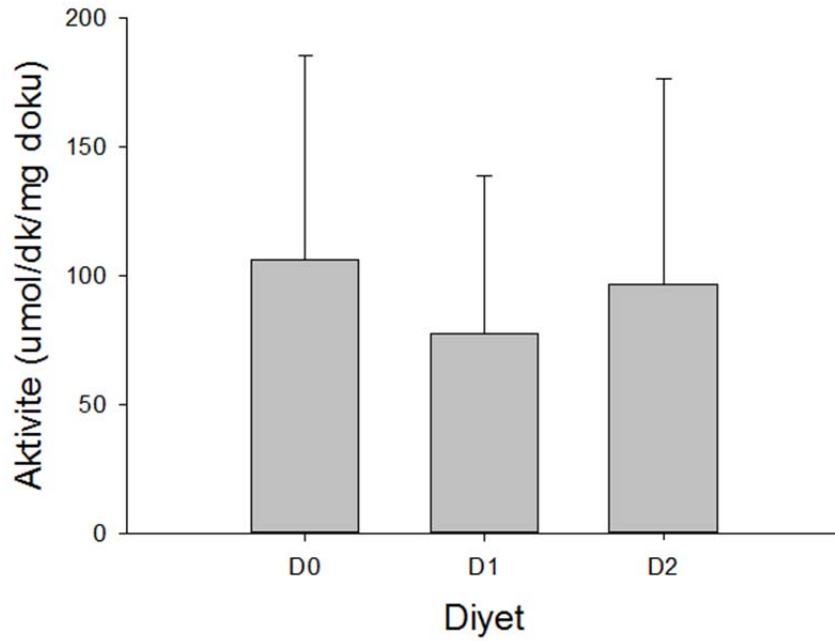
Çizelge 4.5 (devam)

20:4n-3	0,2±0,1	0,2±0,2	0,2±0,0
20:5n-3	5,6±0,1	5,7±0,4	5,6±0,7
22:0	0,5±0,2	0,6±0,3	0,5±0,3
22:1n-11	0,6±0,2	0,7±0,3	0,6±0,4
22:2n-6	0,2±0,0	0,2±0,3	0,2±0,1
22:4n-6	0,4±0,1	0,3±0,2	0,4±0,2
22:5n-3	1,5±0,3	1,5±0,4	1,6±0,6
22:6n-3	14,6±1,2	14,1±3,1	14,0±2,8
24:1n-9	1,0±0,0	1,0±0,1	0,9±0,2
ΣDoymuş	27,9±1,2	28,0±0,5	28,0±0,7
ΣTekli doymamış	31,7±0,9	31,7±1,6	32,1±1,7
ΣÇoklu doymamış	40,5±0,9	40,4±2,3	39,7±1,3
Σn3	25,2±1,3	24,7±0,2	24,6±0,2
Σn6	15,3±0,8	15,7±0,5	15,1±2,3
n3/n6	1,6±0,9	1,6±1,2	1,6±0,8

4.4. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

4.4.1. Katalaz (CAT) aktivitesi

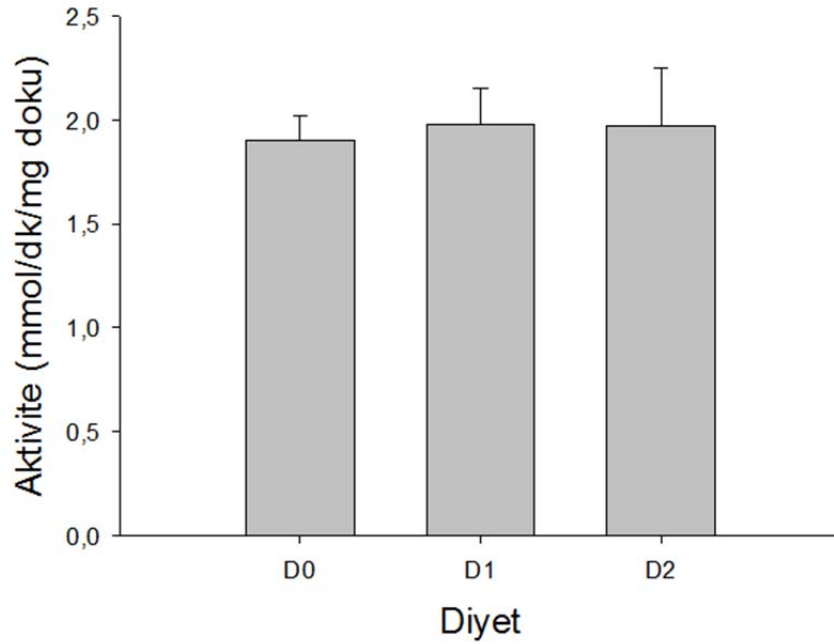
Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer katalaz (CAT) aktivitesi baktığımızda, en düşük aktivite oranının D1 diyeti ile beslenen balıklarda olduğu, bunu D2 grubunun takip ettiğini ve en yüksek CAT aktivitesinin D0 grubunda olduğunu görüyoruz (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer katalaz (CAT) aktivitesi

4.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

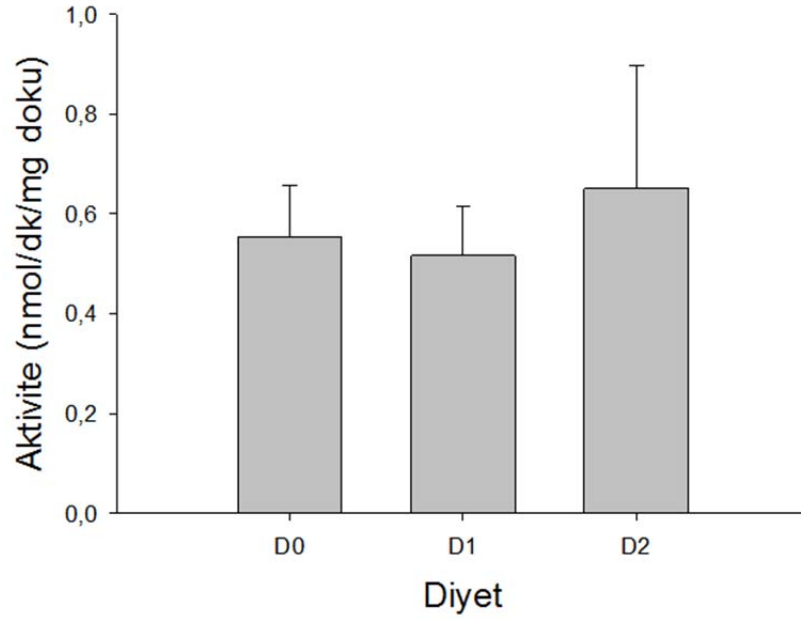
Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesine baktığımızda, en düşük aktivitenin D0 grubunda olduğunu en yüksek aktivitenin ise D1 diyeti ile beslenen balıklarda olduğunu görüyoruz (Şekil 4.2.)



Şekil 4.2. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

4.4.3. Glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi

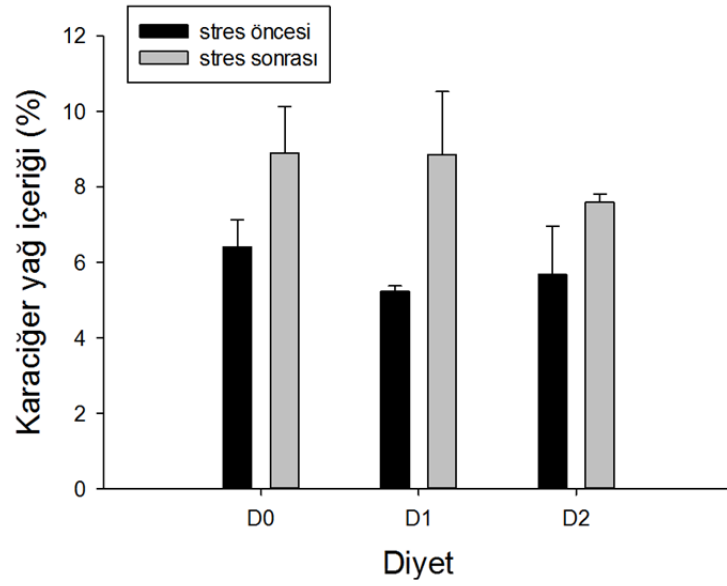
Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer GST aktivitesine baktığımızda en yüksek aktivitenin D2 grubunda olduğunu bunu D0 grubunun takip ettiğini ve en düşük aktivitenin D1 diyeti ile beslenen balıklarda olduğunu görüyoruz (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Farklı düzeyde diludin içeren yemlerle beslenen dişilerden elde edilen ve farklı düzeyde diludin içeren yemlerle 14 hafta boyunca beslenen gökkuşağı alabalığı yavrularının karaciğer glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi

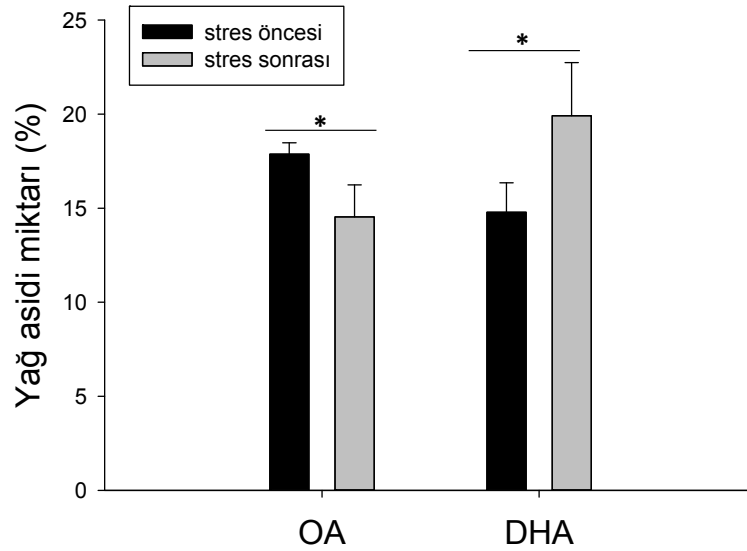
4.5. Stresin etkileri

14 haftalık besleme dönemi sonrasında balıklara uygulanan stres diyetlere bağlı olmaksızın karaciğer yağlanmasına sebep olmuştur (Şekil 4.1). Stres uygulanmadan önce ortalama $5,8 \pm 0,8$ olan karaciğer yağ oranı stresten sonra $8,4 \pm 1,1$ 'e çıkmıştır ($P < 0,05$). Karaciğer yağlanmasının en düşük olduğu grubun D2 diyeti ile beslenen balıklarda olduğu görülmektedir. Karaciğer yağlanmasının en fazla olduğu grubun ise D0 grubunda olduğu, stres uygulandıktan sonra karaciğer yağlanmasındaki en fazla artışın D0 grubunda olduğu görülmektedir. Bunu D1 grubu takip etmekte ve stresten sonra en az yağlanmanın D2 grubunda olduğu görülmektedir.



Şekil 4.4. Stres testinin karaciğer yağlanmasına etkisi

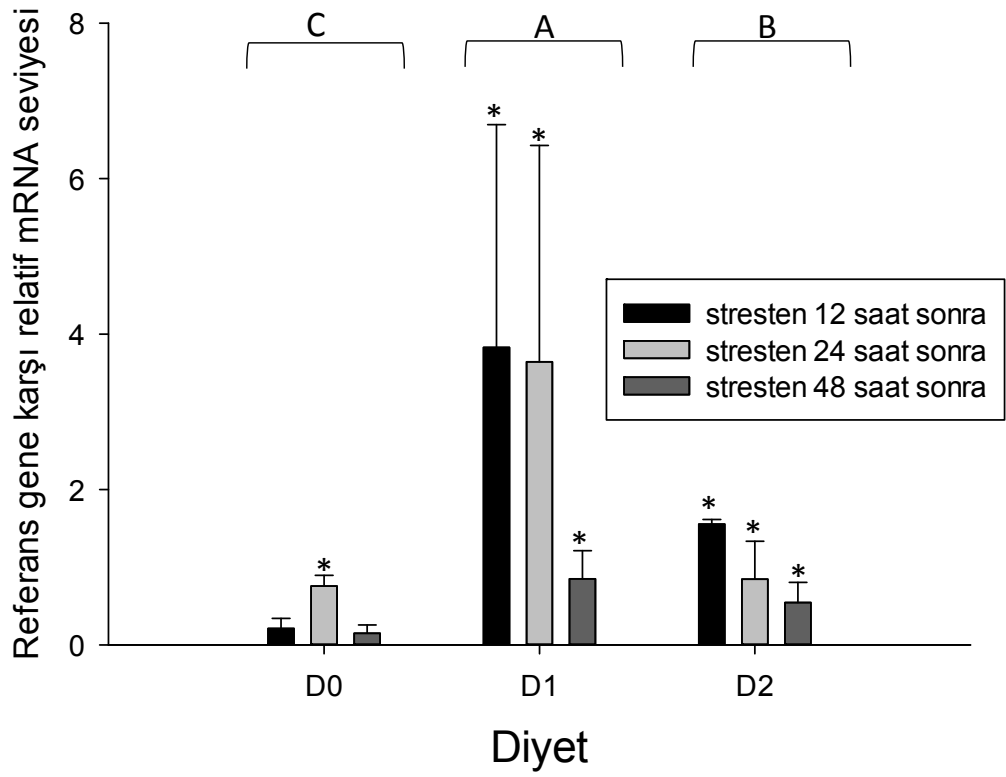
Yapılan stres deneyinin balıkların karaciğerinde oleik asit (OA; 18 ln-9) ve DHA kompozisyonuna olan etkisi incelendiğinde, stresten 12 saat sonra balıkların karaciğerindeki OA oranında düşüş görülmekteyken DHA oranında ise artış görülmüştür (Şekil 4.2.)



Şekil 4.5. Strese maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığı yavrularının karaciğerindeki OA ve DHA miktarı arasındaki değişimi

* İki sütun arasında istatistiki olarak fark olduğunu göstermektedir.

Strese maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığı yavrularının karaciğerindeki HSP 70 mRNA ekspresyonunun referans gene karşı (GAPDH) relatif değişimine baktığımızda D1 diyeti ile beslenenlerde relatif mRNA seviyesinin en yüksek seviyede olduğunu, bu seviyelerin stresten sonra geçen zamana bağlı olarak düştüğünü, relatif mRNA seviyesinin en düşük olduğu grubun ise D0 diyeti ile beslenen balıklarda olduğunu görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.6. Strese maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığı yavrularının karaciğerindeki HSP 70 mRNA ekspresyonunun referans gene karşı (GAPDH) relatif değişimi.

* Kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemi artışı göstermektedir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Su ürünleri yetiştiriciliği konusunda yapılan çalışmalara bakıldığında genel olarak canlıların beslenmesi ve daha iyi kalitede ürün alabilme ve tüketilen hammaddenin daha iyi değerlendirilmesi için yapılmış olan çalışmalar görülmektedir. Gelişen haberleşme ortamı ile bilinçlenen tüketicinin tükettiği gıdada herhangi bir katkı maddesi istememesi ve ürünün doğal ortamda bulunan gıdalarla aynı kalitede olması fikri gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Ayrıca su ürünleri yetiştiriciliğinde artan maliyetlerin düşürülmek istenmesi de üreticilerin talep ettiği ayrı bir konu olarak karşımıza çıkıyor. Özellikle canlıların beslenmesinde kullanılması düşünülen diludin katkı maddesinin insan tüketiminde kullanılan gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde yapılan bu çalışmada gökkuşağı alabalıklarının büyüme ve yem değerlendirme, % su, % ham protein, % yağ ve % kül içeriklerine olan etki, antioksidan enzim aktiviteleri ve stresin gökkuşağı alabalığı yavrularına olan etkisi üzerinde durulmuştur.

Araştırma iki tekerrürlü ve iki aşamalı olarak kurulmuştur. Birinci aşamasında, 8 haftalık sürede laboratuvar şartlarında hazırlanan ve diludin katkı maddesi ilave edilen yem kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonunda örnekler -80°C de saklanmıştır

İkinci aşamasında, 6 haftalık sürede ise ticari yemin öğütülmesi ile diludin katkı maddesi katılan yem kullanılmış, çalışma sonunda balıklardan örneklemeler alınmış ve stres testi yapılmıştır. Stres testinde uygulanan streslerden 12, 24 ve 48 saat sonra örneklemeler yapılmıştır. Yapılan çalışmada aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

Daha önceki çalışmalar diyetset diludin maddesinin sazanlarda %35'e kadar daha fazla büyüme sağladığını bildirmiştir (Goncharova *et al.* 2002, 2005). Son yıllarda yapılan bir çalışmada (Hisar *et al.* 2012) diludin katkılı yem maddesinin potansiyel etkisini araştırdıkları bir çalışmada benzer sonuçlar bulmuşlar diludin maddesinin büyümede pozitif etki yaptığını rapor etmiştir. Söz konusu çalışma bizim çalışmamıza göre daha soğuk su (9,5°C) ortamında yapılmış balıklar ağırlıklarını yaklaşık 5 katına

çıkarmışlardır. Bizim çalışmamızda büyümedeki etkiyi daha net görebilmek için daha çeşitli dozlar kullanılmış ve çalışma sonunda balıkların ağırlıkları başlangıç ağırlıklarına göre yaklaşık 81 katına çıkmıştır. Çalışmanın ilk 8 haftasında yemdeki 2mg/kg diludin düzeyi kontrol grubu ile aynı büyüme seyri sağlarken 1mg/kg diludin büyümede gerilemeye sebep olmuştur. Diğer yandan diludin dozunun artırıldığı son 6 haftalık dönemde ise 3mg/kg diludin seviyesinin büyümede kontrol grubuna göre daha yüksek büyüme sağladığı gözlenmiştir. Mevcut çalışmada yaşama gücü ile diyetel diludin etkileşimi önemli derecede olmamıştır. Çalışmamızda ayrıca yemdeki diludin maddesinin balıklarda vücut yağlarında düşüşe neden olduğu da tespit edilmiştir. Bu durum ileride yapılacak büyüme çalışmalarının moleküler düzeyde tasarlanması gerektiğine işaret etmektedir.

Antioksidan enzim aktivitesi analiz sonuçlarında CAT aktivitesinin en düşük olduğu grubun D1 diyeti ile beslenen grupta olduğu, en yüksek aktivitenin ise D0 grubunda olduğu görülmüştür. SOD aktivitesi sonuçlarına bakıldığında ise D1 ve D2 diyetleri ile beslenen balıklarda daha yüksek ve birbirine yakın değerlerde olduğu D0 grubunda ise bu oranın daha düşük olduğu görülmüştür. GST enzim aktivitesinde ise en düşük değerin D1 diyeti ile beslenen balıklarda olduğu en yüksek aktivitenin D2 ile beslenen balıklarda olduğu görülmüştür. Buna rağmen istatistiksel olarak antioksidan enzim aktiviteleri arasında bir fark bulunamamıştır. Çalışmamızın aksine, Hisar *et. al.* (2012) yapmış oldukları çalışmada diludin ile beslenen balıkların karaciğer dokularında bir hareketlilik tespit etmişler SOD ve GST aktivitelerinin yüksek olma eğiliminde ve GPx aktivitesinin tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmada uygulanan stresin karaciğer yağlanmasına sebep olduğu buna karşı en düşük karaciğer yağlanmasının D2 diyeti ile beslenen grupta olduğu en yüksek seviyenin D0 grubunda olduğu görülmüştür. Ayrıca stresten 12 saat sonra balıkların karaciğerindeki OA miktarında düşüş görülmekteyken DHA miktarında ise artış tespit edilmiştir. Bu durum balıkların stres altındayken fizyolojik öneme sahip DHA'yı koruma eğiliminde olduklarının bir göstergesi olabilir (Arslan *et al.* 2012). Stres sonrası HSP70 gen ekspresyonu da artış göstermiştir. Bununla birlikte yukarıda bahsedilen

karaciğer yağlanması ve yağ asitlerindeki tercihi tutulma gibi strese karşı gösterilen fizyolojik tepkiler diyetlerden bağımsız olarak gerçekleşmiştir.

Sonuç itibarı ile diyetset diludin maddesinin gökkuşığı alabalığının büyüme performansı ve bazı biyokimyasal parametrelerine etkisinin sıcaklığa, doza ve canlının yaşam evresine bağılı olarak değişebileceğı düşünölmektedir. Mevcut sonuçlar ışığında 3mg/kg diludin seviyesinin gökkuşığı alabalığı yavrularında büyümede pozitif etki yapabileceğı söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Alagil, F., 2005. Yüksek enerjili yemle beslenen gökkuşığı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) yemleme ritminin besin maddelerinin sindirimi, büyüme ve vücut kompozisyonu üzerine etkisi. Y. Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Alak, G., 2011. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Bağırsak Florası ile Filetolarının Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Arıman H., Aras N. M. 2002. Hormon veya Hormon Etkisine Sahip Yem Katkı Maddelerinin Balık Yetiştiriciliğindeki Kullanımı. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 19, 545 – 553.
- Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Arslan, H., Aras, M., 2012. The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of brown trout, *Salmo trutta*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12 (3): 575 – 583.
- Atasever, A., Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Ekinci, D., Senturk, M., 2014. Infuence of differern dietary lipids on the activity of metabolic enzymes in Brown trout (*Salmo trutta*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14, 31-36.
- Barcellos, L. J. G., Kreutz, L. C., Quevedo, R. M., 2006. Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundia (*Rhamdia quelen*, Quoy and Gaimard) fingerlings, Aquaculture , 253, 317– 321.
- Caballeroa, M.J., Obachb, A., Rosenlundb, G., Monteroa, D., Gisvoldb, M., Izquierdo, M.S., 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 214, 253–271.
- Chen, Y. J., Liu, Y. J., Tian, L.X., Niu, J., Liang, G.Y., Yang, H. J., Yuan, Y.,Zhang, Y. Q., 2013 Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on growth, body composition, and antioxidant defense mechanism in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoide*) fed oxidized fish oil. Fish Physiol Biochem, 39, 593–604.
- Choubert, G., Mendes-Pinto, M. M., Morais, R., 2006. Pigmenting efficacy of astaxanthin fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Effect of dietary astaxanthin and lipid sources. Aquaculture, 257, 429–436.
- Chougbert, G., 2010. Response of Rainbow Trout(*Oncorhynchus mykiss*) to veyring dietary astaxanthin/cantahaxanthin ratio: colour and carotenoid retention of the muscle. Aquaculture Nutrition, 16, 528–535.
- Dindia, L., Faught, E., Leonenko, Z., Thomas, R., Vijayan, M. M., 2013. Rapid cortisol signaling in response to acute stress involves changes in plasma membrane order in rainbow trout liver, Am J Physiol Endocrinol Metab, 304 1157–1166.
- Fontagné-Dicharry, S., Lataillade, E., Surget, A., Larroquet, L., Cluzeaud, M., Kaushik, S., 2014. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 424–425.

- Erdoğan, O., Küfrevioğlu, Ö.İ. ve Çankaya, M., 2008. Balık Dokusundan RNA Saflaştırılması. Su ürünlerinde uygulamalı moleküler biyoloji teknikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları. Erzurum, Türkiye. No:237, 90-93
- Falahatkar, B., Poursaeid, S., 2013. Stress responses of great sturgeon *Huso huso* subjected to husbandry stressors, *Aquacult Int*, 21, 947–959.
- FAO verileri. <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en>. (13.06.2014)
- Folch, J., Less, M., Stanley G. H. S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497–509.
- Fontagné-Dicharry, S., Lataillade, E., Surget, A., Larroquet, L., Cluzeaud, M., Kaushik, S., 2014. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 220-227.
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Mamauag, R. E. P., 2014. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. *Aquaculture*, 84–90.
- Goncharova R.I., Slukvin A.M., Anoschenko B.Y., Smolich I.I., Nikitchenko N.V., Kochetova N.P., Duburs G., Uldrikis J. and E Bisenieks, 2005. Diludine – an effective growth stimulator in common carp. *New Challenges in Aquaculture*. April 26-28 Ceske, Budejovice, Czech Republic.
- Goncharova, R., Slukvin, A., Duburs, G., Uldrikis, J., Bisenieks E., 2002. Promising antimutagen for improving reproductive indices of striped fishes and the quality of their progeny/European Aquaculture Society Special Publication, 31:63–66.
- Gökalp, H. Y. Kaya, M. Tülek, Y. ve Zorba, Ö., 2001. Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu (4. Baskı). Atatürk Üniv. Yayın No:751, Zir. Fak. Yay. No:318, Ders Kitapları Serisi No: 69, Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.
- Guimarões, I.G., Limb, C., Yildirim-Aksoy, M., Lic, M.H., Klesius, P.H., 2014. Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 188, 126– 136.
- Hisar, O., Yanık, T., Kocaman, E.M., Arslan, M., Slukvin, A., Goncharova, R., 2012. Effect of diludine supplementation on growth performance, liver antioxidant enzyme activities and muscular trace elements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles at a low water temperature, *Aquaculture Nutrition*. 18 ,211– 219.
- Hoogenboom, M. O., Metcalfe, N. B., Groothuis, T. G.G., Vries B.D., Costantini, D., 2012. Relationship between oxidative stress and circulating testosterone and cortisol in pre-spawning female brown trout. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A 163, 379–387.
- Hosoya, S., Johnson, S.C., Iwama, G.K., Gamperl, A.K., Afonso, L.O.B., 2007. Changes in free and total plasma cortisol levels in juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) exposed to long-term handling stress. *Comparative Biochemistry and Physiology*, A 146, 78–86.
- Kaymak, İ. E., 2013. Bitkisel protein bazlı juvenil gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine betain ilavesinin balığın büyüme performansı ve yem tüketimi

- üzerine etkisi. Y. Lisans Tezi, Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Keleştemur, G. T., Seven, İ., 2013. Effects of dietary propolis and vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under different flow rate. *Aquaculture Research*, 44, 1120-1131.
- Keleştemur, G. T., Özdemir Y., 2013. Effects of dietary vitamin A and E on growth performance and antioxidant status in blood of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, w. 1792) exposed to flow rate stress. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(3), 821-827.
- King, W., Berlinsky, D.L., 2006. Whole-body corticosteroid and plasma cortisol concentrations in larval and juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L. following acute stress, *Aquaculture Research*, 37, 1282-1289.
- Kiron V., Puangkaew J., Ishizaka K., Satoh S., Watanabe T., 2004. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. *Aquaculture*, 234, 361-379.
- Köse, İ., 2011. Bitkisel yağ içeren diyetlerin gökkuşağı alabalığının büyümesine ve yağ asidi kompozisyonuna etkisi. Y. Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Köse, M. T., 2008. Su Ürünleri Ve Beslenme Açısından Önemi, http://www.doktorumonline.net/mid/articles/id/203/p/1/SU_uRuNLERi_VE_BE_SLENME_AciSiNDAN_oNEMi.htm, (26.06.2014).
- Lakeh, A.A.B., Ahmadi, M. R., Safi, S., Ytrestoy T., Bjerkeng B., 2010. Growth performance, mortality and carotenoid pigmentation of fry offspring as affected by dietary supplementation of astaxanthin to female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock. *Applied Ichthyology*, 26, 35-39.
- Li, J., Liang, X. F., Tan, Q., Yuan, X., Liu, L., Zhou, Y., Li, B., 2014. Effects of vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Aquaculture*, 430, 21-27.
- Li, M., Chen, L., Qin, J. G., Li, E., Yu, N., Du, Z., 2013. Growth performance, antioxidant status and immune response in darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli* fed different PUFA/vitamin E dietary levels and exposed to high or low ammonia. *Aquaculture*, 18-27.
- Metcalf, L.D. and Schmitz, A.A., 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis, *Anal. Chem.*, 33, 363-364.
- Meyers, S.P., 1994, Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids, *Pure and Applied Chemistry*, 66, 1069-1076.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351-358.
- Oka, 2013 Orta Karadeniz Kalkınma Ajansı Su Ürünleri ve Balıkçılık Sektör Raporu.
- Parlak, V., 2010. DDVP (2,2-Diklorovin Dimetil Fosfat)'nin gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1972)) GH-I, IGF-I ve IGF-II gen ekspresyonları üzerine etkisi. Y. Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe T., 2005. Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly

- unsaturated fatty acids and vitamin E contents. *Comparative Biochemistry and Physiology, C* 140, 187–196.
- Qiu, X., Chen, S., Dong, S., 2013. Effects of silver carp antioxidant peptide on the Lipid oxidation of sierra fish fillets (*Scomberomorus niphonius*) during frozen storage. *Journal of Food Biochemistry*, 38, 167–174.
- Sahin, K., Orhan, C., Yazlak, H., Tuzcu, M., Sahin, N., 2013. Lycopene improves activation of antioxidant system and Nrf2/HO⁻¹ pathway of muscle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with different stocking densities. *Aquaculture*, 430, 133–138.
- Sahin, K., Yazlak, H., Orhan, C., Tuzcu, M., Akdemir, F., Sahin, N., 2014. The effect of lycopene on antioxidant status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under high stocking density, *Aquaculture* 32–138.
- Sedlak, J., Lindsay, RHL., 1968. Estimation of total, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205) TÜİK veriler. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/balikkilikdagitimapp/balikkilik.zul>. (28.06.2014)
- Şahin, Y., 2011. AB ve İş Dünyası: Balıkçılık Sektörü. İktisadi Kalkınma Vakfı. TÜİK verileri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/balikkilikdagitimapp/balikkilik.zul> (13.06.2014)
- Yavuzcan, H., Pulatsü, S., Dem, N., Kırkağaç, M., Bekcan, S., Topçu, A., Doğankaya, L., Başçınar, N., 2010. Türkiye’de sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15. Ocak, Ankara.
- Yıldız, M., Eroldoğan, O. T., Engin, K., Gülçubuk, A., Baltacı M. A., 2013. Effects of Dietary Cottonseed and/or Canola Oil Inclusion on the Growth Performance, FA Composition and Organ Histology of the Juvenile Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 453-464.
- Yumuk, H., 2014. Prebiyotik ile beslenmiş kahverengi alabalık (*Salmo trutta fario*) filetolarının raf ömrü üzerine bitkisel yağlı kitosan uygulamasının etkileri. Y. Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Rize’de doğdu. İlk ve orta öğrenimi Rize’de tamamladı. 2008 yılında girdiği Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinden 2012 yılında mezun oldu. 2013 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Tezli Yüksek Lisans eğitimine başladı.