ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilek EĞRİKILIÇ

YEME EKLENEREK KULLANILAN ZEOLİT (Klinoptilolit)' İN, *Aeromonas hydrophila* İLE ENFEKTE EDİLMİŞ TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARIN KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEME EKLENEREK KULLANILAN ZEOLİT (Klinoptilolit)' İN, *Aeromonas hydrophila* İLE ENFEKTE EDİLMİŞ TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARIN KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dilek EĞRİKILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 22./ 12/ 2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği/Oy Çokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza……..İmza……...İmza…….

Öğr.Gör.Dr.ArgunA.ÖZAK Prof.Dr.İbrahim CENGİZLER Yrd.Doç.Dr.A.Erdem DÖNMEZ

Danışman Üye Üye

Bu tez Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:……

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: SÜF2007YL2

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEME EKLENEREK KULLANILAN ZEOLİT (Klinoptilolit)' İN, *Aeromonas hydrophila* İLE ENFEKTE EDİLMİŞ TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARIN KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dilek EĞRİKILIÇ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Öğr. Gör. Dr. Argun Akif ÖZAK

Yıl : 2009, Sayfa: 56

Jüri : Öğr. Gör. Dr. Argun Akif ÖZAK
Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER
Yrd. Doç. Dr. Erdem DÖNMEZ

Bu çalışmada, *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilmiş Tilapia *(Oreochromis niloticus*)' lara zeolit katkılı yemle besleme yapılmış ve zeolitin kan parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Üç farklı deneme kurulmuştur. Besleme süresi 60 gün olan deneme gruplarından I. deneme grubu zeolit katkılı yemle beslenmiş ve bu süre sonunda ($1,9x10^{6}$ kob/ml) *A. hydrophila* intraperitonal (ip) olarak enjekte edilmiştir, II. deneme grubu alabalık yemiyle beslenmiş ve bu süre sonunda *A. hydrophila* (ip) olarak enjekte edilmiştir. III. deneme grubu zeolit katkılı yemle beslenmiştir. Enjeksiyondan sonra 7,14 ve 21. günlerde balıklardan alınan kan örneklerinde; hematokrit (Hct), eritrosit (RBC), lökosit (WBC), hemoglobin miktarı ve periferik yayma tespit edilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda, III. deneme grubundan elde edilen değerler İle kontrol grubundan elde edilen değerler benzerlik göstermiştir. I ve II. deneme gruplarından elde edilen hematokrit, eritrosit ve lökosit değerleri istatistiki olarak önemli derecede farklı olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Zeolit (Klinoptilolit), Tilapia, *Aeromonas hydrophila*, hematoloji

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECTS OF DIETARY INCLUSION OF ZEOLITE (Clinoptilolite) ON BLOOD PARAMETERS OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) INFECTED BY *Aeromonas hydrophila*

Dilek EĞRİKILIÇ

DEPARTMENT OF FISHERIES
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Dr. Argun Akif ÖZAK

Year : 2009, Pages: 56

Jury : Dr. Argun Akif ÖZAK
Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER
Ass. Prof. Dr. Erdem DÖNMEZ

.

In this study, the effects of Zeolite (Clinoptilolite) added feed on some blood parameters of *Aeromonas hydrophila* infected Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.), were investigated. Fot his purpose, three different experiments were conducted.

In the first experiment: fish were fed with %2 clinoptilolite added fish pellets for 60 days. At the end of the 60 days feeding period *Aeromonas hydrophila* (1,9 x 10^6 kob/ml) was injected intraperitonally and feeding was continued for 30 days more. In the second experimental group; fish were injected with the same bacteria after 60 days feeding with fish pellets with no additives. Feeding was continued with normal fish pellets for 30 days more after bacteria injection. Fish in the third experimental group were fed with %2 clinoptilolite for 90 days without any bacterial injection. Finally the control groups were fed for 90 days with normal fish pellets without any feed additives. Blood samples from each group were collected on the 7,14 and 21 days after bacteria injection. Blood smears were made and haematocrit (Hct), erythrocyte (RBC), leucocyte (WBC) and haemoglobin values were determined.

Results obtained from 3rd experimental and control groups were found similar. Statistically important differences were found for the levels of haematocrit (Hct), erythrocyte (RBC), leucocyte (WBC) and haemoglobin for the first and second experimental groups.

Key words: Zeolite(clinoptilolite), Tilapia, *Aeoromonas hydrophila*, haematology

TEŞEKKÜR

Tezime başladığım andan itibaren desteklerini, ilgilerini ve bilgilerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr.İbrahim CENGİZLER'e ve danışman hocam Öğr.Gör.Dr.Argun Akif ÖZAK'a, yüksek lisansa başladığım andan itibaren maddi, manevi desteğiyle her zaman yanımda olan çok değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Aysel ŞAHAN'a, laboratuar çalışmalarım aşamasında yardımını esirgemeyen değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Fatmagün SARIHAN'a, ayrıca yardımlarından dolayı hocalarım Uzm. İbrahim DEMİRKALE' ye ve Ar. Gör. Ş. Surhan Tabakoğlu'na, denemelerim boyunca yanımda olan meslektaşlarım ve yakın arkadaşlarım, Ruhay ALDIK'a, Mehtap CANLI'ya, Ruhan ALDIK ve Yasemin BULUT'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Büyük fedakarlıklarla her zaman sonsuz sabır, sevgi ve destekleriyle yanımda olan çok değerli babam Samet EĞRİKILIÇ'a, annem Fatma EĞRİKILIÇ'a, kardeşlerim Demet ve Buket EĞRİKILIÇ' a, ayrıca sevgisini, ilgisini ve desteğini esirgemeyen nişanlım Güray ASKER'e gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ…… I
ABSTRACT…… II
TEŞEKKÜR……... III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ…….. IV
ÇİZELGELER DİZİNİ ……...VI
ŞEKİLLER DİZİNİ…….. VII
1. GİRİŞ.....1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....4
3. MATERYAL VE METOD.....10
3.1. MATERYAL.....10
3.1.1. Balık Materyali.....10
3.1.2. Yem Materyali ……...11
3.1.3. Enfeksiyon Materyali.….....12
3.1.4. Denemede Kullanılan Diğer Materyaller…….……...13
3.2. METOD…….……..14
3.2.1. Denemelerin Kurgusu ……...……..14
3.2.2. Deneysel Enfeksiyonun Oluşturulması ve
Lethal Doz 50’ nin Hesaplanması……...15
3.2.3. Balıklardan Kan Örneklerinin Alınması…….....17
3.2.4. Hematokrit Değerinin Belirlenmesi……17
3.2.5. Eritrosit ve Lökosit Miktarının Belirlenmesi……..18
3.2.6. Hemoglobin Miktarının Belirlenmesi…….19
3.2.7. Periferik Yayma……..19
3.3. İstatistik Analizler……...20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA……21
4.1. BULGULAR……...21
4.1.1. Enfekte Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları…….....21

4.1.2. Hematokrit Değerleri ……25
4.1.3. Eritrosit ve Lökosit Değerleri…….26
4.1.4. Hemoglobin Değerleri ……...29
4.1.5. Periferik Yayma……..30
4.2. TARTIŞMA……35
4.2.1. Hematokrit Değer……...35
4.2.2. Eritrosit ve Lökosit Değerleri…….37
4.2.3. Hemoglobin Değerleri……40
4.2.4. Periferik Yayma……..41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER…….43
KAYNAKLAR……45
ÖZGEÇMİŞ ……56

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1. *A. hydrophila'*nın morfolojik fizyolojik ve biyo kimyasal özellikleri ……13
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan akvaryumlar, balık sayısı, uygulanan yem, *A. hydrophila* ve deneme süresi……...15
Çizelge 4.1. *A. hydrophila* (A.h) ile enfekte edilmiş deneme gruplarında (I ve II) görülen klinik semptomlar.....24
Çizelge 4.2. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları hematokrit ortalamaları ve standart hataları……...25
Çizelge 4.3. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları eritrosit ortalamaları ve standart hataları……27
Çizelge 4.4. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları lökosit ortalamaları ve standart hataları……28
Çizelge 4.5. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları Hemoglobin ortalamaları ve standart hataları.....30
Çizelge 4.6. Araştırmada elde edilen lökosit hücre tiplerinin % değerleri……31

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. Denemede kullanılan Tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1758) (orjinal)……...11
Şekil 3.2. Toz formdaki yem katkı maddesi klinoptilolit (orjinal)……..…..11
Şekil 3.3. Gram negatif *Aeromonas hydrophila* bakterisinin görünümü(orijinal).....12
Şekil 3.4. *Aeromonas hdrophila*'nın intraperitonal olarak balıklara enjeksiyonu 17
Şekil 4.1. Bakteri enjeksiyonuna bağlı oluşan renk koyulaşması (orijinal).....22
Şekil 4.2. Bakteri enjeksiyonu sonrasında oluşan yüzgeçlerde hiperemi (orjinal) ……..22
Şekil 4.3. Kuyruk ve pectoral yüzgeçlerde ileri düzeyde erimeler (orjinal) ……..22
Şekil 4.4. Enfeksiyon sonrasında gözlerde ekzoftalmus oluşumu (orjinal) ……...23
Şekil 4.5. Operkulum kapağında ve yüzgeç tabanlarında görülen hemoraji (orjinal) ……..23
Şekil 4.6. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları ortalama hematokrit değerlerine ait sütun grafiği ……26
Şekil 4.7. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları eritrosit ortalamalarına ait sütun grafiği……...27
Şekil 4.8. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları lökosit ortalamalarına ait sütun grafiği……...29
Şekil 4.9. Günlere bağlı olarak konrol ve deneme grupları haemoglobin ortalamalarına ait sütun grafiği…….30
Şekil 4.10. Deneme grubu kan hücrelerinden eritrosit (E) ve lenfosit (L) (orjinal)…….. 33
Şekil 4.11. Deneme grubu kan hücreleri: a) nötrofil (N), b) erirosit (E) ve monosit (M) (orjinal) ……34

1. GİRİŞ

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan türlerden biri olan Tilapia (*Oreochromis niloticus* L)(Şekil 3.1), dünyada yaygın olarak kültürü yapılan balıklar arasında ikinci sıradadır (Plumb, 1999). Dünyadaki Tilapia üretiminin yaklaşık olarak 1,5 milyon ton düzeyine ulaşması ve bunun %66,6' sının yetiştiricilikle elde edilmiş olması protein kaynağı olarak da bu türün önemini arttırmaktadır (Roderick, 2001).

Tilapia üretiminin hızlı bir şekilde artması, daha soğuk sularda ve kültür koşulları altında üretme çalışmaları, yetiştiricilerin birim alanda verimliliği yükseltmek için stok yoğunluklarını arttırmaları balıklar için uygun olmayan ortam koşulları yaratmakta ve buna bağlı olarakda enfeksiyöz hastalıkların daha ciddi sorunlar olarak ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Plumb, 1999). Nadiren enfeksiyöz hastalıklara yakalanan Tilapia'lar, su kalitesindeki olumsuzluklar, yoğun stoklama, yanlış besleme rejimleri ile düşük su sıcaklığının meydana getirdiği stres koşulları altında diğer balıklara göre daha fazla etkilenebilirler (Plumb, 1999).

Yetiştiricilik sektöründe yıllar içerisinde kaydedilen tüm gelişmelere rağmen, balık hastalıkları yetiştiricilikte önemli bir sorun oluşturmaktadır. Özellikle bakteriyel enfeksiyonların balık sağlığı ve ülke ekonomisine olan etkileri ciddi boyutlarda da olabilmektedir.Tilapialarda da enfeksiyonlara neden olan bakteri türleri arasında *Aeromonas* cinsi bakteri türleri özellikle tatlısu balıklarında doğal floranın baskın unsurlarından olup fırsatçı patojen karakterleriyle hastalıklara neden olurlar (Arda ve ark, 2002). *Aeromonas* enfeksiyonun şiddeti aynı zamanda oksijen, pH, sıcaklık ve stok yoğunluğu gibi çevresel faktörlerden de etkilenmektedir (Klein ve Wu, 1974).

Balık yetiştiriciliğinin önem kazanmasıyla birlikte, balığın büyüme performansı, yumurta kalitesi ve hastalıklara karşı dirençlerinin arttırılması gibi gereksinimler ortaya çıkmıştır. Bunları sağlamak amacıyla yemlere, koruyucular (acılaşmaya ve küflenmeye karşı), tatlandırıcılar (aroma vb.), renk ve parlaklığa yönelik maddeler, gelişim hızlandırıcı olarak anabolik hormonlar, antibiyotikler, vitamin ve mineraller, nöroleptikler, sentetik uyarıcılar, enzim ve probiyotikler gibi pek çok katkı maddeleri eklenmektedir (Arıman ve Aras, 2001).

Yukarıda sayılan yem katkı maddelerine ilave olarak, son yıllarda kullanımına başlanan silikatlardan biri olan zeolit, bazı ağır metallerin ortamdan elimine edilmesi ve su kalitesinin yükseltilmesi gibi amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır (Çelebi ve ark, 2004; Eleroğlu ve Yalçın, 2004; Töre, 2006).

Zeolit, 40'dan fazla doğal mineral grubuna verilen genel bir isimdir. Bunlardan en önemlileri klinoptilolit, şabazit ve analsim'dir. Ayrıca 150'yi aşkın sentetik minerali de mevcuttur. Zeolit, volkanik küllerin su ortamında değişime uğraması sonucunda oluşan (Sarıçiçek, 1995) ve birbirlerine kanallarla bağlanan, düzgün gözeneklere sahip kristal yapıda, kolay ve bol bulunan alüminyum silikat yapısında bileşikler olup Na, K, Ca, Mg gibi aklali ve toprak alkali elementleri içerir (Sarıçiçek, 1995). Ayrıca amonyum iyonu ve diğer katyonları tutma kapasitesine sahiptirler. Amonyum'un yokedilmesi, zeolitin partikül büyüklüğüne ve sudaki anyon-katyon kompozisyonuna bağlıdır (Nyugen ve Tanner, 1998). Yapısında büyük değişim olmaksızın katyon değişim özelliği, su kaybetme ve kazanma özelliği ile karakterize edilir (Altan ve ark, 1998). Zeolit minerallerinin fizikokimyasal (iyon değiştirme, dehidratasyon ve rehidrotasyon) özellikleri, bunların çok değişik alanlarda, özellikle tarım ve hayvancılıkta (gübre ve toprak ıslahı, tarımsal mücadele, toprak kirliliğinin kontrolü, besicilik, hayvan dışkılarının ıslahı, su kültürü) kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Mumpton, 1981; Tsitsishvili ve ark, 1992) .

Ayrıca, göl, gölet ve nehirlerdeki organik atıkların neden olduğu kirliliğin temizlenmesi ve atık suların özellikle N (Azot) bileşikleri ile ağır metallerden arıtılması, denizel ortamlarda su yüzeyindeki petrolün absorblanması, balık havuz sularının temizlenmesi ve oksijen oranının arttırılması ile canlı balık taşıması sırasında meydana gelebilecek olası kirliliğin kontrolü amacıyla kullanılabilmektedir (Mumpton, 1999; Alp, 2005; Sarıoğlu, 2005; Anonymous I, 2006; Anonymous II, 2006).

Kanada, ABD ve Japonya'daki uygulamalar, hayvan yemine zeolit katılmasının, hayvanların büyümesine ve kilo almasına olumlu etkilerinin olduğunu ve böylece yemin daha verimli ve daha etkin bir biçimde kullanılabildiğini göstermiştir (Phillips, 1999). 1965 yılından bu yana, özellikle Japonya'da klinoptilolit ve mordenit gibi zeolitlerin besicilik alanında kullanımı konusunda

yapılan çalışmalar sonucunda, %10'a kadar zeolit ilave edilmiş yemlerle beslenen tavuk, domuz ve geviş getiren hayvanların, normal yemlerle beslenenlere oranla sağlıkları bozulmaksızın ağırlıklarının arttığı belirlenmiştir. Bu araştırmalarda amonyumu belirli oranlarda tutan klinoptilolit'in, hayvan sindirim sisteminde azot (N) depolama görevi yaptığı bildirilmiştir. Depolanan N sayesinde, sindirilmiş besinlerin amonyumu daha yavaş bıraktığı dolayısylada hayvansal protein üretiminin arttığı saptanmıştır. Ayrıca, yapılan bu çalışmalarda, hayvanların ölüm oranları ve hastalanma düzeyinde belirgin düşüşler saptanmıştır (England, 1975; Kondo ve Wagai, 1968; Onagi, 1968; Torri, 1974; White ve Ohlrogge, 1974; Eleroğlu ve Yalçın, 2000). Zeolit, besinlerde oluşabilen toksik ajanları özellikle aflatoksin'leri etkili bir şekilde absorbe etmektedir (Parlat ve ark,1999; Phillips, 1999; Oğuz ve Kurtoğlu, 2000). Ayrıca zeolit'lerin antibakteriyel ajan olarak kullanıldığı ve bu özelliklerinin zeolitin alkalitesinden, tamponlama kapasitesinden, Cu, Pb ve Cd gibi bazı ağır metalleri absorblamasından kaynaklandığı bildirilmektedir (Papaioannou ve ark, 2004).

Zeolitin, balık ve karides havuzlarında NH_3 ve H_2S seviyelerini azalttığı, bu sayede balık ve karides büyüme oranlarında ve populasyon yoğunluğunda artış sağlanabildiği bildirilmiştir (Anonymous III, 2006).

Bu çalışmada, balık yetiştiriciliğinde yem katkı maddesi olarak kullanılan klinoptilolit'in *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilmiş Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların kan parametreleri üzerine etkileri, ayrıca koruyucu ve tedavi edici özelliğinin olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeolit minerallerinin, su kalitesi üzerine olan etkileri ile su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle balık besleme alanında yem katkı maddesi olarak kullanımına ilişkin bazı çalışmalar bulunmasına karşın, zeolitin, balıkların kan parametrelerine etkisi üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu bölümde, zeolitin su kalitesi üzerine etkileri ile balık ve diğer canlı türlerinde yem katkı maddesi olarak kullanımını içeren çalışmalara da yer verilmiştir. Ayrıca bakteriyel enfeksiyonların farklı balık türlerinin kan parametrelerine etkisi üzerine yapılmış araştırmalarda yine bu bölümde yer almaktadır.

Deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) yavrularında, üç farklı dolgu maddesi selüloz, silikat ve klinoptilolit kullanarak düzenlenen bir çalışmada, %10 ve %20 oranında kullanılan katkı maddeli rasyonların, büyüme performansına, protein sindirilebilirliğine ve yemden yararlanma oranına önemli bir etkide bulunmadığı fark edilmiş, bununla beraber %20 dolgu maddeli rasyonların, kontrol rasyonuna oranla daha uzun sürede, fekal atımı gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Dias ve ark, 1998).

Kanyılmaz (2008), farklı oranlardaki zeolit (%1, 2, 3 ve 4)' in pullu sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758)' ların büyüme ve bazı kan parametreleri üzerine olan etkilerini incelediği çalışmasında, yapılan kan analizleri sonuçlarına göre, glikoz ve kan üre azotu düzeyinin azaldığı, hemoglobin seviyesinin arttığı ($p<0,05$) lökosit ve kolesterol düzeyinin değişmediğini bildirmiştir.

Aybal (2001), Gökkuşağı Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*)'larının yemlerine %1, 2, 3, 4, 5 ve 6 oranında klinoptilolit ilave ederek yaptığı 60 günlük besleme sonunda, alabalıkların canlı ağırlığının 139 gr'dan 320 gr'a ulaştığını bildirmiştir.

Töre (2006), zeolit ve nişastayı, tilapia yeminde katkı maddesi olarak (nişasta %10 ve 20, zeolit %10 ve 20) kullandığı çalışmasında, deneme gruplarından alınan kan örneklerindeki kolesterol, glikoz, trigliserit sonuçlarına göre, gruplar arası fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Büyüme ve yem değerlendirme performansları üzerine kayda değer bir etkisinin olmadığını bildirmiş ve daha düşük oranların çalışılmasının gerektiğini önermiştir.

Danabaş (2009), klinoptiloliti gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nın yemine (%1, 2 ve 3 oranlarında) uygulayarak, balık gelişimi ve vücut kompozisyonuna etkilerini araştırdığı çalışmasında, yeme katılan klinoptilolit oranlarının, canlı ağırlık, total boy, spesifik büyüme oranı, yaşama oranı, ham protein, kuru madde ve ham kül değerlerini arttırdığını ($P<0,05$), viserosomatik indeksi azalttığını ($P<0,05$), hepatosomatik indeks değerlerini etkilemediğini bildirmiştir.

Jonathan ve ark. (2008), juvenil gökkuşağı alabalıklarının (*Onchorhynchus mykis)* rasyonlarına Bentonit (% 2,5, 5 ve 10) ve Mordenit (% 2,5, 5 ve 10) ekleyerek vücut kompozisyonlarını inceledikleri çalışmalarında % 5 ve 10 bentonit ve % 2,5 mordenit katkılı yemle beslenen deneme gruplarındaki balıkların vücut ağırlığı, spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranlarının kontrol grubundan önemli derecede ($P<0,05$) farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Obradovic ve ark. (2006), bir zeolit türü olan Minazeli, gökkuşağı alabalıklarının ortam suyuna, % 1 oranında zeoliti ise, balıkların rasyonuna ekleyerek su parametrelerini ve balıkların vücut kompozisyonlarını incelemişler. Sonuç olarak ortam suyuna eklenen Minazel'in suyun sertlik derecesini, nitrat ve amonyak değerlerini azaltığını, rasyona eklenen zeolitin ise balıkların büyüme hızına ve ağırlıklarına etkisinin pozitif yönde olduğunu bildirmişlerdir.

Alçiçek ve ark. (1998), zeolit'in (%0,1 ve 5) etlik piliç karma yemlerine eklenmesinin, piliç performansı ve kan serum parametreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmanın sonucunda, zeolit eklenmesinin ağırlık ve yemden yararlanma oranını önemli oranda azalttığını, kan serum P (fosfor) konsantrasyonunu ve yem tüketimini arttırdığını ve kan serum kalsiyum (Ca) konsantrasyonunu etkilemediğini bildirmişlerdir.

Gezen ve Eren (2002), civciv rasyonlarına zeolit ilavesinin (%1), büyüme performansı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını antioksidan olarak narasinin kullanıldığı yemlere zeolit ilavesinin büyüme performansını olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Mumpton (1999), %10 klinoptilolit ve mordenit katkılı yemlerle beslenen tavuk ve domuzlar, kontrol gruplarına göre daha hızlı bir büyüme göstermişlerdir.

%5 klinoptilolit ilave edilmiş yemlerle beslenen genç ve olgun domuzlar, normal yemle beslenenlere göre %16 daha fazla ağırlık kazanmışlardır.

Katsoulos ve ark. (2005), ineklerin yemlerine %1,25 ve 2,5 oranında klinoptilolit ilave ederek kan parametreleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında klinoptilolitin hematokrit, hemoglobin ve lökosit değerlerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Petkova ve ark. (1982), yeni doğmuş buzağı yemlerine %2 potasyum-kalsiyum-klinoptilolit eklemenin hemoglobin (Hb) konsantrasyonunu önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Bartko ve ark. (1983) bir çalışmasında vücut ağırlıklarının 0,15g /kg oranında klinoptilolit ile beslenen koyunların Hb konsantrasyonu üzerine klinoptilolitin herhangi bir olumsuz etkisi olmadığını bildirmiştir.

Çelebi ve ark. (2005), yumurta tavuğu rasyonlarına katılan (% 1, 2 ve 3) zeolitin, bazı serum mineral maddeler üzerine etkisini incelemek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, rasyona ilave edilen zeolit miktarına bağlı olarak, Ca düzeylerinde değişme olmazken, P ve Cu düzeylerinin ilave edilen zeolit miktarına paralel olarak önemli derecede ($P<0,05$) azaldığı, Zn ve Al düzeylerinin % 2 ve 3 düzeylerinde önemli derecede ($P<0,05$) arttığı, Mg düzeylerinin ise azaldığını tespit etmişlerdir.

Oğuz ve ark. (2000), etlik piliçlere aflatoksinin zararlı etkilerini engellemek için klinoptilolit uygulamasının yararlı sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Peyghan ve Takamy (2002), sazan balıklarının bulunduğu ortama 150 mg/l amonyak ve 5, 8, 10, 15 ve 20 g/l zeolit ilave ederek 24 saat bekletmişler ve deneme sonunda kontrol, 5, 8, 10 g/l zeolitle muamelelerde ölüm oranlarını sırasıyla, %100, 80, 30, 15, 0 olarak tespit etmişlerdir.

James ve ark. (2000), bakırın olumsuz etkisini gidermek amacıyla tilapia (*Oreochromis mossambicus*)' ların ortam suyuna zeolit (% 0,5, 2, 4 ve 8 g/l^{-1}) uyguladıkları çalışmalarında uygulanan tedavi grupları arasında 2 g/l^{-1} nin diğer deneme gruplarından daha iyi performans gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda dokulardaki bakır birikimini en iyi elimine eden grubun 2 g/l^{-1} zeolit uygulanan grup olduğunu bildirmişlerdir.

Watten ve English (1985), farklı pH değerlerinde (7,0 ve 10,5) tutulan resirküle yetiştiricilik sistemlerinde amonyak birikimini engellemek amacıyla klinoptilolit kullandıkları çalışmada, klinoptilolitin, düşük pH değerinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Emadi ve ark. (2001), plastik torbalarda balıkların taşınması esnasında zeolit kullanılmasının sudaki amonyağı azalttığını bildirmişlerdir.

Örgev ve İnanç (2004), doğal zeolit filtresinden 10 kez geçirilen doğal kaynak suyunun sertlik, elektriki iletkenlik ve pH parametrelerinde sağlanabilecek olan değişiklikleri incelenmişlerdir. Çalışma sonunda, elektriki iletkenlik ve pH parametrelerinde, sırasıyla, % 2,40 ve 10,59 oranlarında; sertlik parametresinde ise, % 59,67 oranında olan çok önemli bir düşüş sağlandığını bildirmişlerdir.

Çelik ve ark. (2001) atık sulardan NH_3'ı uzaklaştırmak amacıyla doğal kil minerallerini kullandıkları çalışmanın sonuçlarına göre, NH_3'ı,zeolitin % 95 –99 oranında; sepiolitinin ise % 70 – 85 oranında uzaklaştırdığını tespit etmişlerdir.

Kaiser ve ark. (2006), karanfil yağı ve zeoliti (20 mg/l), *Haplochromis obliquidens*'in 48 saatlik nakli esnasında kullanmışlardır. Bu çalışmada NH_3 konsantrasyonunu, zeolit kullanılmayan grupta, kullanılan gruba göre, % 360 oranında daha yüksek bulmuşlardır.

Bower ve Turner (1982), yaptıkları çalışmada 40 mg/l oranına kadar uyguladıkları klinoptilolit bulunduğu ortamlarda NH_3 değerinin 0,017 mg/l'yi aşmadığını; buna karşın, zeolit bulunmayan kaplardaki değerinse 0,074 mg/l'ye kadar yükseldiğini saptamışlardır.

Zorpas ve ark. (2008), kanalizasyon sularından ağır metallerin uzaklaştırılması için zeoliti kullandıkları çalışmalarında, zeolitin ağır metallerin önemli bir yüzdesini uzaklaştıramadığını ve bunun da ağır metallerin bağımsız bir formda olmalarından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Kozinska ve Antychowicz (2000), sazanda *Aeromonas hydrophila*'yı iki farklı şekilde (enjeksiyon tarzında ve banyo yoluyla) uygulayarak lökosit sayısına olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, her iki uygulama yönteminde de lökosit sayısının kontrol grubundan yüksek çıktığını bildirmişlerdir.

Rafig ve ark. (2001), Nil tilapiası (*Oreocromis niloticus*)'nda *Aeromonas hydrophila'* ya karşı oluşan immun yanıtı izledikleri çalışmada, lökosit (nötrofil, lenfosit, trombosit, monosit) miktarlarının deneme grupları arasında farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

Peters ve ark. (2000), juvenil gökkuşağı alabalık (*Oncorhynchus mykiss*)'larına iki şekilde (ortam suyuna ve enjeksiyon tarzında) uyguladıkları *Aeromonas hydrophila'* nın kan glikoz seviyesi ve lökosit miktarı üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, enjeksiyon tarzında yapılan uygulamanın kan glikoz seviyesini ve lökosit miktarını önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Maqsood ve ark. (2008), fingerling aşamadaki sazan *(Cyprinus carpio)*' lara *Aeromonas hydrophila*' ya karşı uygulanan Levamisol'ün (125, 250 ve 500 mg/kg) kan parametreleri ve büyüme parametrelerine etkisini araştırmışlar ve toplam eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değer, serum protein, albumin ve globulin miktarındaki önemli ($P< 0,05$) yükselişin özellikle 250 mg/kg levamisol uygulanan grupta olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranının en iyi 250 mg/kg levamisole uygulanan grupta olduğunu bildirmişler, bunu 500 mg/kg ve 125 mg/kg levamisole uygulanan grupların izlediğini rapor etmişlerdir.

Harikrishnan ve ark. (2003), Sazan (*Cyprinus carpio*)' larda *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı tedavi amaçlı uyguladıkları *Azadirachta indica* bitkisinin hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisini araştırmışlar ve lökosit hücrelerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığını, hemoglobin , hematokrit ve eritrosit miktarının ise önemli derecede azaldığını tespit etmişlerdir.

Evenberg ve ark (1986), *A. salmonicida* ile enfekte edilmiş sazan' larda kan hücrelerindeki değişimleri araştırmışlar ve çalışma sonuçlarına göre balıklarda hastalığın yoğun olduğu dönemlerde lökosit sayısında azalmalar olduğunu saptamışlar.

Brenen ve Huizinga, (1986), Altın balık (*Carassius auratus*)'ta *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunun hematokrit düzeyi üzerine etkisini belirlemeye çalışmışlar ve enfeksiyonunun hematokrit düzeyinde azalmalara neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Sarıhan, (2005), Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda levamisol ve *Streptococcus iniae* uygulamasından sonra oluşan immün yanıtı izlemiş ve araştırma sonunda levamisol uygulamasının bazı immün parametreleri arttırdığını bildirmiştir.

Azizoğlu ve Cengizler, (1996), sağlıklı Tilapia (*Oreochromis niloticus*) bireylerinde bazı hematolojik parametrelerin saptanması üzerine yaptıkları bir araştırmada, eritrosit miktarını 2,16-4,005x 10^6/ mm^3, lökosit miktarını 25,6-77,5x 10^3 /mm^3, hematokrit değerini %25- %44, hemoglobin miktarını ise 3-6 dL/g olduğunu bildirmişlerdir.

Altun ve Diler, (1999), Gökkuşağı alabalığı (*Onchorynchus mykiss*)'nda deneysel yolla oluşturulan Kızıl Ağız (*Yersinia ruckeri*) enfeksiyonunun bazı kan parametreleri üzerine etkisini araştırmışlar ve hematokrit, eritrosit ve hemoglobin düzeylerinde azalmalar olduğunu, lökosit düzeyinde ise önemli artışların meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Barham ve ark (1980), *Mycobacterium marinum* ile deneysel olarak enfekte ettikleri tilapia'larda eritrosit miktarlarında azalmalar olduğunu, lökosit miktarlarının ise önemli derecede arttığını saptamışlardır.

Moyner ve ark. (1993), Furunkulosis etkeni *Aeromonas salmonicida* ile enfekte ettikleri Atlantik salmonlarının hematokrit düzeylerinin önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Aralık 2008 ile Haziran 2009 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Denemelerde, ortalama ağırlıkları 85,94±10,42 gr, ortalama boyları 17,85±0,49 cm olan toplam 108 adet Tilapia (*Oreochromis niloticus*) bireyi kullanılmıştır. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlısu Balıkları Araştırma ve Üretim İstasyonu'ndan temin edilen tilapia'lar hastalıklar laboratuvar'ında kurulan akvaryum düzeneklerinde 30 gün boyunca tutularak deneme öncesi ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içinde balıkların parazitolojik ve makroskobik yönden muayeneleri yapılmıştır. Araştırma üç farklı deneme kurgulanarak yürütülmüştür.

3.1. Materyal

3.1.1 Balık Materyali

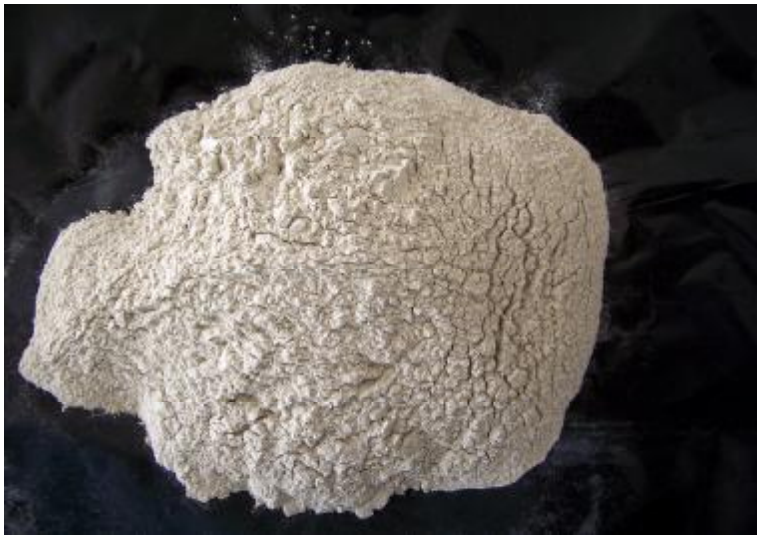
Sıcak ülkelerin iç sular balık yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olan tilapia (Şekil 3.1), Cichlidae familyasının en önemli üyelerindendir (Lovell, 1989). Afrika orjinli bir balık türü olan Tilapia, tropik ve subtropik bölgelere getirilerek yayılım alanları genişletilmiştir (Ogunji, 2004). Hızlı büyümesi, kolayca döl verebilmesi, hastalıklara ve çevresel şartlardaki değişimlere karşı dayanıklı olması, yoğun stok koşullarında yetiştiriciliğinin yapılabilmesi ve etlerinin lezzetli olmasından dolayı yetiştiricilikte tercih edilmektedir (Lovell, 1989).



Şekil 3.1. Denemede kullanılan Tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1758)(orjinal)

3.1.2. Yem Materyali

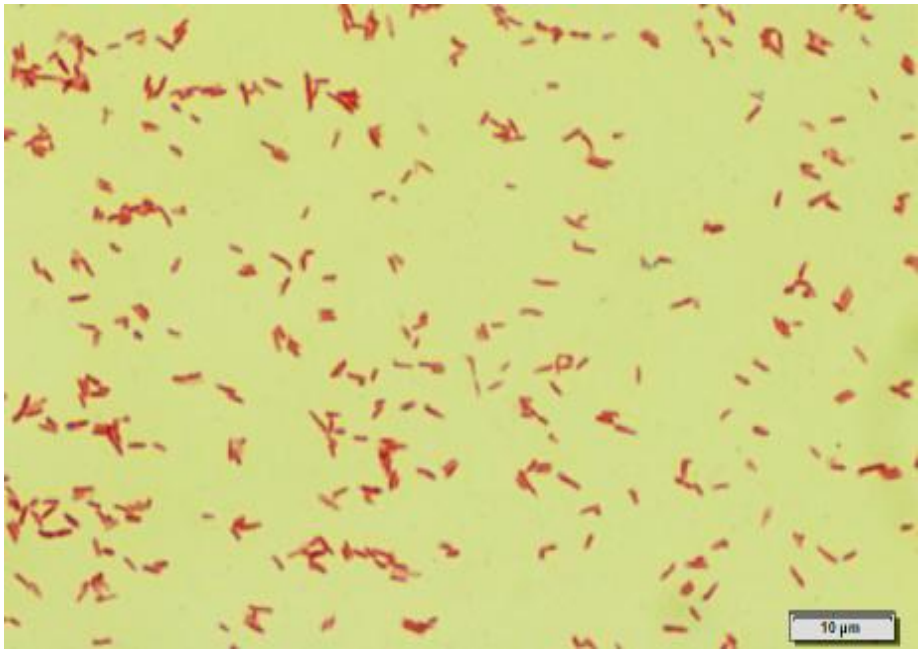
Araştırmada kullanmak üzere %30 ham protein içeren 3 numara pelet alabalık yemi Pınar Yem A.Ş yem fabrikasından satın alınmıştır. Yem katkı maddesi olarak kullanılan toz formdaki Klinoptilolit (Şekil 3.2), Enli Madencilik Sanayi ve Tic. A.Ş., İzmir'den temin edilmiştir. Alabalık yemi, Uzkan marka makinede öğütüldükten sonra, %2 (James ve ark, 2000) oranında zeolit içerisine eklenerek Mateka marka mikserde karıştırılmıştır, daha sonra yemler 3mm çapında olacak şekilde Beysan marka peletleme makinesinde peletlenmiş ve kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.2. Toz formdaki yem katkı maddesi klinoptilolit (orijinal)

3.1.3. Enfeksiyon Materyali

Deneysel enfeksiyon oluşturmak amacıyla kullanılan bakteri türü *Aeromonas hydrophila* (Şekil 3.3) suşu (Ulaşım Numarası :1135, Referans Numarası : 30:225), Eastern Fish Disease Lab. West Virginia,Leetow,USA referans laboratuarından temin edilmiştir. Hareketli Aeromonas'lardan olan *Aeromonas hydrophila*, *Vibrionaceae* familyasına ait, fakültatif anaerobik, gram negatif, çomak şeklinde, özellikle su ortamlarında bulunan bir bakteridir. *Aeromonas hydrophila*'nın, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Tatlı ve tuzlu su kaynaklarında, kanalizasyon sularında ve çevrede yaygın olarak bulunan, bazı sucul canlılarda özellikle de balıklarda hastalık oluşturan fırsatçı bakterilerdir. Hareketli *Aeromonas* türleri, balık yetiştiriciliği yapılan ortamlarda yüksek oranda ölümlere yol açmaktadırlar ayrıca, balık, deniz kabukluları, kurbağa ve insan dahil olmak üzere geniş bir konak dağılımına sahiptirler (Austin ve Adams, 1996; Uzel ve Uçar, 2000).



Şekil 3.3. Gram negatif *Aeromonas hydrophila* bakterisinin görünümü(orijinal)

Etken, su ortamında oluşan organik kirlilik, kötü su kalitesi, özellikle düşük oksijen seviyesinde balıklarda hastalığa neden olmaktadır (Peters ve Ahmed, 1988). Hastalığın ortaya çıkış ve yayılışında stresin önemi büyüktür (Roberts, 2001; Austin ve Adams, 1996; Tsitsishvili ve ark, 1992).

Aeromonas hydrophila enfeksiyonunun inkübasyon süresinin, balık türü ve bağışıklığı ile birlikte çevre koşullarına ve mevsimlere bağlı olarak değiştiği, bu sürenin ise doğal enfeksiyonlarda 2-4 gün, deneysel enfeksiyonlarda 8- 48 saat arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Bach ve ark.,1978; Huizinga ve ark., 1979; Amblacher, 1976; Yardımcı, 2007)

Aeromonas hydrophila'nın neden olduğu Aeromonas septisemisi hastalığı birçok tatlı su, tuzlu su, soğuk ve ılık su türlerini (Cyprinidae, Salmonidae vb) etkilemektedir (Schlotfeldt ve Alderman, 1995). *Aeromonas hydrophila* balıklarda deri lezyonları, hemoraji ve doku yıkımlarıyla beraber, karaciğer ve böbrek dokuda nekroze alanlar oluşturmaktadır (Trust ve ark, 1974; Skoll ve ark, 1998).

Çizelge 3.1**.** *Aeromonas hydrophila*'nın fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri

Özellikler	***A. hydrophila***
Hareketlilik	+
Gram Boyama	-
Katalaz	+
Amilaz	+
Glukoz	+
Laktoz	-
Gelişme 4 C^o	+
Gelişme 22 C^o	+
Gelişme 37 C^o	+
H_2S	+
B-Hemoliz	+

3.1.4. Denemede Kullanılan Diğer Materyaller

Denemede 35x40x60 cm boyutlarında 18 adet plastik akvaryum kullanılmıştır. Deneme öncesi dezenfekte edilen akvaryumların her birine 50 lt. su stoklanmıştır. Denemede 24 saat dinlendirilmiş ve havalandırılmış su kullanılmıştır. Akvaryumlarda havalandırma, hava kompresörü kullanılarak yapılmıştır. Oksijen düzeyi YSI marka oksijen metre ile ölçülmüş ve araştırma boyunca 6,5 – 6,8 $mg.l^{-1}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Su sıcaklığı termostatlı ısıtıcılar kullanılarak

26ºC'ye ayarlanmıştır. Su değişimi akvaryum hacminin %70'i oranında günde 1 kez sifonlamayla yapılmıştır. Akvaryumların üzeri balıkların atlamasını önlemek amacıyla balık ağı ile kapatılmıştır.

Araştırmada balıklara ait fotoğrafların çekiminde Canon 350D dijital fotoğraf makinesi kullanılmıştır. Bakterilerin ve kan yaymalarının incelenmesinde ayrıca kan sayımında Olympus BX51 araştırma mikroskobu ve DP25 dijital kamera kullanılmıştır.

3.2. METOD

3.2.1. Denemelerin Kurgusu

I.Deneme :60 gün boyunca %2 klinoptilolit katkılı yemle beslenmiş Tilapia'lara *Aeromonas hydrophila* enjekte edilerek deneysel enfeksiyon başlatılmıştır. Bakteri ile enfekte edilen balıklar sonraki 30 gün boyunca katkılı yem ile beslenmeye devam edilmiştir. Bakteri enjeksiyonundan sonraki 7, 14 ve 21.günlerde kuyruk sapı kesilerek kan örneklemesi yapılmıştır. Ayrıca nekropsi yöntemiyle iç organ bakılarıda gerçekleştirilmiştir.

Bu deneme ile klinoptilolit'in *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı koruyucu veya tedavi edici özelliğinin bulunup bulunmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

II. Deneme :60 gün boyunca katkısız normal alabalık yemi ile beslenmiş Tilapia'lara *Aeromonas hydrophila* enjekte edilerek deneysel enfeksiyon başlatılmıştır. Bakteri ile enfekte edilen balıklar sonraki 30 gün boyunca normal alabalık yemi ile beslenmeye devam edilmiştir. Bakteri enjeksiyonundan sonraki 7, 14 ve 21.günlerde kuyruk sapı kesilerek kan örneklemesi yapılmıştır. Ayrıca nekropsi yöntemiyle iç organ bakılarıda gerçekleştirilmiştir.

Bu deneme ile *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunun kan parametrelerinde oluşturacağı değişimlerin saptanması amaçlanmıştır.

III. Deneme : %2 klinoptilolit katkılı yemle 60 gün boyunca beslenmiş Tilapia'lara benzer stres koşullarını oluşturmak amacıyla Tryptic Soy Broth (TSB) enjeksiyon yolu ile verilmiş ve 30 gün daha aynı yemle beslemeye devam edilmiştir.

Enjeksiyonundan sonraki 7, 14 ve 21. günlerde kuyruk sapı kesilerek kan örneklemesi yapılmıştır. Ayrıca nekropsi yöntemiyle iç organ bakılarıda gerçekleştirilmiştir.

Kontrol ve bütün deneme gruplarına canlı ağırlıklarının %2 oranında günlük bir defa olmak üzere yem verilmiştir.

Yapılan bu son deneme ile %2 klinoptilolit katkılı yemin sağlıklı balıkların kan parametrelerine olan etkisi araştırılmıştır. Katkısız normal alabalık yemi ile aynı süre beslenen sağlıklı balıklardan oluşturulan kontrol grupları da ayrıca kurulmuştur. Denemelerin kurgusu aşağıda Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan akvaryumlar, balık sayısı, uygulanan yem, *Aeromonas hydrophila* ve deneme süresi

	I. DENEME	II. DENEME	III. DENEME	KONTROL
Akvaryum sayısı	3 adet	3 adet	3 adet	3 adet
Balık sayısı	(3x6)18 adet	(3x6)18 adet	(3x6)18 adet	(3x6)18 adet
Uygulanan yem	Katkılı yem	Katkısız yem	Katkılı yem	Katkısız yem
Aeromonas hydrophila	**+**	**+**	-	-
Deneme süresi	60+30 gün	60+30 gün	60+30 gün	60+30 gün

3.2.2. Deneysel Enfeksiyonun Oluşturulması ve Lethal Doz 50' nin Hesaplanması

Buzdolabında +4°C' de muhafaza edilen *Aeromonas hydrophila* stok kültüründen alınan bakteri izolatları Triptic Soy Agar (TSA)'a ekilerek 27°C'de 24 saat inkübasyonu ile gençleştirilmiştir. Gençleştirilmiş *Aeromonas hydrophila* suşu, 10 ml TSB içeren tüpe ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda üreyen bakterilerden alt kültür elde edilmiştir. Elde edilen alt kültürler daha sonra, içlerinde 9 ml'lik TSB bulunan 8 adet tüpe ardışık olarak seyreltilmiştir. Ekim için 10^{-5}, 10^{-6},

10^{-7}, 10^{-8} 'lik dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak TSA'ya ekim yapılmıştır. Dilüsyon tüplerinden TSA' ya yapılan ekim sonuçlarına göre 1 ml'deki hücre sayısı ($N_{hücre}$); koloni sayısı (Ks) ve seyreltme faktörü (F_s)'nün çarpımından elde edilen sonucun dilüsyon tüpünden petri kutusuna aktarılan hacim ($V_{aktarım}$)'e oranlanması ile bulunmuştur.

Hesaplama metodu aşağıda formüle edilmiştir (Gürgün ve Halkman, 1990; Temiz, 1994).

$$F_s = 1/\text{ seyreltme oranı} \rightarrow N_{hücre}/\text{ml} = \frac{Ks \times F_s}{V_{aktarım}}$$

LD50 değerinin hesaplanması amacıyla 18 adet balıkta ön çalışma yapılmıştır. Yapılan ön çalışmada, 10^{-5}, 10^{-6} ve 10^{-7}'lik dilüsyonlardan 1'er ml'lik bakteri süspansiyonu balıklara enjekte edilmiştir. Uygulanan enjeksiyon sonrasında 10^{-5}' lik dilüsyonun balıkların %50'sini öldürdüğü, 10^{-7}'lik dilüsyonun ise sadece 1 adet balığı öldürdüğü saptanmıştır. LD50 değerinin belirlenmesinde Reed ve Muench (1938)'nin uyguladığı metod kullanılmıştır. Birinci ve ikinci deneme grubundaki balıkların her birine LD50 değerinin altındaki sublethal konsantrasyondaki ($1{,}9 \times 10^6$kob/ml) *Aeromonas hydrophila* süspansiyonu'ndan 1 ml' lik doz, intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir (Şekil 3.3). Kontrol grubu ve üçüncü deneme grubundaki balıkların her birine ise 1 ml dozunda TSB yine aynı yöntemle enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 24 saat önce yemleme kesilmiştir (Shoemaker ve ark, 2006; Reed ve Muench, 1938).



Şekil 3.4**.** *Aeromonas hyrophila*'nın intraperitonal olarak balıklara enjekte edilmesi

3.2.2. Balıklardan Kan Örneklerinin Alınması

Aeromonas hydrophila enjeksiyonundan sonraki 7, 14 ve 21. günler sonunda balıklardan kuyruk sapı kesilerek kan örnekleri alınmıştır. Eritrosit (RBC), Lökosit (WBC), Hemoglobin (Hb) değerlerinin belirlenmesi için kan örnekleri EDTA'lı tüplere, Periferik yayma için kan örneği doğrudan lama alınmıştır. Hematokrit (HCT) düzeyinin belirlenmesi içinde kan örneği mikrohematokrit pipetlere alınmıştır.

3.2.3. Balıklarda Hematokrit Değerinin Belirlenmesi

Bunun için mikrohematokrit teknikten yararlanılmıştır (Tanyer, 1985). Bu metoda göre mikrohematokrit pipetlere kan örnekleri alındıktan sonra pipet ucu macunlanmıştır. Daha sonra pipetler mikrohematokrit santrifüjüne yerleştirilmiştir. 1200 Xg (RPM) de 5 dakika santrifüjlenerek hematokrit değer özel skalada okunmuş ve % hematokrit değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Her balık örneği için iki adet pipet hazırlanmıştır.

$$\% \text{ Hematokrit değer} = \frac{\text{Kanın şekilli elemanlarının volümü}}{\text{Toplam kan volümü}} \times 100$$

3.2.4. Eritrosit ve Lökosit Miktarının Belirlenmesi

Eritrosit ve lökosit hücrelerinin sayımı amacıyla, kanın pıhtılaşmasına fırsat vermeden EDTA' lı tüpteki kan eritrosit pipetlerine çekilmiştir. Pipetin 0,5 çizgisine kadar kan çekilmiş, üzerine sulandırma amacı ile 101 çizgisine kadar Natt-Herrick solüsyonundan çekilmiştir. Daha sonra pipet içinde homojenize edilen kanın birkaç damlası akıtılıp, kalan kısımdan alınan bir damla kan örneği, hücre sayımı için Thoma lamına alınarak ışık mikroskobunda x40 büyütmede incelenmiştir. Eritrosit miktarının sayımı sırasında bir görüş alanındaki karelerden sol ve sağ üst köşe, sol ve sağ alt köşeler ile ortadan 16'lık küçük bir kare olmak üzere 5 alan sayılıp 1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı belirlenmiştir. Buna göre toplam 80 küçük karede sayılan hücre miktarı;

$$\frac{\text{Bulunan Hücre Sayısı x Sulandırma oranı (200)x 4000}}{\text{Sayılan Küçük Kare Adedi}}$$

formülü ile belirlenmiştir. (Azizoğlu ve Cengizler, 1996; Tanyer, 1985; Konuk, 1981).

Lökosit sayısının belirlenmesinde ise, Thoma lamındaki 16 büyük kare üzerine düşen (toplam 256 küçük kare) lökositlerin tamamı sayılmıştır. Elde edilen toplam lökosit sayısı, daha önceden eritrosit hücre miktarında belirtilen formüle yerleştirilerek $1mm^3$ kandaki lökosit miktarı saptanmıştır (Konuk, 1981; Kocabatmaz ve Ekingen, 1982; Stollen ve ark. 1994; Azizoğlu ve Cengizler, 1996).

Araştırma için kullandığımız Natt-Herrick solüsyonu ise laboratuvar ortamında tarafımızdan aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

3,88 g Sodyum klorür
2,50 g Sodyum sülfat
2,91 g Disodyum fosfat 12 H_2O
2,25 g Monopotasyum fosfat
7,50 cc (%37) Formalin
0,10 g Metil kırmızısı
1000 cc Distile su

Solüsyon hazırlandıktan 24 saat sonra süzülmüştür ve kahverengi bir şişe içerisinde muhafaza edilmiştir (Konuk, 1981; Stollen ve ark. 1994; Azizoğlu ve Cengizler, 1996).

3.2.5. Hemoglobin Miktarının Belirlenmesi

Hemoglobin miktarının tayini için, Syanmethemoglobin yöntemi uygulanmıştır. EDTA' lı tüpteki kanın 0,02 ml' si özel Hb pipeti aracılığı ile deney tüpüne alınmış, üzerine önceden hazırlanan Drabkin solüsyonunun 5 ml' si eklenmiştir. Drabkin solüsyonu ile kanın karışarak Syanmethemoglobine dönüşmesi için oda sıcaklığında 10 dakika bekletilen karışımın bir kısmı daha sonra özel spektro küvetlerine konulmuş ve 540 nm' de okunmuştur (Stoskopf, 1993; Konuk, 1981). Araştırma için kullandığımız Drabkin solüsyonu laboratuvar ortamın da hazırlanmıştır. Drabkin solüsyonu:

50 mg Potasyum cyanid
1,0gr Sodyum bikarbonat
200 mg Potasyum ferricyanid
1000 cc Distile su

karışımından elde edilmiştir. 24 saat bekletilen solüsyon süzüldükten sonra denemede kullanılmak üzere kahverengi bir şişe içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Periferik Yayma

Balığın kuyruk bölgesinden direk lama alınan kandan yayma preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamlar önce May-Grünwald boyası ile 5 dakika boyandıktan sonra distile su ile yıkanmıştır. Ardından 20 dakika Giemsa boyası (1:2,5; v/v) uygulanmış ve distile su ile yıkanmıştır. Preparatlar kuruduktan sonra x100 büyütmeli ışık mikroskobunda immersiyon yağı kullanılarak incelenmiştir. Her balıktan iki preparat hazırlanmıştır. 100 lökosit hücre (lenfosit, monosit, nötrofil, eosinofil) sayılarak yüzde oranları belirlenmiştir (Şahan ve Cengizler, 2002; Tanyer, 1981; Kocabatmaz ve Ekingen,1982).

3.3. İstatistik Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Anova (Tukey) testi kullanılarak, veriler tek yönlü varyans analizi ile 0,05 önem düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Enfekte Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları

Aeromonas hydrophila'nın intraperitonal olarak enjeksiyonundan 24 saat sonra I. ve II. deneme gruplarındaki balıklarda durgunluk, yem almada isteksizlik ve renk koyulaşması (Şekil 4.1) gözlemlenirken, 2. günde I. deneme grubundaki balıklarda durgunluk ve renk koyulaşması devam etmiş, II. deneme grubundaki bazı balıklarda ise yüzgeç diplerinde oluşan hiperemik alanlar (Şekil 4.2), özellikle kuyruk ve pektoral yüzgeçlerin uç bölgelerinde ileri düzeyde erimeler kaydedilmiştir (Şekil 4.3). 3. gün I. gruptaki balıklarda aynı belirtilerin devam ettiği, II. gruptaki bazı balıklarda ise renk koyulaşmasının arttığı, vücut yüzeyinde lezyonların oluştuğu, yüzgeçlerde şiddetli erime ve yüzme bozukluğu gibi bulgular dikkat çekmiştir. İlk ölümler denemenin 4. günü II. grupta iki balıkta gerçekleşirken, I. deneme grubundaki balıklarda renk koyulaşmasının arttığı, özellikle pektoral yüzgeç olmak üzere yüzgeç diplerinde hiperemik alanların oluştuğu belirlenmiştir. I. deneme grubundaki balıklarda gerçekleşen ilk ölüm denemenin 7. günü kaydedilmiştir. Deneme boyunca ölen balıklarda deri yüzeyinde lezyonlar, gözlerde ekzoftalmus (Şekil 4.4), renk koyulaşması, yüzgeçlerde erimeler, yüzgeç diplerinde ve operkulum kapağında hiperemi (Şekil 4.5) gözlemlenmiştir.

7. günde kan alımından sonra yapılan nekropsi sonucuna göre, I. deneme grubundaki balıklarda karaciğerde renk koyulaşması ve hemorajik alanlar meydana geldiği gözlemlenmiş, diğer organların yapısında ise herhangi bir anormal bulguya rastlanılmamıştır. II. deneme grubundaki balıklarda ise mide ve barsaklarında sarımsı renkte jelöz bir sıvı birikimi olduğu, karaciğerde hemorajik odakların yanı sıra, renk koyulaşması ve yağlanmanın meydana geldiği, böbrek dokuda kalınlaşma ve hiperemik alanların oluştuğu belirlenmiş, ancak safra sıvısında herhangi bir renk değişimi gözlemlenmemiştir. I ve II. deneme gruplarında belirlenen semptomlar Çizelge 4.1'de verilmiştir



Şekil 4.1. Bakteri enjeksiyonuna bağlı oluşan renk koyulaşması (orijinal)



Şekil 4.2 Bakteri enjeksiyonu sonrasında oluşan yüzgeçlerde hiperemi (orijinal)



Şekil 4.3. Kuyruk ve pektoral yüzgeçlerde ileri düzeyde erimeler (orijinal)



Şekil 4.4. Enfeksiyon sonrasında gözlerde ekzoftalmus oluşumu (orijinal)



Şekil 4.5. Operkulum kapağında ve yüzgeç tabanlarında görülen hemoraji (orijinal)

Çizelge 4.1 *Aeromonas hydrophila* (A.h) ile enfekte edilmiş Deneme gruplarında (I ve II) görülen klinik semptomlar

	I.Deneme (Klinoptilolit + *A.h*)		II.Deneme (Katkısız yem + *A.h*)	
Gün	**Dış Semptomlar**	**İç Semptomlar**	**Dış Semptomlar**	**İç Semptomlar**
1	- Durgunluk - Renk koyulaşması - İştahsızlık	İç bakı yapılmamıştır	- Durgunluk - İştahsızlık - Renk koyulaşması	İç bakı yapılmamıştır
2	Aynı belirtiler devam etmiştir	İç bakı yapılmamıştır	- Yüzgeç diplerinde hiperemik alanlar - Kuyruk yüzgecinde erime	İç bakı yapılmamıştır
3	Aynı belirtiler devam etmiştir	İç bakı yapılmamıştır	- Artan renk Koyulaşması - Yüzgeçlerde şiddetli erime - Yüzme bozukluğu - Vücut yüzeyinde lezyonlar	İç bakı yapılmamıştır
4	- Artan renk koyulaşması -Yüzgeçlerde erime (Pektoral) -Ekzoftalmus	İç bakı yapılmamıştır	- Deri yüzeyinde lezyonlar - Yüzgeçlerde erime - Ekzoftalmus	İç bakı yapılmamıştır
5	Aynı belirtiler devam etmiştir	İç bakı yapılmamıştır	- Yüzgeçlerde şiddetli erime - Akvaryum dibinde hareketsiz durma	İç bakı yapılmamıştır
6	- Yüzgeçlerde erime (Kaudal) - Artan renk koyulaşması	İç bakı yapılmamıştır	Aynı belirtiler devam etmiştir	İç bakı yapılmamıştır
7	- Yüzgeçlerde erime - Artan renk koyulaşması	- Karaciğerde renk koyulaşması ve hemorajik alanlar	Aynı belirtiler devam etmiştir	- Mide ve bağırsak sarımsı renkte jelöz bir sıvı ile dolu - Karaciğerde ve Böbrekte şişkinlik ve hemorajik alanlar
14	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir
21	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir	Aynı belirtiler devam etmiştir
NOT: Sadece kan örneklemesinin yapıldığı günlerde (7, 14 ve 21) iç bakı yapılmıştır.				

4.1.2. Hematokrit Değerler

Deneme ve kontrol gruplarındaki balıklarda, günlere bağlı olarak belirlenen hematokrit ortalamaları Çizelge 4.2'de ve bu verilere ait sütun grafiği Şekil 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.2.'deki test sonuçlarına göre uygulamanın 7, 14 ve 21.günlerinde III. deneme grubu hematokrit ortalamalarının kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği ($p>0,05$), ancak I ve II. deneme gruplarından elde hematokrit ortalamaları ile III. deneme grubu ve kontrol grubundan elde edilen değerlerle aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

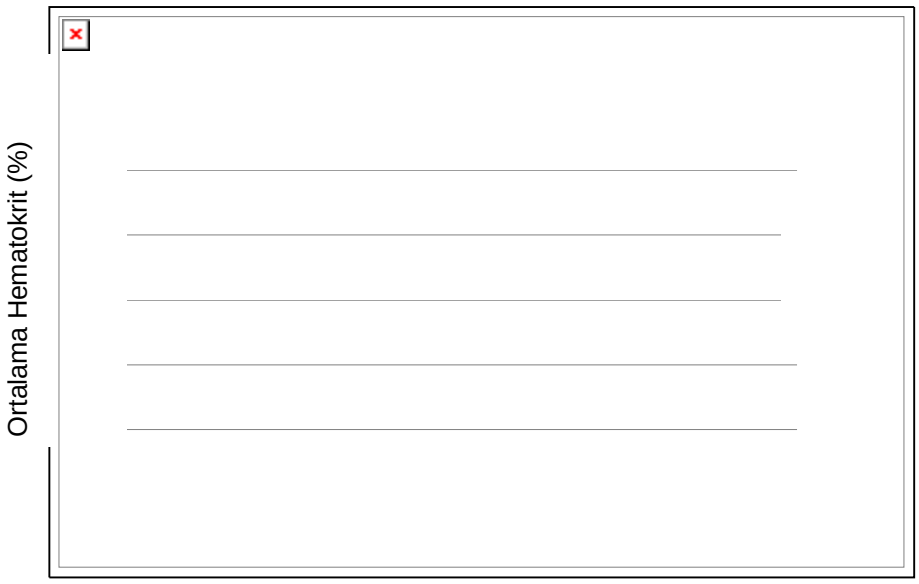
III. deneme grubu ve kontrol grubu hematokrit ortalamalarının günlere bağlı olarak 7, 14 ve 21. günlerde belirlenen değerleri arasında önemli bir fark gözlenmezken, I ve II. deneme gruplarında hematokrit ortalamaları arasında oluşan farkın günlere bağlı olarak önemli derecede farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Klinoptilolit uygulanan deneme grupları (I ve III.) arasında 7, 14 ve 21. günlerde belirlenen hematokrit ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). *Aeromonas hydrophila* enjeksiyonu yapılan deneme grupları (I ve II.) hematokrit ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.2. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları hematokrit ortalamaları ve standart hata

gün / gruplar	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
I. Deneme	28,00±3,98*****	24,50±3,58*****	21,70±1,51*****
II. Deneme	28,54±2,85*****	24,50±6,24*****	22,00±1,68*****
III. Deneme	31,90±0,91	32,00±2,91	31,80±1,31
Kontrol	32,40±1,78	32,10±1,52	32,30±0,81

*****: Deneme gruplarının kontrol grubundan önemli derecede farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.6. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları ortalama hematokrit değerlerine ait sütun grafiği

4.1.3. Eritrosit ve Lökosit değerleri

Deneme ve kontrol gruplarında günlere bağlı olarak belirlenen eritrosit ortalamaları Çizelge 4.3'de, bu verilere ait sütun grafiği Şekil 4.7.'de görüldüğü gibidir.

Elde edilen verilere göre araştırmanın 7, 14 ve 21. günlerinde III. deneme grubu eritrosit ortalamalarının kontrol grubu eritrosit ortalamalarıyla benzer olduğu, bunun yanında, 7. gün I ve II. deneme grupları eritrosit ortalamaları ile kontrol grubu eritrosit ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ancak araştırmanın 14 ve 21. günlerinde I ve II. deneme grupları eritrosit ortalamaları ile kontrol ve III. deneme grubu eritrosit ortalaması arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Günlere bağlı olarak deneme grupları ve kontrol grubu eritrosit ortalamaları arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

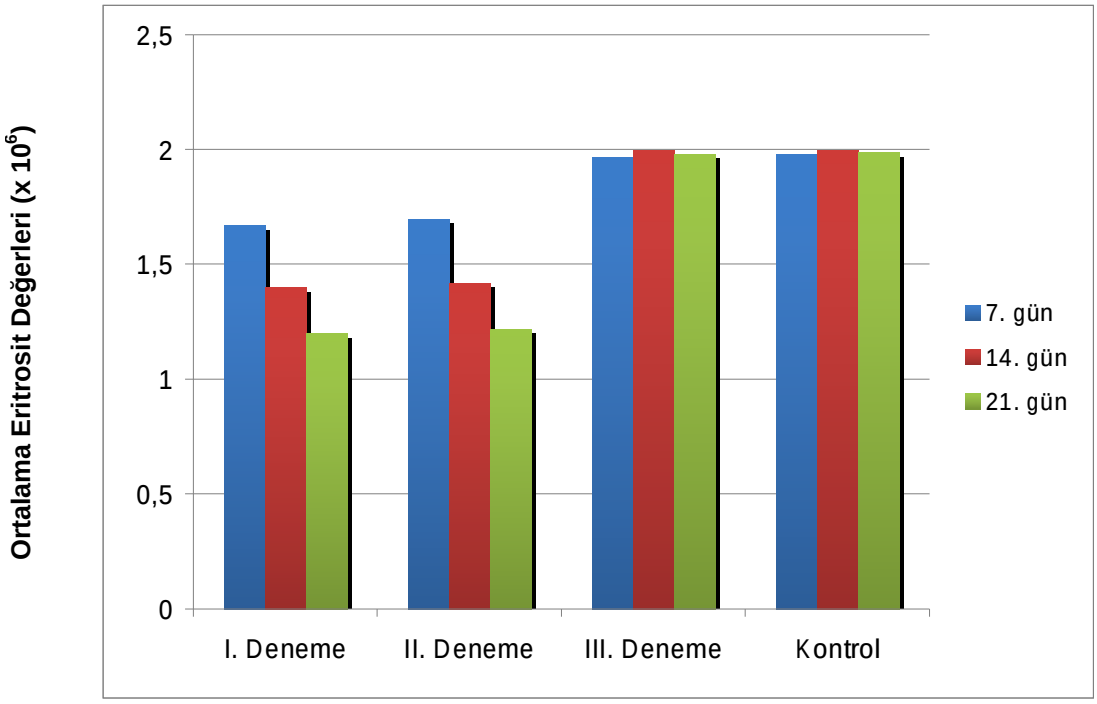
Klinoptilolit katkılı deneme gruplarında (I ve III.), 21. gün III. deneme grubunda belirlenen en yüksek eritrosit ortalamasının $2,00\times10^6$ düzeyinde, bununla birlikte bu değerin 21. gün I. deneme grubu için $1,40\times10^6$ düzeyinde olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Aeromonas hydrophila enjeksiyonuna bağlı olarak (I ve II. deneme), en yüksek eritrosit ortalamasının ($1,70\times10^6$) 7. gün II. deneme grubunda belirlendiği, bu değerin 7. gün I. deneme grubunda ($1,67x10^6$) elde edilen değerle arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları eritrosit ortalamaları ve standart hataları

gün / gruplar	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
I. Deneme	$(1,67\pm0,27)\times10^6$	$(1,40\pm0,26)\times10^6$*	$(1,20\pm0,19)\times10^6$*
II. Deneme	$(1,70\pm0,50)\times10^6$	$(1,42\pm0,08)\times10^6$*	$(1,22\pm0,12)\times10^6$*
III.Deneme	$(1,97\pm0,32)\times10^6$	$(2,00\pm0,28)\times10^6$	$(1,98\pm0,29)\times10^6$
Kontrol	$(1,95\pm0,34)\times10^6$	$(2,00\pm0,33)\times10^6$	$(1,99\pm0,36)\times10^6$

*: Deneme gruplarının kontrol grubundan önemli derecede farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.7. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları ortalama Eritrosit değerlerine ait sütun grafiği.

Deneme ve kontrol gruplarında günlere bağlı olarak belirlenen lökosit ortalamaları Çizelge 4.4.'de, bu verilere ait sütun grafiği Şekil 4.8.'de verilmiştir.

Araştırmanın 7,14 ve 21. günlerinde belirlenen kontrol grubu lökosit ortalamaları ile III. deneme grubu lökosit ortalamaları arasında bir fark gözlenmezken ($p>0,05$), I ve II. deneme grupları lökosit ortalamalarının III. deneme ve kontrol grubu lökosit ortalamalarıyla arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Kontrol grubu ve III. deneme grubunda, günlere bağlı olarak lökosit ortalamaları benzerlik göstermiş ($p>0,05$), I ve II. deneme gruplarında 7 ve 14. günlerde elde edilen lökosit ortalamalarının benzer, 21. günde meydana gelen lökosit ortalamasından önemli derecede farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

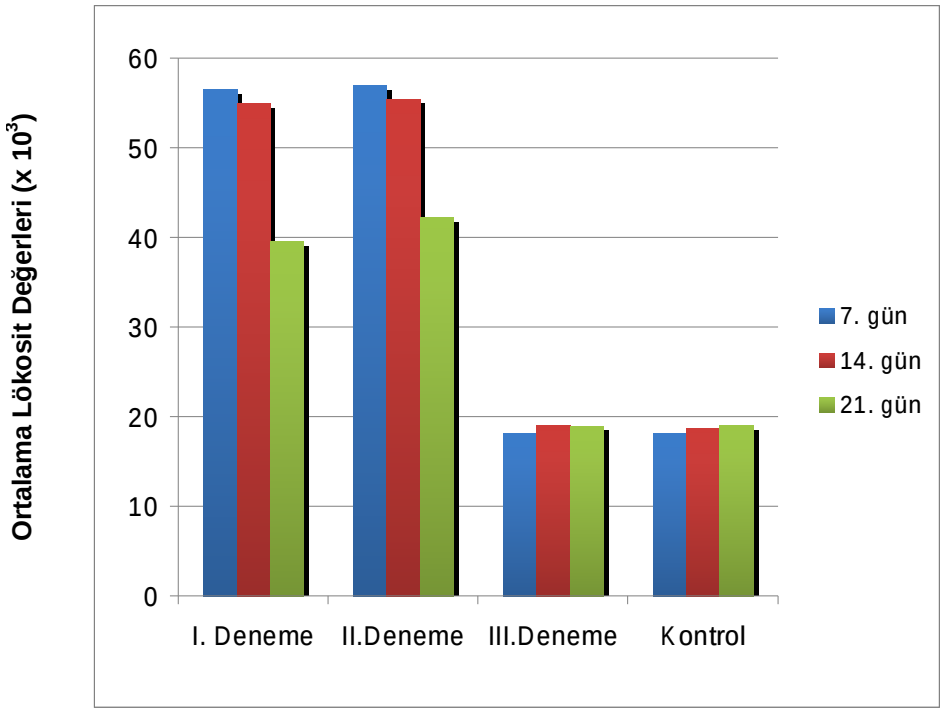
Klinoptilolit katkılı deneme gruplarında (I ve III.), belirlenen en yüksek lökosit ortalamasının ($56,60 \times 10^3$) 7. gün I. deneme grubunda meydana geldiği, bu değerin 7. gün III. deneme grubu'ndan elde edilen değerden ($18,22 \times 10^3$) önemli derecede farklı olduğu istatistiksel olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$).

I ve II. deneme gruplarında *Aeromonas hydrophila* enjeksiyonuna bağlı olarak belirlenen en yüksek lökosit ortalaması ($57,00 \times 10^3$) araştırmanın 7. günü II. deneme grubunda gerçekleşmiş, bununla beraber 7. gün I. deneme grubundan elde edilen değerle ($56,60 \times 10^3$) aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.4. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları lökosit ortalamaları ve standart hataları

gün / gruplar	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
I. Deneme	$(56,60 \pm 3,09) \times 10^3$*	$(55,00 \pm 3,00) \times 10^3$*	$(39,60 \pm 2,83) \times 10^3$*
II. Deneme	$(57,00 \pm 7,00) \times 10^3$*	$(55,,00 \pm 1,97) \times 10^3$*	$(42,33 \pm 2,02) \times 10^3$*
III. Deneme	$(18,22 \pm 4,32) \times 10^3$	$(19,10 \pm 1,48) \times 10^3$	$(19,00 \pm 4,41) \times 10^3$
Kontrol	$(18,20 \pm 2,45) \times 10^3$	$(18,79 \pm 1,92) \times 10^3$	$(19,10 \pm 1,68)) \times 10^3$

*: Deneme gruplarının kontrol grubundan önemli derecede farklı olduğunu göstermektedir



Şekil 4.8. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları ortalama Lökosit değerlerine ait sütun grafiği.

4.1.4. Hemoglobin değerleri

Deneme ve Kontrol gruplarında günlere bağlı olarak belirlenen hemoglobin ortalamaları ve standart hatalarına ait veriler Çizelge 4.5.'de, bu verilere ait sütun grafiği Şekil 4.9.'de görüldüğü gibidir..

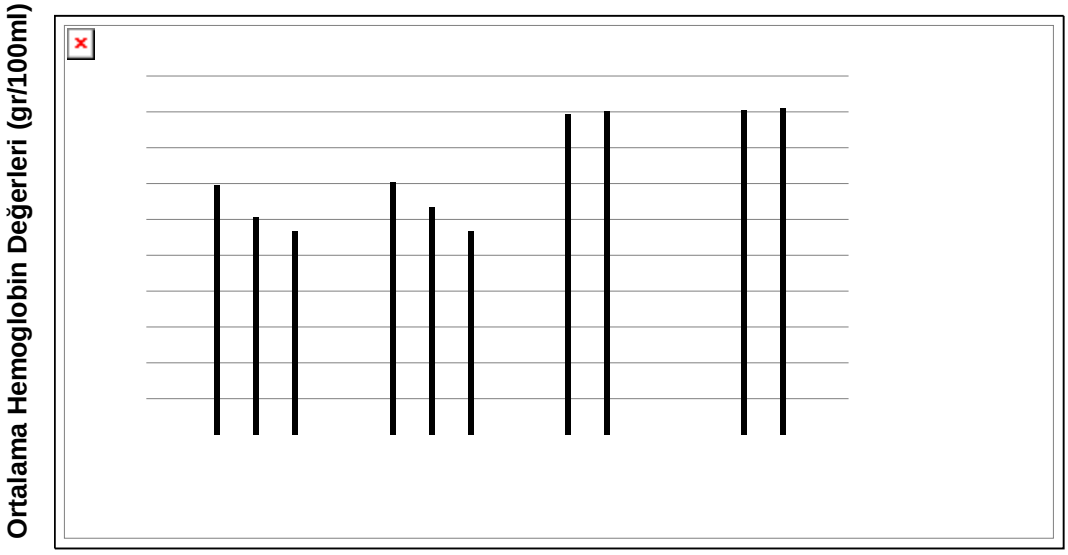
Çizelge 4.5.'deki test sonuçlarına göre, 7. günde deneme gruplarında belirlenen hemoglobin ortalamalarının kontrol grubu hemoglobin ortalamalarına göre önemli derecede farklı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$), 14 ve 21. günlerde III. deneme grubu hemoglobin ortalamasının kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği, bunun yanında I ve II. deneme grupları hemoglobin ortalamaları ile kontrol grubu hemoglobin ortalaması arasında oluşan farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Günlere bağlı olarak, III. deneme grubu ve kontrol grubu hemoglobin ortalamalarının önemli bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$), I ve II. deneme gruplarında belirlenen en düşük hemoglobin ortalaması (sırasıyla 5,82-5,83)

ile en yüksek hemoglobin ortalamaları (sırasıyla 7,10-.7,19) arasında oluşan fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (p>0,05).

Çizelge 4.5. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları Hemoglobin ortalamaları ve standart hataları

Gün / gruplar	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
I. Deneme	7,10±0,64	6,20±0,71	5,82±0,09
II. Deneme	7,19±0,39	6,24±0,12	5,83±0,70
III.Deneme	9,10±0,51	9,16±0,40	8,96±0,57
Kontrol	9,20±0,89	9,26±0,42	9,00±0,29



Şekil 4.9. Günlere bağlı olarak kontrol ve deneme grupları ortalama Hemoglobin değerlerine ait sütun grafiği.

4.1.5. Periferik Yayma

Deneme ve kontrol gruplarında, günlere bağlı olarak belirlenen periferik yayma ortalamaları ve standart hatalarına ait veriler için, lenfosit ortalamaları,

monosit ortalamaları, nötrofil ortalamaları, eosinofil ortalamaları Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Araştırmada elde edilen lökosit hücre tiplerinin % değerleri.

Deneme grupları	Günler	**Lenfosit (%)**	**Monosit (%)**	**Nötrofil (%)**	**Eosinofil (%)**
I. Deneme	7. gün	69,84±2,00	9,23±1,63	20,60±2,73*****	0,33±1,00
	14. gün	70,20±1,63	9,96±1,00	19,20±1,63*****	0,50±1,15
	21. gün	71,98±3,06	10,02±3,05	18,00±4,62	-
II. Deneme	7. gün	70,02±2,31	9,39±4,00	20,09±2,31*****	0,50±1,15
	14. gün	68,63±2,82	11,07±5,65	20,30±0,00*****	-
	21. gün	72,16±1,41	9,01±4,24	18,33±0,00	0,50±1,41
III. Deneme	7. gün	74,88±1,63	9,87±2,42	14,92±2,06	0,33±1,03
	14. gün	78,88±1,50	9,44±0,00	15,68±2,73	-
	21. gün	78,00±2,28	8,20±1,54	13,30±2,60	0,50±1,09
Kontrol	7. gün	75,50±1,78	10,48±1,79	14,02±2,73	-
	14. gün	77,64±1,26	8,52±2,19	13,51±3,20	0,33±1,03
	21. gün	74,45±2,97	10,98±2,44	14.24±2,28	0,33±1,09

*****: Deneme gruplarının kontrol grubundan önemli derecede farklı olduğunu göstermektedir

Çizelge 4.6.'de, araştırmanın 7, 14 ve 21. günlerinde belirlenen III. deneme grubu lenfosit ortalamalarının kontrol grubu lenfosit ortalamalarıyla benzerlik gösterdiği ($p>0,05$), ayrıca 7, 14 ve 21 günlerde I ve II. deneme grupları lenfosit ortalamalarındaki azalışın kontrol grubu lenfosit ortalamasından istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Günlere bağlı olarak, kontrol grubu, I, II ve III. deneme grupları lenfosit ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Klinoptilolit uygulan denemede gruplarında (I ve III) kaydedilen en düşük lenfosit ortalaması (%69,84) 7. gün I. deneme grubunda gerçekleşirken, bu değerin 7. günde III. deneme grubundan elde edilen değerle (%74,88) aralarındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). I. ve III. deneme gruplarında belirlenen en yüksek lenfosit ortalaması (%78,88) 14. gün III. deneme grubunda belirlenmiş ve aynı gün I. deneme grubuyla aralarında oluşan farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Aeromonas hydrophila enjeksiyonuna bağlı olarak deneme grupları (I ve II.) arasında belirlenen en düşük lenfosit ortalaması (%68,63) 7. gün I. deneme grubunda, en yüksek lenfosit ortalaması (%71,16) 21. gün II. deneme grubunda belirlenmiştir. Deneme grupları lenfosit ortalamaları arasında farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çalışmanın 7, 14 ve 21. günlerinde I ve II. deneme gruplarında, belirlenen monosit ortalamalarıyla kontrol grubu monosit ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). III. deneme grubu monosit ortalamalarının ise araştırma boyunca kontrol grubuyla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Deneme grupları monosit ortalamaları ve kontrol grubu monosit ortalamalarının günlere bağlı olarak istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$). Deneme gruplarındaki balıklarda belirlenen monosit ortalamaları %8,20- 11,07 arasında, kontrol grubunda ise %8,52-10,98 arasında değişmiştir.

Nötrofil değerleri incelendiğinde, araştırmanın 7 ve 14. günlerinde I. ve II. deneme gruplarından elde edilen ortalamalar ile kontrol grubu değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$). III. deneme grubu nötrofil ortalamalarının ise kontrol grubuyla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. 21. günde belirlenen nötrofil düzeylerinin kontrol grubu nötrofil değerleri aralarında oluşan farkın istatistiki açıdan önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

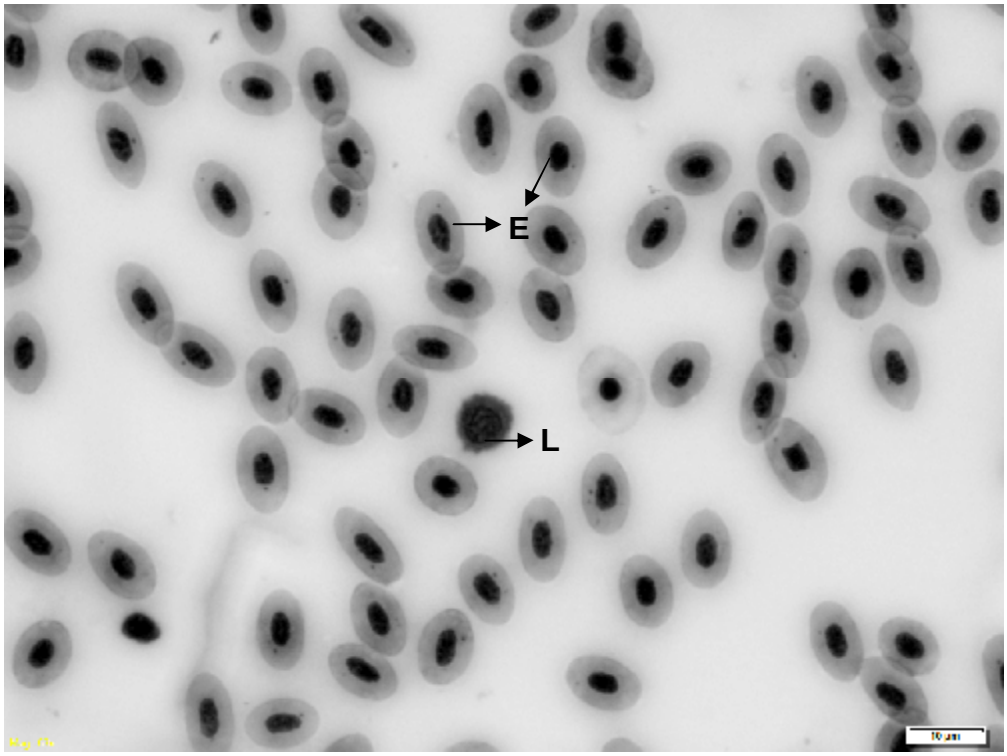
Kontrol grubu da dahil diğer deneme gruplarından elde edilen nötrofil ortalamalarının (%), günlere bağlı olarak önemli bir farklılıkta olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Uygulamanın 7, 14 ve 21. günlerinde deneme gruplarında belirlenen eosinofil ortalamalarının (%), kontrol grubuna göre önemli derecede farklı olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Ayrıca kontrol grubu dahil diğer deneme gruplarından elde edilen eosinofil ortalamalarının (%), günlere bağlı olarak önemli bir farklılıkta olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

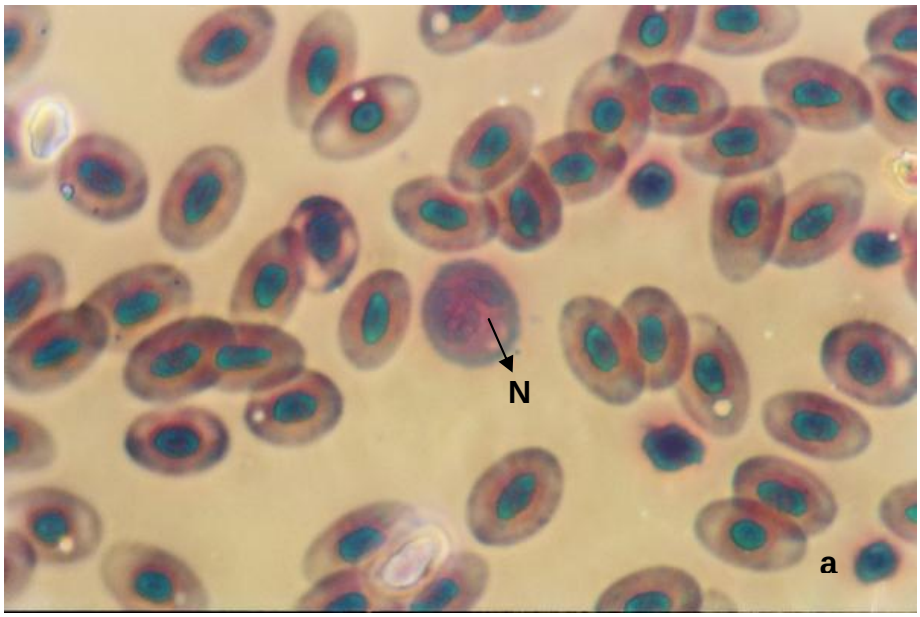
I, II ve III. deneme gruplarında yapılan uygulamalar sonrasında kan hücrelerinin yapılarında herhangi bir bozulma saptanmamıştır bu nedenle lenfosit,

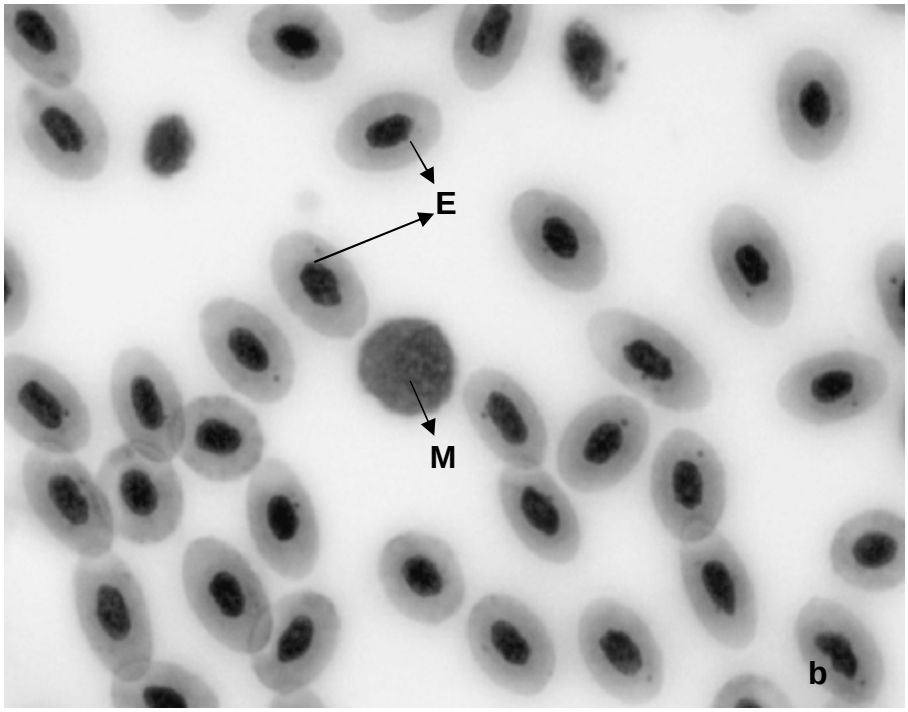
monosit, eritrosit ve nötrofil hücrelerinin genel yapılarını gösteren fotoğraflar aşağıda verilmiştir. Şekil 4.10'te deneme grubu kan hücrelerinden eritrosit ve lenfosit'ler, Şekil 4.11.a,b'de ise nötrofil (N), eritrosit (E) ve monosit (M) hücreleri görülmektedir.

.



Şekil 4.10. Deneme grubu kan hücrelerinden lenfosit (L) ve eritrosit (E)'lerin yapısı (orjinal)





Şekil 4.11. Deneme grubu kan hücreleri:a) nötrofil (N), b) eritrosit (E) ve monosit (M) (orjinal)

4.2. TARTIŞMA

Bilindiği üzere, balık hastalıklarının tanısında hematolojik veriler önemli bir yer tutmaktadır. Azizoğlu ve Cengizler (1996), hematolojik parametrelerin balık hastalıklarında tanıya yardımcı olmasının yanı sıra beslenmeye ve çevresel etmenlere bağlı oluşan etkilerin de belirlenmesine katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Balık sağlığında temel kabul edilebilecek indikatörlerden biri olan hematolojik parametrelerden, özellikle eritrosit miktarı (RBC), hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) düzeylerinin balık sağlığında kullanılabilecek en önemli indikatörler olabileceği vurgulanmıştır (Houstan, 1997).

4.2.1. Hematokrit Değerleri

Hematokrit değeri, hematolojik çalışmalarda bazı hastalıkların tanısında, özellikle aneminin belirlenmesinde kullanılan ve çoğunlukla kanın şekilli elemanlarının plazmaya oranı olarak ifade edilmektedir (Azizoğlu ve Cengizler, 1996; Siwicki ve ark,1994). Özellikle, balıklarda oluşan bakteriyel enfeksiyonların hematokrit miktarını düşürdüğü bildirilmektedir (Muroga, 1975; Azizoğlu ve Cengizler, 1996).

Araştırmamızın 7, 14 ve 21. günlerinde III. deneme grubu hematokrit ortalamalarının kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği ($p>0,05$), ancak I ve II. deneme gruplarından elde edilen hematokrit ortalamaları ile diğer gruplardan elde edilen değerlerle aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Klinoptilolit katkılı yem uygulanan deneme grupları (I ve III.) arasında 7,14 ve 21. günlerde belirlenen hematokrit ortalamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). III. deneme grubu hematokrit ortalamasının kontrol grubu hematokrit ortalamasıyla benzerlik göstermesi, I ve III. deneme grupları arasında oluşan farklılığın klinoptilolit etkisinden değil, I. deneme grubunda *Aeromonas hydrophila* ile deneysel oluşturulan bakteriyel enfeksiyona karşı oluşan non-spesifik immünitenin bir sonucu oluşmuş olabileceği düşünülmektedir. *Aeromonas hydrophila* enjeksiyonu yapılan deneme grupları (I ve II.) hematokrit ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlemlenmemesi ($p>0,05$), I

ve III. deneme gruplarında oluşan farklılığın bakteri kaynaklı olabileceği ihtimalini arttırmaktadır.

Doğal ortamdan yakalan sağlıklı tilapia türlerinde yapılan bir çalışmada hematokrit düzeylerinin belirlenmesine çalışılmış ve en yüksek hematokrit değerinin *T. zilli* (%29,5)'de belirlendiği bunun yanı sıra *O. niloticus*'da ise %25,5 oranında olduğu bildirilmiştir (Badawi ve Said, 1971). Bizim araştırmamızda normal yemle beslenen sağlıklı balıklardan oluşan kontrol grubuna ait hematokrit değerleri %32,10-32,40 arasında değişmiştir. Kontrol grubunda belirlediğimiz yüksek hematokrit düzeyinin, kontrol grubunu oluşturan balıkların önceden kültüre alınmış ve besin değerleri dengelenmiş pelet yemle beslenmiş olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda *Aeromonas hyrophila* enjeksiyonu yapılan (I. ve II.) deneme grupları hematokrit değerlerindeki düşüşlere benzer şekilde, farklı bakteri türleri ve farklı balık türleri kullanılarak yapılmış olan deneysel enfeksiyon çalışmalarında hematokrit düzeylerinin düştüğü bildirilmiştir. Örneğin, Gökkuşağı alabalığı (*Onchorynchus mykiss*)'nda deneysel yolla oluşturulan Kızıl Ağız (*Yersinia ruckeri*) enfeksiyonunun hematokrit düzeyini azalttığı saptanmıştır (Altun ve Diler, 1999).

Benzer şekilde, Altın balık (*Carassius auratus*)'ta *A.hydrophila* enfeksiyonunun hematokrit düzeyi üzerine etkisi araştırılmış ve enfeksiyonun hematokrit düzeyinde azalmalara neden olduğu tespit edilmiştir (Brenen ve Huizinga, 1986). *Mycobacterium marinum'*un tilapia'ların hematokrit düzeyine etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada, hematokrit düzeyinde düşüşler saptanmıştır (Barham ve ark, 1980). Atlantik salmonları'nda deneysel yolla oluşturulan *A. salmonicida'*nın balıkların hematokrit düzeyinde azalmalara neden olduğu tespit edilmiştir (Moyner ve ark, 1993).

Harikrishnan ve ark. (2003), Sazan (*Cyprinus carpio*)' larda *A. hydrophila* enfeksiyonunda hematokrit düzeyinin önemli derecede azaldığını tespit etmişlerdir.

Yukarıda bildirilen çalışmalarda ve bizim elde ettiğimiz sonuçlarda genel olarak bir bakteriyel enfeksiyonun hematokrit düzeyinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bakteriyel bir enfeksiyonda hematokrit düzeylerinin düşmesi, bakterilerin yoğun olarak çoğalabildiği ve kan yapımında rol alan böbrek, dalak vb.

hematopoietik organlarda meydana getirdikleri patolojiler sonrasında bu organların kan üretimi yapamayacak duruma gelmesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Busch, 1982). Ayrıca hematokrit düzeylerinde ki düşüşlerin diğer bir nedeni olarak, vücut yüzeyinde veya diğer iç organlarda oluşan hemorajilere bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceği de düşünülmektedir.

4.2.2. Eritrosit ve Lökosit Değerleri

Balık kanında ki şekilli elemanlardan sayıca en fazla olan hücre tipi eritrositlerdir. Eritrosit sayısının, balıklarda dokulara oksijen taşıma kapasitesinin bir ölçütü olduğu bildirilmiştir (Houstan, 1997). Balıklarda 1 mm^3 kanda ortalama 20,000-3,000,000 arasında eritrosit bulunduğu ve bu miktarın, balıklardaki herhangi bir bakteriyel enfeksiyon durumunda azalmaya yönelik değişimler gösterdiği rapor edilmiştir (Ekingen, 1988; Azizoğlu ve Cengizler, 1996).

Araştırmanın 7, 14 ve 21. günlerinde III. deneme grubu eritrosit ortalaması, kontrol grubu eritrosit ortalamalarıyla benzerlik göstermiş ($p>0,05$), bundan dolayı, klinoptilolit katkısının, eritrosit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Ayrıca, klinoptilolit katkılı deneme grupları (I ve III.) arasında 14 ve 21. günlerde tespit edilen önemli farklılığın I. deneme grubunda deneysel yolla oluşturulan *A. hydrophila* enfeksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Carthy ve Stevenson (1971), 227-225 gr ağırlığındaki sağlıklı gökkuşağı alabalıkları'nda, eritrosit sayısını $1,07x10^6$ olarak belirlemişlerdir, araştırmamızda ise ortalama ağırlıkları 85,94±10,42 gr olan sağlıklı *O. niloticus* bireylerinden elde ettiğimiz eritrosit miktarının 1,95-2,00 $x10^6$ arasında değiştiği, bu farklılığın üzerinde çalışılan balıkların türlerinin ve ağırlıklarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sağlıklı tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların bazı hematolojik parametrelerini inceleyen Azizoğlu ve Cengizler, (1996), eritrosit miktarlarının 2,16-4,005x 10^6 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bizim araştırmamızda normal alabalık yemi ile beslenen sağlıklı balıkların bulunduğu kontrol grubundan elde ettiiğimiz değerler

Azizoğlu ve Cengizler, (1996)'in çalışmalarından elde ettikleri değerlere yakın bulunmuştur.

Brenen ve Huizinga (1986), Altın balıklarda *A. hydrophila* enfeksiyonun eritrosit miktarına etkisini belirlemeye çalışmışlar ve enfekte balıkların eritrosit miktarlarında düşüşler kaydetmişlerdir. Barham ve ark (1980), *Mycobacterium. marinum* ile enfekte ettikleri tilapia'larda eritrosit miktarlarında azalmalar olduğunu bildirmişlerdir.

De Kinkelin ve ark. (1985), vibriosis, furunculosis, yersiniozis gibi hastalıklarda eritrosit sayılarında önemli oranda azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir.

Altun ve Diler (1999), Alabalık'larda kızıl ağız enfeksiyonun ilk haftasından itibaren eritrosit miktarının düşüş gösterdiğini saptamışlardır. Bir başka çalışmada ise, Sazan (*C. carpio*)'larda deneysel olarak oluşturulan *A. hydrophila* enfeksiyonun da eritrosit miktarında önemli derecede azalmalar tespit edilmiştir (Harikrishnan ve ark, 2003). Yukarıda bahsettiğimiz bu çalışmaların sonuçları araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Eritrosit miktarındaki düşüşlerin enfeksiyon sırasında vücut yüzeyinde oluşan lezyonlardan veya diğer iç organlarda oluşan hemorajilere bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamızın 7,14 ve 21. günlerinde belirlenen kontrol grubu lökosit ortalamaları ile III. deneme grubu lökosit ortalamaları arasında bir fark gözlenmemiştir, bundan dolayı III. deneme grubundaki klinoptilolit katkısının, lökosit miktarını etkilemediği düşünülmektedir. I ve II. deneme grupları lökosit ortalamaları benzerlik gösterirken III. deneme ve kontrol grubu lökosit ortalamalarından önemli derecede farklı olmasının ($p<0,05$), klinoptilolit katkısından değil *A. hydrophila* enfeksiyonundan kaynaklandığını doğrular nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Kanyılmaz (2008), pullu sazan (*C. carpio*)' ların yem rasyonlarına farklı oranlarda (%0 (kontrol), 1, 2, 3 ve 4) katılan klinoptilolit'in lökosit düzeyine etkisini belirlemeye çalışmış ve tüm uygulamalarda lökosit düzeyinin değişmediğini bildirmiştir. Araştırmamızda, %2 oranında klinoptilolit katkısı yapılmış yemle

beslenen III. deneme grubu lökosit ortalamasının kontrol grubuyla benzerlik göstermesi klinoptilolit'in lökosit değerleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu sonuç yukarıda verilen Kanyılmaz (2008)'ın çalışmasıyla da paralellik göstermektedir. Çalışmamızda, klinoptilolit katkısının lökosit değerlerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmesine karşın, araştırmamızda bakteri enjekte edilmiş I.ve II. deneme gruplarında lökosit değerlerinin ilk 7 günlük dönemde önemli derecede arttığı, 14 ve 21. günlerde ise düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara benzer şekilde aşağıda bildirilen çalışmalarda da lökosit düzeylerinin bakteriyel enfeksiyonla arttığı gözlemlenmiştir.

Juvenil aşamada ki gökkuşağı alabalıklarına *A. hydrophila*'yı iki şekilde (daldırma metodu ve enjeksiyon tarzında) uygulayan Peters ve ark (2000), enjeksiyon yolu ile oluşturulan bakteri enfeksiyonunun daldırma metoduna göre lökosit miktarını önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Kozinska ve Antychowicz (2000), Sazan'larda *A. hydrophila* enfeksiyonunun lökosit sayısını önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Altun ve Diler (1999), *Yersinia ruckeri* ile enfekte ettikleri Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)'nda lökosit miktarlarını incelemişler ve enfeksiyonun ilk haftası lökosit miktarlarının önemli derecede arttığını, ikinci haftadan sonra ise azalmalar olduğunu bildirmişlerdir.

Genel olarak, balıklarda görülen bakteriyel hastalıkların, ilk dönemlerinde lökositoz (lökosit sayısında artış), ilerlemiş olduğu dönemlerde lökopeni (lökosit sayısında azalma) olduğu bildirilmiştir (De Kinkelin ve ark,1985)

Evenberg ve ark (1986), *A. salmonicida* ile enfekte edilmiş sazan' larda kan hücrelerindeki değişimleri araştırmışlar ve çalışma sonuçlarına göre balıklarda hastalığın yoğun olduğu dönemlerde lökosit sayısında azalmalar olduğunu tespit etmişler, bu durumu immün sistemin baskı altına alınması şeklinde yorumlamışlardır. Yukarıda belirtilen araştırma sonucuna benzer şekilde araştırmamızda da bakteri enjeksiyonundan sonraki ilk hafta içerisinde belirlenen yüksek lökosit değerlerinin 14 ve 21. günlerde düşmesi, , artan bakteri yoğunluğuna ve oluşan patolojilere bağlı olarak bağışıklık sisteminin giderek zayıflamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.3 Hemoglobin Değerleri

Hemoglobin, eritrosit hücrelerinde yer alan en önemli proteindir. Eritrosit sayısı düşük olan balıklarda hemoglobin içeriği de düşük bulunmuştur (Noyan, 1980). Enfeksiyon ve stres gibi durumlarda balıklarda hemoglobin değerinin düştüğü bilinmektedir (Foda, 1973; Cruz ve Muroga, 1989).

Yaptığımız araştırmada III.deneme ve kontrol grubu hemoglobin ortalamalarının benzerlik gösterdiği ancak I ve II. deneme gruplarında ölçülen hemoglobin düzeylerinin kontrol ve III. deneme grubundan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak bakteri enjeksiyonun yapıldığı I ve II. deneme gruplarındaki bu düşüşün kontrol ve III. deneme grubundaki değere oranla istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. I ve II. Deneme gruplarında 14 ve 21. günlerde belirlenen hemoglobin düzeylerinin 7. güne oranla daha düşük olmasının, bakteriyel enfeksiyondan kaynaklı iç organlarda ve vücut yüzeyinde oluşan hemorajinin artmasına bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan, yemlere karıştırdığımız %2 klinoptilolit katkısının, III. deneme ve kontrol gruplarından elde edilen hemoglobin değerlerinin birbirine oldukça yakın çıkmasına bağlı olarak hemoglobin düzeylerine etki yapmadığı düşünülmüştür. Araştırmamızdaki sonuçlara benzer şekilde, Altun ve Diler (1999), *Yersinia ruckeri*'nin Gökkuşağı alabalıklarının hemoglobin değeri üzerine etkisini belirlemeye çalışmışlar ve enjeksiyondan sonraki ikinci haftada hemoglobin değerinde düşüşler saptamışlardır.

Kanyılmaz, (2008), sazan'ların yem rasyonlarına %1, 2, 3, 4 oranlarında selüloz-klinoptilolit katkısının hemoglobin düzeyine etkisini belirlemeye çalışmış ve % 1 ve 2'lik rasyonların hemoglobin düzeyini etkilemediğini, ancak klinoptilolit düzeyinin arttıkça, kanda tespit edilen hemoglobin düzeylerinde de artış olduğunu saptamıştır.Araştırmamızda sadece %2 klinoptilolit katkılı yem uygulanan III. deneme grubu hemoglobin düzeyleri, Kanyılmaz, (2008)'ın çalışmasından elde ettiği sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Harikrishnan ve ark. (2003), Sazan (*Cyprinus carpio*)' larda *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı tedavi amaçlı uyguladıkları *Azadirachta indica* bitkisinin hematolojik parametreler üzerine etkisini araştırmışlar ve hemoglobin

düzeyinin önemli derecede azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızda ise Harikrishnan ve ark. (2003)'nın çalışmasından farklı olarak, deneme ve kontrol grupları hemoglobin düzeyleri arasında oluşan farkın istatistiki açıdan önemsiz olmasının farklı yem katkı maddelerinin kullanılmış olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

4.2.4.Periferik Yayma

Balık lökositleri, gerek morfolojik gerekse fizyolojik açıdan diğer omurgalıların lökositlerine benzerlik göstermekle birlikte sayısal olarak farklılıklar vardır. Balıklarda, 1 mm^3 kanda lökosit miktarı 20,000-150,000 arasındadır (Hines ve Yashouv, 1970). Lökositler temelde hasarlı bölgedeki kan kaybını önlemekte ve bakteriyel, viral, paraziter ve benzeri durumlarda sayıca artarak immün cevap oluşturmaktadır (Schreck ve Moyle, 1990; Azizoğlu ve Cengizler, 1996). Lökosit sayısının kandaki azalma nedeni ise, daha çok ağır seyreden enfeksiyonlar ile lenfoid doku harabiyetidir (Noyan, 1980; Azizoğlu ve Cengizler, 1996). Lökositlerin yüzde oranlarının saptanması, hastalıkların ayırt edilmesinde kullanılan bir parametredir (Çağırgan, 1990).

Lenfositlerin temel görevi antikor üretimidir (Çağırgan, 1990). Bunun yanında immün cevapta yer alan en önemli hücrelerdir. Balıklardaki lenfosit sayısı genelde oldukça yüksektir. Bu sayıda özellikle hastalık durumlarında, deneysel iltihaplanma, enfeksiyonların akut ve kronik aşamalarında düzenli artışlar gözlenmiştir (Guyton ve Hall, 1996; Roberts,1989).

Monositler, savunma sisteminin sayıca az olan fagositik hücreleridir. Bu hücreler sadece yabancı maddeleri değil, bakterileri ve virüsleri'de sindirirler (Takashima ve Hibiya, 1995).

Nötrofiller, bakteriyel enfeksiyona karşı vücudu savunmada görevlidir (Takashima ve Hibiya, 1995) ve balık bakterilerle enfekte olduğunda sayılarında artış olur (Demir, 1996).

Klinoptilolit katkılı deneme gruplarında (I ve III.) lenfosit ortalamaları arasında oluşan farkın istatistiki açıdan önemsiz olduğu, III. deneme grubu lenfosit ortalaması ile kontrol grubu ortalamalarının benzerlik gösterdiği saptanmıştır. I.

deneme grubu ile kontrol grubu arasında oluşan farkın önemsiz olduğu ve bu duruma *A. hyrophila* enfeksiyonun neden olduğu düşünülmektedir.

Araştırmamızdaki deneme grupları monosit ortalamaları ile kontrol grubu monosit ortalaması arasında istatistiki açıdan önemli farklar olmadığı saptanmıştır.

7 ve 14. günlerde *A. hydrophila* enjeksiyonu yapılan I ve II. deneme grupları nötrofil ortalamaları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir, dolayısı ile klinoptilolit katkısının nötrofil ortalamasına bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir, ancak I ve II. deneme grupları nötrofil ortalamalarının kontrol grubu ve III. deneme grubu nötrofil ortalamalarından önemli derecede farklı olduğu belirlenmiştir. Deneme grupları arasında oluşan bu farkın balıklarda bakteriyolojik enfeksiyona karşı oluşan savunma mekanizmasından kaynaklandığı düşünülmektedir

Azizoğlu ve Cengizler (1996), sağlıklı tilapia'ların bazı hematolojik parametrelerini inceledikleri çalışmalarında, lökosit hücrelerinin yüzde oranlarını, lenfosit %32-84, monosit %8-42, nötrofil %4-10, eosinofil %4-28 olarak belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada, lenfosit ve monosit değerlerinin Azizoğlu ve Cengizler (1996)' in çalışmasında elde ettikleri değerler dahilinde olduğu, fakat nötrofil ve eosinofil değerlerinin belirttikleri değerler dışında olduğu görülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda lenfosit, monosit ve eosinofil değerlerinde deneme grupları ile kontrol grubu değerleri arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir.

Sarıhan (2005), tilapia'larda levamisol uygulamasından (5, 7,5 ve 12,5µg/ml) sonra oluşan immun yanıtın izlenmesi üzerine yapmış olduğu çalışmasında, kontrol grubulökosit hücre oranlarının, lenfosit %66,84-81-67, monosit %7,33-13,33, nötrofil %9,83-24,33, eosinofil %0,00-0,67 aralığında değiştiğini bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada normal alabalık yemi ile beslenen kontrol grubumuzdan elde ettiğimiz değerler, Sarıhan (2005)'in çalışmasında elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

Rafig ve ark. (2001), Nil tilapia (*Oreocromis niloticus*)'nda *A. hydrophila'* ya karşı oluşan non-spesifik immun yanıtı izlemişler ve araştırma sonunda lökosit (nötrofil, lenfosit, trombosit, monosit) miktarlarının deneme grupları arasında istatistiki açıdan önemli farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; tilapia'larda yoğun ölümlere neden olabilen *A.hydrophila* enfeksiyonuna karşı zeolit minerallerinden klinoptilolit'in koruyucu ve/veya tedavi edici bir etkiye sahip olup olmadığının belirlenmesi amacıyla hematolojik yönden incelenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla; 3 farklı deneme ve kontrol gruplarından oluşan 90 günlük denemeler gerçekleştirilmiştir.

I. deneme: tilapialar %2 klinoptilolit katkılı yemle 60 gün süreyle beslenmişlerdir. Bu süre sonunda *A. hydrophila* balıklara intraperitonal olarak enjekte edilerek, enfeksiyon başlatılmıştır. Enjeksiyondan sonra 30 gün daha klinoptilolit katkılı yemle besleme devam edilmiştir.

II. deneme: Balıklar 60 gün süre ile katkısız normal alabalık yemi ile beslenmişlerdir. Sonrasında deneysel enfeksiyon oluşturmak için *A. hydrophila* enjekte edilmiştir. Katkısız normal yemle besleme işlemi 30 gün devam etmiştir.

III. denemede: Balıklar 90 gün boyunca %2'lik klinoptilolit katkılı yemle beslenmişlerdir.

Kontrol grubu: Katkısız normal alabalık yemi ile 90 gün besleme yapılmıştır. I ve II. deneme gruplarında 60 günlük besleme sonrasında yapılan bakteri enjeksiyonu sırasında balıklarda oluşan stres koşullarını, III. deneme ve kontrol gruplarında da oluşturmak için bakterisiz TSB aynı yöntemle balıklara enjekte edilmiştir.

Uygulamaların hematolojik parametreler üzerine etkisini belirlemek amacıyla bakteri enjeksiyonundan sonraki 7, 14 ve 21. günlerde tüm gruplardan kan örnekleri alınmış ve hematolojik parametreler belirlenmeye çalışılmıştır.

Araştırmamızda hematolojik analizlerden elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, sadece %2 klinoptilolit katkılı yemle beslenen III. deneme grubunun kontrol grubuyla benzer sonuçlar gösterdiği ve klinoptilolitin tek başına kan parametreleri ve hücre yapılarında sayısal ve yapısal değişime neden omadığı belirlenmiştir. I ve II. deneme gruplarındaki balıklardan elde ettiğimiz veriler incelendiğinde; genel olarak balıklarda görülen tipik bakteriyel enfeksiyonların

neden olduğu klinik semptomlarla birlikte bağışıklık sisteminin devreye girmesine bağlı olarak kan parametrelerinde oluşan değişimler belirlenmiştir. Özellikle sadece bakteri enjeksiyonu yapılmış olan II. deneme grubundan elde edilen lökosit değerlerinin, bakteri enjeksiyonu yapılmış ve %2 oranında klinoptilolit'li yemle beslenmiş grubun lökosit değerleri birbirine oldukça yakın bulunmuştur. I. ve III. deneme gruplarındaki hematokrit, eritrosit ve hemoglobin düzeylerindeki düşüşlerin yalnız bakteri enfeksiyonuna bağlı olduğu aynı zamanda klinoptilolit'in hiçbir etkisi olmadığı kontrol ve III. deneme gruplarıyla yapılan karşılaştırmada ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak, tilapia yemlerine yapılan %2 'lik klinoptilolit katkısının hematolojik açıdan kan parametrelerin de bir değşime neden olmadığı, özellikle bakteri enjekte edilen I. deneme grubunda enjeksiyon öncesi 60 gün boyunca %2 'lik klinoptilolit katkılı yemle beslememesinin *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı herhangi bir koruma sağlamadığı bakteri enjeksiyonu sonrasında oluşan klinik semptomlar ve bu gruptan elde edilen hematolojik verilerden anlaşılmaktadır. Ayrıca, %2'lik klinoptilolit katkısının *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı tedavi amacıyla kullanılamayacağıda deneysel enfeksiyon sonrası elde edilen kan parametreleri ve oluşan ölümlerden anlaşılmıştır. Özellikle, deneysel enfeksiyonun başlatılmasından sonraki ilk 7 gün içerisinde lökosit düzeyindeki artışı bağışıklık sistemin bir tepkisi olarak yorumlanmış ve sonrasında 14. ve 21. günlerde lökositteki düşüşlerin ise bağışıklık sisteminin, artan bakteri yoğunluğu ve oluşan klinik semptomlara karşı yetersiz kaldığı kanaatine varılmıştır.

Bu çalışmada uygulanan %2'lik klinoptilolit yem katkı maddesinin ileride kurgulanacak olan çalışmalarda arttırılarak uygulanmasının hematolojik veriler açısından daha farklı sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

ALTUN, S., DİLER, Ö., 1999. *Yersinia ruckeri* ile Enfekte Edilmiş Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Hematolojik İncelemeler. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, Ankara, 23(4), 301-309 s.

ALÇİÇEK, A., BOZKURT, M., ÖZKAN, K., ALTAN, A., ÇABUK, M., AKBAŞ, Y. ve ALTAN, Ö., 1998. Tavukçulukta Doğal Zeolit Kullanımı II: Zeolitin Etlik Piliç Performansı, Bazı Kan Serum ve Tibia Özellikleri Üzerine Etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35 (1-2-3), 13s.

ALP, E., 2005. Aromatik Bileşiklerin Zeolit Katalizörler Üzerinde Transalkilasyonu ve Disproporsiyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 155s.

ALTAN, A., ALTAN, Ö., ALÇİÇEK, A., NALBANT, M., AKBAŞ, Y., 1998. Tavukçulukta Doğal Zeolit Kullanımı, I. Altlığa Zeolit İlavesinin Etlik Piliç Performansı, Altlık Nemi ve Amonyak Konsantrasyonu Üzerine Etkileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35, 1-3.

AMBLACHER, E. (1976). Taschenbuch der Fischkrankheiten. 3rd ed. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. P. 121-144.

ANONYMOUS I, 2006. Zeolit nedir?
http://www.zeoliteproducer.com/rotamintr.html

ANONYMOUS II, 2005. Zeolit Nedir?
http://www.teknomin.com.tr/turkçe/ zeolit_b.html

ANONYMOUS III, 2006. Natural Zeolites- Potential and Applications.
http://www.techno-preeur.net/new-timeis/ScienceTechMag/feb04/natural zeolites.html

ARDA, M., SEÇER, S., SARIEYYÜPOĞLU, M., 2002. Balık Hastalıkları Medisan Yayınevi, Ankara. s,142.

ARIMAN, H., ARAS, N.M., 2001. Hormon Etkisine Sahip Yem Katkı Maddelerinin Balık Yetiştiriciliği Açısından Değerlendirilmesi,XI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Bildirileri,Hatay, 947-950.

AUSTIN, B., ADAMS, C., 1996. Fish Pathogens. The Genus *Aeromonas* (Eds. Austin, B., Altwegg, M., Gosling, P. J., Joseph, S.), John Wiley, Chichester,197-229.

AYBAL, N. Ö., 2001. Klinoptilolitin Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 56s.

AZİZOĞLU, A., CENGİZLER, İ., 1996. Sağlıklı *Oreochromis niloticus* (L.) Bireylerinde Bazı Hematolojik Parametrelerin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, Ankara, (20), 425-431.

BACH, R., CHEN, P.K.,CHAPMAN, C.B. (1978). Changes in the spleen of the channel catfish Ictalurus punctatus rafinesque induced by Aeromonas hydrophila. J. Fish.Dis. 1: 205-207.

BADAWI, H. K., SAID, M. M., 1971. A Comparative Study of the Blood of Four Tilapia Species. Marine Biology Alexandra, Egypt P. 202-204

BARHAM, W. T., SMIT, G. L. ve SCHOONBEE, H. J., 1980. The effect of bacterial infection on erythrocyte fragility and sedimentation rate of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, **16**, 177-180.

BARTKO P., VRZGULA L., PROSBOVA M, BLAZOVSKYl J., 1983. The effect of feeding zeolite (clinoptilolite) on the health status of sheep (in Slovak). Veterinarni Medicina (Praha), 28, 481–492

BOWER, C.E. ve TURNER, D.T., 1982. Ammonia removal by clinoptilolite in the transport of ornamental freshwater fishes. Prog.Fish-Cult. 4(1):19-23.

BRENEN, R. A. ve HUIZINGA, H. W., 1986. Pathophysiology of exprimental *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish, *Carassius auratus.* Journal of Fish Diseases, 9, 163-167.

BUSCH, R.A., 1982. "Enteric Redmouth Disease" Symposium International de Talloires 10-12 May., Les Antigenes Des Micro-organismes Pathogens de Poissons. Collection Fondation Marcel Merieux, 201-224, p.

CARTHY, D. H., STEVENSON, J. P., ROBERTS, M. S., 1971. Some Blood Parameters of The Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). Fish Biol. 5, England. 1-8.

CRUZ, M. C., ve MUROGA, K., 1989. The effects of *Vibrio anguillarum* extracellular products on Japanese eels. Aquaculture, 80: 201-210.

ÇAĞIRGAN, H., **1990.** Teleostlarda Basğışıklık Sistemi ve Teşhisteki Önemi. Ege Üniv. Su Ürünleri Dergisi, İzmir, 7, (25, 26, 27, 28), 57-68 s.

ÇELEBİ, Ş., MACİT, M. ve KARACA, H., 2004. Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Geç Dönemde Zeolit İlavesinin Performans ve Bazı Önemli Yumurta Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, 1-3 Eylül 2004, Isparta, s. 405-409.

ÇELEBİ, Ş., **UTLU, N., YÜCEL, O., 2005.** Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Değişik Düzeylerde Zeolit İlavesinin Bazı Serum Mineral Maddeler Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü.

ÇELIK, M. S., ÖZDEM R. B., TURAN, M., KOYUNCU, I., ATESOK, G.,SARIKAYA, H.Z., 2001. Removal of Ammonia by Natural Clay Minerals Using Fixed and fluidised Bed Column Reactors, Water Science and Technology: Water Supply Vol 1 No1 pp 81-88.

DANABAŞ, D., **2009.** Farklı Oranlardaki Zeolit (Klinoptilolit)' in Bazı Su Parametreleri ile Gökkuşağı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792)' nin Gelişimi ve Vücut Kompozisyonuna Etkileri. Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

DE KINKELIN, P., MICHEL, C., GHITTINO, P., 1985. Precis de Patholoie des Poissons. OIE., Paris, 348 p.

DEMİR, N., 1996. İhtiyoloji İkinci Baskı. İstanbul Üniversitesi Yayınları Sayı . 3903, Fen Fakültesi No. 236, ISBN. 975-404-391-4. İstanbul, 394 s.

DIAS, J., HUELVAN, C., DINIS, M. T., METAILLER, R., 1998. Infulence of Dietary Bulk Agents (Silica, Cellulose And Naturel Zeolite) On Protein Digestibility, Growth, Feed Intake And Trakit Time in European Seabass (*Dicentrarchus Labrax*) Juveniles, Aquatic Living Resource, 11 (4): 219 - 226.

EKİNGEN, G., **1988.** Balık Hematolojisinin Bilim ve Uygulamadaki Önemi. F. Ü. Veteriner Fak. Derg. IV Elazığ. 1-5.

ELEROĞLU, H. ve YALÇIN, H., 2000. Zeolitle Karıştırılan Altlığın Etlik Piliçlerde Besi Performansı ile Bazı Altlık Parametreleri Üzerine Etkileri. Tavukçuluk Araştırma Dergisi, 7: 405-409.

ELEROĞLU, H. ve YALÇIN, H., 2004. Zeolitle Karıştırılan Altlığın Etlik Piliçlerde Besi Performansı İle Bazı Altlık Parametreleri Üzerine Etkileri. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi.

EMADI, H. NEZHAD, J.E. POURBAGHER, H., 2001. In Vitro Comparsion Of Zeolite (Clinoptilolite) And Active Carbon As Ammonia Absorbants In Fish Culture. Naga, The ICLARM Quarterly, 24 (1-2) : 18-20

ENGLAND, D.C., 1975. Effect of zeolite on incidence and severity of scouring and level of performance of pigs during suckling and early postweaning. Report, 17th Swine Day, Spec. Rep. 447, Ag. Ex. Stat., Oregon State Univ., p. 30-33.

EVENBERG, D., GFAAF,P., FLEUREN, W., MUISWINKEL, W.B., 1986. Blood Changes in Carp (*C. carpio*) Induced by Ulcerative *Aeromonas salmonicida* Infections. Veterinary Immünology and Immünopathology, Amsterdam, (12), p. 321-330.

FODA, A., 1973. Changes in haematocrit and haemoglobin in Atlantic salmon as a result frunculosis disease. J. Fish. Res. Board. Can., 30 (3): 467-467.

GEZEN, Ş.Ş. ve EREN, M., 2002. Broyler Rasyonlarına Katılan Narasin ve Nikarbazinin Zeolit ile Etkileşiminin Besi Performansı Üzerine Etkileri. Uludağ Üniversitesi J. Fac. Vet. Med., 21: 95-101.

GUYTON, A. C., HALL, J.E., 1996. Guyton& Hall Textbook of Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji 9. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. Medical Yayıncılık Yüce Yayınları İstanbul, 1104 s.

GÜRGÜN, V., **HALKMAN, K., 1990.** Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri; 2. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:7. Ankara.

HARIKRISHNAN, R., BALASUNDARAM, C., 2003. Modern trends in *Aeromonas hydrophila* Disease Management with fish. Rev. fish. sci. 13:281-320.

HINES, R. S., YASHOUV, A., 1970. Differential Leucocyte Counts for Some Normal Israeli Mirror carp. Bamidgeh, Jerusalem, (22),p. 106-113.

HOUSTON, A. H., 1997. Rewiev: Are the Classical Haematological Variables Acceptable Indıcators of Fısh Health ?. Transactions of the American Fisheries Society. U.S.A., 6, (126), p. 879-894

HUIZINGA, H. W., ESCH, G.W., HAZEN, T.C. (1979). Histopathology of redsore disease (Aeromonas hydrophila) in naturally and experimentally infected large mouth bass Micropterus salmonides (Lacépéde). Journal of Fish Diseases, 2: 263-277.

JAMES, R., **SAMPATH, K., ve SELVAMONI, P., 2000.** Effect of Ion-Exchanging Agent, Zeolite on Removal of Copper in Water and Improvement of Growth in Oreochromis mossambicus. Department of Zoology V.O. Chidombaram College Tuticorin- 628 008 TN, India.

JONATHAN, C., ANDREA, P., IYERUSALEM, H., ve PREMALATHAN, J., 2008. Effects of Dietary Zeolites (Bentonite and Mordenite) on the Performance Juvenile Rainbow Trout Onchorynchus mykis. Department of Biology, West Virginia State University Institute Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(4): 961-967, 2008 WV 25112.

KAISER, H., BRILL, G., CAHILL, J., COLLETT, P., CZYPIONKA, K., GREEN, A., ORR, K., PATTRICK, P., SCHEEPERS, R., STONIER, T., WHITEHEAD, M.A., YEARSLEY, Y., 2006. Testing clove oil as an anaesthetic for longdistance transport of live fish: the case of the Lake Victoria cichlid *Haplochromis obliquidens* J. Appl. Ichthyol. 22 510–514

KANYILMAZ, M., 2008. Sazan Yemlerine (*Cyprinus carpio* L., 1758) Farklı Oranlarda Zeolit (Klinoptilolit) Katkısının Büyüme, Vücut Kompozisyonu, Bazı Kan Parametreleri ve Bağırsak Mukoza Morfolojisi Üzerine Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 51s.

KATSOULOS, P. D., ROUBIES N., PANOUSIS N., CHRISTAKI E., KARATZANOS P., KARATZIAS, H., 2005. Efects Of Long Term Feeding Dairy Cows On A Diet Supplemented With Clinoptilolite On Certain Haematological Parameters. Vet. Med. – Czech, *50, (10): 427–431*

KLEIN, D.,WU, S., 1974. Stress. A Factor to be Considered in Heterotrophic Microorganism Enumeration From Aquatic Environments. Applied Microbiology, 27(2), 429-431.

KOCABATMAZ, M., EKİNGEN, G., 1982. Değişik Tür Balıklarda Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metodların Standardizasyonu. TÜBİTAK Proje No. VHAG-557., Elazığ; 72.

KONDO, N. ve WAGAİ, 1968. Experimental use of clinoptilolite as dietary supplements for pigs. Yotonkai, May 1-4.

KONUK, T., 1981. Pratik Fizyoloji **I.** Veteriner Fak. Yay. Ankara üniversitesi Basımevi, Ankara. 181.

KOZINSKA, A. ve ANTYCHOWICZ, J., 2000. Influence of an experimental Aeromonas hydrophila vaccine on selected hematological values and non-spesific immunity in carp (Cyprinus carpio L.). Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 44: 169-178.

LOVELL, T., 1989. Nutrition and Feeding of Fish. An. AVI Book. Published by Van Nostrand Reinhad. New York. 260 p.1989.

MAQSOOD, S., SAMOON, M.H., SINGH, P., 2008. Immunomodulatory and Growth Promoting Effect of Dietary Levamisole in *Cyprinus carpio* Fingerlings Against the Challenge of *Aeromonas hydrophila*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 9: 111-120.

MOYNER, K., ROED, K.H., SEVETDAL, S. ve HEUM, M., 1993. Changes in Non-specific Immune Parameters in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., Induced by *Aeromonas salmonicida*. Fish Shellfish Immunology, 3,4, 253-265.

MUMPTON, F. A., 1981. Utilization of Natural Zeolites In: Minerology and Geology of Natural Zeolites, F. A. Mumpton (ed). Book Crafters Inc.Michigan, p. 177-204.

MUMPTON, F. A., 1999. La Roca Magica: Uses of Natural Zeolites in Agriculture and Industry. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96 (7): 3463-3470.

MUROGA, K., 1975. Red spot disease of cultured eels-method for artificial infection. Fish Pathology, 15: 315-318.

NOYAN, A., **1980.** Fizyoloji Ders Kitabı. Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anadolu Üni. Yayınları No: 2, Eskişehir. S. 590.

NGUYEN, M. L., TANNER, C. C., 1998. Ammonium Removal from Wastewaters Using Natural New – Zealand Zeolites. New Zealand Journal of Agricultural research, Vol. 41, Iss. 3, 427 – 446.

OBRADOVIC, S., ADAMOVIC, M., VUKASINOVIC, M., JOVANOVIC, R., ve LEVIC, J., 2006. The Application Effects of Natural Zeolite in Feed and Water on Production Results of Oncorhynchus mykis (Walbaum). Feed Technology Department, Bulevar Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia. Received for Publication, October 5, 2006.

OGUNJI, J.O. 2004. Alternative Protein Sources in Diets for Formed Tilapia. Animal Science. con. Reviews No. 13 Nutrition Abstracts and Reviews: Series B 74 (9) 23- 32.

OĞUZ, H., KURTOĞLU, V. ve COŞKUN, B., 2000. Preventive Efficacy of Clinoptilolite in Broilers During Chronic Aflatoxin (50 and 100 ppb) Exposure. Research in Veterinary Science, 69 (2): 197-201.

OĞUZ H., KURTOĞLU V., 2000. Effect of clinoptilolite on performace of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. Brit. Poult. Sci., 41, 512–517.

ONAGI, T., 1968. Treating-experiments of chicken droppings with zeolitic tuff powder. Report, Yagamata Stock Raising Institute, p. 7-18.

ÖRGEV, C., İNANÇ, İ., 2004. Doğal Zeolit'in Doğal Kaynak Sularında pH, İletkenlik ve Sertlik Özelliklerinin Düzenleyicisi Olarak Kullanımı Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, BİYOMUT. İstanbul

PAPAIOANNOU D.S., KYRIAKIS C.S., ALEXOPOULOS C., 2004. A field study on the effect of dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials, on the health status and performance of weaned, growing and finishing pigs. Res. Vet. Sci., 76, 19–29.

PARLAT S.S., YILDIZ A.O., OĞUZ H., 1999. Effect of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. Brit. Poult. Sci., 40, 495–500.

PETERS, M., FAISAL, T., AHMED L., 1988. Stress caused by social interaction and its effect on susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout *Salmo gairdneri*. Diseases of Aquatic Organisms, Published May. 31, vol. 4: 8-89, 1988.

PHILLIPS T. D., 1999. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. Toxicol. Sci., 52, 118- 126.

PETKOVA E., VENTKOV T., CHUSHKOV P., DZHUROV P., STEFANOV T., 1982. Bulgarian potassium-calcium zeolite in the prophylaxis of digestive tract disorders in calves (in Bulgarian). Veterinary Medicine Nauki, 19, 55–62.

PEYGHAN, R. ve AZARY-TAKAMY, G., 2002. Histopathological, Serum Enzyme, Cholesterol and Urea Changes in Experimental Acute Toxicity of Ammonia in Common Carp, *Cyprinus carpio* and Use of Natural Zeolite for Prevention. Aquaculture International, 10: 317-325

PLUMB, J.A., 1999. Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes. Iowa State University Pres, Ames, Iowa, 328a.

RAFIG, M., **THOMPSON KIM, D., PENMAN DAVİD, J., ve McANDREW BRENDAN, J., 1999.** Immun responses of Nile tilapia (*Oreocromis niloticus*

L.) clones: I. Non- specific responses. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, UK. Developmental and Comaparative Immunology 25(2001) 37-46.

REED, L.J., ve MUENCH, H., 1938. A simple method of estimating fifty pe cent endpoints. The American Journal of Hygiene, 27:493-497.

ROBERTS, J. R., 1989. Fish Pathology. Second Edition. 24-28 Oval Road London, NW1 7DX England. P. 453.

ROBERTS, R. J. ve SHEPHERD, C. J., 2001. Alabalık ve Salmon Hastalıkları (Handbook of Trout and Salmon Diseases), (Çevirmen: Vatansever, H.). Akademi-UĞURER Tarımsal Kitap Tanıtım ve Pazarlama Hizmetleri, Kayseri, 254s.

RODERICK, E., 2001. International file. Fish Farmer International. July- August 15, 4, 2001.

SARIÇİÇEK, Z., 1995. Yemler Bilgisi Laboratuar Kılavuzu. OMÜ, Ziraat Fakültesi, Ders Notu:16, 68 s., Samsun

SARIHAN, F., 2005. Tilapia (Oreocromis niloticus)' larda Levamisol ve *Streptococcus iniae* Uygulamasından Sonra Oluşan İmmun Yanıtın İzlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi.

SARIOGLU, M., 2005. Removal of Ammonium From Municipal Wastewater using Natural Turkish (Doğantepe) Zeolite. Separation and Purificatio Technology, 41: 1-11.

SCHLOTFELDT, H.J. ve ALDERMAN, D.J., 1995. A Practical Guide for the Fresh Water Fish Farmer. Published by the European Association Pathologists, 15 (4).

SCHRECK, C. B., MOYLE, P. B., 1990. Methods for Fish Biology. American Fisheries Society. Exxon Company. Maryland, U.S.A., 313.

SHOEMAKER, C.A., LIM, C., YILDIRIM-AKSOY, M., WELKER, T.L. ve KLESIUS, P.H., 2006. Growth response and acquired resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), that survived *Streptococcus iniae* infection. Aquaculture Research.

SIWICKI, A.K., ANDERSON, D.P., DIXON, O.W., 1994. Dietary Intake of Immunostimulants by Rainbow Trout Affects nonspecific Immunity and Protection Against Furunculosis. Veterinary Immunology Immunopathology, 41, 125-139.

SKOLL, P. J., HUDSON, D. A., SIMPSON, J. A., 1998. *Aeromonas hydrophila* in burn patients. Burns. 24:350-353.

STOLLEN, S.J., FLETCHER, T.C., ROWLEY, A.F., ZELİKOF, J.T., KAATTARİ, S.L., SMITH, S.A., 1994. Techniques in Fish Immunology-3. SOS Publication. Virginia- Maryland Regional Collage of Veterinary Medicine Vircinia Tech. U.S.A., P. 190.

STOSKOPH, M. K., 1993. Bacterial Diseases of Goldfish, Koi, and Carp. Fish Medicine. Chapter 48, 473-475.

ŞAHAN, A., CENGİZLER, İ., 2002. Determination of some heamatological parameters in spotted barb (*Capoeta barroisi*, 1894) and roach (*Rutilus rutilus*, 1758) Living in Seyhan. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 26: 849-858.

TAKASHIMA, F., HIBIYA, T., 1995. An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features. Second Edition. Kodansa Ltd. Japan. P. 195.

TANYER, G., 1985. Hematoloji ve Laboratuar Ders Kitabı. Ayyıldız A.Ş. Ankara 109-148.

TEMİZ, A., 1994. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Ankara. 274s

TSITSISHVILI G. V., ANDRONIKASHVILI T.G., KIROV G.N., FLIZOVA L.D., 1992. Natural zeolites. Ellis Horwood Ltd. 283, Chichester, Sussex. Van Leeuwen P, Mouwen JMVM, Van Der klis JD, Verstegen MWA (2004). Morphology of the small intestinal mucosal surface of broilers

TORRII, K., 1974. Utilization of natural zeolites in Japan. In: Natural Zeolites: Occurrence, Properties, Use (Sand, L.B & Mumpton, F.A., eds.), pp: 441 450. Pergamon Press, Elmsford, New York.

TÖRE, Y., 2006. Doğal Zeolit ve Nişastanın Tilapia Balıkları Yeminde Dolgu Maddesi Olarak Kullanımının Bazı Vücut ve Kan Kompozisyonu İle Su Kalitesi Parametreleri Üzerine Etkileri. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi.

TRUST, T.J., BULL, M.L., CURRIE, B.R., BUCKLEY, J.T. 1974. Obligate anaerobic bacteria in the gastrointestinal microflora of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 36**:** 1174-1179.

UZEL, A., UÇAR, F., 2000. İzmir ilindeki çeşitli kaynaklardan *Aeromonas hydrophila*'nın izolasyon, identifikasyon ve toksijenik özellikleri. Turk J. Biol., 24: 25- 32.

WATTEN, B. J. ve ENGLISH, M. J., 1985. Effects of Organic Matter in Aquacultural Waste on the Ammonium Exchange Capacity of Clinoptilolite. Aquaculture, 46 (3): 221-235.

WHITE, J.L., OHLROGGE, A.J., 1974. Ion exchange materials to increase consumption of non-protein nitrogen in ruminants. Canadian Patent 939186, Jan. 2, 30 pp.

YARDIMCI, B., (2007). Nil Tilapialarında (*Oreochromis niloticus*) Deneysel *Aeromonas hydrophila* Enfeksiyonundaki (Bakteriyel Hemorajik Septisemi) Patolojik Bulgular. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

ZORPAS, A. A., INGLEZAKIS, V. J. ve LOIZIDOU, M., 2008. Heavy Metals Franctionation Before, During and After Composting of Sewage Sludge with Natural Zeolite. Waste Management, 28: 2054-2060. 81-82.

ÖZGEÇMİŞ

11.12.1980 yılında Adana'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 2000 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini kazandım. 2004 yılında lisans eğitimimi tamamlayıp, 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.