

**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇAY BİTKİSİ (*Camellia sinensis*) TOHUMUNUN BALIK SAĞLIĞI
ALANINDA KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Cengiz ÇİFTÇİ

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Şevki KAYIŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

RİZE 2014

T.C.

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

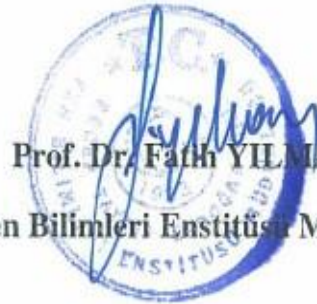
ÇAY BİTKİSİ (*Camellia sinensis*) TOHUMUNUN BALIK SAĞLIĞI
ALANINDA KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Bu çalışma, 21/04/2014 tarihinde yapılan sınav ile Su Ürünleri Anabilim
Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı, Soyadı
Tez Danışmanı	: Doç.Dr. Şevki KAYIŞ
Jüri Üyesi	: Prof.Dr. İlhan ALTINOK
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Fikri BALTA

İmzası

(Handwritten signatures of the thesis advisor and jury members)



Prof. Dr. Faik YILMAZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

İnsanlar açısından önemli bir gıda ve ülke ekonomileri için ciddi değerler oluşturan başta balık olmak üzere su ürünleri yetiştiriciliği, her geçen yıl artmaktadır. Besin değeri, istihdam katkısı gibi birçok katma değeriyle önem arz eden bu sektör için en büyük problemlerden biri balık hastalıklarıdır. Kimyasallar kullanılarak yapılan tedavilerin yan etkisi ve kalıntıları balık sağlığı ve zincirin devamındaki insan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Bu açıdan doğal çözümler için bitkisel alternatifler araştırılmaktadır. Bu çalışmada Rize ilinin toplam tarım arazisinin %92 sini kaplayan Çay (*Camellia sinensis*) bitkisinin balık sağlığı alanında kullanılması olabilirliği araştırılmıştır.

Çay tohumunda %12-18 oranında bulunan saponin, temizlik maddelerinin yapımında da kullanılan doğal dezenfektan olup bu çalışmanın sürekliliğini sağlayacak farklı etkileri de araştırılabilecek bölgenin kaynaklarından. Ülkemizde 77000 hektar çay tarım alanı ve 202000 çay üreticisi mevcuttur. Muazzam büyüklükteki bu sektöre ek kaynaklar kazandırılması açısından da çay bitkisi üzerine yapılan çalışmaların artırılması önemlidir.

Bu çalışma süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Şevki KAYIŞ' a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını aldığım değerli Arş. Gör. Akif ER'e ve İyidere Su Ürünleri Üretim Eğitim ve Araştırma Merkezi'nde çalışan Uzman Özay KÖSE' ye bilgi ve emeği ile çalışmama desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

Hem bu zorlu ve uzun süreçte hem de hayatım boyunca yanımda olan ve ideallerimi gerçekleştirmemi sağlayan değerli aileme yürekten teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumunun Balık Sağlığı Alanında Kullanımının Araştırılması

Bakteriyel balık hastalıkları su ürünleri yetiştiriciliğinde ölümlere sebep olan en önemli problemlerden birisidir. Bu nedenle dünya genelinde balık ölümleri nedeniyle önemli ekonomik kayıplar bakteriyel kaynaklıdır. Bakteriyel patojenlerin antibiyotiklere direnç kazanması yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesini ihtiyaç haline getirmiştir. Bu çalışmada, yeşil çay (*Camellia sinensis*) bitkisi tohumu ve tohumdan elde edilen saponin maddesinin gökkuşakı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) patojen olan *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas putida*, *P. luteola*, *Aeromonas hydrophila* ve *Listonella anguillarum* (*Vibrio anguillarum*) bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkileri agar difüzyon metodu kullanılarak incelenmiştir. Buna ek olarak balıkların hayati organlarındaki olası histolojik etkiler gözlemlenmiştir.

Sıvılaştırılmış ve toz halindeki çay tohumu saponinin yeme katılması şeklinde yapılan denemelerde, antimikrobiyal etki araştırması sonucunda sadece *Vibrio anguillarum* bakterisi için inhibisyon zonu belirlenmiştir. Sıvı hale getirilen çay tohum tozu ile beslenen balıklardaki denemelerde hayatta kalma oranı daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte hayati organlardan solungaçlarda hiperplazi, epitel dokunun lamellerden ayrılması, karaciğerde lipid damlacıklarının oluşumu, ödem ve nükleer dejenerasyonlar olmak üzere hafif düzeyde patolojik etkilerin varlığına rastlanmıştır.

Bu tez çalışması ile özellikle denizlerdeki kafes sistemlerinde yetiştiriciliği yapılan alabalıkların çay tohumu ilaveli yemlerle beslenmesinin muhtemel olabilecek *Vibrio anguillarum* enfeksiyonlarına karşı balıklarda hayatta kalmaya olumlu yönde katkısı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çay, saponin, *Camellia sinensis*, balık sağlığı, vibriosis

SUMMARY

Investigation of the Use of Tea Plant (*Camellia sinensis*) Seed in Fish Health

In aquaculture, bacterial fish diseases are still one of the most serious problems and they can result in high mortality. Consequently, fish mortality of bacterial origin can cause significant economic losses worldwide. The evolution of microorganism resistance to antibiotics has resulted in a growing need for new antibacterial compounds. In the present study, the antibacterial activity of green tea (*Camellia sinensis* L.) seed and its secondary metabolite saponin were evaluated on cultures of *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas putida*, *P. luteola*, *Aeromonas hydrophila* and, *Vibrio anguillarum*, the pathogens that cause crucial diseases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum).

In addition to this, possible histological effects were investigated on the vital organs of the fish. The antibacterial activity of tea seed and saponin were determined using the agar diffusion method. Interestingly, watered tea seed (WTS) powder and saponin used in this research as the feed additives demonstrated antibacterial activity against five bacterial fish pathogens, Significant inhibition was observed only in *Vibrio anguillarum*. Besides, WTS showed the highest antibacterial effect against *Vibrio anguillarum*. Accordingly, statistically significant survival rates were observed in fish infected with *Vibrio anguillarum* in WTS and saponin diet groups. Fish fed with WTS mixed pellets had a greater survival rates than the other groups. However, WTS and saponin dieted fish organs showed some mild and nonvital symptoms such as hyperplasia and epithelial lifting in the secondary lamellae of gills and involvement lipid droplets, intercellular edema and nuclear degeneration in liver tissue. Results of this study confirmed the potential use of WTS as a source of antibacterial compounds or as a health-promoting feed additive against *Vibrio anguillarum* infection for trout culture, especially in sea cages.

Key words: Tea, saponin, *Camellia sinensis*, fish health, vibriosis.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖNSÖZ	I
ÖZET	II
SUMMARY	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	3
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	10
2.1. Materyal	10
2.1.1. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali	10
2.1.2. Çay Bitkisi (<i>Camellia sinensis</i>) Tohumu, Saponin ve Balık Yemi	10
2.1.3. Bakteri Türleri.....	10
2.1.4. Deneme Tankları	11
2.1.5. Bakteriyel Çalışmalarında Kullanılan Malzemeler.....	11
2.1.6. Histolojik Çalışmalar	11
2.2. Yöntem.....	12
2.2.1. Çay Tohumunun Toz Hale Getirilmesi ve Balık Yemlerine İlavesi	12
2.2.2. Deneme Grupları ve Süresi.....	13
2.2.3. Histolojik Çalışmalar	13
2.2.4. Çay Tohum Tozunun Bakterilere Etkilerinin İn-Vitro Şartlarda Belirlenmesi	14
2.2.5. Çay Tohum Tozunun Bakterilere Etkilerinin İn-Vivo Şartlarda Belirlenmesi.....	14
3. BULGULAR.....	15
3.1. Çay Tohum Tozunun İn-Vitro ve İn-Vivo Şartlarda Bakterilere Etkileri	15
3.2. Besleme Denemesi.....	17
3.3. Histolojik Çalışmalar	17
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	20
5. ÖNERİLER	22
6. KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Çay bahçelerinin genel görünümü	7
Şekil 2. Çay tohumunun oluşum aşamaları	8
Şekil 3. Çay tohumunun öğütülmüş ve sıvı şeklindeki görünümü	12
Şekil 4. Çay tohum tozunun <i>Vibrio anguillarum</i> üzerine etkisi	15
Şekil 5. Besiyerinde bakterilere karşı oluşan inhibasyon değerleri	16
Şekil 6. <i>V. anguillarum</i> ile enfekte olmuş farklı gruptaki balıkların ölüm oranı.....	16
Şekil 7. Deneme süresince balıklarda görülen ağırlık artışı	17
Şekil 8. Deneme gruplarındaki balıkların solungaçlarındaki değişim	18
Şekil 9. Deneme gruplarındaki balıkların karaciğerlerindeki değişim	29

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. ay tohumunun bileşenleri..... 9

Tablo 2. Çalışmada kullanılan bakteriler ve izole edildikleri balık türleri 11

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Yaşamın var oluşundan günümüze değin, tüm canlılar için en önemli ihtiyaçların başında beslenme gelmektedir. Bu durum, besin kaynağı olarak farklı alternatiflerin aranmasına yol açmıştır. Önceleri besin kalitesi, lezzeti ve çeşitliliği bakımından su ürünleri, bu ihtiyacın karşılanmasında alternatif olarak algılanmış, günümüzde ise su ürünleri alternatif olmaktan öte, tercih edilen ve önemli bir sektörün ürünü haline almıştır (Hoşsu vd., 2001; Braun, 2005). İnsan gıdası olarak yararlanılmaya çalışılan su ürünlerinin genel olarak avcılık yoluyla elde edilmesi, bu kaynakların giderek azalmasına ve ihtiyacı karşılamak adına yeni avcılık politikalarının geliştirilmesini ve su ürünleri yetiştiriciliğini ön plana çıkarmıştır (Çelikkale vd., 1999; Sidhu, 2003).

Bu bağlamda, Danimarka ve diğer ülkelerde alabalık yetiştiriciliği 1930' lu yıllarda yaygınlaşmış ve 1960-1970' li yıllarda salmon yetiştiriciliği geliştirilmeye başlanmıştır. Türkiye su ürünleri yetiştiriciliğine ilk olarak 1970' li yılların başında başlamış ve ilk olarak gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) üretimi gerçekleştirilmiştir. İlk üretim tesisi ise Hasan PAPİLA' ya ait olan Papıla Alabalık Üretim tesisidir. Daha sonraları 1985 yılında İzmir' in Çeşme ilçesinde çipura-levrek yavru üretim tesisi kurularak deniz balıkları üretimine de geçilmiştir (Çelikkale vd., 1999; Hoşsu vd., 2001).

Son yıllarda ülkemizde su ürünleri sektörü ekonomik yönden gelir kaynağı olma özelliği kazanmış ve oldukça önemli bir sektör haline gelmiştir. TÜİK (2011), verilerine göre, Türkiye' nin su ürünleri üretim miktarı 703.545 tona, yıllık kişi başına düşen su ürünleri tüketim miktarı ise 7,2 kg ulaşmıştır. Diğer sektörlerde olduğu gibi, su ürünleri yetiştiriciliğinde de çeşitli yönleriyle önemli sorunlar bulunmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde su kalitesi, yem temini, pazarlama ve iş gücü sorunlarının yanında, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tatlı su ve denizlerde yapılan kültür balıkçılığında ekonomik kayıplara sebep olan en önemli sorun, çeşitli hastalıkların varlığıdır (Çelikkale, 1991; Tokşen, 1999; Timur ve Timur, 2003).

Hastalıkların tüm dünyada su ürünleri yetiştiriciliğini sınırlandıran bir faktör olduğu ve özellikle kuluçka işletmelerinin kârını olumsuz yönde etkilediği açık bir gerçektir (Ateşoğlu, 1996). Aynı zamanda dünyada bir endüstri dalı haline gelen

akuakültürde, yetiştiriciler maliyeti düşürmek için birim hacimdeki suda maksimum sayıda balık yetiştirmenin yollarını aramaktadır. Bu durum doğada serbest yaşamaya alışmış balıklarda stres nedeni olmakta ve doğal ortamda yaşayan balıklarda rastlanmayan kayıpların kültür ortamındaki balıklarda meydana gelmesine sebep olmaktadır (Tokşen, 1999). Tüm bu gerçekler göz önüne alındığında meydana gelebilecek olan kayıpların engellenmesi ya da en aza indirgenmesinde balık hastalıklarından korunma ve hastalıklarla mücadelenin önemi ortaya çıkmaktadır. Balık hastalıklarıyla mücadelede en önemli husus şüphesiz hastalığın oluşumunu önlemek ve hastalıklara karşı koruyucu tedbirlerin alınmasıdır. Bunun ardından hastalığın doğru ve erken teşhisi ve ekonomik yönden en uygun tedavi yöntemlerinin uygulanması gelmektedir. Doğru teşhis ve tedavi balık hastalıklarının yayılmasını önleyecek ve sektörün verimliliğine katkı sağlayacaktır (Ateşoğlu, 1996). Bu amaçla öncelikle yetiştiriciliği yapılan türlerin genel özellikleri ile hastalık sebebi olabilecek etkenlerin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Balık hastalıkları, özellikle yetiştiricilik faaliyetlerinin yaygınlaşmasıyla sektörde oldukça geniş bir çalışma alanı oluşturmuştur. Bilimsel çalışmaların saha uygulamalarına dönüşmesi ile hastalık etkenleri ve bu etkenlere bağlı sorunların aşılması daha kolay hale gelmiştir. Balıklarda hastalık etkenleri enfeksiyöz olmayan ve enfeksiyöz hastalıklar olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Balığın beslenme koşulları, içinde bulunduğu ortam şartları ve su kalitesi gibi etkenler genel olarak enfeksiyöz olmayan hastalık etmenleridir (Lasee, 1995). Hastalık yapıcı etkenlerden kaynaklanan hastalıklar bakteriyel, viral, fungal ve paraziter olmak üzere enfeksiyöz hastalıklar olarak isimlendirmiştir.

Balık hastalıkları konusunda yapılan çalışmalar dikkate alındığında bakteriyel ve viral balık patojenleri yanı sıra paraziter patojenler ile ilgili bilimsel çalışmaların hemen hemen aynı yoğunlukta olduğu görülmektedir. Bu çalışmalar özellikle parazitlerin konakçı hassasiyeti (parazitin konakçı seçimi), epizootolojik çalışmalar ve parazitlerin tedavileri üzerine odaklıdır (Balta vd., 2008). Balık parazitleri protozoan ve metazoan olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir. Protozoan parazitler tek hücreli parazitlerdir. Silli, kamçılı ve mikrospor gibi yaygın formları mevcuttur. Balıklarda genellikle hastalık meydana getiren protozoan parazit türleri arasında *Ichthyobodo necator*, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* spp., *Ambiphyra* spp., *Epistylis* spp., *Chilodenella* spp., *Hexamita* spp. ve *Tetrahymena* spp. türleri sayılabilir (Lasee, 1995;

Balta vd., 2008; Kayış vd., 2013). Doğu Karadeniz Bölgesi' nde yetiştiriciliği yapılan alabalıklarda ve akvaryum yetiştiriciliği yapan işletmelerde, bu parazitler yaygın olarak görülmektedir (Kayış vd., 2009a). Metazoan parazitler ise kendi içinde Plathelminthes, Annelida, Nematoda, Mollusca, Arthropoda, Acanthocephala ve Myxozoa gibi filumlara ayrılmaktadır. Bu parazitlerin solungaç tahribatlarına, gözde ve iç organlarda yaralanmalara, balıklarda açlık ve yüzme kesesinde yangılara, solungaç lamellerinden gaz değişiminin engellenmesine sebep oldukları bildirilmiştir (Lasee, 1995).

Balıklarda patojenik olan bakterilerin, yoğun balık yetiştiriciliği yapılan işletmelerde büyük ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (English vd., 1993; Austin ve Austin, 2007). Su ürünleri yetiştiriciliği yapılan ünitelerden izole edilen bakterilerin bazılarının fırsatçı organizmalar oldukları ifade edilmektedir (Austin ve Austin, 2007). Akuakültürde balıklarda hastalık meydana getiren bakteriler doğal ortamda bulunan balıklardan izole edilebilmektedir, fakat doğal ortamda bulunan balıkların stres koşullarından uzak olmaları nedeniyle bu vakaların nadiren ölümle sonuçlandığı bilinmektedir (Toronzo vd., 2005).

Bakteriyel hastalık etmenleri deniz ve tatlı su yetiştiriciliği yapılan sistemlerde farklılık göstermektedir. Özellikle *Pasteurella* spp., *Vibrio* spp. ve *Piscirickettsia salmonis* gibi balık patojenlerinin deniz sistemlerinde yaygınlığı ifade edilmektedir (Toronzo vd., 2005). Bakteriyel hastalıklar balıklarda, gözlerde çift ya da tek taraflı ekzoftalmi, renkte kararma, deri üzerinde lezyonlar, yüzgeçlerde erime, istahsızlık, iç organlarda kanama ve büyüme, karaciğerde solgunluk gibi belirtiler göstermektedir (Toronzo vd., 2005; Lasee, 2005; Altınok vd., 2007). Furunkulozis (*Aeromonas salmonicida*), vibriozis (*Vibrio* spp.), edwardsiellozis (*Edwardsiella* spp.), yersiniozis (*Yesinia ruckeri*) ve kolumnaris (*Flavobacterium columnare*) gibi bakteriyel kökenli hastalıklar tüm dünyada su ürünleri yetiştiriciliği yapan işletmelerde ciddi ölümlere sebep olan başlıca hastalıklardandır (Lasee, 1995; Timur ve Timur, 2003; Balta ve Çağırğan, 1998).

Balıklarda bakteriyel bir hastalık olan pasteurellosis, gram negatif, hareketsiz bir bakteri olan *Pasteurella piscicida* tarafından meydana getirilmektedir. Su sıcaklığının 25°C' yi bulduğu ve yağmur suları ile tuzluluk oranının azaldığı durumlarda etkisinin arttığı bildirilmektedir. Genel belirtileri, böbrek ve dalakta küçük nekroz odakları, hemoraji ve iç organlarda büyümedir (Austin ve Austin, 2007). *Lactococcus garviae* (sinonim; *Enterococcus seriolicida*), gram pozitif, hareketsiz, fakültatif anaerobik, H₂S

gazı üreten bir bakteridir. Eldar vd. (1999), *L. garviae*' nin Avrupa, Asya ve Avustralya kıtalarında balıklarda patojen olarak yayılım gösterdiği ve gökkuşağı alabalığı, kalkan ve sarıkuyruk balıklarında mortaliteye sebep olduğu bildirilmiştir (Kusuda vd., 1991; Ceschia vd., 1992; Ghittino ve Prearo, 1992; Palacios vd., 1993; Toranzo vd., 1994). *Lactococcus garviae* ile enfekte olmuş balıklarda ekzoftalmi, abdomende şişme, bağırsak kısmında sarı renkte sıvı oluşumu, karaciğerde solgunluk, gözde, solungaçta, yüzgeç tabanında, iç organlarda ve solungaçta hemorajiler gözlemlenmiştir (Austin ve Austin, 1999). Enfeksiyonların özellikle su sıcaklığının 16°C' nin üzerindeki sıcaklıklara ulaştığı yaz aylarında artış gösterdiği bilinmektedir (Vendrell, 2006).

Vibriosis birçok deniz balığı türünde ve tatlı su balıklarında görülmele birlikte tuzlu sularda yetiştiriciliği yapılan balıkların en önemli ve en iyi bilinen hastalıklarından biri olarak tanımlanmaktadır. Balık vücudunun alt kısımlarda ve anüs civarında kızarıklık, kabarcık ve ülserlerin oluşmasıyla karakterize, bulaşıcı bir hastalıktır. *Vibrio anguillarum* başta olmak üzere, *V. ordalii*, *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. cholerae*, *V. Vulnificus* türleri gram negatif ve oksidaz pozitif özellik gösteren hastalığın etkeni olan türlerdir. Vibriosis alabalık ve sazanlar dâhil hemen hemen tüm balıklarda görülmektedir (Austin ve Austin, 2007).

Salmonid balıklarda soğuk su hastalığı olarak bilinen enfeksiyonların etkeni; gram negatif, spor oluşturmayan, kapsülsüz, aerobik veya fakültatif anaerobik, gliding hareketi yapan çomak şeklindeki bir bakteri olan *Flavobacterium psychrophilum*'dur (sinonim, *Cytophaga psychrophilum*) (Borg, 1960; Inglis vd., 1993; Balta, 1997). *Flavobacterium psychrophilum* ABD'de ilk kez 1946' da juvenil gökkuşağı alabalıklarında izole edilmiştir (Inglis vd., 1993), daha sonra 1948 yılında Borg tarafından juvenil coho salmonlarda (*O. kisutch*) izole edilmiştir. Enfekte olmuş balıkların kuyruk yüzgeç sapında ve dorsal yüzgeç arkasında lezyonlar ve erimeler, balıkların renginde karararma olduğu bildirilmiştir (Inglis, 1993; Austin ve Austin, 1999)

Türkiye' de bakteriyel balık patojenleri ile ilgili yapılan çalışmalarda, *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp. ve son yıllarda ise streptokok enfeksiyonları yaygın patojenik hastalıklar olarak rapor edilmiştir (Timur ve Timur, 1985; Karatas vd., 1995; Balta ve Çağırğan, 1998; Candan, 2000; Önalın, 2002; Kubilay ve Uluköy, 2004;; Altınok vd., 2006; Altınok vd., 2007). Savaş vd. (2006), Doğu Karadeniz Bölgesi' nde bakteriyel böbrek hastalığının etkeni olan *R. salmoninarum*' u izole ederek Türkiye' de (Balta vd.,2005) izole edilen patojenler

arasına dâhil etmişlerdir. Ülkemizde 2006-2007 yılları arasında gerçekleştirilen çalışmalarda Doğu Karadeniz Bölgesi' nde *Pseudomonas luteola*' nın balıklarda ilk defa hastalık meydana getirdiği (Altınok vd. 2007), *P. putida*' nın da Japonya dışındaki balıklarda patojenitesinin varlığı tespit edilmiştir (Altınok vd. 2006). Yersiniozis, frunkulozis, bakteriyel böbrek hastalığı, hareketli aeromonas hastalıkları ve kolumnaris hastalığı dünyada ve Türkiye' de yaygın olarak izole edilen ve yüksek mortaliteye sebep olan bazı önemli bakteriyel hastalıklardır.

Bakteriyel balık hastalılarının tedavisine yönelik antimikrobiyal ajanlar günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Austin ve Austin (2007), balık patojenlerine karşı 30 farklı antibiyotiğin yaygın olarak kullanıldığını ifade etmişlerdir.

Balıklarda çeşitli antibiyotiklerin farklı bakteri türlerine etkileri ve bakterilerin bu antibiyotiklere karşı dirençleri araştırılmıştır (Kayış vd., 2009b; Balta vd., 2010). Bu tür çalışmalara her geçen gün bir yenis eklenmekte bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin çeşitliliğinin artması ile yeni çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Bu açıdan bakıldığında bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımının bakteriyel patojenler için direncin gelişmesi yönünde etkisinin olduğu ortaya konulmaktadır. Etkin doz ve sürenin yetiştiricilik sistemlerinde tam olarak uygulanmaması, hasta balıkların kontrolsüz olarak farklı bölgelere taşınması, antibiyotiklerin doğal ortamda birikmesi ve kontrolsüz deşarj gibi olumsuz uygulamalar bu direncin oluşmasını pozitif yönde etkilemektedir. Bu durum bakteriyel hastalıkların antibiyotikler ile tedavisini güçleştirmekte hatta bazı durumlarda imkânsız hale getirmektedir.

Bu olumsuz tablo karşısında günümüzde bakteriyel balık hastalıklarına karşı koruyucu tedbirlerin alınması gündeme gelmiştir. Bu amaçla öncelik balıkların hasta olmasının engellemesine ya da bireylerin hastalığa karşı daha dirençli hale getirilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle balıkların bakteriyel patojenlerden korunmasında en önemli tedbiri aşı çalışmaları almaktadır.

Balıklarda bakterilere karşı ilk aşı çalışmaları 1940' lı yıllarda Duff tarafından ele alınmıştır. Daha sonraları Ross ve Klontz (1965), balıklarda yersiniozise karşı fenolle inaktif hale getirilmiş aşığı oral yolla başarıyla kullanmışlardır. Son yıllarda bakteriyel balık patojenlerinden *Yersinia ruckeri*, *Vibrio* sp, ve kok enfeksiyonlarına karşı enjeksiyon ve immersiyon yoluyla ticari olarak aşılama yapılabilmektedir (Bullock ve Anderson, 1984; Ellis, 1988; Lillehaug vd., 1992). Bununla birlikte,

günümüzde bazı balık patojenlerine (*Aeromonas* sp., *Flavobacterium* sp, *Pseudomonas* sp., *Renibacterium salmoninarum*) karşı hala etkin bir aşı geliştirmek mümkün olmamıştır.

Gerek aşı geliştirilemeyen gerekse aşı çalışmalarında başarılı olunan bakteriyel patojenlere karşı balıklarda korunma sağlamak amacıyla balıkların immün sisteminde uyarıcı etki yapabilecek ürünlerin (immünostimulant) denenmesi balık sağlığının korunmasında alternatif bir yöntemdir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan bağışıklık sistemini uyaran maddeler, glukoz, laktoferin, kitosan, vitamin C, *Mycobacterium* spp.'nin ekstraselüler ürünleri, kahverengi-kırmızı algler, karadaki mantarlar, bitki parçacıkları gibi maddeler sayılabilir. Çeşitli infeksiyöz etkenlere karşı çeşitli tıbbi bitki ekstraktlarının kullanımı gün geçtikçe artış göstermektedir. Medikal bitkilerin çoğu temelde bağışıklık sistemini uyarıcı etkiye sahiptir ve bu bitkilerin kök, yaprak, tohum kısımlarından ayrı ayrı farklı solventler kullanılarak hazırlanan ekstraktlar, ya yem içerisine ilave edilerek ya da intraperitoneal yolla canlıya ulaştırılmaktadır (Uluköy vd., 2007).

Balık yetiştiriciliğinde en sık kullanılan immunostimulanlar ölü patojenler ve ürünleri, sentetik kimyasallar, bitkisel ürünler, hayvansal ürünler ve besinler, mikronutrientler olmak üzere genel olarak 5 grup altında toplanmaktadır (Ergönül vd., 2012). Bitkisel ürünler içerisinde *Lonicera japonica* (gökkuşaağı alabalıklarında nötrofil sayısında önemli artışa sebep olmuştur), *Ganoderma lucidum* (*Aeromonas hydrophyla*'ya karşı hayatta kalmayı artırıcı etkisi rapor edilmiştir), *Rheum officinale*, *Andrographis paniculata* ve *Isatis indigotica* (gökkuşaağı alabalıklarında akyuvarların sayısında artışa neden oldukları bildirilmiştir) sıralanabilir (Govind vd., 2012).

Yukarıda zikredilen bitkilerin dışında çay bitkisi ile ilgili su ürünleri yetiştiriciliğinde gerçekleştirilen çalışmalar daha çok çay bitkisinin yapraklarından elde edilen yeşil çay üzerinde yapılmış ve bu çalışmalar, büyüme performansı, kan değerleri, yem değerlendirme ve bazı balık patojenlerine etkileri ile ilgili çalışmalar olmuştur.

Bu bağlamda, Cho vd. (2006) yeşil çayın *Paralichthys olivaceus* balıklarında büyüme performansı ve yem değerlendirmeye etkisini, Abdel Tawwab vd, (2010), *Oreochromis niloticus* balıklarında yeşil çayın büyüme performansı ve *Aeromonas hydrophyla*'ya karşı antimikrobiyal etkisini, Suziki vd, (2006) ise yeşil çay özütünün falagellat bir protozoan balık paraziti olan *Ichthyobodo necator*' a karşı etkisini

araştırmıştır. Bu çalışmaların tümünde çay bitkisinin balıklar için beklenen faydaları sağladığı belirtilmiştir.

Çay tohumu ile ilgili ise, sayılı da olsa özellikle içerdiği saponin maddesi çalışılmış ve su ürünleri yetiştiriciliğinde kabuklular üzerinde predatör olan bazı kaya balıklarının elimine edilmesi amacıyla kullanılmış ve balıklarda 1,1 ppm dozunda saponinin toksik olduğu, bazı Crustacea türlerinde ise toksik etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Terazaki vd., 1980).

Ülkemizde 1938 yılından beri tarımı yapılan çay bitkisi (*Camellia sinensis*) bugün Doğu Karadeniz Bölgesinde 758895 dekar alanda, 205312 üretici tarafından yetiştiriciliği yapılmakta olup, yılda 1231141 ton çay yaprağı işlenerek ülke ekonomisine katkıda bulunmaktadır (Şekil 1). Çay bitkisi yaz ayları boyunca hasat edilen yaprağının dışında Eylül-Aralık ayları arasında çiçek ve akabinde Ekim-Ocak ayları arasında da meyve ve tohum üretir (Şekil 2) (Özdemir, 2013).



Şekil 1. Çay bahçelerinden bir görüntü.

Çay Araştırma Enstitüsü tarafından çay hinterlandımızdaki değişik bahçe ve rakımlarda yapılan çay tohumu verimi gözlem çalışmalarında dekara 1 kg ile 100 kg arasında değişen sonuçlar elde edilmiştir. Ortalama 1 tohum ağırlığı 1 gramın üzerinde olup yaklaşık 90 tohum 100 gram gelmektedir.



Şekil 2. Çay tohumunun oluşum aşamaları **A:** Çiçek tomurcuğunun oluşması. **B:** Çay çiçeğinin açması. **C:** Tozlama ve dölleme. **D:** Meyveye durma.

Dekar başına bir çaylıktan 100 kg çay tohumu toplanabilmektedir. Bu bilgiler ışığında Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaklaşık 76000 ton çay tohumu elde edilebilir (Özdemir, 2013). Çay bahçelerinde sürgün çay isteğinin asıl hedef olduğu, budamanın devam ettiği var sayıldığında bu kadar tohum toplanamayacağı aşikârdır. Ancak saponinin elde edileceği çay tohumu kaynağının ihtiyacımızdan çok fazla var olduğunun bilinmesi gerekir. Çay tohumunun bileşenleri ve bu bileşenlerin yüzdeleri Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. ay tohumunun bileşenleri.

BileŐenler	Miktar (%)
Saponin	12-18
Yağ	< 2
Su	< 12
Ham Protein	12-16
Ham Lif	10-12
NiŐasta ve Sakkarit	30-50
Diğer	4

Bu alıŐma, lkemizin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çay bitkisinin (*Camellia sinensis*) tohumlarının bazı bakteriyel balık patojenleri üzerine antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ve bilinen antibiyotiklere karşı alternatif olarak kullanılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Balık Materyali

Çalışmada Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Su Ürünleri Üretim Eğitim ve Araştırma Merkezi' nde bulunan gökkuşığı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) anaçlarından elde edilen ortalama ağırlıkları $0,85 \pm 0,12$ gr olan alabalıklar kullanılmıştır.

2.1.2. Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumu, Saponin ve Balık Yemi

Bu çalışmada, Rize İli Der pazarı İlçesi Tersane Mahallesi' ne ait olan çay bahçelerinden Ocak ayı içinde toplanan çay tohumları kullanılmıştır. Kullanılan çay tohumlarının yaş ağırlığı 500 g, kabuk ağırlığı 100 g, Kuru ağırlık 370 g ve tohum içi ağırlığı 270 g olarak belirlenmiştir. Denemelerde kullanılmak amacıyla yurt dışından saf saponin Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Heidelberg, Germany) firmasından temin edilmiştir. Çalışmada ülkemizde üretilmiş granül alabalık yemi kullanılmıştır.

2.1.3. Bakteri Türleri

Denemelerde kullanılan balık patojeni 5 farklı bakteri türü olan *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas putida*, *P. luteola*, *Aeromonas hydrophyla* ve *Vibrio anguillarum*, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı' ndan temin edilmiştir. Bu bakteri türlerinin izole edildiği balık türleri ve balıklardan izole edildikleri dokular Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan bakteriler ve izole edildikleri balık türleri.

Bakteri	Kaynak	Doku	Yıl
<i>Yersinia ruckeri</i>	Gökkuşluğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)	Karaciğer	2010
<i>Pseudomonas putida</i>	Japon Balığı (<i>Carassius auratus</i>)	Deri (Baş bölgesi)	2010
<i>Pseudomonas luteola</i>	Gökkuşluğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)	Deri (Dorsal yüzgeç kaidesi)	2011
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Gökkuşluğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)	Karaciğer	2010
<i>Vibrio anguillarum</i>	Gökkuşluğu alabalığı (<i>Onchorhynchus mykiss</i>)	Karaciğer	2010

2.1.4. Deneme Tankları

Balıkların farklı oranlarda çay tohumu tozu ve saponin ilave edilmiş yemlerle beslenmesi amacıyla, taze su akışı ve havalandırma sağlanan 150 litre su hacimli, 50 cm çapa sahip fiber tanklar kullanılmıştır.

2.1.5. Bakteriyel Çalışmalarında Kullanılan Malzemeler

Bakterilerin çoğaltılması amacıyla genel besiyeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA), *Vibrio anguillarum* için ise tuzlu TSA ve Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) kullanılmıştır. Denemeler sonrasında balıklardan izole edilen bakterilerin tür teşhisi için API 20E ve API 20NE test kitlerinden yararlanılmıştır. Balıklara bakterilerin immersiyon yolu ile enfekte edilmesinde sıvı besiyeri olarak Brain-Heart Infusion Broth (BHI) besiyeri, bakterilere karşı çay tohumunun antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde, Mueller Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. Bakteri sayımı için ise Plate Count Agar (PCA) kullanılmıştır.

2.1.6. Histolojik Çalışmalar

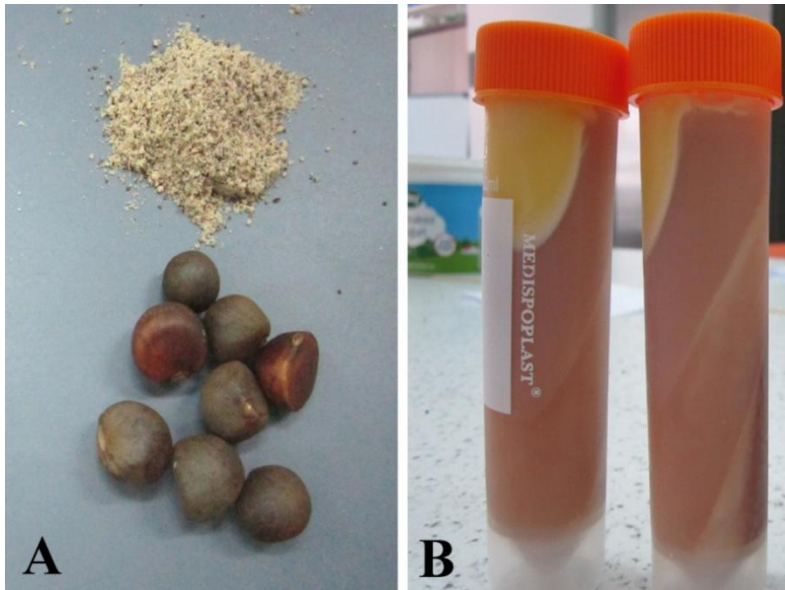
Histolojik çalışmaların gerçekleştirilmesi amacıyla, balıkların bayıltılmasında benzokain, fiksatif olarak nötral formalin, dokuların bloklanması parafin ve kesitlerin boyanmasında hematoksilin ve eozin kullanılmıştır. Kesitlerin elde edilmesinde ise Leica RM 2125 mikrotom cihazından yararlanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Çay Tohumunun Toz Hale Getirilmesi ve Balık Yemlerine İlavesi

Dış kabuğundan arındırılmış çay bitkisi tohumları gölgede ve rutubetsiz bir ortamda 15 gün süreyle 40°C sıcaklıkta kurumaya bırakılmıştır. Belli oranda kuruyan tohumların kahverengi olan sert zarlarından el yordamıyla ayrıştırılması sağlanmıştır. Tohumların geri kalan kısımları yukarıda belirtilen şartlarda 15 gün daha kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tohumlar sanayi tipi blender cihazı yardımıyla çalışmalarda kullanılacak toz haline getirilmiştir (Şekil 3A).

Elde edilen tohum tozlarının yemlere ilave edilmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Tohum tozları öncelikle pratik olması açısından balık yemlerine direkt olarak ilave edilmiştir. Bu amaçla tozların yemlere daha iyi tutunmasını sağlamak amacıyla yemi nemlendirecek oranda sıvı ayçiçeği yağı ilavesi yapılmış ve tohum tozları ilavesi gerçekleştirilmiştir. Diğer bir yöntem ise, tohum tozunun saf su ile sulandırılıp ($0,4 \text{ g mL}^{-1}$), 10 dakika kaynatılması ve 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek üstte kalan süpernatant kısmın yeme direk ilavesinin yapılması şeklinde gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3B).



Şekil 3. A: Dış kabuklu çay tohumu ve öğütülmüş hali. **B:** Çay tohum tozunun sulandırılıp santrifüj edilmiş hali.

2.2.2. Deneme Grupları ve Süresi

Çalışmada toz ve sıvı halde yeme ilave edilen çay tohumu oranları, balık ağırlığının %2 si olarak hesaplanan günlük yem miktarına, yem miktarının yüzdesi olarak ilave edilmiştir. Bu bağlamda, toz ve sıvı olacak şekilde balık yemlerine %10 ve %20 oranında çay tohum tozu ilavesi yapılmıştır. Ayrıca tohum tozlarında yüksek oranda (%18) yer alan saponin yine yem miktarının %5'i oranında yeme ilave edilmiştir. Denemeler iki tekerrür olacak şekilde tasarlanmış ve 20 gün devam etmiştir.

Her bir deneme tankına 50 adet gökkuşağı alabalığı toplam ağırlıkları her tank için ortalama 40 ± 05 g olacak şekilde rastgele konulmuştur. Kullanılan suyun çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, toplam sertlik, alkalinite, amonyak ve nitrit değerleri sırasıyla $8,34 \pm 0,27$ mg L⁻¹, $14,7 \pm 0,6$ °C, $7,54 \pm 0,32$, $34,5 \pm 1,9$ mg L⁻¹ CaCO₃, $15,9 \pm 0,8$ mg L⁻¹ CaCO₃, 9 ± 4 ng L⁻¹, ve $3,4 \pm 1,8$ µg L⁻¹ olarak kaydedilmiştir.

2.2.3. Histolojik Çalışmalar

Yeme ilave edilen çay tohum tozu ve saponinin balık dokularında meydana getirebileceği muhtemel hasarları belirlemek amacıyla histolojik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Denemede kullanılan balıkların küçük olmaları nedeniyle balıklar benzokain ile bayıldıktan sonra periton kısımları hafifçe kesilerek bütün olarak %10' luk nötral buffer formalin içerisine alınmışlardır. 24 saat sonra örnekler %50'lik etil alkole aktarılmışlardır.

Balıkların karaciğer, dalak, böbrek ve solungaçları çıkarılarak, doku takip kasetleri yardımıyla parafinde bloklama öncesi işlemlere (alkol serileri ve ksilolden geçirerek parafinin dokulara girmesinin sağlanması) tabi tutulmuştur. Sıvı parafin içerisinde 65°C' de bir gece bekletilen dokular parafin ile bloklanmıştır. 0,5 µm kalınlığında kesilen dokular, 65°C' de bir gece bekletilerek lam üzerine yapışmaları sağlanmış ve ardından ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek hematoksilin ve eozin ile boyanmıştır. Boyanan doku kesitleri daha sonra entellan yardımıyla lamel kullanılarak fikse edilmiştir.

2.2.4. ay Tohum Tozunun Bakterilere Etkilerinin İn-Vitro Şartlarda Belirlenmesi

ay tohum tozunun farklı bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilerinin varlığını belirlemek amacıyla, çay tohum tozu saf su ile sulandırılıp kaynatıldıktan ve soğuduktan sonra ($0,4 \text{ g mL}^{-1}$, 10 dakika kaynatılması ve 10 dk. santrifüj edilerek 3000 rpm) santrifüj edilmiştir. 50 ml'lik tüp içerisinde üstte kalan süpernantant kısım alınmış ve otoklavda steril hale getirilmiştir. Yine otoklavda steril hale getirilen adi filtre kağıtlarına (7 mm çapında, Whatman International Ltd., Maidstone, UK), bu süpernantant emdirilmiş ve bir antibiyogram diski oluşturulmuştur. Bu işlemler saponin için de gerçekleştirilmiştir.

Her bir bakteri MHA besiyerine ekilmiş (yaklaşık 10^8 CFU mL^{-1}) ve daha önce elde edilen diskler bu besiyerlerine yerleştirilmiştir. İnkübasyon (22°C ' de 24-48 saat) sonrası besiyerlerinde oluşabilecek zon çapları kontrol edilmiştir. Ayrıca ay tohum ekstresi içermeyen steril diskler (saf su ile müdahale edilmiş) kontrol olarak kullanılmıştır. Bu testler iki tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir.

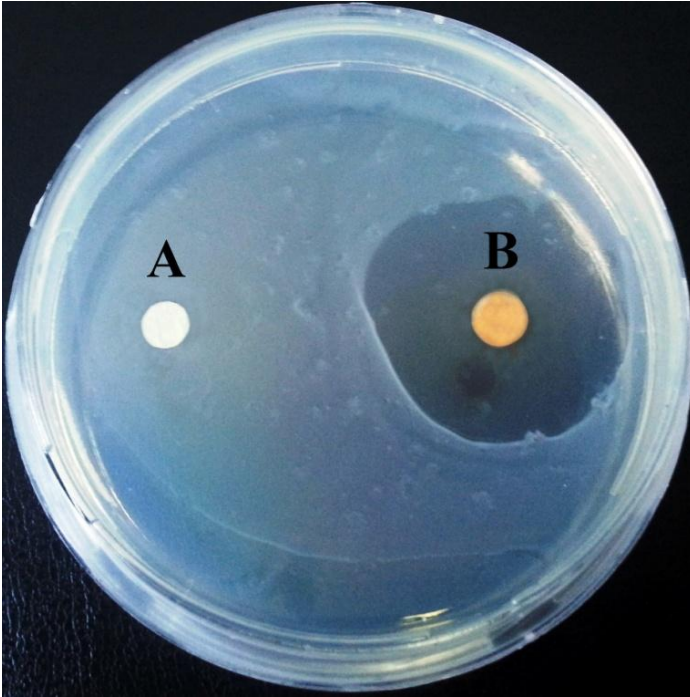
2.2.5. ay Tohum Tozunun Bakterilere Etkilerinin İn-Vivo Şartlarda Belirlenmesi

ay tohum tozu ile kombine edilmiş yemler ile beslenen alabalıklar, laboratuvar şartlarında antimikrobiyal hassasiyeti olan bakteriler ile immersiyon yolu ile enfekte edilmişlerdir. Her bir deneme grubundan (%10, 20 toz, %10, 20 sıvı, %5 saponin, pozitif ve negatif kontrol) 10 adet balık ayrı 20 lt' lik tanklara 2 tekerrür olacak şekilde konulmuştur. Bu bağlamda, saf bakteri kolonilerinden 240 ml hacmindeki steril BHI broth besiyerine bakteri ekimleri yapılmış ve bakteriler 22°C ' de 24 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonucu bakteri sayımı PCA besiyerinde yapılmış (10^8 CFU mL^{-1}) ve her bir deneme grubuna bakteriler 1 saat immersiyon yoluyla 20 ml besiyeri olacak şekilde enfekte edilmiştir. Negatif kontrole sadece besiyeri ilavesi yapılmıştır. *Vibrio anguillarum* için denemelerde deniz suyu kullanılmıştır. Deneme tüm balıkların ölümü ile sonlandırılmış ve gruplar arası farklılıklar kaydedilmiştir. Ölüm gözlemlenen deneme gruplarından örnekleme yapılarak bakteriyel ekimler gerçekleştirilmiştir.

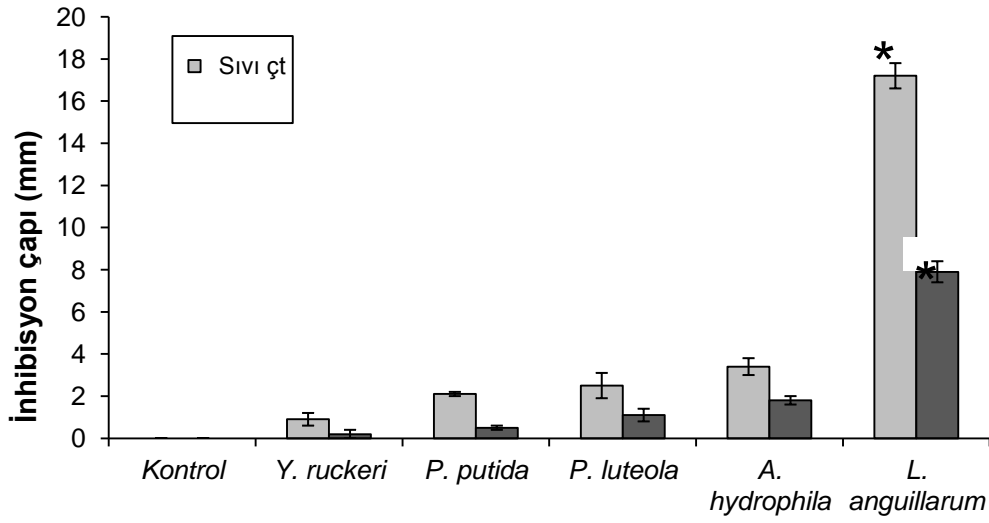
3. BULGULAR

3.1. ay Tohum Tozunun İn-Vitro ve İn-Vivo Şartlarda Bakterilere Etkileri

Besiyerlerinde farklı bakterilere karşı çay tohum tozunun antibakteriyel etkilerine bakıldığında elde edilen ürünün sadece *Vibrio anguillarum* bakterisinde belirgin bir zon oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 4). Saponin ile yapılan denemede ise çok küçük bir zon elde edilmiştir. Kullanılan diğer bakteriler üzerinde besiyerinde dikkate değer bir zon oluşumu gözlemlenmemiştir (Şekil 5).

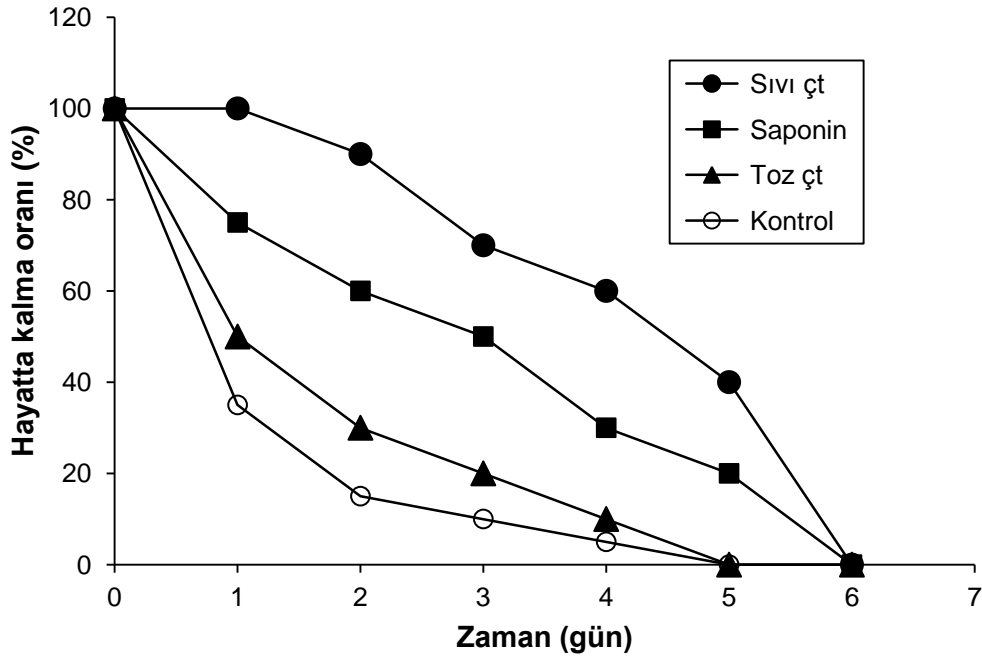


Şekil 4. MHA besiyerinde, saf su kullanılarak elde edilen kontrol diski (A), ay tohum tozu ile hazırlanmış disk (B)



Şekil 5. Besiyerinde bakterilere karşı oluşan inhibisyon zon çapı (mm). * Çalışılmaya değer farklılık gösteren bakteri türü.

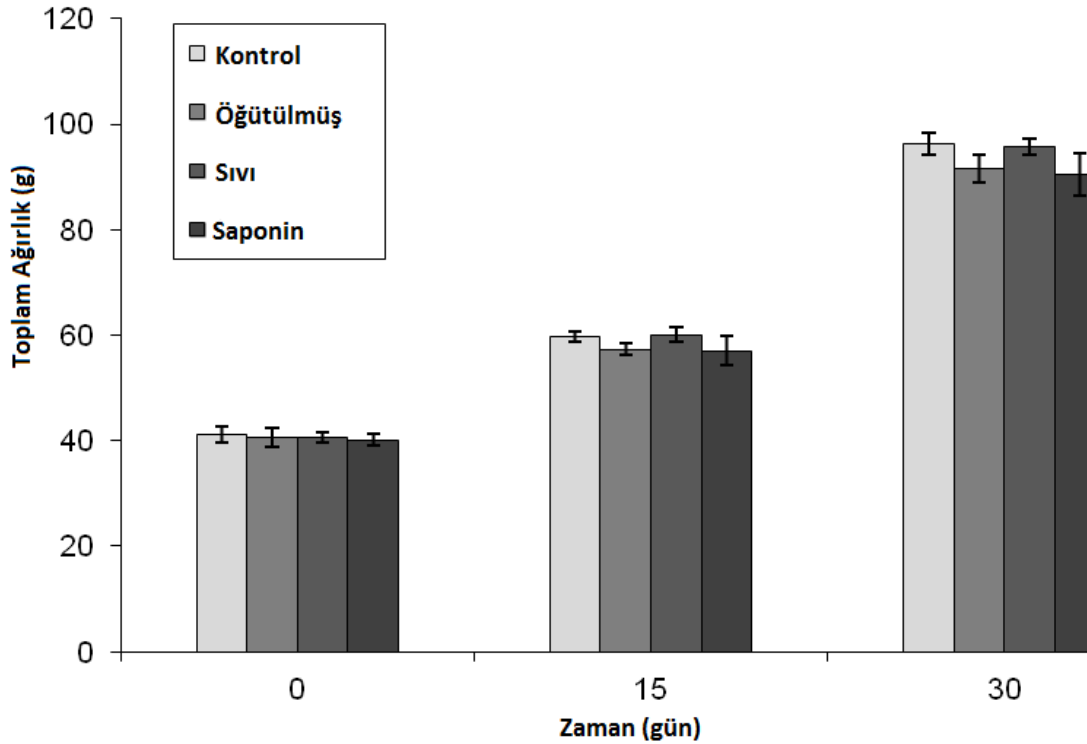
Bu değerlerin sonucu olarak *V. anguillarum* ile enfekte edilen farklı gruplardaki balıklarda, hayatta kalma ile ilgili farklılıklar gözlemlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. *V. anguillarum* ile enfekte edilen farklı gruplardaki balıklarda, hayatta kalma oranları.

3.2. Besleme Denemesi

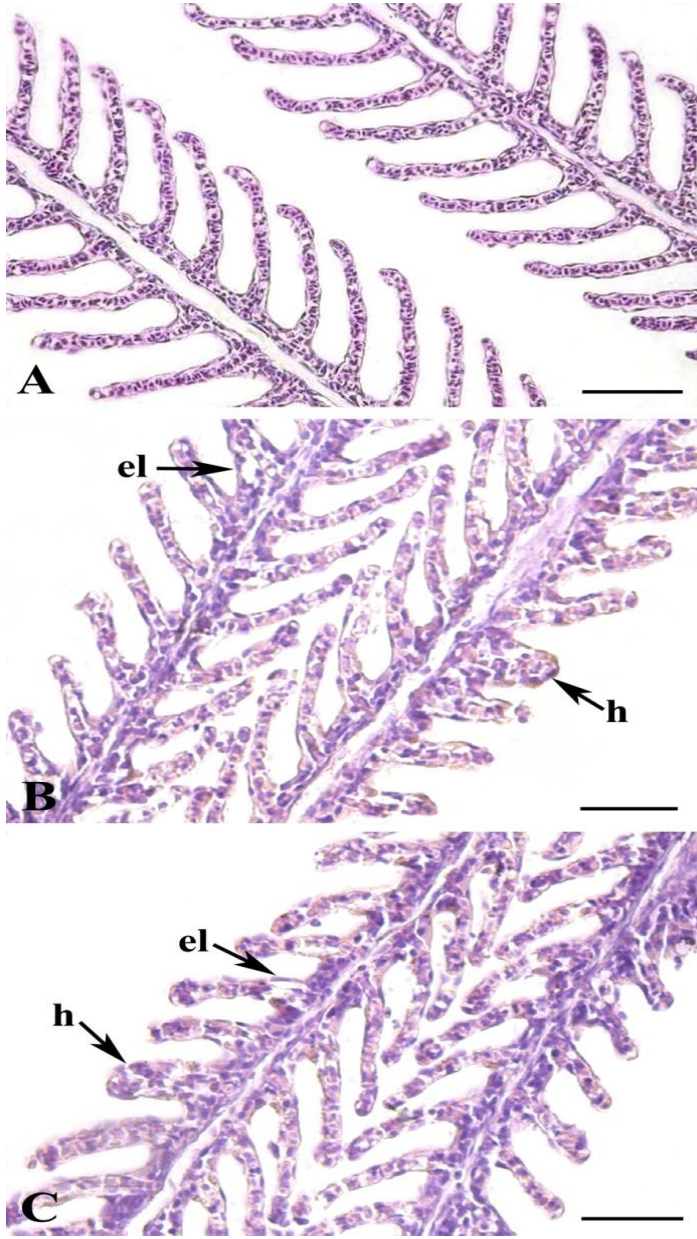
Tüm besleme denemelerinde belirtilen süre ve dozlarda beslenen grupların hiçbirinde herhangi bir ölüme rastlanmamıştır. Balıkların tohum tozu ilavesi olan yemleri kontrol grubu gibi tükettiği gözlemlenmiştir. Deneme süresince balıklarda görülen ağırlık artışı Şekil 7’ de verilmiştir.



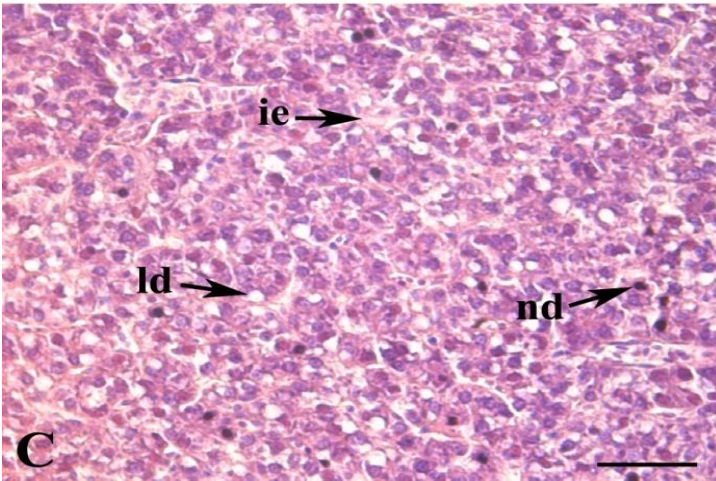
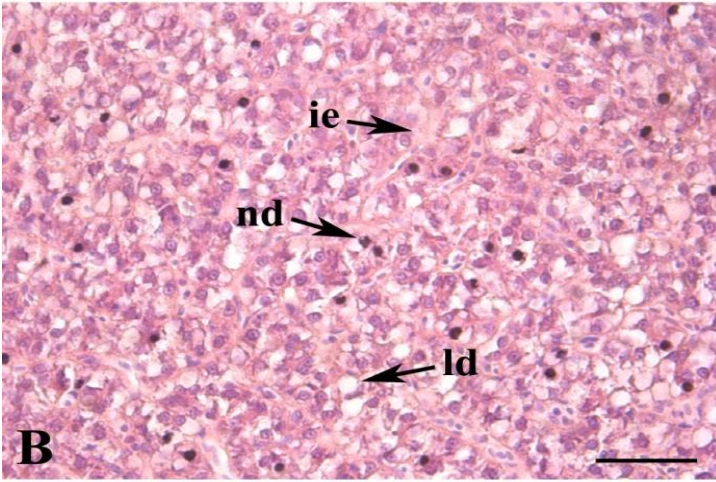
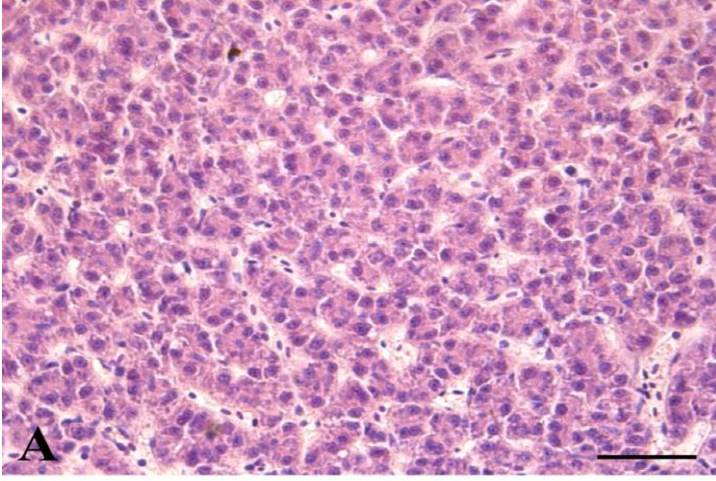
Şekil 7. Deneme süresince balıklarda görülen ağırlık artışı.

3.3. Histolojik Çalışmalar

Kontrol grubunda balıkların solungaç, karaciğer, dalak ve böbrek gibi dokularında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Toz yem ile beslenen grupta da belirtilen dokularda bir patolojiye rastlanmamıştır. Sıvı formda çay tohumu ve saponin ile beslenen gruplarda ise orta düzeyde solungaçlarda hiperplazi ve epitel lifting gibi bazı patolojik bulgular gözlemlenmiştir (Şekil 8). Yine aynı gruplarda karaciğerde ise yağ damlacıklarının oluşumu, intrasellüler ödem ve hücre çekirdeklerinin dejenerasyonu gözlemlenmiştir (Şekil 9). Bu gruba ait balıkların diğer organlarından (böbrek, dalak, bağırsak ve deri) alınan kesitlerde herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır.



Şekil 8. Kontrol grubuna ait solungaç kesiti(A), %20 oranında sıvı çay tohumu verilerek beslenen gruba ait solungaç (B), % 5 saponin ile beslenen balıklara ait solungaç (C), h: hiperplazi, el: epitelyum lifting, bar = 50µm.



Şekil 9. Karaciğer kesitleri, kontrol grubu (A), sıvı çay tohumu %20 (B, C) ld: yağ damlacıkları, nd: nükleer dejenerasyon, ie: hücreler arası ödem, bar = 50µm.

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Doğada yer alan bitkilerin gövde, yaprak ve tohum gibi değişik kısımlarının canlılar için patojenik olan bakterilere karşı baskılayıcı özelliklerinin araştırılması oldukça önem arz etmektedir. Bilinçsiz ve yaygın olarak antibiyotik kullanımı, bakterilerin direnç kazanmasına ve ileride tedavinin zorlaşmasına neden olmaktadır. Bilim insanları bu anlamda yeni doğal ürünlerin keşfine ve bunların yaygınlaşmasına önem vermektedir. Bu bağlamda, antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuvar ve antikarsinojenik etkileri iyi bilenen ve yaygın olarak kullanımı olan çay bitkisi detaylıca araştırılmaktadır (Cooper vd., 2005; Matthews, 2010; Xia vd., 2010). Bu çalışmada Ülkemizde yoğun üretimi olan çay bitkisinin tohumu ve bu tohum içerisinde ana ürünlerin başında yer alan saponinin balıklar için patojen olan bazı bakterilere (*Y. ruckeri*, *P. putida*, *P. luteola*, *A. hydrophila* and *L. anguillarum*) karşı baskılayıcı özellikleri araştırılmıştır. Aynı zamanda bu araştırma ile yaygın kullanımı olan antibiyotiklerin kullanımının azaltılması amaçlanmıştır.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında çay tohum tozunun iki farklı uygulaması çalışılmıştır. Ek işleme süreci ile uygulanabilirliğinin daha zor olmasına karşın, çay tohumunun sıvı hale getirilmesi ile yapılan deneme antimikrobiyal açıdan değerlendirildiğinde en iyi sonucun meydana gelmesini sağlamıştır. Bu bağlamda Toda vd. (1989), yeşil çay özütünü bazı balık patojenlerine karşı kullanmışlar ve elde edilen maddenin bakteriyostatik etkisini kanıtlamışlardır. Buna benzer olarak yeşil çay özütü insanlar için patojen olan *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* gibi bakterilere karşı da kullanılmış ve doğal antimikrobiyal maddeler arasında zikredilmiştir (Gadang vd., 2008; Chan vd., 2011). Diğerlerinden farklı olarak, yeşil çay bitkisinin işlenerek kimyasal bir sürece tabi tutulmadan direkt olarak tohum kısmının 5 farklı balık patojenleri için antimikrobiyal ajan olarak araştırılması bu çalışmada ele alınmaktadır. Ek bir işleme tabi tutulmadan sadece toz haline getirilerek çay tohum tozunun kolaylıkla kullanımı su ürünleri yetiştiriciliğinde bu maddenin kullanımının yaygınlaşmasında etkili olacağı düşünülmektedir.

Saponin maddesi, su ürünleri yetiştiriciliği için yaygın kullanımı olan bir ürün değildir. Özellikle bazı kabuklu su ürünlerinin hasat dönemlerinde hasat işleminin kolaylaştırıcı olması amacıyla kullanılmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde saponin maddesinin bazı alanlarda faydalı olabileceği hipotezi antimikrobiyal etki açısından

düşünülmüştür. Bitkilerden elde edilen saponin maddesinin antibakteriyel etkileri ile ilgili çalışmalara bakıldığında, bazı Gram negatif bakteriler ile ilgili çalışmalara nadiren rastlamak mümkündür (Rasheed ve Haider, 1998). Bu tez çalışmasında çay bitkisi tohumundan elde edilen saponinin balıklar için patojen olan Gram negatif bakterilere karşı etkileri, tohum tozunun sıvı formu kadar etkin olmasa da eser miktarda antimikrobiyal etkisi gözlemlenmiştir. Bu durumun tohum içerisinde bulunan diğer metabolitlerin sinerjetik etkisinden kaynaklandığı söylenebilir. Fakat bu farklılığın sebebi ile ilgili daha kesin cevaplar verilebilmesi için detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Zira çay tohum tozu içerisinde bulunan yağ, protein, sakkaritler gibi maddelerin ne tür bir etkileşim gösterdiği ve sinerjetik olarak nasıl birbirlerini etkiledikleri bilinmemektedir.

Çay bitkisinin tohumunun balık patojenlerine karşı kullanılması yaygın değildir. Çay bitkisinden elde edilen yeşil çayın özütü balık patojenlerine karşı kullanılmıştır. Bunun dışında balıklarda yem katkı maddesi olarak kullanımı da denenmiş, fakat balıklarda yan etkileri tespit edilmiştir (Perumalla ve Hettiarachchy, 2011). Bir maddenin faydalı olması beklenen yönleri incelenirken, zararlı olmaması tercih sebebidir. Bu çalışmada çay tohum tozunun balıkların hayati organlarında orta ve düşük derecelerde yan etkileri belirlenmiştir. Bu bağlamda, solungaçlarda gözlemlenen epitel dokunun lamellerden ayrılması (epitelyum lifting) ve hiperplazi gibi doku bozuklukları orta hatta zayıf derecede belirlenmiştir. *Vibrio* spp. enfeksiyonlarının varlığı ile ilgili balıklarda gerçekleştirilen çalışmalarda, böbrek ve solungaçlarda ciddi nekrozlar ve dalak dokularında melanomakrofaj merkezlerinin çokluğu bildirilmektedir (Miyazaki, 1987; Korun ve Timur, 2008). Bu yan etkilerin sentetik antibiyotiklerin kullanımında da gözlemlenebildiği bilinmektedir. Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında yeme katılarak oksitetrasiklin kullanımı sonrasında yapılan histolojik incelemelerde, böbreklerde vakuolizasyonlar ve dalakta melanomakrofaj merkezlerinin yoğunluğu bildirilmiştir (Svobodova vd., 2006). Bu bilgiler ışığında, çay tohum tozunun alabalıklarda *Vibrio anguillarum* enfeksiyonunu geciktirme ve hayatta kalmaya olumlu etkisinin oluşabilecek yan etkilerden daha faydalı olacağı söylenebilir. Ayrıca antibiyotik kullanımında gözlemlenebilecek olumsuzlukların çay tohum tozunun kullanımından daha fazla yan etkisinin olabileceği de göz ardı edilmemelidir.

5. ÖNERİLER

Bu çalışmada, çay bitkisi tohumunun bazı bakteriyel balık patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olup olmadığı araştırılmış ve bu etkinin *Vibrio anguillarum* bakterisine karşı var olduğu belirlenmiştir. Yemlere katılan bu maddenin 20 günü aşmayacak beslemelerde balıklar için zararlı olmadığı belirlenmiş ve *Vibrio anguillarum* enfeksiyonuna karşı balıkların hayatta kalma sürelerine olumlu etkisi ortaya konulmuştur. Bu bağlamda aşağıdaki öneriler yapılabilir;

Özellikle Karadeniz’de alabalık yetiştiriciliği yapan işletmelerin en önemli sorunlarından biri kafes sistemlerinde *Vibrio* sp. enfeksiyonlarıdır. İç su tesislerinde kuluçkadan çıkan larvalar, denizel ortama taşınacağı boylara getirildikten sonra yüzer ağ kafes sistemlerine taşınmaktadır. Balıklarda denizel ortama transfer esnasında taşıma stresi ve tuzlu suya adaptasyon sorunları nedeniyle muhtemel *Vibrio* sp. enfeksiyonlarına karşı hassas hale gelmektedirler. Bu aşamada, denizel ortama taşınmadan önce 20 gün süreyle %10 oranında çay tohum tozu ilaveli yemlerle beslenmeleri halinde bu enfeksiyonlara karşı daha dayanıklı hale getirilebilirler.

Çay tohumu genel olarak bölgede sadece tohumluk olarak ekonomik anlamda değerlendirilmektedir. Bu tohumların bölgede yoğun olarak yetiştiricilik faaliyetlerinde bulunan alabalık işletmeleri için kullanılabilir hale getirilmesi yem fabrikaları tarafından sağlanabilir ve gerek yem katkı maddesi olarak ve gerekse ekonomiye katkısı sağlanabilir.

Bu çalışmada, sadece çay tohumunun içerdiği saponin maddesi ayrıca çalışılmıştır. Gelecekte çay tohumunun içerdiği tüm öğeler ayrıştırılarak, bu alanda çalışmalar yapıp, hangi maddelerin yalnız başına ya da birbirleri ile sinerjetik etkilerinin olduğu belirlenebilir.

Sadece bakterilere karşı değil balık parazitleri ve mantarları ile ilgili çay tohumunun etkileri çalışılabilir.

Ülkemizde önemli potansiyeli olan saponin kaynağı çay tohumunun bu alanda kullanılması amacıyla üretim yapılabileceği bilinmeli ve bu konuda tüm kurumların bilgilendirilmesi sağlanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Abdel- Tawwab, M., Ahmad, H.M., Seden, M.E. and Sakr, S.F.M., 2010.** Use of Green Tea, (*Camellia sinensis* L.), in Practical Diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, (*Oreochromis niloticus* L.), Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Journal of The World Aquaculture Society. Vol.41, No.S2.
- Altinok, I., Kayis, S. and Capkın, E., 2006.** *Pseudomonas putida* Infection in Rainbow Trout, Aquaculture, 261, 850–855.
- Altinok, I., Balta, F., Capkin, E. and Kayis, S., 2007.** Disease of Rainbow Trout Caused by *Pseudomonas luteola*, Aquaculture, 273, 393-397.
- Ateşoğlu, A., 1996.** Balık Hastalıkları Teşhis Laboratuvarının Kuruluşu ve Özellikleri, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 20, 34
- Austin, B. and Austin, D.A., 1999.** Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish, 3rd Edition Springer Publishing, New York.
- Austin, B. and Austin, D.A., 2007.** Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish, 4. Edition Springer Publishing, New York.
- Balta, F., Sandalli, C., Kayis, S. and Ozgumus, O.B., 2010.** Molecular analysis of antimicrobial resistance in *Yersinia ruckeri* strains isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) grown in commercial fish farms in Turkey. Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, 30: 208-216.
- Balta, F., Kayis, S. and Altinok, I., 2008.** External protozoan parasites in three trout species in the eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 28:157-162.
- Borg, A.F., 1960.** Studies on Myxobacteria Associated with Diseases in Salmonid Fishes. American Association for The Advancement of Science, Wildlife Disease. Washington, DC. 8, 1–85.
- Braun, J., 2005.** The World Food Situation An Overview, International Food Policy Resear. Institute, CGIAR Annual Meeting, Marrakech, Morokko
- Bullock, G.L. and Anderson, D.P., 1984.** Immunization Against *Yersinia ruckeri*, Cause of Enteric Redmouth Disease, In Symposium on Fish Vaccination, Office International Des Epizooties, Paris, 66-151.
- Candan, A., 2000.** Türkiye’de Üretilen Atlantik Salmon (*Salmo salar* L.)’unda Tespit Edilen İlk Vibriosis Olgusu, Türk Mikrobiyol. Cem. Derg., 30, 107-108.
- Ceschia, G., Giorgetti, G., Giavenni, R. and Sarti, M., 1992.** A New Problem for Italian Trout Farms: Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Bull Eur Assoc Fish Pathol, 12, 71–72.

- Chan, E.W.C., Soh, E.Y., Tie, P.P. and Law, Y.P., 2011.** Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Research* 3, 266-272.
- Cho, S.H., Lee, S.M., Park, B.H., Ji, S.C., Lee, J., Bae J. and Oh, S.Y., 2006.** Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, *Fish Physiology and Biochemistry*.
- Cooper, R., Morre, D.J. and Morre, D.M., 2005.** Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *Journal of Alternate Complementary Medicine* 11, 521-528.
- Çelikkale, S., 1991.** Türkiye Balıkçılığında Sektörel Yapı ve Politikalar, Eğitiminin 10. Yılında Su Ürünleri Sempozyumu, s 13, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 12-14 Kasım 1991 İZMİR.
- Çelikkale, S., Düzgüneş, E. ve Okumuş, İ., 1999.** Türkiye Su ürünleri Sektörü ve Avrupa Birliği İle Entegrasyonu, İstanbul Ticaret Odası, Yayın No: 1999-63
- Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A. and Bercovier, H., 1999.** Biodiversity of *Lactococcus garvieae* Strains Isolated from Fish in Europe, Asia, and Australia, *Applied Environmental Microbiology*, 65.
- Ellis, E., 1988.** Vaccination Against Enteric Redmouth Disease (ERM) in Fish Vaccination, Academic Press, London, 85-82.
- Ergönül, M.B., Yavuzcan, H. ve Altındağ, A., 2012.** Balık sağlığı ve İmmunostimulanların Kullanımı. *Journal of Fisheries Sciences.com*. 6(3): 188-202
- Gadang, V.P., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G. and Owens, C.M., 2008.** Evaluation of antibacterial activity of whey protein isolate coating incorporated with nisin, grape seed extract, malic acid, and EDTA on a turkey frankfurter system. *Journal of Food Science* 73, 389-394.
- Ghittino, C. and Prearo, M., 1992.** Segnalazione di *Streptococcosi nella* Trota Iridea (*Oncorhynchus mykiss*) in Italia: Notapreliminare, *Boll Soc Ital Pathol*, 8, 4-11.
- Govind P., Madhuri S. and Mandloi A.K., 2012.** Medicinal plants useful in fish diseases. *Plant Archives* .; 12(1) : 1-4.
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. ve Firat, A., 2001.** Balık Besleme ve Yem Teknolojisi I, Ege Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi Yayınları No: 50 Ders Kitabı Dizini, No: 19 Bornova / İZMİR.
- Inglis, V., Roberts, R.J. and Bromage, N.R., 1993.** *Bacterial Diseases of Fish*, Halsted Press, New York.

- Karataş, S., Candan., A., Demircan, D., 1995.** Enteric Red Mouth Disease in Cultured Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) on The Black Sea, The Israeli Journal of Aquaculture, 57, 225-263.
- Kayis, S., Ozcelep, T., Capkin, E. and Altinok, I., 2009a.** Protozoan and Metazoan Parasites of Cultured Fish in Turkey and their Applied Treatments, The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh, 61; 93-102.
- Kayis, S., Capkin, E., Altinok, I. and Balta, F., 2009b.** Bacteria and bacterial diseases of rainbow trout in the Southern Black Sea Region of Turkey - A Survey, The Israeli Journal of Aquaculture □ Bamidgeh 61 (4), 341-346
- Kayis, S., Balta, F., Serezli, R. and Er, A., 2013.** Parasites on Different Ornamental Fish Species in Turkey, fisheriessciences.com, 7 (2); 114-120
- Korun, J. ve Timur, G., 2008.** Marine Vibrios Associated with Diseased Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey, Journal of FisheriesSciences.com, 2(1): 66-76. doi:10.3153/jfscom.2008007
- Kubilay, A. ve Uluköy, G., 2004.** First Isolation of *Staphylococcus epidermidis* from Cultured Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) in Turkey, Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 24, 137-143.
- Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C.R. and Fryer, J.L., 1991.** *Enterococcus seriolicida* sp. A Fish Pathogen. Int J Systbacteriol., 41, 406–409.
- Lasee, B. A., 1995.** Introduction To Fish Health Management, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650
- Lillehaug, A., Lunder, T. and Poppe, T.T., 1992.** Field Testing of Adjuvanted Furunculosis Vaccines in Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. J.Fish Dis., 15, 485-496.
- Matthews, C.M., 2010.** Steep your genes in health: Drink tea. Proceedings (Baylor University Medical Centre) 23, 142-144.
- Miyazaki, T., 1987.** A histological study of the response to challenge with vibriosis in ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck and Schlegel, vaccinated by immersion and injection with *Vibrio anguillarum* bacterin, Journal of Fish Diseases Volume 10, Issue 6, pages 445–452, November 1987
- Önalın, S.K., 2002.** Tortum (Erzurum) İlçesi ve Köylerinde Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Yetiştiriciliği Yapılan Çiftliklerdeki Su Kalitesi ile Balık Ölümleri Arasındaki İlişki, (Proje) [Http://Erzurum.Vet.Gov.Tr/Biten.Htm](http://Erzurum.Vet.Gov.Tr/Biten.Htm)
- Özdemir, F., 2013.** Çay Dünyası, sayı:23, sayfa:21, Çay Tohumu Yağı.

- Palacios, M.A., Zamora, M.J., Velazquez, J., Zamora, E. and Duran, A., 1993.** Streptococcus in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Spain, Boll. Sci. Ital. Pathol., 13, 11-14.
- Perumalla, A.V.S., Hettiarachchy, N.S., 2011.** Green tea and grape seed extracts - Potential applications in food safety and quality. Food Research International 44, 827-839.
- Rasheed, A. and Haider, M., 1998.** Antibacterial activity of *Camellia sinensis* extracts against dental caries. Archives of Pharmacal Research 21, 348-352.
- Ross, A.J. and Klontz, G.W., 1965.** Oral Immunization of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Against an Etiological Agent of Redmouth Disease, Journal of The Fisheries Research Board of Canada, 22, 713-719.
- Savas, H., Altinok, I., Cakmak, E. and Firidin, S., 2006.** Isolation of *Renibacterium salmoninarium* from Cultured Black Sea Salmon (*Salmo trutta labrax*) First Report in Turkey, Bull.Eur. Ass.Fish Pathol., 26, 238-246.
- Sidhu, K. S., 2003.** Health Benefits and Potential Risk Related to Consumption of Fish or Fish Oil, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 38, 336-344.
- Svobodová, Z., Sudová, E., Nepejchalová, L., Červinka, S., Vykusová, B., Modrá, H. and Kolářová, J. 2006.** Effects of oxytetracycline containing feed on pond ecosystem and health of carp (*Cyprinus carpio* L.).Acta Vet Brno 75: 571-577
- Suzuki Kunio , Misaka Naoyuki , D.K. Sakai, 2006.** Efficacy of green tea extract on removal of the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator* from chum salmon, *Oncorhynchus keta*, and masu salmon, *O. masou*, Aquaculture Volume 259, Issues 1-4, 8 September Pages 17-27.
- Terazaki M., Tharnbuppa P. and Nakayama Y., 1980.** Eradication of predatory fishes in shrimp farms by utilization of Thai tea seed, Aquaculture
- Timur, G. ve Timur, M., 1985.** Eğirdir Gölü Sudak (*Stizostedion lucioperca* L. 1758) Balıklarında Yüksek Mortaliteye Neden Olan Bakteriyel Hemorajik Septisemi Hastalığı Üzerinde Bir Araştırma, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32, 33-41.
- Timur, M. ve Timur, G., 2003.** Balık Hastalıkları Kitabı, TC. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No: 5, 238, İstanbul.
- Toda, M., Okubo, S., Ohnishi, R. and Shimamura, T., 1989.** Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. Japanese Journal of Bacteriology 44, 669-672.
- Tokşen, E., 1999.** Ege Bölgesinde Yetiştiriciliği Yapılan Çipura ve Levrek Balıklarının Solungaçlarında Görülen Metazoan Parazitler ve Tedavisi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 1999-İZMİR

- Toranzo, A.E., Devesa, S., Heinen, P., Riaza, A., Nunez, S. and Barja, J.L., 1994.** Streptococcosis in Cultured Turbot Caused by an *Enterococcus*-Like Bacterium, Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol., 14, 19–23.
- Toranzo, A.E., Magariños, B. and Romalde, J.L., 2005.** A Review of The Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems, Aquaculture, 246, 37-61.
- Xia, E.Q., Deng, G.F., Guo, Y.J. and Li, H.B., 2010.** Biological activities of polyphenols from grapes - Review. International Journal of Molecular Sciences 11, 622-646.
- TUİK, 2011.** Türkiye İstatistik Kurumu, “Su Ürünleri Üretim Miktarı, 2010”
- Uluköy G., Özdemir E. ve Kubilay A., 2007.** Balık Yetiştiriciliğinde İmmunostimulant Olarak Bitki Ekstraktı Kullanımı ve Önemi. Ulusal Su Günleri 2007, 16-18 Mayıs 2007, Antalya.
- Vendrell, D., Balcázar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Gironés, O. and Múzquiz, J.L., 2006.** *Lactococcus garvieae* in Fish: A Review, Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 29, 98-177.

ÖZGEÇMİŞ

Araştırmacı Tokat ilinde 13.08.1972’de doğdu. İlk, Orta ve Lise tahsilini Tokat’ta tamamladıktan sonra 1991 yılında K.T.Ü. Rize MYO. Çay Ekserliği bölümünü bitirdi. 2011 yılında Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nden Mühendis unvanıyla mezun oldu. 1992-1993 yıllarında vekil öğretmenlik yaptı. Vatani hizmetini Siirt’ in Baykan İlçesinde 18 ayda tamamladıktan sonra Tokat’ta perakende sektöründe 3 yıl şirket yöneticiliği yaptı. 1998 yılında Kamu’da çalışmaya başladı. Halen Çaykur’a bağlı Tersane Çay Fabrikası’nda mühendis unvanıyla görev yapmaktadır. Evli ve 3 çocuk babası olan Cengiz ÇİFTÇİ; 2011 yılından beri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde Yüksek Lisans öğrencisidir.