

PAPER DETAILS

TITLE: ay Bitkisi (Camellia sinensis) Tohumunun Gkkusagi Alabaliklarinda (Oncorhynchus mykiss) Aeromonas hydrophila Enfeksiyonuna Karsi Kullaniminin Arastirilmesi

AUTHORS: Akif ER,Sevki KAYIS

PAGES: 0-0

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/56988>

Makale / Research Paper

Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumunun Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* Enfeksiyonuna Karşı Kullanımının Araştırılması

Akif ER*, Şevki KAYIŞ

Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries Sciences, Rize, Turkey
akif.er@erdogan.edu.tr, Tel.: 0 464 223 33 85, Fax: 0 464 223 41 18

Özet: Bu çalışmada, kültürü yapılan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) balıkçıkları üzerinde *Aeromonas hydrophila*'nın patojenik etkilerinin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda alabalık yemine çay bitkisi (*Camellia sinensis*) tohumu ilave edilmiş ve hastalık etkeni olan *Aeromonas hydrophila* bakterisi gökkuşığı alabalığı balıkçıklarına enfekte edilerek sonuçları gözlenmiştir. Çalışmada öncelikle çay tohumu toz haline getirilmiş ve yemlere ilave edilmiştir. Araştırma merkezinden temin edilen gökkuşığı alabalığı balıkçıkları ($10 \pm 0,12g$) 10'lu gruplar halinde 6 deneme tankına yerleştirmiştir. Negatif kontrol olarak normal yemle yemlenmiş ve bakteri verilmemiş bir grup oluşturulmuştur. Pozitif kontrol için normal yem ile beslenen ve bakteri enfekte edilen balıkçıklar kullanılmış, deneme için ise katkılı yemlerle beslenen balıklar ve bakteri enfekte edilen balıklar seçilmiştir. 10 günlük yemlemeden sonra yapılan gözlemlerde çay tohumu verilen gruplarda *Aeromonas hydrophila* bakterisinin neden olduğu hastalık belirtileri görülmemiştir. Negatif kontrol grubunda ölüm gözlemlenmezken, pozitif kontrol grubunda %40 oranında mortalite gözlemlenmiştir. Sonuç olarak; çay tohumu tozunun balıkçık gökkuşığı alabalığı yemine %10 ilave edilmesi, *Aeromonas hydrophila* bakterisinin meydana getirdiği patojenik etkilerin engellenmesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Çay tohumu, *Aeromonas hydrophila*, İmmunostimulant

Evaluation of green tea (*Camellia sinensis*) seeds application against the infection of *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)

Abstract: This research was conducted to determine the effects of green tea (*Camellia sinensis* L.) Seeds powder as a trout feed supplement on the immune response and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). For this purpose, the fish were fed with tea (*Camellia sinensis* L.) seeds powder supplemented diet. Three different fish groups (negative control, positive control and trial group) were formed, and each group was two replicated. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling ($10 \pm 0,12g$) obtains from research center were placed tanks (10 fish in each tank). Negative control group was established with fish normal diets were fed and not given the bacteria. For the positive control group were used in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling normal diets were fed and given the bacteria. Trial group was established with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling were fed with green tea (*Camellia sinensis* L.) seeds powder supplement diet and given the bacteria. Because of *Aeromonas hydrophila* symptoms of disease weren't seen in trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings which were fed with green tea (*Camellia sinensis* L.) seeds powder supplement diet during ten days. While mortality was not seen in negative control group, was seen in positive control group as 40%. Results from this study confirmed the potential use of green tea (*Camellia sinensis* L.) seeds as a 10% feed additive for prevention of disease against *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerling culture.

Keywords: Green tea seed, *Aeromonas hydrophila*, Immunostimulant

Bu makaleye atıf yapmak için

Er, A., Kayış, Ş., "Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumunun Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* Enfeksiyonuna Karşı Kullanımının Araştırılması" El-Cezerî Fen ve Mühendislik Dergisi 2015, 2(3); 67-74

How to cite this article

Er, A., Kayış, Ş., "Evaluation of green tea (*Camellia sinensis*) seeds application against the infection of *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)" El-Cezerî Journal of Science and Engineering, 2015, 2(3); 67-74

1. Giriş

Son yıllarda ülkemizde su ürünleri sektörü ekonomik yönden gelir kaynağı olma özelliği kazanmış ve oldukça önemli bir sektör haline gelmiştir. TÜİK (2014), verilerine göre, Türkiye'nin su ürünleri üretim miktarı 537.344,6 tondur ve bunun 235.133 tonu yetiştiricilik faaliyetlerinden sağlanmaktadır [1]. Bütün 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 [2,3,4].

Dünyada bir endüstri dalı haline gelen akuakültürde, yetiştiriciler maliyeti düşürmek için birim hacimdeki suda maksimum miktarda 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 [3]. 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 [5].

Yetiştiricilikte, bakteriyel balık hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek için antibiyotikler kullanılmaktadır. Bununla birlikte; antibiyotiklerin kullanımı daha dirençli bakteriyel suşların gelişmesi veya yetiştiriciliği yapılan balıklarda antibiyotik kalıntılarının meydana gelmesi gibi tehlikeleri ortaya çıkarmaktadır. Bu hususlar göz önüne alındığında, bilinen antibiyotiklerin potansiyel kullanımı veya yetiştiricilikte yeni bir antibiyotik kabul görmesi sınırlı olmaktadır. Bu anlamda, son yıllarda, enfeksiyöz hastalıklara karşı alternatif stratejiler ön plana çıkmaktadır. Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi balıklardaki enfeksiyöz hastalıklar için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biride aşılama değildir. Ticari olarak bazı bakteriyel ve viral enfeksiyonlar için aşılar geliştirilmiştir [6,7,8].

Aşılama, balık hastalıklarını önleme konusunda en etkili yöntemlerden biri olmasına rağmen bazı patojenlere karşı hala başarılı sonuçlar sağlayan aşılar geliştirilememiştir. Bu nedenle, sadece aşılar kullanarak tüm balık hastalıklarını önleyebilmek henüz mümkün değildir [9,10].

Balık hastalıklarının tedavi edilerek çözümü ilaç maliyetlerinin yüksekliği, iş gücünün artması ve ölen ya da yemden kesilen balıkların olması nedeniyle ciddi kayıplar yaşatmaktadır. Bu bağlamda balık yetiştiriciliğinde her zaman profilaktik tedbirler ön plana çıkmaktadır [11]. Günümüzde araştırmaların çoğu balıkların bağışıklık sisteminin uyarılması ve herhangi bir hastalık etmeni ile karşılaşma durumunda daha hızlı ve etkin bir cevap verilmesine yöneliktir [12]. Burada ise karşımıza immunostimulantlar çıkmaktadır.

Bu bağlamda, Cho ve ark. (2006) yeşil çayın *Paralichthys olivaceus* balıklarında büyüme performansı ve yem değerlendirmeye etkisini, Abdel Tawwab ve ark. (2010), *Oreochromis niloticus* balıklarında yeşil çayın büyüme performansı ve *Aeromonas hydrophyla*'ya karşı antimikrobiyal etkisini, Suziki ve ark. (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 [13,14,15].

Bu çalışmada da yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan gökkuşığı alabalığı balıkçıklarında (*Oncorhynchus mykiss*), çay bitkisi (*Camellia sinensis*) tohumunun *Aeromonas hydrophila*

enfeksiyonuna karşı kullanımının araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilecek sonuçların balıkçılık sektöründe kullanılabilir olması ve bu konuda yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Metot

Çalışmada Kullanılan Balık Materyali

Çalışmada Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İyidere Su Ürünleri Üretim Eğitim ve Araştırma Uygulama Merkezi'nde bulunan gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) anaçlarından elde edilen ortalama ağırlıkları $10 \pm 0,12$ g olan alabalıklar kullanılmıştır. Balıklar günlük olarak canlı ağırlıklarının %2'si kadar yemlenmiştir.

Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumu ve Balık Yemi

Bu çalışmada, Rize İli Derneği İlçesi Tersane Mahallesi'ne ait olan çay bahçelerinden Ocak ayı içinde toplanan çay tohumları kullanılmıştır (Şekil 1). Kullanılan çay tohumlarının yaş ağırlığı 500g, kabuk ağırlığı 100g, kuru ağırlık 370g ve tohum içi ağırlığı 270g olarak belirlenmiştir. 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 öğütme makinesi yardımıyla çalışmalarda kullanılabilecek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen çay tohumu ticari olarak satılan alabalık yem rasyonuna katılarak peletleme işlemi yapılmıştır (Şekil 2). Peletlenen yemler oda sıcaklığında kurutulmuş, kullanılabilecek kadar buzdolabı şartlarında (+4°C) muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Çay Tohumu



Şekil 2. Kabuk kısmı ayrılmış, kurutulmuş ve öğütülmüş çay tohumu (A), Saf halde öğütülmüş çay tohumu (B), Alabalık yemine katıldıktan sonra peletleme işleminin yapıldığı (C), Kurutma işlemi (D).

Patojenik Bakteri; *Aeromonas hydrophila*

Denemelerde kullanılan balık patojeni, *Aeromonas hydrophila* Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bu bakteri türü 2010 yılında hastalık belirtileri olan çiftlik kökenli gökkuşaağı alabalığının karaciğerinden izole edilmiştir. Bakterinin çoğaltılması amacıyla genel besiyeri olarak Tryptic Soy Agar (TSA), kullanılmıştır. Denemeler sonrasında balıklardan izole edilen bakterilerin tür teşhisi API 20NE test kitinden yararlanılmıştır. Balıklara bakterilerin immersiye yolu ile enfekte edilmesinde sıvı besiyeri olarak *Brain-Heart Infusion Broth* (BHI) besiyeri, bakteri sayımı için ise Plate Count Agar (PCA) kullanılmıştır.

Deneme Grupları ve Süresi

Balıkların farklı oranlarda çay tohumu tozu ilave edilmiş yemlerle beslenmesi amacıyla, taze su akışı ve havalandırma sağlanan 150 litre su hacimli, 50 cm çapına sahip fiber tanklar kullanılmıştır. Çalışmada toz 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 olacak şekilde balık yemlerine %10 çay tohum tozu ilavesi yapılmıştır. Deneme öncesi balıklar 10 gün süre ile bu yemlerle beslenmişlerdir. Denemeler iki tekerrürlü olacak şekilde deneme 10 gün devam etmiştir.

Çay tohum tozu ile kombine edilmiş yemler ile beslenen alabalıklar, bakteriler ile immersiye yolu ile enfekte edilmişlerdir. Deneme grubuna (%10, pozitif ve negatif kontrol) 10 adet balık ayrı ayrı 20 lt' lik tanklara konulmuştur.

Denemede kullanılan 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 (yaklaşık 10^8 CFU mL⁻¹) ve her bir deneme grubuna bakteriler 1 saat immersiye yoluyla 20 ml besiyeri olacak şekilde enfekte edilmiştir. Negatif kontrole steril besiyeri ilavesi yapılmıştır. Ölüm gözlemlenen deneme gruplarından örnekleme yapılarak bakteriyel ekimler gerçekleştirilmiş ve *Aeromonas hydrophila*'nın varlığı tespit edilmiştir. Her bir deneme tankına 10 adet gökkuşaağı alabalığı rastgele konulmuştur (Şekil 3).



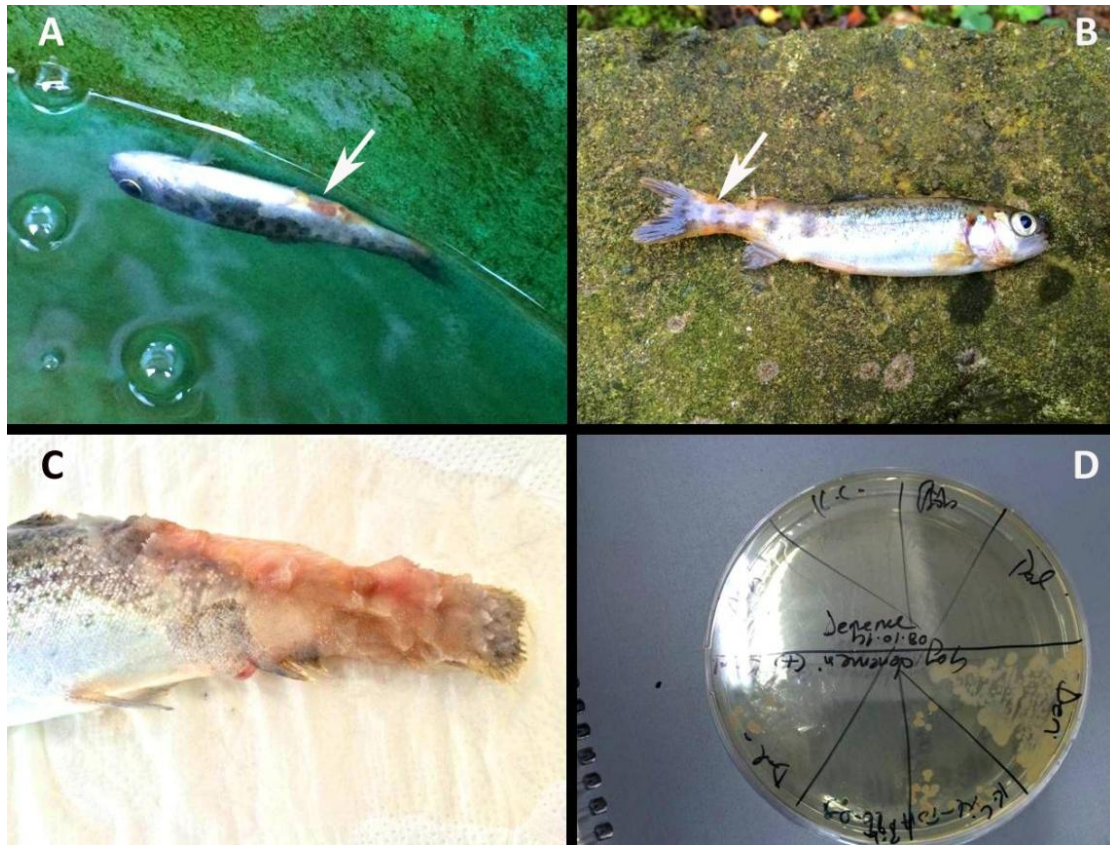
Şekil3. Deneme Tankları

Bulgular

Bu çalışmada, çay bitkisi tohumunun fingerling boydaki gökkuşağı alabalığında hastalık etkeni olan *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı antimikrobiyal etkisinin olup olmadığı araştırılmış ve bu etkinin olumlu anlamda var olduğu belirlenmiştir. Deneme süresi ve sonrasında gruplarda meydana gelen ölüm oranları ve patolojik bulgular Tablo 1 ve Şekil 4’de verilmiştir. Denmede kullanılan suyun çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, toplam sertlik, alkalinite, amonyak ve nitrit değerleri sırasıyla $8,34 \pm 0,27 \text{ mg L}^{-1}$, $14,7 \pm 0,6 \text{ °C}$, $7,54 \pm 0,32$, $34,5 \pm 1,9 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, $15,9 \pm 0,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$, $9 \pm 4 \text{ ng L}^{-1}$, ve $3,4 \pm 1,8 \text{ µg L}^{-1}$ olarak kaydedilmiştir.

Tablo 1. *A. hydrophila* ile Enfekte Denemesine Ait Veriler, Nİ: deneme öncesi gruplarda bulunan balık sayısı, NS: deneme sonrası gruplarda bulunan canlı balık sayısı.

Gruplar	Nİ	NS	Mortalite (%)
Negatif Kontrol	20	20	0
Pozitif Kontrol	20	12	40
Deneme Grubu	20	20	0



Şekil 4. Pozitif kontrol grubu balıklarında meydana gelen patolojiler, ters dönerek yüzme ve anal bölgede hemoraji (A), Kaudal yüzgeç üzerinde meydana gelen lezyon (B), Kaudal yüzgeç üzerinde meydana gelen ileri derecede lezyon (C), Semptom gösteren balıklardan yapılan bakteriyel ekimler sonucu elde edilen bakteri kolonileri (D).

Tartışma ve Sonuç

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-inflamatuar ve antikarsenojik etkileri iyi bilenen ve yaygın olarak kullanımı olan çay bitkisi detaylıca araştırılmaktadır [16,17,18]. Bu çalışmada ülkemizde yoğun üretimi olan çay bitkisinin tohumu balıklar için patojen olan *A. hydrophila*’ya karşı baskılayıcı özellikleri araştırılmıştır. Aynı zamanda bu araştırma ile yaygın kullanımı olan antibiyotiklerin kullanımının azaltılması amaçlanmıştır.

Toda ve ark. (1989), yeşil çay özütünü bazı balık patojenlerine karşı kullanmışlar ve elde edilen maddenin bakteriyostatik etkisini kanıtlamışlardır [19]. 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 [20,21]. Diğerlerinden farklı olarak, yeşil çay bitkisinin işlenerek kimyasal bir sürece tabi tutulmadan direkt olarak tohum kısmının 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.

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 [22]. Bir maddenin faydalı olması beklenen yönleri incelenirken, zararlı olmaması tercih sebebidir. Önceki çalışmalarda çay tohum tozunun balıkların hayati organlarında orta ve düşük derecelerde yan etkileri belirlenmiştir [23]. 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 [24,25]. Bu yan etkilerin sentetik antibiyotiklerin kullanımında da gözlemlenebildiği bilinmektedir. Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında yeme katılarak oksitetrasiklin kullanımı sonrasında yapılan histolojik incelemelerde, böbreklerde vakulizasyonlar ve dalakta melanomakrofaj merkezlerinin yoğunluğu bildirilmiştir [26]. Bu bilgiler ışığında, çay tohum tozunun alabalıklarda *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonunu engelleme 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.

Yapılan çalışmada çay tohum tozu ile beslenen fingerling boydaki gökkuşığı alabalığında enfeksiyona karşı direnç oluşmuş ve balıklarda ölüm gözlemlenmemiştir. Pozitif kontrol grubunda ise %40 lık bir ölüm oranı meydana gelmiştir. Negatif kontrolde ise herhangi bir ölüm meydana gelmemiştir.

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

Kaynakça

- [1] Anonim, 2014, Su Ürünleri Üretim Miktarı, Türkiye İstatistik Kurumu, (TÜİK) <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=18731> Erişim Tarihi: 19 Eylül 2015
- [2] 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, İzmir.
- [3] Tokşen, E. 1999, Ege Bölgesinde Yetiştiriciliği Yapılan Çipura ve Levrek Balıklarının Solungaçlarında Görülen Metazoan Parazitler ve Tedavisi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [4] Timur, M. ve Timur, G. 2003, Balık Hastalıkları Kitabı, TC. İstanbul Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 4426, Su Ürünleri Yayın No: 5, 238, İstanbul.
- [5] Ateşoğlu, A. 1996, Balık Hastalıkları Teşhis Laboratuvarının Kuruluşu ve Özellikleri, Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, 20-34.
- [6] Anderson, D.P. 1992, *In vitro* immunization of fish spleen sections and NBT, phagocytic, PFC and antibody assays for monitoring the immune response. (J.S., Stolen, T.C., Fletcher, D.P., Anderson, S.L., Kaattari, and A.F., Rowley, Eds.), Techniques in Fish Immunology, Volume 2, SOS Publications, Fair Haven, N.J. 113-136.
- [7] FAO, 2002, Antibiotics residue in aquaculture products. The state of world fisheries and aquaculture 2002, Rome, Italy, pp. 74-82;
- [8] Gatlin, D.M.III. 2002, Nutrition and fish health. (J E. Halver and R. W. Hardy Eds.) Fish Nutrition, Academic Press, San Diego, CA, USA. 671-702.
- [9] Sakai, M. 1999, Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172: 63-92.
- [10] Sarder, M.R. Thompson, K.D, Penman, D.J, McAndrew, B.J. 2001, Immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) clones: I. Non-specific responses. Development and Comparative Immunology, 25: 37-46.
- [11] Le Breton, A.D. 2009, Farming and health management: Prevention and policy measure, *Options Méditerranéennes*, 86: 207-220
- [12] Bricknell, I, Dalmo, R.A. 2008, The use of immunostimulants in fish larval aquaculture, *Fish and Shellfish Immunology*, 19: 457-472; 2005. doi: 10.1016/j.fsi.2005.03.
- [13] Cho, S.H, Lee, S.M, Park, B.H, Ji, S.C, Lee, J, Bae J. 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.
- [14] Abdel- Tawwab, M, Ahmad, H.M, Seden, M.E, 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.
- [15] Suzuki, K, Misaka, N, Sakai, D.K. 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
- [16] Cooper, R, Morre, D.J, Morre, D.M. 2005, Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. Journal of Alternate Complementary Medicine 11, 521-528.
- [17] Matthews, C.M. 2010, Steep your genes in health: Drink tea. Proceedings (Baylor University Medical Centre) 23, 142-144.
- [18] Xia, E.Q, Deng, G.F, Guo, Y.J, Li, H.B. 2010, Biological activities of polyphenols from grapes - Review. International Journal of Molecular Sciences 11, 622-646.
- [19] Toda, M, Okubo, S, Ohnishi, R. Shimamura, T. 1989, Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. Japanese Journal of Bacteriology 44, 669-672;
- [20] Gadang, V.P, Hettiarachchy, N.S, Johnson, M.G, 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.

- [21] Chan, E.W.C, Soh, E.Y, Tie, P.P, Law, Y.P. 2011, Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. Pharmacognosy Research 3, 266-272
- [22] 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.
- [23] Çiftci, C. 2013, Çay Bitkisi (*Camellia sinensis*) Tohumunun Balık Sağlığı Alanında Kullanımının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [24] Miyazaki, T.A. 1987, 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.
- [25] Korun, J. and 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
- [26] Svobodová, Z, Sudová, E, Nepejchalová, L, Červinka, S, Vykusová, B, Modrá, H. Kolářová, J. 2006, Effects of oxytetracycline containing feed on pond ecosystem and health of carp (*Cyprinus carpio* L.).Acta Vet Brno 75: 571-577.