



**SU ÜRÜNLERİ ALANINDA BİLİMSEL
ARAŞTIRMALAR**

Editör: Prof.Dr.Azime KÜÇÜKGÜL

yaz
yayınları

Su Ürünleri Alanında Bilimsel Araştırmalar

Editör

Prof.Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

yaz
yayınları

2026

**Su Ürünleri Alanında Bilimsel
Araştırmalar**

Editör: Prof.Dr. Azime KÜÇÜKGÜL

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-8996-22-7

Mart 2026 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

- Structural Transformation of Marine Cage
Aquaculture Systems in the Aegean and Black Sea
Regions of Türkiye1**
Deniz Devrim TOSUN, Metin TİMUR
- In vitro Yangı Modelinde Escin'in Antiinflamatuvar ve
Antiapoptotik Etkilerinin Araştırılması.....24**
Azime KÜÇÜKGÜL, Altuğ KÜÇÜKGÜL

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

STRUCTURAL TRANSFORMATION OF MARINE CAGE AQUACULTURE SYSTEMS IN THE AEGEAN AND BLACK SEA REGIONS OF TÜRKİYE¹

Deniz Devrim TOSUN²

Metin TİMUR³

1. INTRODUCTION

Aquaculture has become one of the fastest-growing sectors of global food production over the past several decades, driven by the stabilization and depletion of capture fisheries since the 1980s (Tidwell & Allan, 2001; Rocha et al., 2022; FAO, 2024). While inland freshwater systems account for the bulk of global production volume, marine aquaculture plays a critical role in meeting seafood demand in regions such as Europe and the Americas (Verdegem et al., 2023). Among marine production systems, cage farming remains the dominant method for cultivating finfish (López, 2011). This widespread adoption is primarily driven by lower initial capital and infrastructure requirements compared to land-based systems; however, these economic advantages are increasingly balanced against environmental limitations, including nutrient loading and disease

¹ This chapter is based on data derived from the author's (Deniz D. Tosun) doctoral dissertation titled "Structural and Economic Analysis of Selected European Seabass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Farms Operating in the Black Sea and Aegean Regions", completed at Istanbul University, Institute of Graduate Studies in Sciences.

² Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü, ORCID: 0000-0001-6612-6624

³ Prof. Dr., (Emekli) İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hastalıkları Bölümü.

susceptibility in open-water environments (López, 2011; Martínez-Porchas & Martínez-Cordova, 2012).

Türkiye has become one of the leading producers in Mediterranean aquaculture, particularly through the cultivation of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) (Guillen et al., 2015). Together with Greece, Türkiye accounts for a major share of Mediterranean seabass and seabream production. Over the past two decades, national marine production has expanded rapidly, with production largely concentrated in the Aegean region. While this growth has supported the development of a highly export-oriented industry, early coastal intensification generated spatial conflicts with tourism activities and localized environmental impacts. These pressures contributed to the introduction of stricter regulatory frameworks that required the relocation of many farms from sheltered coastal areas to more offshore locations (Yücel-Gier et al., 2010; Grigorakis & Rigos, 2011; Koçer et al., 2020). This regulatory shift acted as an important catalyst for the modernization of the sector, encouraging the adoption of high-capacity offshore cage systems.

Historically serving as the cornerstone of the national capture fisheries sector (Bat et al., 2024), the Black Sea has recently emerged as an increasingly important aquaculture production area due to the rapid expansion of “Turkish salmon” farming (Figure 1), a commercial designation for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) grown in marine environments to harvest weights exceeding 2.5 kg (Yigit et al., 2023). Over the past decade, production volumes have increased rapidly in response to export demand, transforming the aquaculture landscape of the region. However, the Black Sea also presents distinct environmental challenges, including high wave energy and summer surface temperatures that may approach the upper thermal tolerance limits for salmonids. In response to these

environmental conditions and increasing production demands, the industry has adopted larger and more robust cage systems. Coastal operations have increasingly been replaced by large-diameter offshore High-Density Polyethylene (HDPE) gravity cages equipped with deep net chambers. These structural adaptations increase cage volume and may allow operators to utilize deeper and relatively cooler water layers during seasonal temperature fluctuations (Buyukates et al., 2024; Yigit et al., 2023).

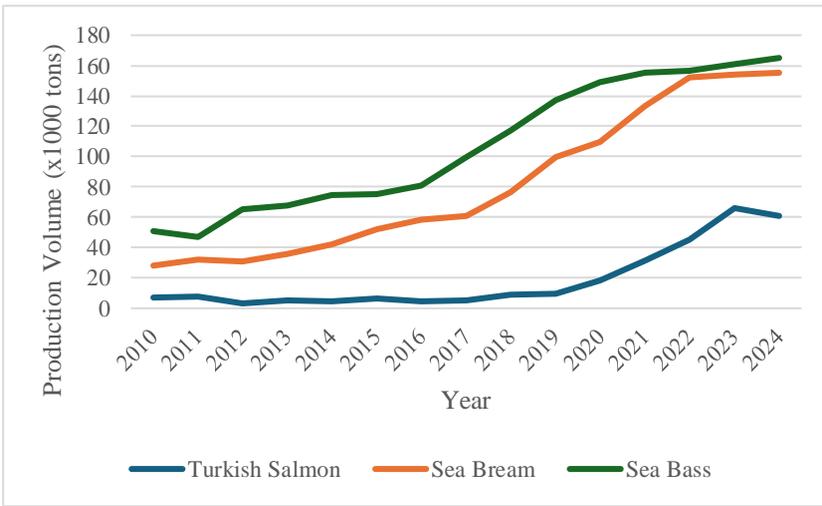


Figure 1. Annual production volume ($\times 10^3$ tons) of the main marine aquaculture species in Türkiye between 2010 and 2024: European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*), and Turkish salmon (marine-reared *Oncorhynchus mykiss*). Data source: TÜİK (2025).

The spatial and technological evolution of marine aquaculture in Türkiye was initially accelerated by regulatory changes introduced in the late 2000s, which prohibited aquaculture activities in sensitive semi-enclosed coastal bays. These legislative revisions forced a rapid relocation of farms toward offshore environments. Since this initial spatial transition, offshore cage systems have continued to evolve structurally as

producers adapt to environmental conditions and increasing production demands.

Despite these substantial developments in the sector, longitudinal assessments tracking the physical and operational adaptation of marine cage infrastructure remain limited. Understanding how cage dimensions, production capacities, labor efficiencies, and spatial distributions have evolved over time is essential for evaluating the sector's technological development and operational resilience. Therefore, this chapter examines the structural transformation of marine cage aquaculture systems in the Aegean and Black Sea regions of Türkiye. By comparing current operational indicators from 2025 with a comprehensive farm-level baseline dataset established in 2010 (Tosun, 2010), this study provides a detailed assessment of how marine cage farming systems in Türkiye have adapted to changing environmental, technological, and regulatory conditions.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study Area

The study focused on marine cage aquaculture enterprises operating in the Aegean and Black Sea regions of Türkiye, representing two of the country's most critical mariculture zones. These regions present distinct environmental conditions, such as water temperature regimes, coastal geomorphology, and hydrodynamics, that fundamentally dictate local aquaculture practices.

The Aegean region features relatively stable temperature profiles and favorable hydrodynamic circulation, making it the primary hub for cultivating European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*). Conversely, the Black Sea exhibits lower salinity and severe seasonal temperature

fluctuations. In recent years, this region has experienced rapid aquaculture expansion driven by "Turkish salmon" farming, the marine grow-out of freshwater-reared rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The favorable winter and spring water temperatures have solidified this production model as the dominant aquaculture activity in the Black Sea. These stark regional differences in target species and environmental constraints provide an ideal comparative framework for examining structural adaptations in cage systems.

2.2. Data Collection

This study utilized two independent datasets to establish a longitudinal comparison. The baseline dataset was derived from a doctoral thesis (Tosun, 2010) analyzing the structural and economic characteristics of 12 marine fish farms (6 in the Black Sea and 6 in the Aegean) in 2010. The contemporary dataset was compiled through comprehensive field observations and direct consultations with farm operators between 2024 and 2025. The farms surveyed in 2025 were not necessarily identical to those included in the 2010 dataset; therefore, comparisons were conducted at the regional level rather than at the individual farm level.

Data collection encompassed farms across both regions, including established zones like the Karaburun–İldır Bay in the Aegean and various enterprises across the Black Sea. To ensure robust comparative validity between the two time periods, consistent variables were extracted from farm records and managerial interviews. The primary structural indicators recorded were:

- Number of cages per farm
- Cage diameter (m)
- Cage net depth (m)
- Annual production capacity (tons/year)

- Stocking density (kg/m³)
- Number of employees

2.3. Data Analysis

To evaluate the structural evolution of these systems, several secondary performance indicators were derived from the primary variables. The working volume of each cage was estimated using the standard formula for a cylinder:

$$V = \pi r^2 h$$

where V is cage volume (m³), r is cage radius (m), and h is net depth (m).

Using these baseline measurements, production efficiency was quantified through the following metrics:

- Production per cage (tons/cage)
- Production per worker (tons/worker)
- Mean cage volume (m³)

Descriptive statistics were applied to summarize the variables across each region and time period. Comparative analyses were stratified by region (Aegean vs. Black Sea) to isolate region-specific trajectories in technological adaptation and farm management.

3. RESULTS

3.1. General Characteristics of Marine Cage Farms

The general structural characteristics of marine cage farms operating in the Aegean and Black Sea regions were evaluated by comparing farm-level indicators from 2010 and 2025. The main farm characteristics, including cage number, workforce size, and distance of cages from the coastline, are summarized in Table 1.

Table 1. General characteristics of marine cage farms in the Aegean and Black Sea regions in 2010 and 2025

Region	Year	Number of farms	Mean number of cage	Mean workers	Mean distance to shore (m)
Black Sea	2010	6	36.7	8.5	883
Black Sea	2025	6	24.3	12.2	2140
Aegean	2010	6	15.3	4.5	175
Aegean	2025	6	25.2	11.8	918

In the Black Sea region, farms operated an average of 36.7 cages per farm in 2010, whereas this value decreased to approximately 24.3 cages per farm in 2025. Despite the decrease in the number of cages, the workforce employed in the farms increased over time, rising from an average of 8.5 workers in 2010 to 12.2 workers in 2025. In addition, the spatial location of cage systems changed considerably. The average distance of cages from the shoreline increased from approximately 883 m in 2010 to more than 2,100 m in 2025, indicating a shift toward offshore production areas.

In the Aegean region, farms operated an average of 15.3 cages per farm in 2010, while the average number of cages increased to 25.2 cages per farm in 2025. The number of employees working in these farms also increased during the same period, rising from an average of 4.5 workers to 11.8 workers per farm. Similar to the Black Sea region, the spatial distribution of cages also changed in the Aegean region. The average distance from the coastline increased from approximately 175 m in 2010 to around 918 m in 2025 (Table 1).

3.2. Structural Characteristics of Cage Systems

The structural characteristics of cage systems used in marine aquaculture farms were evaluated using cage diameter, net depth, and calculated cage volume. The comparison of these

structural indicators between regions and time periods is presented in Table 2.

Table 2. Structural characteristics of cage systems

Region	Year	Mean cage diameter (m)	Mean net depth (m)	Mean cage volume (m ³)
Black Sea	2010	14	8.3	1286
Black Sea	2025	43.2	12.8	18700
Aegean	2010	20.3	11.5	3735
Aegean	2025	30.7	13.7	11874

In the Black Sea region, the cage systems used in 2010 were relatively small compared with those observed in the current production systems. The mean cage diameter increased from approximately 14 m in 2010 to 43.2 m in 2025, while the mean net depth increased from 8.3 m to 12.8 m. As a result of these dimensional changes, the estimated mean cage volume increased substantially, indicating a major expansion in the physical production capacity of individual cages.

In the Aegean region, cage systems were already larger than those observed in the Black Sea during the baseline period. In 2010, the mean cage diameter was approximately 20.3 m, with an average net depth of 11.5 m. By 2025, the mean cage diameter increased to 30.7 m, while the mean net depth increased to 13.7 m. These changes resulted in a noticeable increase in average cage volume across farms operating in the region. The comparison of cage system characteristics indicates that marine cage farms in both regions have adopted larger cage structures over time (Table 2). The increase in cage diameter between the two study periods is illustrated in Figure 2.

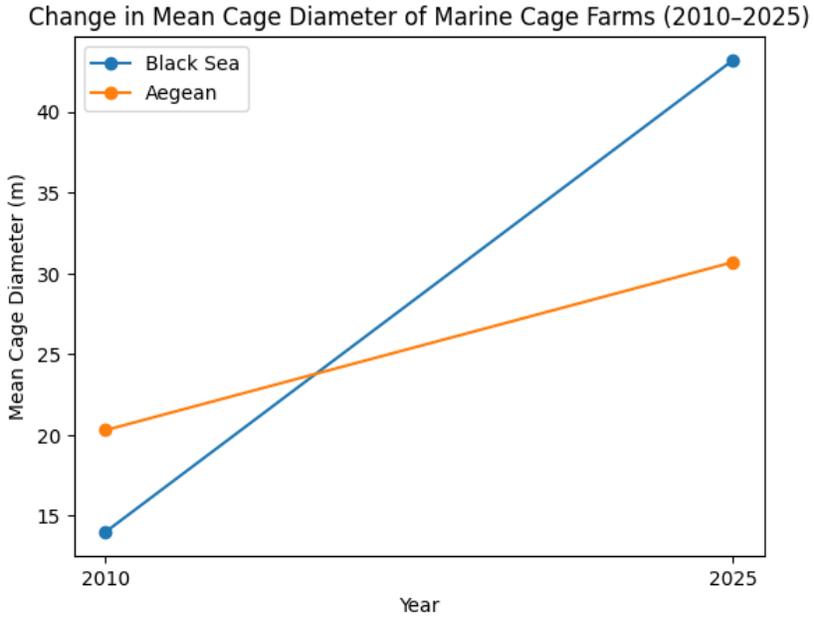


Figure 2. Change in mean cage diameter in marine cage farms in the Aegean and Black Sea regions between 2010 and 2025.

3.3. Production Characteristics

Production characteristics of marine cage farms were evaluated using farm-level production capacity, production per cage, and stocking density values. The comparison of these indicators between regions and years is presented in Table 3. Changes in farm production capacity between 2010 and 2025 are illustrated in Figure 3.

Table 3. Production characteristics of marine cage farms

Region	Year	Mean production (ton)	Mean production per cage (ton)	Mean stocking density (kg m ⁻³)
Black Sea	2010	115	4.1	10.6
Black Sea	2025	2567	132.6	14
Aegean	2010	371	23.7	14.7
Aegean	2025	1957	100.8	11

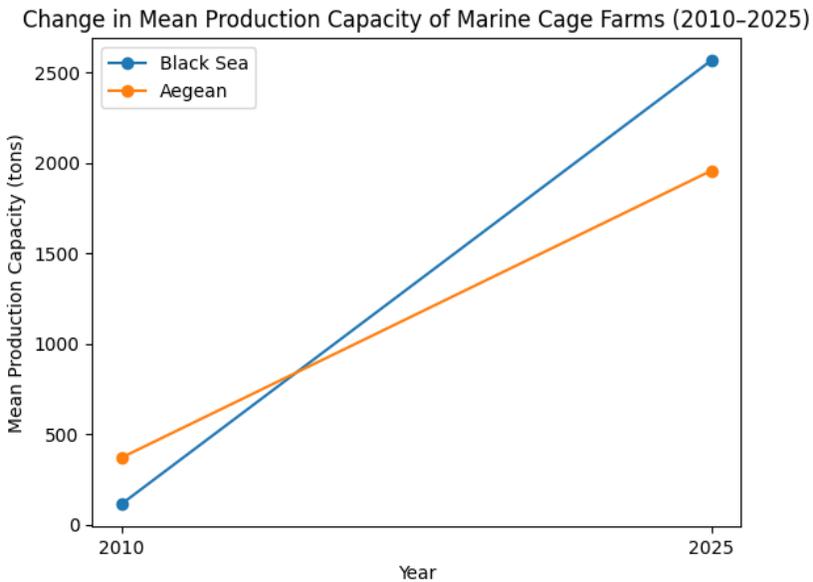


Figure 3. Change in mean production capacity of marine cage farms in the Aegean and Black Sea regions between 2010 and 2025.

In the Black Sea region, the average production capacity of farms increased dramatically between the two study periods. In 2010, the mean farm production was approximately 115 tons, whereas in 2025 the average production capacity exceeded 2,500 tons per farm. The average production per cage also increased considerably during this period. Stocking density values showed

a moderate increase, rising from approximately 10.6 kg m⁻³ in 2010 to around 14 kg m⁻³ in 2025.

In the Aegean region, production capacity also increased substantially. The mean farm production increased from approximately 371 tons in 2010 to nearly 1,957 tons in 2025. Production per cage also increased during this period, reflecting the expansion of cage systems and the increase in farm-scale production. In contrast to the Black Sea region, stocking density values remained relatively stable across the two study periods (Table 3).

3.4. Labor Productivity in Marine Cage Farms

Labor productivity was evaluated using the number of workers employed per farm and the average production per worker. The comparison of labor productivity indicators is presented in Table 4.

Table 4. Labor productivity in marine cage farms

Region	Year	Mean workers	Mean production per worker (ton)
Black Sea	2010	8.5	13.5
Black Sea	2025	12.2	210
Aegean	2010	4.5	82
Aegean	2025	11.8	166

In the Black Sea region, the average number of workers per farm increased from 8.5 employees in 2010 to 12.2 employees in 2025. However, due to the substantial increase in production capacity, the average production per worker increased dramatically, rising from approximately 13.5 tons per worker in 2010 to more than 200 tons per worker in 2025.

In the Aegean region, the average number of employees also increased between the two study periods, rising from 4.5 workers per farm in 2010 to 11.8 workers in 2025. As production

capacity increased over time, labor productivity also improved considerably. The mean production per worker increased from approximately 82 tons per worker in 2010 to around 166 tons per worker in 2025 (Table 4).

3.5. Spatial Distribution of Cage Farms

The spatial distribution of marine cage farms was evaluated by examining the distance of cage systems from the shoreline. Changes in the average distance of cages from the coastline between 2010 and 2025 are illustrated in Figure 4.

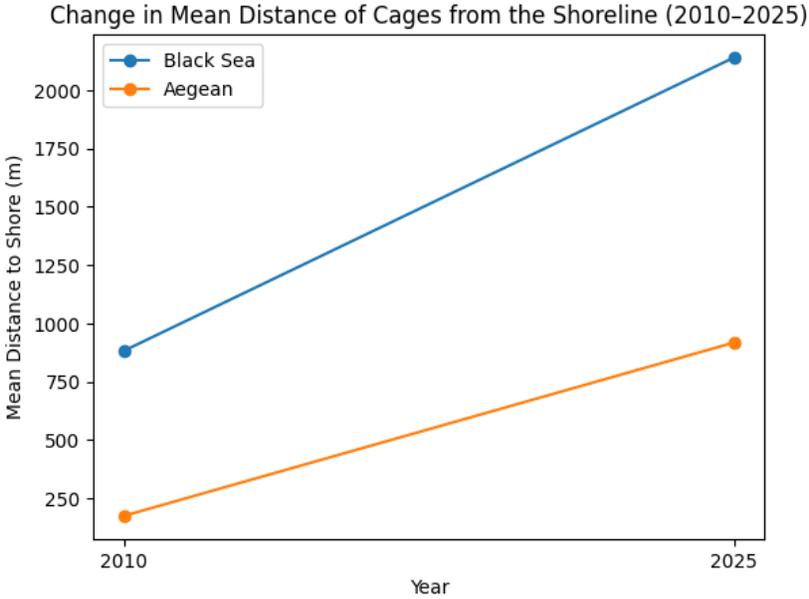


Figure 4. Change in the average distance of marine cage farms from the shoreline in the Aegean and Black Sea regions between 2010 and 2025.

In the Black Sea region, the mean distance of cages from the shoreline increased from approximately 883 m in 2010 to more than 2,100 m in 2025, indicating a substantial shift toward offshore production areas. A similar trend was observed in the Aegean region, where the average distance from the shoreline

increased from approximately 175 m in 2010 to around 918 m in 2025.

These results indicate that marine cage aquaculture farms in both regions have gradually moved further offshore over time.

4. DISCUSSION

The results of this study reveal substantial structural changes in marine cage aquaculture systems operating in the Aegean and Black Sea regions of Türkiye over the past decade. The comparison of farm-level indicators between 2010 and 2025 shows clear increases in cage dimensions, production capacity, and labor productivity. These physical expansions have been accompanied by a gradual shift of cage systems toward offshore areas, a trend that aligns with broader national shifts driven by spatial planning regulations and the need to mitigate coastal environmental pressures (Koçer et al., 2020; Yücel-Gier et al., 2010). Although both regions experienced expansion in production capacity, the magnitude and nature of these changes differed significantly between the Black Sea and the Aegean regions, reflecting the distinct developmental trajectories of the mature seabass and seabream sector versus the recent, rapid industrialization of salmonid farming (Büyükkateş et al., 2024; Yigit et al., 2024).

One of the most striking findings of the study is the dramatic increase in production capacity observed in the Black Sea region. Between 2010 and 2025, average farm production increased more than twenty-fold, while cage diameters and cage volumes increased substantially. These structural changes strongly coincide with the rapid expansion of Turkish salmon production, which refers to the marine grow-out of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) transferred from freshwater facilities to sea cages (Aydın et al., 2025). Over the last decade, Turkish

salmon production has become one of the fastest-growing segments of the Turkish aquaculture sector, with the Black Sea region emerging as the primary production area and becoming increasingly integrated into the global salmonid value chain (Knudsen, 2025; Aydın et al., 2025).

The production model used in Turkish salmon farming differs considerably from traditional marine fish farming practices. In this system, juvenile trout produced in freshwater hatcheries are transferred to marine cages for grow-out exclusively during the winter and spring seasons. This seasonal strategy is biologically enforced by the Black Sea's summer surface water temperatures, which frequently approach or exceed the upper thermal tolerance limits for *Oncorhynchus mykiss* (Chen et al., 2015; Dressler et al., 2023; Melnikov et al., 2025). Consequently, to achieve economically viable harvest volumes within this strictly compressed production window, the industry requires significantly larger cage volumes and higher stocking capacities. The substantial increase in cage dimensions and production capacity observed in the Black Sea region in this study appears to represent a structural adaptation to this biologically constrained production model.

In addition to changes in cage size, technological developments in cage infrastructure and materials have been essential to support this structural expansion. Observations from the 2010 baseline study indicated that farms operating in the Aegean region predominantly used knotless cage nets, primarily due to concerns regarding fish welfare and product quality. Producers emphasized that knotted nets could cause physical abrasion and damage to fish skin, negatively affect the visual quality of harvested fish, and increase susceptibility to secondary infections by compromising the epidermal barrier (Comas Morte, 2018; Powell, 2021).

Field observations conducted in 2025 indicate that cage net technology has evolved considerably to accommodate the physical demands of larger volumes and deeper waters. Particularly in the Black Sea region, where mean cage diameters expanded to 43.2 m and net depths increased to 12.8 m, modern cage systems increasingly utilize nets manufactured from Dyneema fibers. This high-performance polyethylene material provides the high tensile strength and low weight necessary to maintain the structural integrity of these massive enclosures (Conides et al., 2023). Furthermore, their low elongation properties allow stable mesh openings, which are critical for maintaining effective water exchange and structural stability as farms have shifted to more exposed offshore locations (exceeding 2,100 m from the shoreline in the Black Sea) (Verep & Balta, 2023). In addition, modern cage nets are commonly produced from HDPE-based knotless materials, and antifouling coatings containing elements such as copper or silver are frequently applied in order to reduce biofouling (MacKenzie et al., 2021; Conides et al., 2023).

While the structural expansion observed in the Black Sea region appears closely associated with the rapid growth of Turkish salmon farming, the development trajectory in the Aegean region follows a somewhat different pattern. Although the results show clear increases in production capacity and cage dimensions in the Aegean region between 2010 and 2025, the magnitude of these changes is noticeably more moderate. This difference may be partly explained by the fact that the Aegean region already hosts a well-established marine aquaculture industry that has developed over several decades, primarily based on the production of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*). The long-standing presence of the seabass and seabream industry in the Aegean region has resulted in a relatively mature production structure, where many

farms have already reached a stable operational scale (Yıldırım, 2023; Ertör & Ortega-Cerdà, 2019). In addition, production expansion in the region is often constrained by limited suitable farming areas and regulatory licensing frameworks, particularly in densely utilized and environmentally protected zones (Tosun et al., 2025; Ertör & Ortega-Cerdà, 2019). As a result, while technological improvements and moderate increases in cage size are observed, the overall expansion of production capacity remains more gradual compared with the rapidly expanding Turkish salmon sector in the Black Sea (Yigit et al., 2023).

Another important trend observed in both regions is the gradual movement of marine cage farms toward offshore locations. The increase in the distance of cage systems from the shoreline between 2010 and 2025 suggests that aquaculture production is progressively shifting toward deeper and more exposed coastal areas. This trend may reflect several factors, including environmental regulations, spatial competition with coastal tourism and other marine activities, and the need for better water exchange conditions in high-capacity cage systems.

The findings of this study indicate that marine cage aquaculture systems in Türkiye have undergone a clear process of structural transformation over the past decade. While both the Aegean and Black Sea regions show evidence of increasing production capacity and technological development, the underlying drivers of this transformation differ between regions. In the Black Sea, the rapid growth of Turkish salmon production appears to be a major driver of structural change, whereas in the Aegean region the evolution of cage systems reflects the gradual technological development of a mature aquaculture industry operating within spatial and regulatory constraints.

5. CONCLUSION

This chapter examined the structural transformation of marine cage aquaculture systems in the Aegean and Black Sea regions of Türkiye by comparing farm-level indicators obtained in 2010 and 2025. The comparison revealed significant changes in cage dimensions, production capacity, labor productivity, and the spatial distribution of marine cage farms over the past decade.

The results indicate that marine aquaculture production systems in both regions have undergone a clear process of production scaling, characterized by increases in cage size and farm-level production capacity. Larger cage diameters, deeper nets, and higher production volumes were observed in the farms surveyed in 2025 compared with those operating in 2010. These structural changes reflect the broader technological evolution of marine cage farming systems and the increasing industrialization of the aquaculture sector.

However, the magnitude and drivers of this transformation differed considerably between the two regions. The Black Sea region experienced the most pronounced structural changes, including substantial increases in cage size and farm production capacity. These changes appear to be closely associated with the rapid expansion of Turkish salmon production, which has emerged as one of the fastest-growing aquaculture sectors in Türkiye during the last decade. The production model used in Turkish salmon farming, involving the transfer of rainbow trout from freshwater hatcheries to marine cages for grow-out, requires large cage volumes and high production capacities, which likely contributed to the structural expansion observed in this region.

In contrast, although the Aegean region also showed increases in production capacity and cage dimensions, the overall magnitude of change was more moderate. This difference may be

related to the presence of a long-established marine aquaculture industry in the region, primarily focused on European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) production. In addition, spatial limitations and regulatory licensing frameworks may restrict large-scale expansion of production capacity in the Aegean region, resulting in a more gradual technological development of cage farming systems.

Another important finding of the study is the gradual movement of marine cage farms toward offshore locations. The increase in the distance of cage systems from the coastline observed between 2010 and 2025 suggests that aquaculture production is progressively shifting toward deeper and more exposed marine environments. However, this spatial shift is not solely associated with the technological expansion of cage systems or increasing production capacity. Regulatory changes introduced in national aquaculture policies and coastal management regulations have also played a significant role in this process. In particular, revisions to aquaculture legislation required the relocation of many cage farms previously located in semi-enclosed bays and sheltered coastal areas to more open marine environments. As a result, the offshore expansion of marine cage aquaculture in Türkiye reflects both technological development and regulatory restructuring of coastal aquaculture zones.

Overall, the findings presented in this chapter demonstrate that marine cage aquaculture in Türkiye is undergoing a significant structural transition characterized by larger cage systems, increased production capacity, and a gradual expansion toward offshore farming areas. These developments highlight the dynamic nature of the sector and underline the importance of adaptive management strategies that consider both technological development and spatial planning in the sustainable growth of marine aquaculture.

REFERENCES

- Aydın, İ., Öztürk, R. Ç., Eroldoğan, O. T., Arslan, M., Terzi, Y., Yılmaz, S., & Sevgili, H. (2025). An in-depth analysis of the finfish aquaculture in Türkiye: Current status, challenges, and future prospects. *Reviews in Aquaculture*, 17(2), e70010.
- Bat, L., Arıcı, E., & Özsandıkçı, U. (2024). The position and importance of Sinop in the Black Sea fisheries. *Pakistan Journal of Marine Sciences*, 33(1), 29-50.
- Büyükateş, Y., Ergun, S., & Yigit, M. (2024). Sustainable surge in Turkish salmon culture: Prioritizing environmental responsibility: Sustainable Turkish Salmon Farming. *Aquatic Animal Reports*, 2(2), 20-30. <https://doi.org/10.5281/zenodo.13494124>
- Chen, Z., Snow, M., Lawrence, C. S., Church, A. R., Narum, S. R., Devlin, R. H., & Farrell, A. P. (2015). Selection for upper thermal tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *The Journal of experimental biology*, 218(5), 803-812.
- Comas Morte, J. (2018). *Fouling management in cage aquaculture: New strategies on nets, fish health and economic impact*. PhD Thesis, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.
- Conides, A., Kallias, I., Cotou, E., Georgiou, P., Gialamas, I., & Klaoudatos, D. (2023). Preliminary Results on the Antifouling Potential of Copper Wire and Dyneema® Fiber Combined Twines for Aquaculture Net Cages. *WSEAS Transactions on Environment and Development*, 19, 607-612.
- Dressler, T. L., Han Lee, V., Klose, K., & Eliason, E. J. (2023). Thermal tolerance and vulnerability to warming differ

between populations of wild *Oncorhynchus mykiss* near the species' southern range limit. *Scientific reports*, 13(1), 14538.

- Ertör, I., & Ortega-Cerdà, M. (2019). The expansion of intensive marine aquaculture in Turkey: The next-to-last commodity frontier?. *Journal of Agrarian Change*, 19(2), 337-360.
- FAO. (2024). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue Transformation in action. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- Grigorakis, K., & Rigos, G. (2011). Aquaculture effects on environmental and public welfare—the case of Mediterranean mariculture. *Chemosphere*, 85(6), 899-919. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.015>
- Guillen, J., Natale, F., & Fernández Polanco, J. M. (2015). Estimating the economic performance of the EU aquaculture sector. *Aquaculture International*, 23(6), 1387-1400. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-015-9891-x>
- Koçer, M. A. T., Kanyılmaz, M., & Sevgili, H. (2020). Spatial planning and site selection for marine aquaculture in Turkey. In Çoban, D., Demircan, M.D., Tosun, D.D. (Eds.) 2020. *Marine Aquaculture in Turkey: Advancements and Management*. Turkish Marine Research Foundation (TUDAV) Publication No: 59, İstanbul, Turkey.
- Knudsen, S. (2025). 'Turkish salmon', Norwegian entrepreneurs, and the global salmon value chain. *Marine Policy*, 171, 106470.

- López, B. D. (2011). Aquaculture systems. *Handbook of Ecological Models used in Ecosystem and Environmental Management*, 241-256.
- MacKenzie, A. F., Basque, K., Maltby, E. A., Hodgson, M., Nicholson, A., Wilson, E., & Wyeth, R. C. (2021). Effectiveness of several commercial non-toxic antifouling technologies for aquaculture netting at reducing mussel biofouling. *Aquaculture*, 543, 736968.
- Martinez-Porchas, M., & Martinez-Cordova, L. R. (2012). World aquaculture: environmental impacts and troubleshooting alternatives. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 389623. <https://doi.org/10.1100/2012/389623>
- Melnikov, V. V., Serebrennikov, A. N., Masevich, A. V., & Chudinovskikh, E. S. (2025). The Main Patterns of the Black Sea Ecosystem Long-Term Changes. *Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones of Sea*, 2, 19-35.
- Powell, A. (2021). Optimising handling in salmon aquaculture (2): The effect of mesh type on cryptic lesions and hygiene. UFAW grant application 25-20/21, Report.
- Rocha, C. P., Cabral, H. N., Marques, J. C., & Gonçalves, A. M. (2022). A global overview of aquaculture food production with a focus on the activity's development in transitional systems—The case study of a South European Country (Portugal). *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(3), 417. <https://doi.org/10.3390/jmse10030417>
- Tidwell, J. H., & Allan, G. L. (2001). Fish as food: aquaculture's contribution. *The EMBO Reports*, 2(11), 958-963.
- Tosun, D. D. (2010). *Karadeniz ve Ege Bölgesi'nde faaliyet gösteren bazı levrek (Dicentrarchus labrax L. 1758) üretim tesislerinin yapısal ve ekonomik analizi* (Doctoral

dissertation, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul).

- Tosun, D., Yıldız, M., Dogan, K., & Demircan, M. (2025). Economic and employment implications of fish farming in the Karaburun-Ildır special protection area, Turkish Aegean Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 25(12).
- TurkStat. (2025). Aquaculture production statistics 2010-2024. Turkish Statistical Institute, Ankara. Retrieved from <https://data.tuik.gov.tr>
- Verdegem, M., Buschmann, A. H., Latt, U. W., Dalsgaard, A. J., & Lovatelli, A. (2023). The contribution of aquaculture systems to global aquaculture production. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54(2), 206-250. <https://doi.org/10.1111/jwas.12963>
- Verep, B., & Balta, F. (2023). Türkiye'nin Doğu Karadeniz kıyılarında deniz kafeslerinde balık yetiştiriciliği potansiyeli ve sürdürülebilir çevre. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 8(4), 679-690.
- Yıldırım, Ç. (2023). Measuring network efficiency of the aquaculture value chain in Turkey. *Aquaculture*, 576, 739896.
- Yigit, Ü., Yigit, M., Ergün, S., Kusku, H., Ek, H., & Maita, M. (2024). Analysis of the economic performance of salmon farming in submerged and surface cages in the Black Sea. *Aquaculture International*, 32(1), 101-118. <https://doi.org/10.1007/s10499-023-01155-y>
- Yigit, Ü., Yigit, M., Ergün, S., Sanver, F., & Taylor, N. (2023). Competitive economic trends of steelhead farming in Türkiye and Norway: Economic competition of Steelhead farming. *Marine Reports*, 2(1), 16-25.

Yucel-Gier, G., Arisoy, Y., & Pazi, I. (2010). A spatial analysis of fish farming in the context of ICZM in the Bay of Izmir-Turkey. *Coastal management*, 38(4), 399-411. <https://doi.org/10.1080/08920753.2010.498111>

IN VİTRO YANGI MODELİNDE ESCİN'İN ANTIİNFLAMATUAR VE ANTIAPOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Azime KÜÇÜKGÜL¹

Altuğ KÜÇÜKGÜL²

1. GİRİŞ

Su ürünleri üretimi tüm dünyada ve ülkemizde gittikçe büyüyen bir sektör haline gelmiştir. Bu artışın sürdürülebilmesi için yetiştiricilik ortamlarında su kalitesinin sağlanması, iyi yem ile besleme veya hastalıklarla mücadele gibi çeşitli faktörlerin başarılı bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir (Baba, 2017).

Yetiştiricilik çalışmalarının artmasıyla birlikte balık hastalıklarının önemi de artmıştır. Çünkü su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişimini sınırlayan ve ciddi kayıplara neden olabilen önemli faktörlerden birisi balık hastalıklarıdır. Yetiştiricilik ünitelerinde hastalık faktörlerinin en önemli dezavantajı sağlıklı ürün elde edememektir. Bunun yanında gerek işletme bazında gerekse yerel ve genel üretimde kayıplara yol açması gibi olumsuz etkileri ile ayrıca halk sağlığı, güvenli ve kaliteli su ürünleri sunmayı zorlaştırma, uluslararası standartların dışına çıkma gibi birçok problemleri de beraberinde getirmesi yönüyle üzerinde ciddiyetle durulması gerekli konulardandır. Balıklarda birçok etken hastalık kaynağı olabilirken bakteriden köken alan hastalıklara sıklıkla

¹ Prof. Dr., Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, Aktuluk/Tunceli, ORCID: 0000-0002-0515-6667.

² Prof. Dr., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Serinyol/Hatay, ORCID: 0000-0003-4387-6814.

rastlanmaktadır. Bu hastalıklarda ortaya çıkan reaksiyonlardan biriside inflamasyon (yangı)'dur. Sitokinler yangının başlaması ve devamından sorumlu polipeptidlerdir. LPS ise inflamatuar cevabın potansiyel bir başlatıcısıdır.

Gram negatif karakterli bakterilerin dış duvarının ana yapısal bileşeni olan bakteriyel lipopolisakkarit (LPS), hastalığın virülansından sorumlu en önemli komponentidir ve endotoksindir. Projen olarak da isimlendirilmektedir (Schütz, 1990). LPS; Lipid A, O-antijeni ve hidrofilik çekirdek olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Lipid A bileşeni organizmadan organizmaya değişmekle birlikte bakterilere spesifik patojenik özellikler kazandırmada esastır (Allen ve Imperiali, 2019). Bakteri hücrelerinin bütünlüğünü ve bakterilerin diğer yüzeylerle etkileşimini sağlamaktadır (Li ve ark., 2017). Çoğu bakteriyel LPS molekülü termostabil olup bağışıklık sistemi için güçlü bir proinflamatuar uyarıcı üretmektedir. Farklı gram negatif bakteri cinslerinde farklı LPS tipleri bulunduğundan, LPS gram negatif bakterilerin serotiplendirilmesinde kullanılmaktadır (Maldonado ve ark., 2016). LPS, intrapulmoner sitokinlerde artışla beraber nötrofilik inflamatuar yanıtı neden olur. LPS'in patolojik düzeyde sitokin salınımına yol açtığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Erken evrede LPS uyarımı ile sepsisin "santral" mediyatörleri olarak bilinen TNF α , IL-1 β ve IL-6 salınmaktadır.

Yetiştiricilik sistemlerinde geçmişten bugüne balıkların büyüme ve üremesini geliştirmek, hastalıklardan korumak veya sağaltımını sağlamak adına çeşitli uygulamalar yapılmaktadır. Yapılan uygulamalar arasında yemlere çeşitli katkı maddelerinin eklenmesi, bağışıklık güçlendirici olarak immünostimulan uygulamaları, çeşitli işlemler için anestezi uygulamaları veya tedavi amacıyla antibiyotik, antiparaziter ve antifungal ajanların kullanımı yer almaktadır. Bunlardan özellikle antibiyotik kullanımı bilinçsiz ve sık bir şekilde uygulandığında patojenler

üzerinde direnç gelişimi, balıkta rezidü oluşumu veya doğal ekosisteme zarar verme gibi olumsuz sonuçlar oluşturabilmektedir (Çelikkale ve ark., 1999; Olatoye ve Afisu, 2013).

Bu sentetik ürünlere, kimyasallara, antibiyotiklere karşın son yıllarda balık hastalıklarında da sıklıkla alternatif tedavi olarak bitkisel kaynaklı ürün kompozisyonları (fitoterapi) kullanılmaktadır. Bitkisel ürünlerin tercih edilme nedenleri arasında ucuz olmaları, kolay temin edilebilmeleri, düşük dozlarda etki göstermeleri, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, patojenlere karşı etkili ve çevre dostu olmaları yer almaktadır. Bunun yanında birçok literatür ile bitkilerden elde edilen esansiyel yağ, hidrozol, ekstat vb. kullanımları balık hastalıkları üzerinde de denenmiş içermiş oldukları çeşitli etken maddeler sayesinde olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Gulec ve ark., 2013; Altıntirim ve ark., 2012; Küçükgül ve Küçükgül, 2017).

Araştırmacılar, özellikle doğal kaynaklı bitkilerin yapısındaki ekstraktlar olan esansiyel yağlara odaklanmışlardır. At kestanesi (*Aesculus hippocastanum*) yüzyıllardır varis, hematom ve venöz tıkanıklık, hemoroid dahil olmak üzere belirli durumlarda tedavi amaçlı geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Bombardelli ve ark., 1996; Chauhan ve ark., 2012). Atkestanesinin önemli aktif bileşenlerinden birisi “Escin” olarak bilinmektedir. Ayrıca, birçok çalışmada antiinflamatuvar, antitümör, antiviral, antifungal ve antioksidan etkileri gibi tıbbi özellikleri ortaya koyulmuştur (Sirtori, 2001; Pittler ve Ernst 2006).

Bu çalışmada, RTG-2 (*Rainbow trout* gonad- ATCC, CCL55) hücrelerine farklı konsantrasyonlarla LPS ve Escin farklı konsantrasyonlarda uygulanmış ve viabilite analizleriyle (MTT) bu maddelerin etkin konsantrasyonları tespit edilmiştir. Seçilen bu konsantrasyonların hücrelere uygulanması takiben

deneme gruplarından alınan RNA örneklerinden yangı parametreleri olan IL-1B ve TNF- α ile apoptoz parametrelerinden kaspaz 3 gen ekspresyonları qRT PCR yöntemiyle moleküler düzeyde ortaya konmuştur.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada Rainbow trout gonad (RTG-2, ATCC; CCL-55) hücreleri *in vitro* uygulama için, Lebovitz L-15 besi yeri besi ortamı, lipopolisakkarit (LPS) ise enfeksiyon oluşturmak için olarak kullanıldı. Ticari olarak temin edilen LPS (*Escherichia coli*, serotip O26:B6) (Sigma Aldrich, St, Louis, CO) konsantrasyonun belirlenmesinde doz tespit çalışmaları yapıldı (Pelegrı ve ark., 2003). Buna göre deneysel LPS konsantrasyonu 0, 20 ve 50 μ M/ml olarak belirlendi. Hücre viabilite testleri sonunda ise 20 μ M/ml konsantrasyon sub-lethal doz olarak belirlendi. Yüzyıllardır geleneksel bir ilaç olarak kullanılan at kestanenin (*A. hippocastanum*) aktif bileşeni olan escin ticari olarak temin edilmiştir. Bu çalışmada Escin LPS ile enfeksiyon üzerindeki etkilerini belirlemek için kullanıldı. Bu çalışmada deneysel aşamada Escin 0.1, 0.5, ve 1 μ g/ml konsantrasyonlarda değerlendirildi. Hücre viabilite test sonuçlarıyla en etkin doz olarak 0.1 μ g/ml konsantrasyon gözlendi

2.2. Yöntem

2.2.1. Hücre Kültürü

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya A.D. hücre kültürü laboratuvarında sıvı azotta muhafaza edilen RTG-2 gökkuşığı alabalığı gonad hücreleri 25 cm^2 'lik hücre kültürü şişelerinde üretildi ve %80-90 flask tabanına yayılım gösterildiğinde tripsinize (%0,025

Tripsin/EDTA) edilerek kaldırıldı ve pasajlandı. Bu flasklara, %10 FCS ve antibiyotiklerle (100 U mL 1 penisilin G ve 100 lg mL 1 streptomisin) eklenmiş Lebovitz L-15 besi ortamına hücreler 4×10^5 /ml olacak şekilde ekildi. Hücreler, %95 havada %5 CO₂ içeren 25°C'lik bir inkübatörde 4-5 jenerasyona kadar üretildikten sonra denemeler başlatıldı.

2.2.2 Hücre Canlılık Analizi

MTT testi, hücrelerin normal metabolik durumunun hassas ve klasik bir ölçümü olan hücre canlılığını test etmek için kullanıldı. Kısaca, hücreler 24 kuyulu hücre kültürü pleytlerine ekildi. Hücreler yapıştıktan sonra (24 saat) gruplara ayrılarak hücreler farklı konsantrasyonlarda Escin (0, 0.1, 0.5 ve 1 µg/ml) ve LPS (0, 25 ve 50 µM) içeren L-15 besi ortamıyla 24 saat muamele edildi. Süre sonunda MTT boyasının formazan tuzuna (suda çözünmeyen) dönüşmesine izin vermek için 4 saat boyunca bir CO₂ inkübatöründe 100 µL 5 mg/mL MTT çözeltisi (komple lebovitz ortamında) ile inkübe edildi. Daha sonra süpernatantlar alınarak sadece canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan tuzlarını çözmek için kuyulara 100 µL 0.04 M HCL/isopropanol ile 15 dk süreyle 37 °C'de eklendi. Süre sonunda kuyucuklardan alınan örnekler 570 nm dalga boyundaki absorbansları, bir mikro plaka okuyucusu (µQuant-Biotek EU) kullanılarak ölçüldü.

2.2.3. RNA izolasyonu ve qRT-PCR

Hedef genlerin ekspresyon analizleri qRT-PCR yöntemiyle gerçekleştirildi. Öncelikle Ribonükleik asit (RNA) eldesi temin edilen NükleoGene QuickEx Total RNA Ekstraksiyon kitiyle (GeneAll-SK) sağlandı. Elde edilen ribonükleik asitlerin saflık dereceleri laboratuvarımızda bulunan spektrofotometre yardımıyla (Shimadzu-UV mini 1240) 260 nm ve 280 nm absorbans değerleri oranlamalarıyla tespit edildi (1.7'den büyük olan örnekler çalışmada kullanılmak için

seçildi). Bu yöntemde RTG-2 hücrelerinin escin ve LPS ile 25 cm²'lik flasklarda 24 saat süreli inkübasyondan sonra buz soğukluğunda 1 ml PBS eklendikten sonra bir scraper yardımıyla kazındı. Sonrasında ependorflara toplana toplanan ve mililitresinde 1 milyon hücre bulunan hücrelere ekstraksiyon kitinin prosedürü uygulanarak RNA'lar izole edildi. Uygulama sonunda RNA partikülü bulunan tüplere 1'er ml "DEPC'li su" eklenerek sulandırılma işlemi gerçekleştirildi.

Bu işlemlerden sonra qRT- PCR metodu ile hedef genlerin ekspresyon seviyelerinin araştırılması aşamasına geçildi. Bu metodda HOT FIREPol® SolisGreen® qPCR Mix 2.0 ticari kiti kullanılarak interlökin 1 beta (IL-1 β), timör nekrozis faktör- alfa (TNF- α) ve kaspaz 3 (Cas-3) gen ekspresyonları bir thermal syklır (Bio RAD CFX96) ile gerçekleştirildi. Her bir reaksiyon tüpünde toplamda 20 μ l olacak şekilde (4 μ l HOT FIREPol® SolisGreen® qPCR Mix 2.0 (5X), 0,5 μ l Reverse primer, 0,5 μ l Forward primer, 100 ng RNA konsantrasyonuna denk gelen cDNA ve 20 μ l'ye tamamlayan DEPC su) reaksiyon karışımları oluşturuldu.

Araştırmada kullanılan primer dizgeleri aşağıda çizelge halinde verilmiştir (Çizelge 2.). Uygulamada enzim aktivasyonu için 95°C'de 10 dakika ve 1 olarak gerçekleştirildi. Devamında reaksiyonlar: "denatürasyon" aşaması için ise 95 °C'de 10 saniye, "annealing" aşaması için 60 °C'de 20 saniye ve "ekstension" aşaması için ise 72 °C'de 20 saniye olacak şekilde gerçekleştirildi. Bu reaksiyonlar 40 siklus tekrarlı olarak tamamlandı.

Çizelge 2.1. Genlere ait primer dizgeler

Gen	Reserve	Forward
IL-1β (Sentege n, TR)	5'-TTG AGC AGG TCC TTG TCC TTG- 3'	5' -ACA TTG CCA ACC TCA TCG- 3'
TNF-α (Sentege n, TR)	5' -TGA GGC CTT TCT CTC AGC GAC AGC - 3'	5' -TGG AGG GGT ATG CGA TGA CAC CTG - 3'
Cas-3 (Sentege n, TR)	5' CCGACTCCAACCTCCAACAC TA 3'	5' TTGCTGGAGAGTGCTGTGGAAG AA 3'
β-Act (Sentege n, TR)	5'-CAG CGG AAC CGC TCA TTG CCA ATG G-3'	5'-TCA CCC ACA CTG TGC CCA TCT ACG A -3'

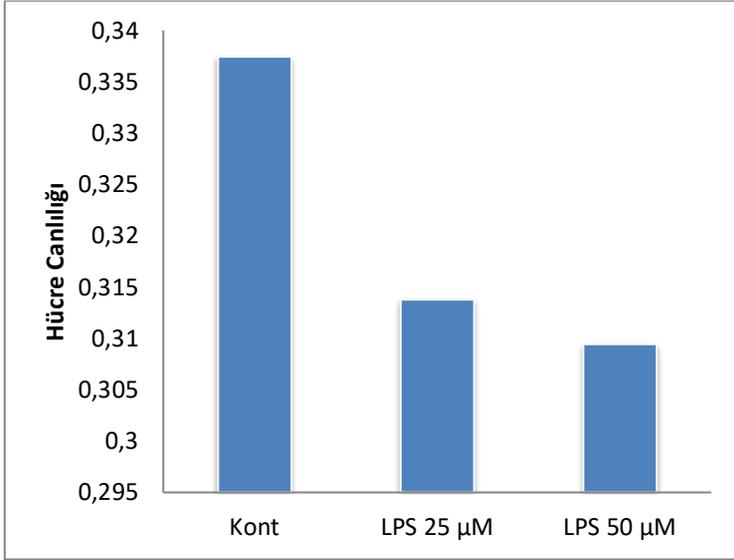
2.2.4. İstatistiksel Analizler

Deneme çoklu verileri, SPSS 21.0 programı, Deskriptif, One-way ANOVA analizi yöntemi ile ortaya konuldu. Gruplar arası istatistiksel farkların önem dereceleri Duncan testiyle tespit edildi. $P \leq 0.05$ ve altındaki veriler istatistiksel önemli sayıldı. Veriler ise Ortalama \pm Standart Hata (S.E) olarak adlandırıldı.

3. BULGULAR

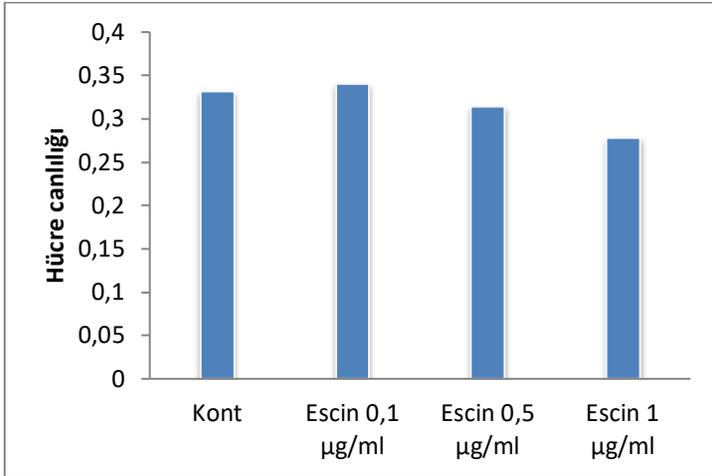
3.1. Hücre Canlılık Testleri

Gökkuşluğu alabalığına ait gonad hücre hattı olan **RTG-2** hücreleri, farklı konsantrasyonlarda LPS ve escin ile hem ayrı ayrı hem de kombine şekilde 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. LPS uygulaması sonrasında belirlenen hücre canlılık düzeylerine ilişkin analiz sonuçları, üç bağımsız tekrarın ortalama değerleri alınarak ve yüzdelik standart hata (\pm SH) hesaplanarak grafiksel olarak sunulmuştur.



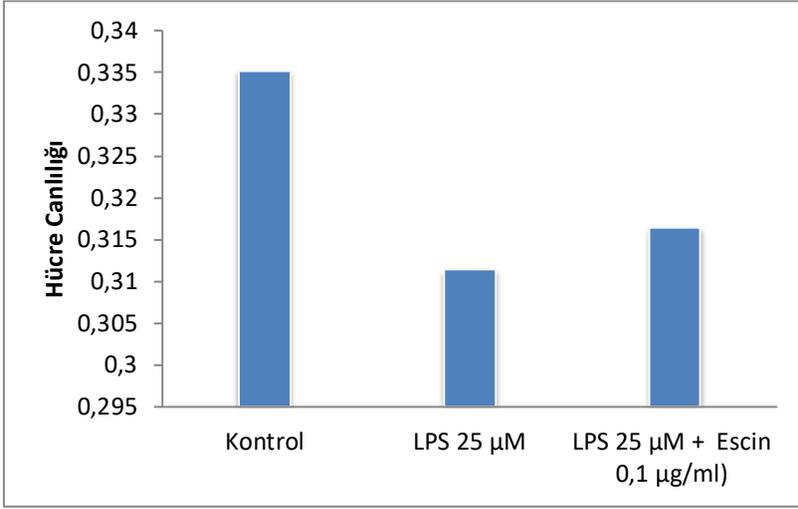
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki LPS'in hücre canlılığı üzerine etkileri

Şekilde görüldüğü üzere, RTG-2 hücrelerine LPS'in 24 saat 25 µM ve 50 µM konsantrasyonlarda uygulanması sonrasında hücre canlılığının sırasıyla %7 ve %8,5 oranında azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki Escinin hücre canlılığı üzerine etkileri

Şekil 3.2'ye göre, RTG-2 hücrelerine 24 saat süreyle 0,1; 0,5 ve 1 µg/ml konsantrasyonlarda escin uygulanmış ve ardından hücre canlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, kontrol grubundaki hücre canlılığı ile karşılaştırıldığında 0,1 µg/ml konsantrasyonun hücre canlılığını %2,7 oranında artırdığını; 0,5 ve 1 µg/ml konsantrasyonların ise hücre canlılığını sırasıyla %5 ve %16 oranında azalttığını göstermiştir.



Şekil 3.3. LPS ve Escinin birlikte kullanımının hücre canlılığı üzerine etkileri

Gökkuşığı alabalığına ait gonad hücrelerine 24 saat süreyle LPS hem tek başına hem de escin ile uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında LPS uygulamasının hücre canlılığını %7 oranında azalttığı; escin ile kombine uygulamada ise bu azalmanın %1,6 oranında geri çevrildiği belirlenmiştir.

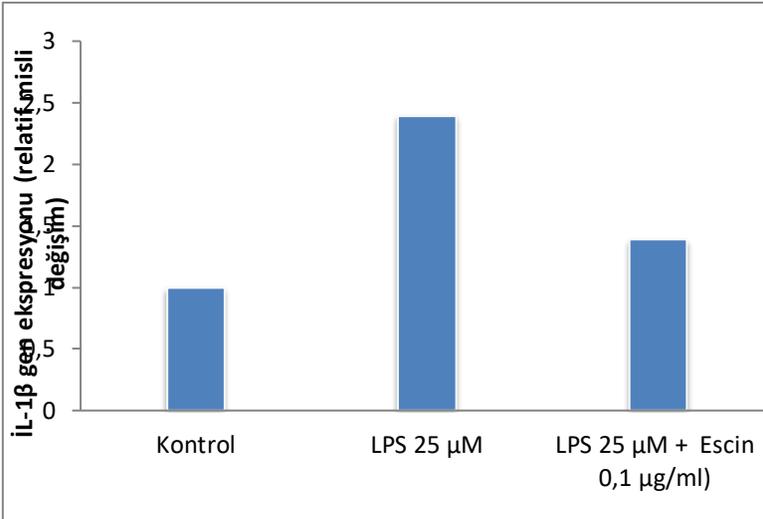
3.2. Gen Ekspresyon Analizleri

Hücrelere 24 saat LPS ve escin uygulaması gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, deneme gruplarından toplam RNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

Ardından, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) yöntemi kullanılarak IL-1 β , TNF- α ve Caspase-3 (Cas-3) genlerinin ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir. Gen ekspresyon düzeyleri uygun referans gen(ler) kullanılarak normalize edilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1. IL-1 β gen ekspresyonu

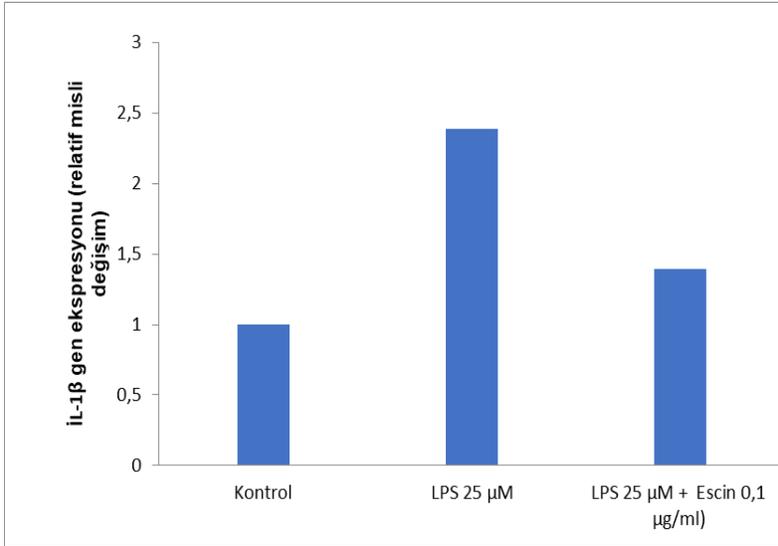
RTG-2 hücrelerine 24 saat süreyle LPS hem tek başına hem de escin ile kombine olarak uygulanmıştır. Elde edilen gen ekspresyon verileri kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, LPS uygulaması IL-1 β gen ekspresyonunu kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 3 kat artırmıştır. LPS ve escinin birlikte uygulandığı grupta ise IL-1 β ekspresyon düzeyinin azaldığı ve bu azalmanın 1,39 relatif kat değişim (fold change) düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, escinin LPS ile indüklenen IL-1 β ekspresyon artışını kısmen baskıladığını göstermektedir.



Şekil 3.4. IL-1 β ekspresyon düzeyi

3.2.2. TNF- α Gen Ekspresyonu

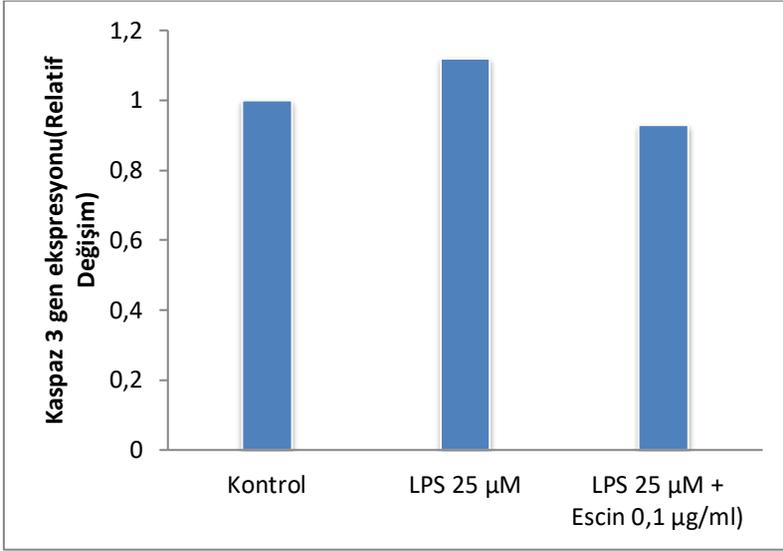
RTG-2 hücrelerine 24 saat LPS tek başına ve escin ile kombine olarak uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, LPS uygulaması TNF- α gen ekspresyonunu kontrol grubuna kıyasla 1,07 kat artırmıştır. LPS ve escinin birlikte uygulandığı grupta ise TNF- α ekspresyon düzeyinin 0,88 relatif kat değişim değerine gerilediği saptanmıştır. Bu sonuçlar, escinin LPS ile indüklenen TNF- α ekspresyon artışını baskılayıcı yönde etkilediğini ve proinflatuar yanıt üzerinde düzenleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.5. TNF- α gen ekspresyon düzeyi

3.2.3. CAS-3 Gen Ekspresyonu

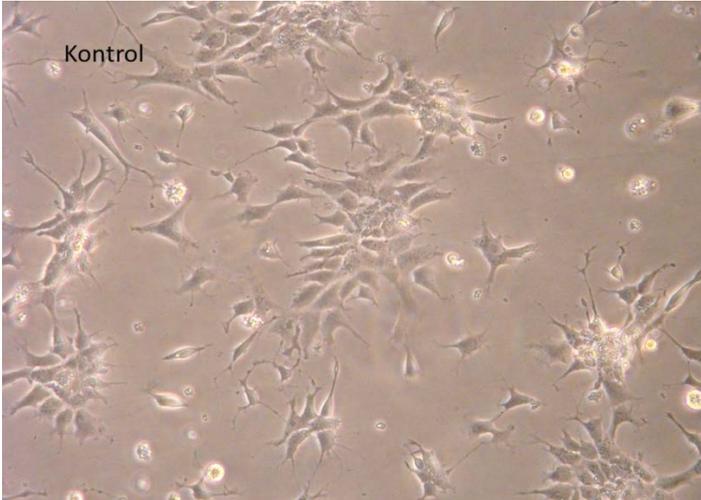
RTG-2 hücrelerine 24 saat LPS tek başına ve escin ile kombine olarak uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, LPS uygulaması CAS-3 gen ekspresyonunu kontrol grubuna kıyasla 1,12 kat artırmıştır. LPS ve escinin birlikte uygulandığı grupta ise CAS-3 ekspresyon düzeyinin 0,93 relatif kat değişim değerine gerilediği tespit edilmiştir.

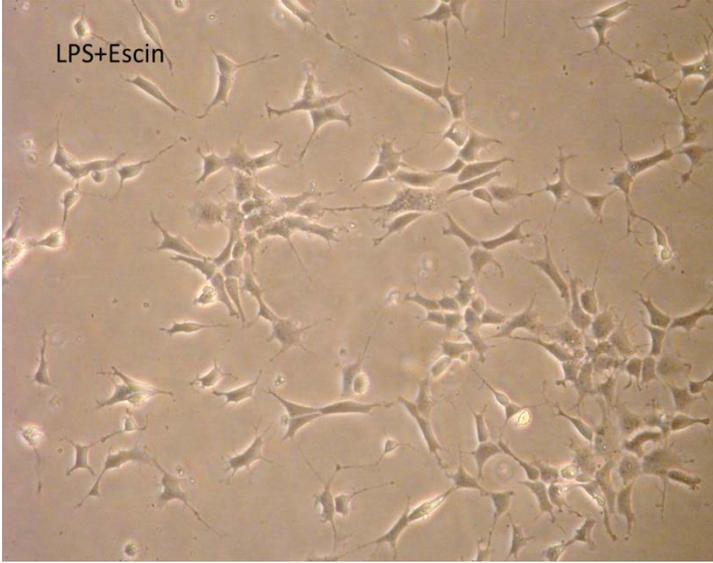
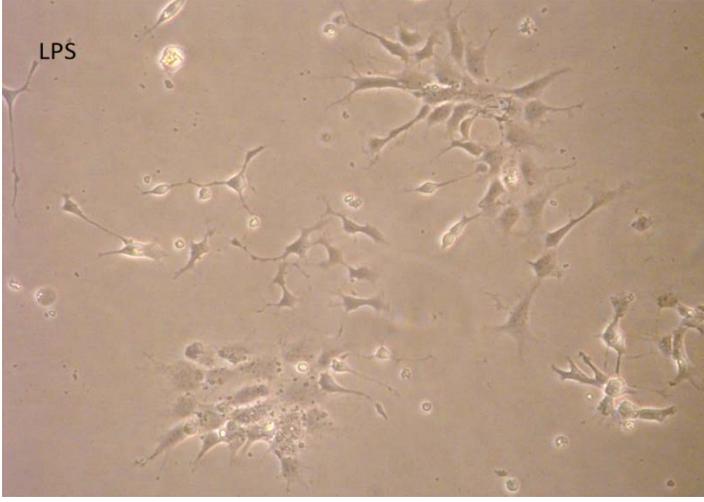


Şekil 3.6. Cas-3 gen ekspresyon düzeyi

3.3. Hücre Görüntüleri

Deneme süreleri sonunda hücrelerin görüntülemeleri invert mikroskopla (Olympus CK40, JP) gerçekleştirildi.





Şekil 3.7. Hücre görüntülemeleri

4. TARTIŞMA

Su ürünleri yetiştiriciliğinde enfeksiyöz hastalıklardan en yaygın olanı bakteriyel hastalıklardır. Hastalıklardan korumak yâda hasta balıkları tedavi etmek için uzun yıllardır

antibiyotiklerden yararlanılmaktadır (Avsever ve ark 2010). Ancak uzun süre antibiyotikli yemlerle beslenen hayvanlarda kalıntı ve kronik toksisite problemleri ortaya çıkmakta, ayrıca bakterilerde direnç gelişimi görülmektedir ki bu durum hem bu canlılar hem de tüketiciler için tehlike oluşturmaktadır (Serrano 2005). Öte yandan, bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımları nedeniyle avantajdan çok dezavantaj oluşturan antibiyotiklere alternatif olarak bilim insanları yeni terapötik arayışına odaklanmışlar ve biyolojik aktif maddelerin ana kaynaklarından olan bitkiler üzerinde birçok çalışmalar yapmışlardır.

Geleneksel tıpta ve çeşitli ticari preparatlarda uzun yıllardır kullanılan at kestanesi araştırmacılar tarafından sıklıkla değerlendirilmiştir. Özellikle at kestanesi tentürünün hemoroit (basur) üzerindeki olumlu etkisi, pek çok kişinin dikkatini çekmiştir. Daha sonraları ise at kestanesi bitkisinin ekstraktının en yüksek aktif oksijen gazı çıkarabilme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiş ve güçlü bir hücre koruyucu etkisi sergilediği bildirilmiştir (Sirtori, 2001). Bugün kontrollü tıbbi koşullar altında, at kestanesinin ekstraktları damar yolu ile enjekte edilerek; venöz stazı (organizmada oluşan bir sıvının durması), varisli damarlar ve trombositler için kullanılmaktadır. At kestanesinin diğer farmakolojik etkileri ise yapraklarının kaynatılması ile boğmaca hastalığının tedavisinde, ateş düşürücü ve farelerde hipoglisemik olarak kullanıldığı raporlanmıştır. Yapılan denemeler göstermiştir ki at kestanesinin bu etkilerini sağlayan etkin maddesi Escin olarak bilinmektedir. Escin, yüzyıllardır geleneksel bir ilaç (hemoroid, varisli damarlar, hematoma ve venöz konjesyon gibi rahatsızlıklarda) olarak kullanılmaktadır (Bombardelli ve ark., 1996). Escinin çeşitli preparatlarda anti-ödem, anti-inflamatuvar ve venotonik özellikler gösterdiği bildirilmektedir (Sirtori, 2001).

Balıklarda infeksiyöz bakteriyel enfeksiyonlar, balık sağlığı üzerindeki büyük etkileri nedeniyle araştırmacıların

dikkatini ve ilgisini uzun yıllardır çekmektedir. Öyle ki bu hastalıklara bağlı mortaliteler ve beraberinde getirdiği ekonomik kayıplar neredeyse toplam üretimin %10'nunu oluşturmaktadır. Balıklarda hastalıklara neden olan bakteriyel enfeksiyonlar çoğunlukla gram negatif kaynaklıdır (Akaylı ve ark., 2011; Küçükgül ve ark., 2019; Selveraj ve ark., 2002). Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonların patogeneğinde kilit bir rol oynayan LPS gram-negatif bakterilerde dış zarın merkezi bir bileşenidir (Whitfield ve Trent, 2014). Ana virülans faktörü olarak kabul edilen endotoksinler de denilen bakteriyel lipopolisakaritler (LPS), insanlarda ve hayvanlarda hastalıkların lethal etkilerinden ve klinik belirtilerinden sorumludur (Morrison ve ark., 1985; Brandtzaeg ve ark., 2001). Yüksek omurgalı hayvanlar çok düşük dozlarda dahi endotoksine hassasken, balık gibi daha düşük omurgalıları endotoksik şoka sıklıkla dirençlidir. Buna rağmen LPS, sitokinleri, akut faz proteinlerini eksprese etme gücüne sahiptir ve ayrıca çeşitli balık türlerinde immünolojik, patolojik, fizyolojik, immüno-endokrinolojik ve nöro-immünolojik etkiler gösterir (Pepels ve ark., 2004). Enfeksiyon boyunca, bakteri LPS'si; inflamatuvar hücreler tarafından konağın mikroorganizmalarla mücadelesinde vazgeçilmez rol oynayan sitokinlerin salınımına maruz kalır. Ancak aşırı sitokin üretimi (TNF- α , IL-1 β ve IL-6 vb.) hücrelerde hasara ve inflamatuvar hastalıklara yol açar (Jin ve ark., 2011). Bakteriyel enfeksiyonu takiben sitokin uyarımı boyunca IL-6; proinflamatuvar sitokinlerden ise TNF- α ve IL- β salınımı izlenmektedir ki bu salınım balıklarda antibakteriyel, antiparazitik ve antiviral immünitede anahtar rol oynamaktadır (Nam ve ark., 2007; Mladineo ve Block, 2010; Verriera ve ark., 2011). Yapılan bir araştırmada, Sun ve ark. (2009) *P. aeruginosa*' dan 1.000 ng/mL LPS'nin tam kanda TNF-a, IL-1, IL-6, IL-8 ve IL-10'un belirgin salgılanmasına yol açtığını göstermişlerdir. Çalışmamızda, gökkuşuğu alabalığı gonad hücreleri (RTG-2) üzerine 24 saat farklı konsantrasyonlarda LPS

uygulandı. Hücre canlılıkları incelendi. Deneysel inflamasyon oluşturmak için en etkin doz LPS 20 µM/ml olarak belirlendi. Sonrasında gonad hücreleri üzerinde gen ekspresyon sonuçları (IL-1β, TNF-α ve CAS-3) değerlendirildi. Elde edilen verilere göre tüm pro-enflamatuar gen ekspresyon düzeylerinin LPS uyarımı ile up regüle edildiği izlendi. Costa ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada ise IL-6 ekspresyon sonuçlarımızı yansıtan bulgu ile benzerdir. Pro-enflamatuar gen ekspresyon seviyelerindeki up veya down regülasyon düzeyleri LPS konsantrasyon farkları, uygulama süresi, kullanılan hücre hattı farklılığı gibi birçok faktör ile etkilenmekte ve çalışmalar arasındaki farklılıkların bunlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

İnsan ve hayvanların bakteriyel enfeksiyonlarını tedavi etmek için etkinliğe sahip fitoterapötikler yüzyıllar boyunca kullanılmaktadır (Silva ve Fernandes-Junior, 2010). Son zamanlarda su ürünleri yetiştiriciliğinde majör patojenlere karşı verilen savaşlarda in vitro birçok test uygulanmış ve çözüm arayışına gidilmiştir (Ostrand ve ark., 2012; Albert ve Ransangan, 2013; Xue-Gang ve ark. 2013). Ayrıca, bazı in vivo testler, çeşitli balık hastalıklarının tedavisi ve geri kazanılması ile ilgili olumlu etkiler göstermiştir (Abd El-Galil ve Aboelhadid, 2012; Schelkle ve ark., 2013). Aynı anda birkaç hedefi etkileyen etki tarzları nedeniyle bakteriyel direnç gelişimine daha az eğilimli olmaları sebebiyle su ürünlerinde kullanılan mevcut antimikrobiyallerin, bitkisel ürünlerle değiştirilmesi önem arz etmektedir (Bakkali ve ark., 2008; Kulkarni ve ark., 2013). Doğal bitki özleri içerdikleri biyoaktif özler ve doğal bileşikler ile antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuar gibi birçok etkinliğe sahiptir. Bu çalışmada *Escin*'in LPS enfeksiyonu sonucu antiinflamatuar etkinliği incelenmiştir. Mueller ve ark. (2010) bitki ekstraktlarının proliferatif veya antiinflamatuar aktivitesini belirlemek için

LPS ile uyarılmış makrofaj hücrelerini kullanmışlardır. 0.5 mg/mL konsantrasyonda kekiğin (*Origanum onites*) IL-6 ekspresyon seviyelerini redüse ettiğini, 0.2 mg/mL kekiğin ise IL-10 ekspresyon seviyelerini arttırdığını raporlamışlardır.

5. SONUÇ

Bakteriyel etkenlerin neden olduğu fırsatçı enfeksiyonlar, kültür balıkçılığında yaygın olup birincil veya ikincil kaynaklı olabilir. Bununla birlikte, bu genellikle konak canlı bağışıklık sisteminin etkinliğinin azalmasına neden olan olumsuz çevresel koşullarına maruz kaldığında ortaya çıkar ve bu durum parazit istilası, zayıf beslenme, stresten kaynaklanıyor olabilir. Sonuç itibarıyla balık üretim çiftliklerinde herhangi bir olumsuzluk karşısında konak savunmasında gösterilen bir seri fizyolojik yanıt dizisi inflamasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Bu durum sitokin gen ekspresyon seviyelerinde erken aşamalarda görülen değişimler kendini göstermekte ve hastalık tanısında değerli bilgiler sunmaktadır.

Konak, insidensi yüksek bir patojene maruz kaldığı zaman, terapötik ilaç kullanımı kaçınılmazdır. Bu ilaçlar dezenfektan, antibiyotik olduğu takdirde; su ve balıkta rezidü, toksisite, bakteriyel direnç gibi birçok olumsuzlukta beraberinde gelmiş olacaktır. Yeni terapötikler arayışında bitkiler, biyolojik olarak aktif materyallerin ana kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir. Bitki özleri, antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkinlikleri nedeniyle balık hastalıklarını kontrol etmede önemli özelliklere sahiptir. Bu nedenle medikal bitki kullanımı balık sağlığı yönetiminde antibiyotiklere alternatif bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada, bakteri endotoksini olarak bilinen LPS ile enfekte edilmiş gökkuşağı alabalık gonad hücreleri (RTG-2) üzerinde doğal antioksidan ve inflamasyon (yangı) giderici

özelliği bulunan Escinin anti-proliferatif ve anti-enflamatuvar etkinlikleri pro-enflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , TNF- α ve CAS-3) gen ekspresyon değişimleri izlenerek çalışılmıştır. Hücre canlılığı analizleriyle LPS'in meydana getirdiği hücre kayıplarının Escinin iyileştirici etkileri tespit edilmiştir.

Son yıllarda, tüm dünyada balık üretim çiftliklerinin teşvikiyle yetiştiricilik teşvik edilmiştir. Üretim zincirinde, kısa bir süre içinde ve daha düşük maliyetle maksimum üretkenlik talebi, ürünün sağlık durumunu doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen bazı engellere yol açmaktadır. Yüksek stoklama yoğunluğu, yetersiz beslenme kalitesi, su ortamının kalitesizliği ve biyolojik güvenlik önlemlerinin eksikliği, yetiştiricilikte, özellikle balık yetiştiriciliğinde görülen başlıca problemler arasındadır, çünkü bu koşullar, konakta patojen yayılmasını ve / veya immünosupresyonunu kolaylaştırmaktadır.

Araştırmacılar, kültür balıkçılığındaki sağlık sorunlarına çözüm bulma konusunda teşvik edici çalışmalarını sürdürmektedir. Balık hastalıklarını kontrol etme ve önleme çözümleri arasında aşı olarak profilaktik ajanların geliştirilmesi ve immünostimülan diyetlerin geliştirilmesi yer alır. Bununla birlikte, patojenlerin neden olduğu ölüm salgınlarını kontrol etmek için, en azından konaktaki patojenlerin insidensini azaltmak amacıyla, üretimin bir aşamasında terapötik bir ürün kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Bu terapötik maddeler son araştırmalarla bitkisel kaynaklardan sağlanmaktadır. Uzun yıllardır halk sağlığı açısından değerli olan birçok bitki özü içerdiği etken maddelerle birçok hastalık durumlarını tolere edebilmekte hatta etkili tedavi yöntemleri olarakta kullanılmaktadır. Bu durum balık yetiştiriciliği ile uğraşanlarında dikkatini çekmiş antibiyotik dezenfektan gibi kimyevi maddelerin yan etkilerini elemine etmek için alternatif bir tedavi olarak değerlendirilmiştir. Ancak bitkisel ürün çeşitlerinin, metodolojilerin ve hedef patojenlerin çeşitliliği göz

önüne alındığında, çalışmalar arasındaki karşılaştırmaların karmaşıklığı göze çarpmaktadır. Bu karmaşıklık benzer koşullara sahip çalışmaların daha fazla teşvik edilmesi ile indirgenebilir. Ayrıca bitkisel kökenli çalışmaların kronik ve akut toksisite, hedef ve hedef olmayan organizmalar üzerine etkileri, çevre üzerine olan etkileri, balık yetiştiriciliğinde antioksidan ve anti-enflamatuvar etkinlikleri gibi daha ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanında çalışmaların *in vitro* ve *in vivo* olarak karşılaştırılmalı yapılması bir diğer önemli konuların başında gelmektedir. Çünkü etkinlik konusundaki çoğu çalışma, *in vitro* testlere dayanmaktadır. Bu nedenle, mevcut tedavilerin değiştirilmesini sağlamak için daha pratik ve ekonomik çalışmalara ihtiyaç vardır ve tedarik zinciri, sanayi ve araştırmacılar arasındaki ortak çalışmalar da çok önemlidir.

Teşekkür

Bu çalışma Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından “MFMUB024-04” No’lu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Galil, M.A., Aboelhadid, S.M., 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. *Veterinary Parasitology*, 185: 57–63.
- Akaylı, T., Çanak, Ö., Başaran, B. (2011): Yavru kültür gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) görülen yeni bir *Pseudomonas* türü: *Pseudomonas plecoglossicida*. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(1): 107-111.
- Allen, K.N., Imperiali B., 2019. Membran arayüzlerinde glikokonjugat biyosentezinde yapısal ve mekanik temalar. *Curr Opin Struct Biol.*, 59 :81-90.
- Albert, V., Ransangan, J., 2013. Antibacterial potential of plant crude extracts against Gram negative fish bacterial pathogens. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biosciences*, 3: 21–27.
- Altınterim, B., Kucukgul Gulec, A, Aksu, O. (2012). Determination of safety dose of *Eucalyptus camaldulensis* hydrosol on carp fish *Cyprinus carpio*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(5): 1219-1222.
- Avsever, M.L., Türk, N., Tunalıgil, S., 2010. The increase of antibiotic resistance in aquaculture and its effects on human health. *Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.*, 32: 19-23.
- Baba, E., 2017. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Bitkisel İmmunostimulant Kullanımı. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3): 249-256.

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446–475.
- Bombardelli E, Morazzoni P, Griffini A. 1996. *Aesculus hippocastanum* L. *Fitoterapia*, 67(6):483–511.
- Brandtzaeg, P., Bjerre, A., Vstebo, R., Brusletto, B., Joo, G.B., Kierulf, P., 2001. Neisseria meningitidis lipopolysaccharides in human pathology. *Journal of Endotoxin Research*, 7: 401-420.
- Chauhan R, Ruby K, Dwivedi J., 2012. Golden herbs used in piles treatment: a concise report. *Int J Drug Dev Res.*, 4(4):50–68.
- Costa, M.M., Maehr, T., Diaz-Rosales, P., Secombes, C.J., Wang, T., 2011. Bioactivity studies of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-6: Effects on macrophage growth and antimicrobial peptide gene expression. *Mol. Immunol.*, 48 (15): 1903-1916.
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E., Okumuş, İ. 1999. Fisheries Sector in Turkey: Potential, Current State, Constraints and Recommendations (in Turkish), İstanbul Ticaret Odası, Yayın No:1999(2): 414, Lebib A.S., İstanbul.
- Gulec A.K., Altınterim, B., Aksu, O. (2013). Determination of lethal concentration LC50 values of *Cinnamomum zeylanicum* hydrosol on carp fish. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1): 34-44.
- Jin, M., Iwamoto, T., Yamada, K., Satsu, H., Totsuka, M., Shimizu, M., 2011. Effects of chondroitin sulfate and its oligosaccharides on toll-like receptor mediated IL-6 secretion by macrophage-like J774.1 cells. *Biosci Biotechnol. Biochem.*, 75(7): 1-7.

- Kulkarni, R.R., Pawar, P.V., Joseph, M.P., Akulwad, A.K., Sen, A., Joshi, S.P., 2013. *Lavandula gibsoni* and *Plectranthus mollis* essential oils: Chemical analysis and insect control activities against *Aedes aegypti*, *Anopheles sfttphensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Pest Science*, 86: 713–718.
- Küçükgül, A., Küçükgül A., 2017. Apoptotic effects of artificial feed supplemented with *Thymus vulgaris* on *Oncorhynchus mykiss* against *Yersinia ruckeri*. *Indian Journal of Geo Marine Sciences* 46(06): 1170-1174.
- Küçükgül, A., Küçükgül, A., Gülşafak, İ., 2019. Bio-functions of carvacrol-supplemented feeds on lipopolysaccharide-induced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(2): 205-214.
- Li Y, Shi Z, Radauer-Preiml I, Andosch A, Casals E, Luetz-Meindl U, Cobaleda M, Lin Z, Jaber-Douraki M, Italiani P, Horejs-Hoeck J, Himly M, Monteiro-Riviere NA, Duschl A, Puentes VF, Boraschi D. 2017. Bacterial endotoxin (lipopolysaccharide) binds to the surface of gold nanoparticles, interferes with biocorona formation and induces human monocyte inflammatory activation. *Nanotoxicology*, 11(9-10):1157-1175.
- Maldonado, R.F., Sá-Correia, I., Valvano, M.A., 2016. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. *FEMS Microbiol Rev.*, 40(4):480-93.
- Mladineo, I., Block, B.A., 2010. Expression of cytokines IL-1 β and TNF- α in tissues and cysts surrounding *Didymocystis wedli* (Digenea, Didymozoidae) in the Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). *Fish and Shellfish Immunology*, 29(3): 487-493.

- Morrison, D.C., Duncan, R.L., Goodman, S.A., 1985. In vivo biological activities of endotoxin. *Progress in Clinical and Biological Research*, 189: 81-99.
- Nam, B., Byon, J., Kim, Y., Park, E., Cho, Y., Cheong, J., 2007. Molecular cloning and characterisation of the flounder (*Paralichthy solivaceus*) interleukin-6 gene. *Fish and Shellfish Immunology*, 23(1): 231-236.
- Olatoye I.O., Afisu B., 2013. Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (*Clarias gariepinus*) in Ibadan, Nigeria. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 5 (3): 302-309, DOI: 10.5829/idosi.wjfm.2013.05.03.71214
- Ostrand, S.L., Glenn, R.A., Gannam, A.L., Hanson, K.C., 2012. Inhibitory effects of rosemary oil on the in vitro growth of six common finfish pathogens. *North American Journal of Aquaculture*, 74: 230–234.
- Pelegri, F. (2003). Maternal factors in zebrafish development. *Dev. Dyn.* 228, 535-554.
- Pepels, P.P.L.M., Van Helvoort, H., Wandelaar Bonga, S.E., Balm, P.H.M., 2004. Corticotropin-releasing hormone in the teleost stress response: Rapid appearance of the peptide in plasma of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Endocrinology*, 180: 425-438.
- Pittler, M.H., Ernst, E., 2006. Horsechestnut seed extract for chronic venous insufficiency. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;25(1):CD 003230.
- Schelkle, B., Snellgrove, D., Cable, J., 2013. In vitro and in vivo efficacy of garlic compounds against *Gyrodactylus turnbulli* infecting the guppy (*Poecilia reticulata*). *Veterinary Parasitology*, 198: 96–101.
- Schütz, M. 1990. *Deutsche Milchwirtschaft*. 50: 1722-1725

- Selvaraj, V., Sampath, K., Sekar, V., 2005. Administration of yeast glucan enhance survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 19: 293-306.
- Serrano, P.H., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture, Publishing management service Information division FAO, Roma, p. 29-33.
- Silva, N.C.C., Fernandes-Junior, A., 2010. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16: 402–413.
- Sirtori, C.R., 2001. Escin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacol Res.*, 44(3):183–193.
- Sipos, W., Reutterer, B., Frank, M., Unger, H., Grassauer, A., Priesch- Grassauer, Doerfler, P., 2013. Escin Inhibits Type I Allergic Dermatitis in a Novel Porcine Model, *International Archives of Allergy and Immunology*, 161: 44–52.
- Sun, L., Guo, R.F., Newstead, M.W., Standiford, T.J., Macariola, D.R., Shanley, T.P., 2009. Effect of IL-10 on neutrophil recruitment and survival after *Pseudomonas aeruginosa* challenge. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 1: 76-84.
- Verriera, E.R., Langevin, C., Benmansour, A., Boudinot, P. 2011., Early antiviral response and virus-induced genes in fish. *Dev. Comp. Immunol.*, 35(12): 1204–1214.
- Whitfield, C., Trent, M.S., 2014. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annu Rev. Biochem.*, 83: 99–128.

Xue-Gang, H., Lei, L., Cheng, C., Kun, H., Xian-Le, Y., Gao-Xue, W., 2013. In vitro screening of Chinese medicinal plants for antifungal activity against *Saprolegnia* sp. and *Achlya klebsiana*. *North American Journal of Aquaculture*, 75: 468–473.

SU ÜRÜNLERİ ALANINDA BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com