

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİRAZ SAPI EKSTRAKTININ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ
(*Onchorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN
PARAMETRELERİ, İMMUN SİSTEM VE ANTIOKSİDAN
ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Osama A. Ambiya AMOUSH

**Danışman
Jüri Üyesi
Jüri Üyesi**

**Prof. Dr. Mahmut ELP
Doç. Dr. Soner BİLEN
Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU – 2017

TEZ ONAYI

Osama A. Ambiya AMOUSH tarafından hazırlanan "**Kiraz Sapı Ekstraktının Gökkuşığı Alabalığının (*Onchorhynchus mykiss*) Büyüme Performansı, Kan Parametreleri, İmmun Sistem ve Antioksidan Enzimleri Üzerine Etkisi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Prof. Dr. Mahmut ELP
Kastamonu Üniversitesi



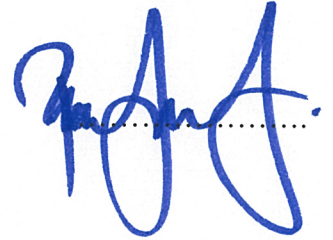
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Soner BİLEN
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



10/07/2017

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Osama A. Ambiya AMOUSH



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KİRAZ SAPI EKSTRAKTININ GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Onchorhynchus mykiss*) BÜYÜME PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, İMMUN SİSTEM VE ANTIOKSİDAN ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Osama A. Ambiya AMOUSH
Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mahmut ELP

Bu çalışmada, kiraz sapı (*Cerasus avium*) gökkuşağı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) antioksidan etkileri belirlenmiştir. Bu amaçla, bitkilerin dört farklı dozdaki (0 % (Control), % 0,1, %0,5 and % 1)) sulu metanolik özütü yemlere eklenmiştir. Balıklar bu yemlerle altmış gün boyunca beslenmişlerdir. Çalışmanın her 20., 40 ve 60. günlerinde, tüm deneme gruplarından doku örnekleri (karaciğer ve beyaz kas) ve kan örnekleri alınmıştır. Tüm bu örneklerden, antioksidan aktiviteyi belirlemek için, SOD, CAT, GPX, G6PDH ve lipid peroksidasyonu belirlenmiştir. İmmunolojik çalışmalar için NBT aktivitesi ve son olarak hematoloji belirlenmiştir. Çalışma sonunda, ayrıca büyüme performansı da belirlenmiştir. Çalışmada, SOD aktivitesi tüm deneme gruplarında ve örnekleme zamanlarında kontrol grubuna kıyasla artmıştır. CAT çalışmanın 40. Günü %0,5 KS grubunu hariç deneme grupları ile kontrol grubu arasında değişiklik göstermemiştir ($P>0,05$). GPX aktivitesi 20. günde %0,5 KS grubunda bir artış göstermiştir. Çalışma sonunda tüm grupların GPX aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla bir artış söz konusudur. G6PDH kayda değer şekilde etkilenmiştir. Lipid peroksidasyonu tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla önemli bir farklılık göstermemiştir. Büyüme performansında da kayda değer bir farklılık oluşmamıştır. Çalışma sonuçlarına göre kiraz sapının 40 günlük uygulamam ile bir antioksidan karakter gösterdiği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, tıbbi bitki, antioksidan aktivite, *Cerasus avium*.

2017, 45 sayfa

Bilim Kodu: 1205

ABSTRACT

MSc. Thesis

EFFECTS OF CHERRIES STEM (*Cerasus avium*) EXTRACT ON GROWTH PERFROMANCE, BLOOD PARAMETERS, IMMUNE SYSTEM AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF RAINBOW TROUT (*Onchorhynchus mykiss*)

Osama A. Ambiya AMOUSH
Kastamonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut ELP

In this study, antioxidant effects of cherry (*Cerasus avium*) stem in rainbow trout were investigated. With this aim, four different concentration of aqueous methanolic extract of plant (0 % (Control), % 0.1, %0.5 and % 1) were prepared and added to the feed. Fish were fed with the diet for sixty days. The tissue samples (liver and white muscle) and blood samples were taken from each experimental groups at every 20th, 40th and 60th day of the study. From all samples, to determine antioxidant activity, SOD, CAT, GPX, G6PDH and lipid peroxidation were investigated. For immunological studies NBT activity and finally hematology were investigated. At the end of the study, growth performance was also determined. In the study, SOD activity was increased in almost all experimental group in each experimental time compared to control. CAT showed no activity compared to control ($P>0.05$) except 40th day of the study in % 0.5 KS group ($P<0.05$). GPX activity showed an increase on 20th day of the study in the % 0.5 KS group compared to control. There was an increasing activity in all experimental group's GPX activity at the end of the study compared to control ($P<0.05$). G6PDH was decreased in 20th and 40th day of the study in % 0.5 KS group compared to control. In all the other sampling time and groups, G6PDH was not significantly affected compared to control. Lipid peroxidation was showed no differences in all experimental groups compared to control. No significant differences were either determined among groups in terms of growth performance. According to the study results, it can be inferred that cherry stem showed an antioxidant character on 40th day of the study.

Key Words: Rainbow trout, medicinal plant, antioxidane activity *Carasus avium*.

2017, 45 pages

Science Code: 1205

TEŞEKKÜR

Tez alıőması boyunca yardımlarını esirgemeyen danıőmanım Prof. Dr. Mahmut ELP'e, saha ve laboratuvar alıőmalarındaki katkılarından dolayı Do. Dr. Soner BİLEN ve Yrd. Do. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ'e ve son olarak da bu süreçte manevi desteğini hiç eksik etmeyen sevgili aileme teőekkürü borç bilirim.

Osama A. Ambiya AMOUSH
Kastamonu, Temmuz, 2017



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ.....	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Balıklarda Antioksidan Sistem.....	2
1.2. Reaktif Oksijen Türleri.....	3
1.2.1. Süperoksit Radikali	3
1.2.2. Hidroksil Radikali	4
1.2.3. Hidrojen Peroksit.....	4
1.3. Kiraz (<i>Cerasus avium</i>)	5
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	6
3. YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Balık Materyali	11
3.1.2. Deneme Yeri.....	11
3.1.3. Kiraz Bitkisi	11
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması.....	12
3.2.2. Antioksidan Enzim Aktiviteleri	12
3.2.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	12
3.2.2.2. Katalaz (CAT) Aktivitesi	13
3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi	13
3.2.2.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi	14
3.2.2.5. Lipit Peroksidasyonu	14
3.2.3. İmmunolojik Analizler.....	15
3.2.3.1. NBT Aktivitesi	15

3.2.4. Hematolojik Analizler	15
3.2.4.1. Eritrosit Sayımı	15
3.2.4.2. Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi	15
3.2.4.3. Hemoglobin Miktarının Tayini	15
3.2.4.4. Eritrosit İndeksleri	16
3.2.4.4.1 Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)	16
3.2.4.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH).....	16
3.2.4.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)	16
3.2.5. Deneyin Kurgulanması	16
3.2.6. Balıklardaki Büyüme Performansının Hesaplanması	17
3.2.7. İstatistiksel Analizler	18
4. BULGULAR	19
4.1. Antioksidan Enzim Sisteminde Meydan Gelen Değişimler	19
4.1.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)	19
4.1.2. Katalaz Aktivitesi (CAT)	21
4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX)	23
4.1.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi	26
4.1.5. Lipit Peroksidasyonu	28
4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler	30
4.2.1. NBT Aktivitesi	30
4.3. Hematolojik Analizler	32
4.4. Büyüme Performansı	34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

C	Santigrat
CAT	Katalaz
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetat
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
Gr +	Gram Pozitif
G6PDH	Glukoz 6-Fostat Dehidrogenaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
kg	Kilogram
l	Litre
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
POD	Peroksidaz
·OH	Hidroksil
O ₂	Oksijen
OH ⁻	Hidroksit
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durum
TOS	Toplam Oksidan Durum
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
U	Unite
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
°	Derece
%	Yüzde

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 4.1. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml)... ..	19
Grafik 4.2. Günlere göre Relatif SOD aktivitesi.....	20
Grafik 4.3. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmo/min/ml).	21
Grafik 4.4. Günlere göre Relatif CAT aktivitesi.....	22
Grafik 4.5. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokularında GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmo/min/ml)..	24
Grafik 4.6. Günlere göre Relatif GPX aktivitesi.....	25
Grafik 4.7. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşığı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).	26
Grafik 4.8. Günlere göre Relatif G6PDH aktivitesi.....	28
Grafik 4.9. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen Gökkuşığı alabalıklarının beyaz kas dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml).	29
Grafik 4.10. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu.....	30

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Kiraz sapı sulu metanolik özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşacağı alabalıklarının NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).....	29
Tablo 4.2. Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 20. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.....	32
Tablo 4.3. Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 40. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.....	33
Tablo 4.4. Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 60. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.....	33
Tablo 4.5.. Kiraz sapı sulu metanolik özütü ile altmış gün boyunca beslenen gökkuşacağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler.....	34

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu her geçen yıl artmaya devam etmekte buna paralel olarak insan ihtiyaçları da artmaktadır. Dünya genelinde 2030 yılında Yemek ve Tarım Organizasyonu (FAO) verilerine göre hayvansal protein tüketiminin 40 kg'a ulaşacağı tahmin edilmektedir (FAO 2017). Dünya genelinde ise su ürünleri tüketiminde 2014 yılında 14 kg kişi başı tüketim ile rekor seviyelere ulaşılmıştır. Bu bağlamda özellikle 2050'li yıllardan sonra insanların hayvansal protein ihtiyaçlarının % 60 yakınının su ürünlerinden temin edilecek olması su ürünleri üretimi üzerine dikkat çekmektedir. Denizde avcılık yolu ile elde edilen su ürünleri üretiminin kısıtlı olması kültür koşulları altında üretime daha büyük önem verileceğini göstermektedir.

Su ürünlerinin kültür ile üretilmesi akvakültür olarak tanımlanabilir. Artan taleplerin karşılanmasında akvakültüre çok büyük görev düşmektedir. Son yıllarda teknolojinin ilerlemesi, buna paralel olarak teknolojinin akvakültürde kullanılması verim artışına neden olmuştur (Bilen, Bilen ve Önal 2015). Bununla birlikte üretimi yapılan türler üzerindeki stres ve yaşamsal fonksiyonların ve aynı zamanda hayvan refahının azalması, çevresel baskıların oluşması üretimi kısıtlayıcı olarak göze çarpmaktadır.

Balık üretiminde farklı dönemlerde meydana gelen ani su sıcaklığı değişimi, balıkların nakil ve aşılama veya çevresel etkilerden meydana gelen stres üretim ayağının önemli sorunu oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak balık sağlığı olumsuz etkilenmekte kayıplar meydana gelmektedir. Balık sağlığını korumada bağışıklık uyarıcılar bir alternatif olarak sunulabilmektedir (Bilen, Altunoğlu, Ulu ve Biswas, 2016). Tıbbi bitkilerin bu alanlardaki kullanımları geniş çalışma alanı bulmakta aynı zamanda antioksidan etkileri üzerine de dikkatleri çekmektedir (Sönmez vd., 2015).

Canlı vücudunda hayatın devam ettirilmesi O_2 ile mümkündür. Bununla birlikte en kritik nokta oksidatif paradokstur. Bu durum O_2 'nin doğal moleküler yapısından kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda (Martinez-Alvarez, Morales ve Sanz 2005). Oksidatif paradoks canlının yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirmesi açısından son derece önemli olduğu gibi, ayrıca bağışıklık sisteminin de olumlu çalışması için son derece elzemdir. Oksijen radikallerinin normalden fazla serbest bırakılması patojenik

organizmaların yok edilmesinde önemli rol oynadığı gibi hücrenin kendisine zarar vermesine hatta ilerleyen uygulamalarda kansere dahi sebep olması gibi etkileri neden olabilmektedir. Dolayısıyla oksidatif paradoksun canlı organizmanın lehine olacak şekilde dengede tutulması son derece önemlidir.

Bu bağlamda doğada doğal olarak bol bulunan, enzim olmayan antioksidan özelliğe sahip olan ürünlerden kiraz (*Cerasus avium*) bitkisinin sap kısmının sulu metanolik özütünün gökkuşuğu alabalıklarının (*Onchorhynchus mykiss*) antioksidan sisteminde, bağışıklık yanıtlarında, hematoloji ve büyüme performansı üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmadaki temel amaç, balık üretiminde kullanılabilir, temini ve işlenmesi kolay ve aynı zamanda antioksidan özellik gösteren yeni ürünlerin ortaya çıkarılması ve su ürünleri sektörü içerisinde kullanılmasının sağlanmasıdır.

1.1. Balıklarda Antioksidan Sistem

Yaşamsal döngü içerisindeki oksijen paradoksu yada oksijenli yaşam paradoksu olarak adlandırılan (Davies, 2000) ve temel olarak tüm canlıların metabolik işlemlerinin gerçekleşmesinde hayati önem taşıyan bununla birlikte moleküler yapısı ile oksijenin son derece toksik olması (Ahmad, 1995) canlı türlerin tümü için hayatsal önem taşımaktadır. Bilindiği üzere temelde oksijen (O₂), anerobik canlılar hariç tüm canlı hayatı için hayati önem taşımaktadır.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması oksidatif strese neden olmaktadır (Sies, 1986). Buna bağlı olarak hücre çeperlerinde membranların doymamış yağ asitlerinin okside olması ve hücrenin geçirgenliğini bozularak işlevselliğini yitirilmesi, proteinleri oksidasyonları ve hatta DNA ve steroid içeriklerin bozulması kaçınılmazdır. Bu gibi sorunların giderilmesin tüm canlılar oksijen radikallerine karşı kendilerini koruyacak sistemlere sahip olmuşlardır. Özellikle vücutta antioksidan sistem içerisinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT ve glutatyon enzimlerine bağlı (glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR)) bir savunma mekanizması söz konusudur. Bu enzimler oksidatif radikallerin yıkımında görev alırlar. Bu enzimlere ek olarak bazı enzim olmayan küçük moleküller de, örneğin,

E,K ve C vitaminleri, alfa karoten, beta karoten, flavonoidler, izoflavonlar, karotenoidler, kateşin, kriptoksantin, kuversetin, likopen, lutein, resveratrol ve antosiyaninler bitkilerden temin edilerek antioksidatif işlemlerde görev alabilmektedirler.

Filogenetik açıdan balıklarda bulunan CAT, SOD ve GPX gibi enzimler kuş, ve memelilerdekine kıyasla daha az aktivite göstermektedir (Rocha-e-Silva vd., 2004). Fakat glutatyonun, ki kan içerisinde antioksidan özellik göstermektedir, diğer çalırlara nazaran çok daha yüksek seviyede olduğu bilinmektedir (Dafre ve Reischl, 1990; Hardig ve Höglund, 1983).

1.2. Reaktif Oksijen Türleri

Moleküller, atomların orbitallerinde yer alan elektronların çiftler halinde bulunması ve bunların birbiri çekim güçleri ile bağlanması sonucu oluşmaktadır. Serbest radikal ise bu elektronların tekli olan bölümlerine denilmektedir. Bu bağlamda ROS başka moleküllerle elektron alışverişine giren moleküller olarak adlandırılmaktadır. ROS hem antioksidan sistem içerisinde hem de bağışıklık yanıtta önemli rol oynamaktadır.

ROS genel olarak hücre içerisinde mitokondrinin içerisinde, anabolik ve katabolik işlemlerin bu bölümde gerçekleşmesi nedeniyle daha yoğun şekilde oluşmaktadır. ROS genellikle süperoksit anyonlarından (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (OH) radikallerinden meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

1.2.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali (O_2^-) tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. Bu radikal oksijenin toksik yapısı içerisinde ana etmendir ve süperoksit dismutaz tarafından bu radikale karşı savunma oluşturulmaktadır (McCord ve Fridovich 1969). İndirgenmiş geçiş metallerinin kontrollü oksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebileceği gibi oksihemoglobinin methemoglobine parçalanması da bu radikali oluşturabilmektedir (Buechter 1988).

Protein degradasyonunu ve DNA hasarının süperoksit radikallerine maruz kalan hücrelerde hızlandığı (Imlay ve Linn, 1988) ve ayrıca bu moleküllerin lipitlere zarar verdiği bilinmektedir (Aikens ve Dix 1991).

1.2.2. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), hidroksit iyonunun (OH^-) doğal bir formudur. Hidroksil radikalleri farklı substratlarda farklı şekillerde oluşmakta ve yaşamın tüm alanlarında etkisini göstermektedir. Hidroksil radikallerinin canlı içerisinde oluşumu x veya gama ışınına maruz kalma sonucu oluşmakta ve hidroksil radikali canlı hücreler içerisinde bağışıklık yanıtın bir yan ürünü olarak da ortaya çıkabilmektedir. Özellikle makrofajların bakterilere karşı bu radikali ürettiği bilinmektedir (Reiter vd., 1995). Bununla birlikte yarılanma ömrü çok kısa olan bu radikal canlı sistemler içerisinde en aktif ROS olup hücre çeperindeki tekli ve çiftli doymamış yağ asitlerine zarar vererek geri dönüşü olmayan hasarlara neden olabilir (Auroma, 1999).

1.2.3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin iki elektron ile enzimatik yollarla indirgenmesi yada süperoksitlerin dismutasyonu neticesinde oluşan bir radikaldir. Eğer moleküler oksijenden yalnızca bir elektron indirgenirse, bu halde süperoksit radikali, iki elektron indirgenmesi halinde ise hidrojen peroksit ortaya çıkmaktadır.

Hidrojen peroksit canlı hücreleri içerisinde özellikle bağışıklık sistemi nötrofiller tarafından bakterilerin hücre duvarlarını parçalanması için salgılanmaktadır. Yabancı amillerin hücre duvarlarının parçalanmasında görev alan hidrojen peroksit aşırı miktarda salgılandığında hücrenin kendi çeperine zarar zarar vermektedir.

Bağışıklık yanıtın son derece önemli bir parçası olan hidrojen peroksit özellikle tıbbi bitkiler ile sistemin uyarılmasında ve buna ek olarak bakteriyolojik saldırıların bir neticesi olarak artış gösterebilmektedir (Bilen vd., 2016; Elbeshti, 2016).

1.3. Kiraz (*Cerasus avium*)

Kiraz Türkiye’de doğal olarak hem kültür hem de yabani boyutta son derec bol olarak bulunan bir bitki türüdür. Uzun yıllık bir ağaç olan kirazın meyveleri insan gıdası olarak yoğun bir şekilde tüketilmektedir (Baytop, 1999).

Daha çok insan tüketimi için tercih edilen kirazı meyvesinden ziyade saplarını tıbbi olarak tedavi edici özellikleri ile uzun yıllardır kullanılmakta olan bir bitki türüdür (Sarı, Oğuz, Bilgiç, Tort, Güvensen vd., 2010).



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bugüne kadar çevresel etkilerden kaynaklı olarak elde edilen oksidatif strese bağlı antioksidan aktivitelerde meydana gelen çalışmalar son derece fazladır. Bununla birlikte balıklar üzerinde enzim olmayan antioksidatif maddelerin antioksidan sistem üzerinde meydana getirdiği değişimler üzerine yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Tüm bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Gülçin, Beydemir, Hisar, Köksal, ve Reiter (2009) gökkuşuğu alabalıkları üzerinde melatoninin, antioksidan sistem üzerinde özellikle eritrositlerindeki katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve glutasyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ile lipid peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit (MDA) üzerine etkilerini yaptıkları çalışmada belirlemişlerdir. Bu maksatla melatonine maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıkları kan örnekleri incelendiğinde, melatonin uygulamasının CAT, POD ve GR aktivitelerinin kayda değer oranda arttığını tespit etmişlerdir. Buna ek olarak melatonin uygulamasının MDA seviyesinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir.

Li, Li, ve Randak (2010), yaptıkları çalışmada, karbamazepin içeren (1, 0.2, ve 2 µg/l) ortamlarda, farmotik kalıntıların çevreye verdiği zararları belirlemek için model olarak tasarlanan çalışmalarında, gökkuşuğu alabalıklarını farklı sürelerde (0, 60 ve 120) maruz bırakarak antioksidan seviyelerinde meydana gelen değişimleri SOD, GR ve GPX enzim aktivitelerini ve lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimleri tespit ederek belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonunda oksidatif stresin arttığını, glutasyon enzimlerindeki düşüşlerden tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçları gökkuşuğu alabalıklarının özellikle ilaç atıklarının çevreye verdiği zararları tespit etmede model organizma olarak kullanılabilmesi kanaatine varmışlardır.

Thirunavukkarasu, Ramkumar, Ramanathan ve Silambarasan (2010), yapmış oldukları çalışmada, *Citrullus colocynthis*, *Suaeda monica*, *Suaeda maritime*, *Ipomea pes caprae* ve *Sesuvium portulcasturm* olarak beş farklı kıyı bitkisinin ethanol özütlерinin antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma verilerine göre SOD aktivitesinin *Suaeda maritime*'den elde edilen özütlерde ise azalma gösterdiğini ve

bundan farklı olarak *Citrullus colcyntis* türünden elde edilen özütlerle beslenen balıklarda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Kızak ve Çelik (2012), Çoruh alabalığı (*Salmo coruhensis*) üzerinde farklı oranlarda dozlarda (0, 10, 20 ve 40 g/kg yem) farklı sürelerde (2 ay ve 3 ay) kefir ile besledikleri çalışmalarında kan ve karaciğer dokularındaki antioksidan aktivitelerde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Çalışma sonunda elde ettikleri verilere göre, yaşama oranları gruplar arasında farklılık göstermiştir. Spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme oranı ve ayrıca kondisyon faktörü değerlendirildiğinde doza bağlı olarak gruplara arasında bir farklılık tespit edilememiştir. Bununla birlikte 30. Gün verileri değerlendirildiğinde 20 ve 40 gr gruplarında özellikle total oksidan durum ve toplam antioksidan durumun azaldığını tespit etmişlerdir. Karaciğer MDA seviyeleri kontrol grubuna kıyasla azalma göstermiştir. GPX enzim aktivitesi tüm gruplarda artış gösterirken CAT aktivitesi azalmıştır. GSH (Glutasyon) düzeyi 2 aylık gruplarda değişiklik göstermezken, 3 aylık gruplarda artış göstermiştir.

Giannenas, Triantafillou, Stavrakakis, Margaritis, Mavridis vd. (2012), karvakrol ve timol açısından zengin içeriklerle besledikleri gökkuşığı alabalıklarının büyüme performansı, bağırsak mikrobiotası ve antioksidan sisteminde meydana getirdiği değişimleri incelemiştir. Bu maksatla karvakrol ve timol, gökkuşığı alabalığı yemlerine 1g/kg olacak şekilde eklenmiş ve balıklar bu yemlerle 8 hafta boyunca beslenmişlerdir. Çalışma sonunda yem dönüşüm oranlarında bir azalma söz konusu olurken büyüme performanslarında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir. Toplam aneorob sayısı tüm denem grupların kontrol grubuna göre kayda değer düşüş göstermiş, bununla birlikte en düşük oran timol içeren yemlerle beslenen balıklarda gözlenmiştir. Her iki grup içinde glutasyon tabanlı enzimlerde artış gözlenmiştir. Malondialdehit formasyonu gruplarda düşüş göstermiştir.

Keleştemur, ve Özdemir (2013), yapmış oldukları çalışmada, gökkuşığı alabalıklarını farklı oranlarda vitamin E ve A içeren yemlerle 12 hafta boyunca beslemişler ve serum antioksidan aktivitesinde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Çalışmada farklı oranlarda vitamin içerikleri ile beslenen alabalık

yavrularının A ve E vitamini içeren yemlerle beslenen gruplarda özellikle strese maruz bırakılmış grupta, MDA seviyelerinde artış tespit edilmiştir. SOD seviyeleri 30 ve 0 mg/kg E vitamini içeren gruplarda artış göstermiştir.

Sönmez vd. (2015), adaçayı, nane ve kekik bitkilerinin yağlarını 500, 1000 ve 1500 mg/kg içeren yemlerle gökkuşuğu alabalığı yavrularını 60 gün boyunca besledikleri çalışmalarında antioksidan sistemde meydana gelen değişimleri 30 ve 60. günlerde tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda SOD, G6PDH ve GPX aktiviteleri tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Bundan farklı olarak, CAT, GST ve GR enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre azalmıştır. Lipit peroksidasyonunda ise azalma gözlenmiştir. 500 mg/kg oranlarında kullanılan adaçayı ve kekik yağlarının hem büyüme açısından hem de antioksidan sistemi açısından verimli olacağı değerlendirilmiştir. Çalışma verilerine göre balıkların büyüme performansları adaçayı ve kekik yağı içeren yemlerle beslenen gruplarda yükselirken nane yağı ile beslenen gruplarda ise azalma gözlenmiştir.

Elgaml, Khalil, Hashish ve El-Murr (2015), yapmış oldukları çalışmada, 10 hafta süresince nil tilapia balıklarını (*Oreochromis niloticus*) selen yum (4 mg/kg yem) ve E vitamini (200 mg/kg yem) içeren yemlerle beslemişler ve SOD, GSH ve MDA seviyesinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda SOD ve GSH seviyeleri azalırken MDA seviyelerinin arttığını belirlemişlerdir.

Yonar, Yonar, Pala, Silici ve Sağlam (2015), triklorfon (11, 22 mg/l) ve propolis (10 mg/kg canlı ağırlık) ile simultane muameleye tabi tuttukları sazan balıklarının antioksidan sisteminde oluşturduğu etkileri inceledikleri çalışmalarında, solungaç, karaciğer ve böbreklerden örnek alarak MDA, GSH, SOD, CAT ve GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışma sonunda triklorfon uygulamasının sazan balıklarında MDA seviyelerinde azalmaya neden olduğunu, bundan farklı olarak, GSH, SOD, CAT ve GPX aktivitelerinde artışlar tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Zhang, Huang, Li, Wang, Song, vd. (2015), japon levreklerinde (*Lateolabrax japonicus*), magnezyum ve E vitamininin, serum biyokimyası üzerine ve hepatik antioksidan kapasitesi üzerine etkilerini incelemiştir. Çalışmalarında balıkları farklı dozlarda magnezyum (0, 520 ve 1570 mg/kg) ve E vitamini (0, 60 ve 200 mg/kg) içeren yemlerle 2 ay boyunca beslemiştir. Çalışma sonunda 520 mg/kg magnezyum ve 60 mg/kg E vitamini içeren yemlerle beslenen balıkların en iyi büyüme performansını ve kas lipid içeriğine sahip olduklarını göstermiştir. SOD, CAT ve GPX aktiviteleri en yüksek seviyelerine 520 mg/kg magnezyum ve 60 mg/kg E vitamini gruplarında ulaşmıştır. Aynı gruplarda MDA seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir.

Özlüer-Hunt, Yılmaz, Berköz, Engin, Gündüz vd. (2016), yaptıkları çalışmada, gökkuşuğu alabalıklarını % 20, 40 ve 60 oranında maya nükleotidi proteini ile hazırlanmış yemlerle beslemişler ve bağışıklık yanıt, kan parametreleri ve antioksidan sistem üzerindeki değişimleri incelemiştir. Çalışma bulgularına göre SOD ve CAT aktivitelerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. MDA seviyeleri uygulama yapılan tüm gruplarda azalma göstermiştir. Lizozim, myeloperoksidaz ve nitrit oksit seviyeleri kayda değer oranda artmıştır.

Şahan, Özütok ve Kurutaş (2016), nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarını 3 ay boyunca %0,1, %0,5 ve %1 zencefil (*Zingiber officinale*) içeren yemlerle beslemiştir. Çalışma sonunda balıklarının büyüme parametreleri ve oksidatif stres seviyeleri incelemiştir. Çalışmada karaciğer, solungaç ve bağırsak dokularındaki SOD ve CAT enzim aktiviteleri %0,5 ve %1,0'lık zencefil gruplarında kontrol grubunda göre kıyasla artış göstermiştir. Büyüme performansı açısından gruplar arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Amer (2016), tilapia balıklarını (*Oreochromis niloticus*), %0, 0,5, 1 ve %1,5 oranında *Spirulina platensis* içeren yemlerle 75 gün boyunca beslediği çalışmasında balıkların büyüme performansları ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Çalışma sonunda %1 *S. platensis* ile beslenen balıkların FCR değerlerinde azalma gözlenirken, ağırlık kazanımları artmıştır. Yine *S. platensis* ile beslenen gruplarda,

GR artarken MDA seviyelerinde azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde *S. platensis* ile beslenen grupların CAT aktivitelerinde de artış gözlenmiştir.

Şahan, Duman, Çolak, Çınar ve Bilgin (2017), gökkuşağı alabalıklarını %10, 20 ve 30 oranında kuşburnu içeren yemlerle günde iki kere elli gün boyunca beslemişlerdir. Çalışma sonunda balıkların karaciğer antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimleri incelenmiştir. % 20 ve % 30 kuşburnu uygulanan grupların SOD ve CAT değerlerinde artış gözlenirken MDA seviyelerinde bir değişiklik tespit edilememiştir.

Zhao, Jiang, Kong, Di, Nie vd. (2017), japon balığının (*Carassius auratus*), böbrek ve dalaklarındaki antioksidan savunma mekanizmasında meydana gelen değişimleri hipoksik koşullar altında incelemişlerdir. Bu maksatla balıklar 1 ve 2 mg/l oksijen içeren su içerisinde bekletilmiştir. . Uygulamaya maruz bırakılan balıklarda MDA seviyesinin önemli derecede arttığı belirlenirken, oksijen seviyesinin 4 mg/l olduğu ortamda balıkların böbreklerdeki SOD ve CAT seviyeleri artarken dalakta GPX ve CAT seviyeleri artış göstermiştir. Çalışma sonuçlarına göre, hipoksik koşullarda tutulan japon balıklarının antioksidan sisteminin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir.

3. YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Balık Materyali

Deneyde, 2016 yılında Germeçtepe İç Su ve Deniz Balıkları Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretimi yapılan ve ortalama ağırlıkları $13,02 \pm 0,02$ g olan toplam 480 adet gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) yavrusu kullanılmıştır. Araştırma Birimi'nin yavru büyütme kafeslerinden rastgele seçilen balıklardan 12 adet 1,5x1,5 m ebatlarındaki ağ kafeslere 40'ar adet yerleştirilmiştir.

3.1.2. Deneme Yeri

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İç Su ve Deniz Balıkları Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Germeçtepe Baraj Göletinde toplam 60 günde tamamlanmıştır.

3.1.3. Kiraz Bitkisi

Çalışmada, gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için kiraz bitkisinin (*Cerasus avium*) sapsarı kullanılmıştır. Bu bitkiler Kastamonu İli içerisinde yer alan aktarlardan temin edilmiştir ve Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'na getirilerek gölge ortamda tüm nemini kaybetmesi için kurutulmuştur. Kurutulan bitki sapsarı yüksek hızlı bitki değirmeninde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki sapsarının sulu metanolik özütü çıkarılmıştır (Bilen vd., 2016).

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Özütünün Çıkarılması

Bu çalışmada kullanılan karahindiba kiraz bitkisinin (*Cerasus avium*) sapsarı daha önce belirtildiği üzere Kastamonu İli içerisinde yer alan aktarlardan temin edilmiştir. Toz haline getirilmiş bitkilerin sulu metanolik özütleri çıkarılma işleminde (Bilen, vd., 2016) kısaca, % 40'lık metanol hazırlanmış ve 1 L karışım içerisinde 100 g bitki tozu eklenmiş ve güneş görmeyen yerde günde iki defa ters yüz edilerek üç gün boyunca beklenmiştir. Daha sonra bu örnekler Whatman filtre kâğıdından (47 mm) geçirilerek iri partiküller ayrılmıştır. Süzölmüş sıvı kısım vakum evaporatöre transfer edilmiş ve burada tüm sıvı kısım giderilinceye kadar 75 C°'de bekletilmiştir. Çalışma sonunda özüt miktarını net olarak belirlemek için 50 g saf su 50 C°'de ısıtılmış, evaporatör balonu içinde yer alan özüte eklenmiş ve çıkan örnek tartılarak toplam özüt miktarı belirlenmiştir. Daha sonra bu özütler kullanılacak doza göre PBS içerisinde hazırlanmış ve çalışmada kullanılincaya kadar -20 C°'de saklanmış, çalışma müddetince de +4 C°'de tutulmuştur.

3.2.2. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Antioksidan enzim analizleri belirlemek için balıkların karaciğer örnekleri kullanılmıştır. Balıklar örnekleme dönemlerinde yüksek dozda karanfil yağı ile bayıltılmışlardı. Bu balıklardan karaciğer ve kan örnekleri alınmıştır. Karaciğer örnekleri ultra saf suda yıkanmış ve sıvı azot tankına ependorf tüpler içinde aktararak dondurulmuştur. Bu örnekler laboratuvara getirilmiş ve burada -80°C'de saklanmıştır. Karaciğer dokularının analizlere hazırlanması için 0,1 g ağırlığında parçalara bölünmüş ve üzerlerine 1 ml EDTA'lı fosfat buffer eklenerek homojenizatörde parçalanmıştır. İyice parçalanmış dokular 20000 g'de 45 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan süpernatantlar analizler için kullanılmıştır.

3.2.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

SOD analizi SIGMA 19160-1KT-F SOD Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. SOD enzimi süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene

dismutasyonla katalizler. Bu bağlamda çalışmada, 20 µl örnek serumu 20 µl ultra distile su ile karıştırılmıştır. Bunun üzerine 200 µl çalışma solüsyonu eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra balnk solüsyonu olarak hazırlanan çukurlara 20 µl dilisyon sıvısı eklenmiştir. Bunların üzerine 20 µl enzim çalışma solüsyonu eklendikten sonra 37 C°de 20 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar 450 nm dalga boyunda okunmuş ve SOD aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{SOD aktivitesi} = \frac{[(\text{Ablank1} - \text{Ablank3}) - (\text{Aörnek} - \text{Ablank2})]}{(\text{Ablank1} - \text{Ablank3})} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.2.2. Katalaz (CAT) Aktivitesi

Katalaz analizi Cayman 707002 kodlu Catalase Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, doku örnekleri PBS solüsyonu ile (pH 7,4) yıkanmıştır. Dokular 50mM potasyum fosfat ve 1 mM EDTA içeren solüsyonda homojenize edilmiştir. Homojenize dokular 10000 g'de 15 dakika + 4 C°de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası serum kısmı ayrılmış ve çalışmada kullanılmıştır. Kit içerisinde 10 µl katalaz formaldehit standartı ile 9,99 ml örnek sıvısı karıştırılmış ve 4,25 mM formaldehit stok solüsyonu oluşturulmuştur. Kuyucuklara 100 µl yöntem solüsyonu, 30 µl methanol, ve 20 µl standart eklenmiştir. Pozitif gruba standart yerine katalaz konulmuştur. Örnek çukurlarında ise standart yerine çalışılan örnek eklenmiştir. Örnekler 20 dakika inkübe edilmiştir. Tüm çukura, sonrasında, 30 µl potasyum hidroksit ve 30 µl katalaz purpald (707017) eklenmiştir. Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bunu üzerine 10 µl katalaz potasyum periodat eklenmiş ve 5 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar 540 nm de okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre değerlendirilmiştir.

$$\text{CAT aktivitesi} = \frac{\mu\text{M Örnek}}{20 \text{ dakika}} \times \text{seyreltme miktarı (nmol/min/ml)} \quad (3.2)$$

3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX) Aktivitesi

Glutasyon peroksidaz analizi Cayman 703102 kodlu Glutathione Peroxidase Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, doku örnekleri katalaz aktivitesinde olduğu gibi hazırlanmıştır. Toplam 190 µl örnek içeren kutucuklara GPx eklenmiştir. 25 C°de

yürütülen işlemlerin sonunda örnekler 340 nm dalga boyunda okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\Delta A_{340}/dk = | A_{340} (\text{Zaman2}) - A_{340} (\text{Zaman1}) | / \text{Zaman2} - \text{Zaman1} \quad (3.3)$$

$$\text{GPX aktivitesi} = \Delta A_{340}/dk / 0,00373 \mu\text{M}^{-1} \times 0,19 \text{ ml} / 0,02 \text{ ml} \times \text{seyreltme} \text{ nmol/dk/ml} \quad (3.4)$$

3.2.2.4. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi

SPI-BIO 0112 kodlu G6PDH activity Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Doku homojenatları katalaz aktivitesinde olduğu gibi hazırlanmıştır. 96'lık çukurlara 150 µl yöntem sıvısı konulmuştur. G6PDH pozitif kontrol için ilgili çukurlara 10 µl kofaktör, 10 µl enzim karışımı ve pozitif kontrol eklenmiştir. Örnek çukurlarına ise pozitif kontrol yerine 10 µl örnek serumu eklenmiştir. Örnekler 37 C°'de 20 dakika inkübe edilmiş 530-540 nm ölçüm yapılmış ve emisyon ise 585-595 nm de belirlenmiştir. Sonuçlar aşağıdaki formüllere göre belirlenmiştir.

$$\text{NADPH}(\mu\text{M}) = \text{CSF} - (y \text{ kesim}) / \text{NADPH eğim} (\text{CF}/\mu\text{M}) \quad (3.5)$$

$$\text{G6PDH}(\text{nmol/dk/ml}) = (\text{NADPH}(\mu\text{M}) / 20 \text{ dk}) \times 2 \times \text{seyreltme} \quad (3.6)$$

3.2.2.5. Lipit Peroksidasyonu

Cayman 10009055 kodlu TBARS Assay Kit kullanılarak yapılmıştır. Dokuları hazırlamak için 25 mg doku ile 250 µl RIPA sıvısı karıştırılmıştır. 1600 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Serum analiz için ayrılmıştır. 100 µl örnek üzerine 100 µl SDS solüsyonu eklenmiştir. Bunları üzerine 4 ml renk aktivatörü eklenmiştir. Örnekler kaynatılmıştır. Daha sonra buz içine transfer edilerek 10 dakika bekletilmiştir. 10 dakika sonunda 1600 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında beklenmiştir. Örnekler 530-540 nm'de okunmuştur. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

$$\text{MDA}(\mu\text{M}) = ((\text{Doğrulama abs}) - (y \text{ kesim})) / \text{Eğim} \quad (3.7)$$

3.2.3. İmmunolojik Analizler

3.2.3.1. NBT Aktivitesi

Süperoksit radikal salınımları NBT yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Siwicky ve Anderson, 1993). Kısaca, balıklardan alınan kan örneklerinden 0,1 ml örnek % 0,2 NBT içeren 0,1 ml solüsyon ile karıştırılmıştır ve karışım 25 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Karışım içerisinde 50 µl süspansiyon alınmış ve bunun üzerine 1,0 ml N,N-dimethyl formamid eklenmiş ve karışım 4000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra bu karışım ayrı bir tüp içerisine alınmış ve 540 nm optik densitede N,N-dimethyl formamid kör örneğine karşı okunmuştur. Sonuçlar 4 ile çarpılarak tespit edilmiştir.

3.2.4. Hematolojik Analizler

Çalışmanın her 20. gününde hematolojik olarak meydana gelen değişimler incelenmiştir.

3.2.4.1. Eritrosit Sayımı

Kan örneği eritrosit pipetine alınarak 1/200 oranında Dacie solüsyonu ile seyreltilerek ve toplam eritrosit sayısı Thoma lamı kullanılarak hesaplanmıştır (Blaxhall ve Daisley 1973).

3.2.4.2. Hematokrit Seviyesinin Tespit Edilmesi

Hematokritin ölçülmesinde mikrohematokrit yöntem kullanılacaktır. Hematokrit tüpleri kan ile doldurulacak ve hematokrit santrifüjde 10500 g devirde 5 dk santrifüj edilecektir. Sonrasında skala kullanılarak % hematokrit değer ölçülecektir (Blaxhall ve Daisley 1973).

3.2.4.3. Hemoglobün Miktarının Tayini

Hemoglobin miktarının tayini için cyanomethemoglobin metodundan yararlanılacaktır (Blaxhall ve Daisley 1973) Bu amaçla 20 µl kan örneği 4 ml Drapkin solüsyonu içerisine konulacaktır. Devamında 10 dakikalık inkübasyondan sonra karışım 540 nm’de okunacak ve sonuçlar g/dl olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4.4. Eritrosit indeksleri

3.2.4.4.1 Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis, Bain ve Bates, 2006).

Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı Kan Hücre Sayısı

$$\text{MCV (fl)} = \text{Hct} \times 10 / \text{RBC}(10^6 \mu\text{L}^{-1}) \quad (3.8)$$

3.2.4.4.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis vd., 2006).

Hb: Hemoglobin

$$\text{MCH (pg)} = [\text{Hb (g dL}^{-1}) \times 10] / \text{RBC}(10^6/\text{mm}^{-1}) \quad (3.9)$$

3.2.4.4.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis vd., 2006).

$$\text{MCHC (g-1)} = [\text{Hb (g dL}^{-1}) \times 10] / \text{Hct} \quad (3.10)$$

3.2.5. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar iki hafta boyunca aynı tip yemle beslenerek adaptasyon sürecine alınmış ve çalışma başlamadan önce ölen balıklar deneme ortamından uzaklaştırılmıştır ve yerine aynı gramajda yenileri eklenmiştir. Balıklar çalışmada kullanılan 12 adet kafese 40'ar adet stoklanmıştır. Kiraz sapı sulu metanolik özütü çıkarılmış ve yemlere spreyleme yöntemiyle %0,1, %0,5 ve % 1 oranlarında katılmıştır. Balıklar çalışma süresinde doyana kadar günde iki defa beslenmişlerdir. Çalışmanın 20, 40 ve 60. günlerinde balıkların karaciğer, beyaz kas doku örnekleri ve buna ek olarak kan örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde immünolojik analizler ve hematolojik değişimler, doku örneklerinden ise antioksidan aktivite tespitleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Balıklardaki Büyüme Performansının Hesaplanması

Balıkların canlı ağırlıkları, deneme başlangıcında ve sonunda tüm deneme gruplarında balıklara tek tek anestezi uygulandıktan sonra 0,1 g'a duyarlı hassas terazi ile tartılarak belirlenmiştir.

Balıkların spesifik büyüme oranı aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$SBO= 100 \times (\ln W_f - \ln W_i) / t \quad (3.11)$$

SBO : Spesifik büyüme oranı

W_f : Periyot sonundaki bireysel ağırlık

W_i : Periyot başındaki bireysel ağırlık

t : Zaman (gün olarak)

Deney grupları için periyodik olarak tüketilen yem miktarları ayrı ayrı hesaplanarak bulunmuştur. Her periyotta tüketilen toplam yem miktarı tanktaki balık sayısına bölünerek ortalama bireysel yem tüketim miktarı hesaplanmıştır. Yemden yararlanma oranı;

$$YDO = \text{Periyot süresince tüketilen yem miktarı (g)} / \text{Periyottaki CAA (g)} \quad (3.12)$$

YDO : Yemden yararlanma oranı

CAA : Canlı ağırlık artışı şeklinde hesaplanmıştır.

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Deneyde elde edilen bütün verilerin ortalama ve standart sapma (\pm Std) değerleri Microsoft Office Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 22 paket programı kullanılmıştır. Veriler ANOVA testine tabi tutulduktan sonra gruplar arasındaki farklılıklar % 95 güven aralığı içerisinde Fisher LSD testi kullanılarak belirlenmiştir.

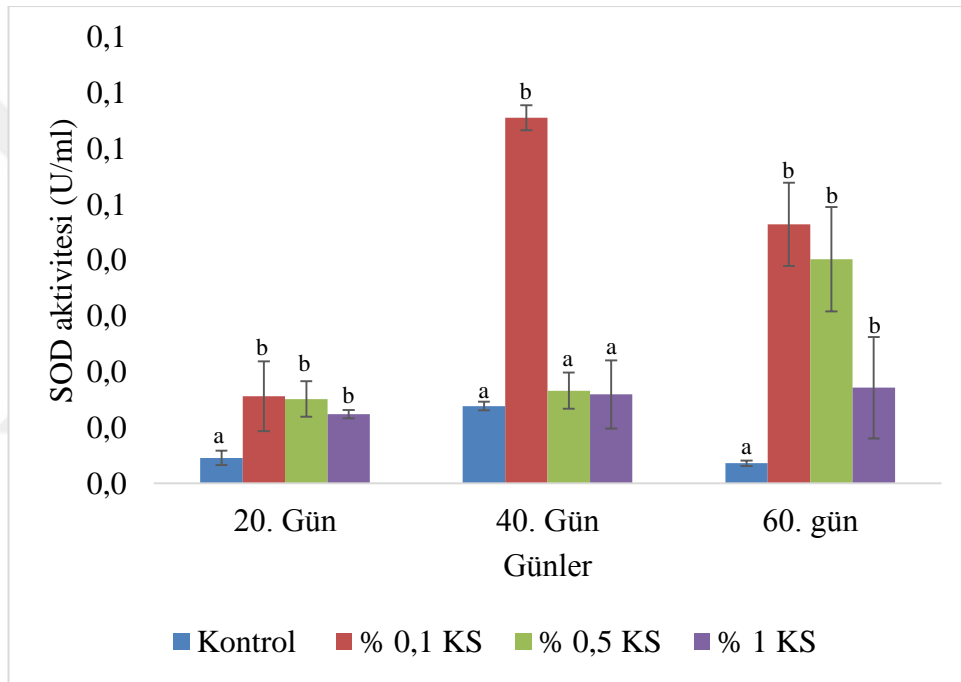


4. BULGULAR

4.1. Antioksidan Enzim Sisteminde Meydana Gelen Değişimler

4.1.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

60 gün süren çalışma sonunda örnekleme günleri olan 20, 40 ve 60. gün elde edilen SOD aktiviteleri Grafik 4.1’de verilmiştir.



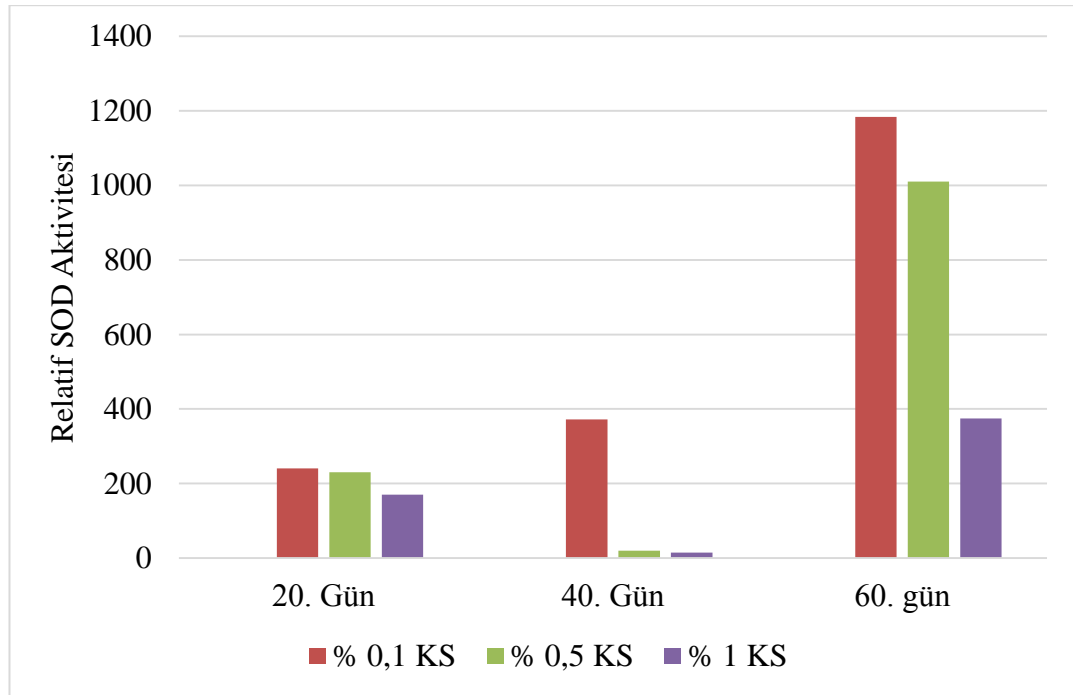
Grafik 4.1. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşuğu Alabalıklarının karaciğer dokularında süperoksit dismutaz aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Bu çalışmada elde edilen SOD aktivitesi verilerine göre çalışmanın 20. gününde en düşük SOD aktivitesi kontrol grubunda ($0,005\pm 0,001$ U/ml) tespit edilmiştir ($P<0,05$). % 0,1, % 0,5 ve % 1 KS grupları ile kontrol grubu arasında önemli bir farklılık tespit edilmişken ($P<0,05$), gruplar arasında kayda değer bir farklılık belirlenmemiştir.

Gruplar kendi içlerinde günlere bağlı değişimleri incelendiğinde SOD aktivitesinin kontrol grubunda günlere bağlı olarak bir artış gösterdiğinden bahsetmek mümkündür ($P<0,05$). 20 gün $0,005\pm 0,001$ U/ml olarak tespit edilen SOD aktivitesi 40. ve 60. günlerde sırasıyla $0,01\pm 0,00$ U/ml ve $0,004\pm 0,00$ U/ml olarak belirlenmiştir. % 0,1 KS grubunun SOD aktivitelerinin günlere bağlı değişimi incelendiğinde kontrol grubunun SOD aktivitesine benzer olarak çalışmanın 20 ve 60. Günlerinde benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak 40. günde arttığı gözlenmektedir ($P<0,05$).

%0,5 KS grubu kendi içerisinde günlere bağlı değişimi incelendiğinde 20 ve 40. Günlerde farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte 60. Gün SOD aktivitesi diğer günlere kıyasla artış göstermiştir. %1 KS grubu günlere göre SOD aktivitesi açısından incelendiğinde gruplar arasında bir farklılık oluşmadığı gözlenmektedir.

SOD aktivitesinin günlere bağlı relatif değişkenliği Grafik 4.2’de verilmiştir. Çalışmanın tüm gruplarında ve her deneme grubunda SOD aktivitesi relatif olarak kontrol grubuna göre artış göstermiştir

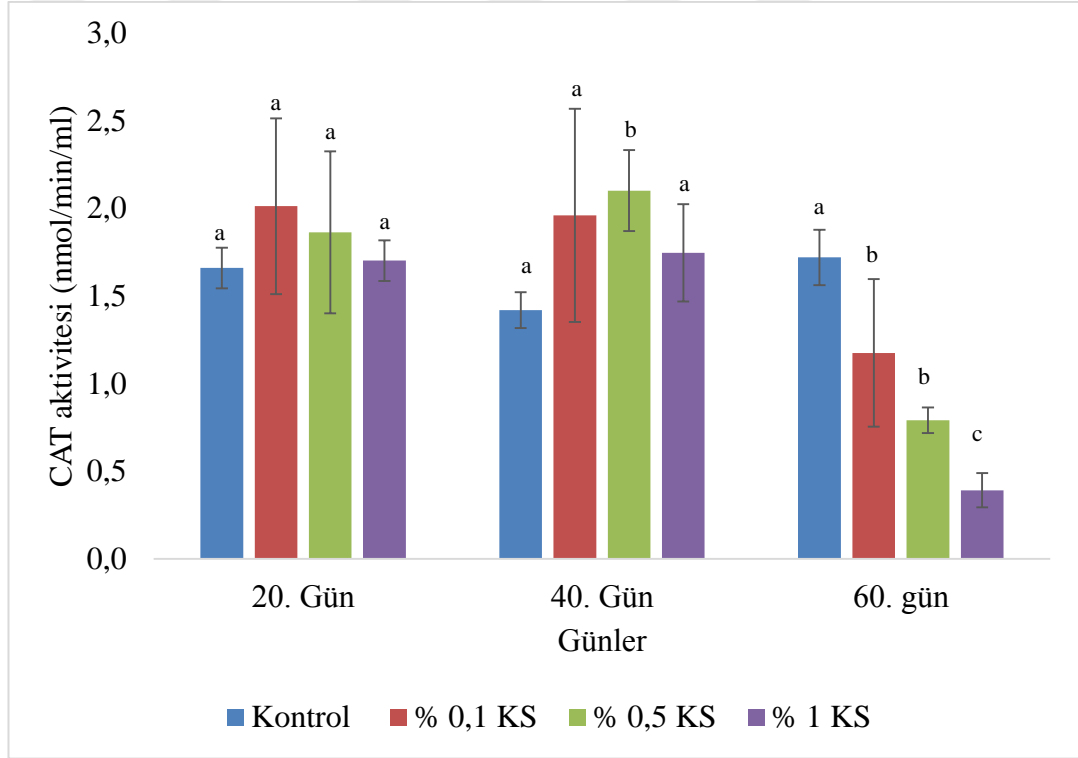


Grafik 4.2. Günlere göre Relatif SOD aktivitesi

4.1.2. Katalaz Aktivitesi (CAT)

60 gün süren bu çalışmada 20, 40 ve 60. günlerde balıklardan karaciğer örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların CAT aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Grafik 4.3'te ifade edilmiştir.

Yirminci gün verileri dikkate alındığında kontrol grubundan itibaren %0,1 KS, %0,5 KS ve %1 KS gruplarının CAT aktiviteleri $1,66\pm0,12$, $20,1\pm0,5$, $1,86\pm0,46$ ve $1,70\pm0,12$ olarak tespit edilmiştir. Genel olarak CAT aktivitesinde denem grupları içerisinde kontrol grubuna göre bir artış gözlenmekle birlikte bu artış istatistiksel açıdan önem arz etmemektedir ($P>0,05$).



Grafik 4.3. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokularında katalaz aktivitelerinde meydana gelen

değişimler (nmo/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları

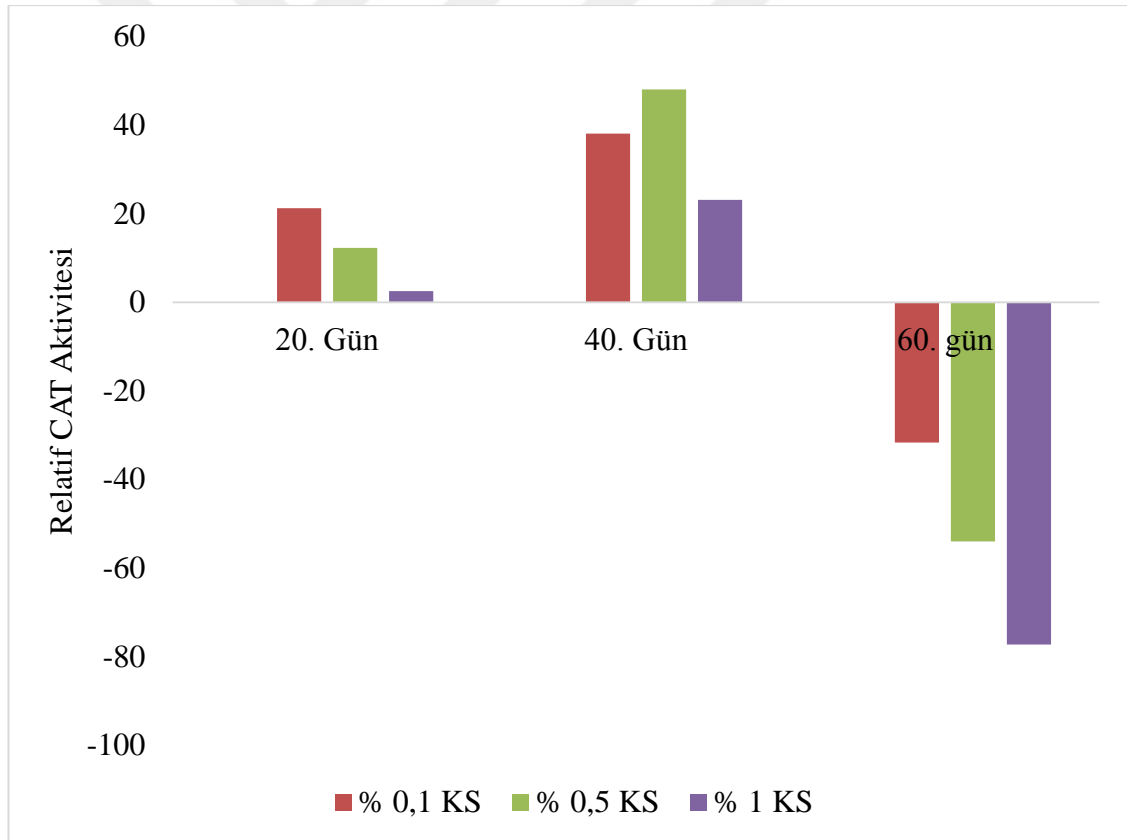
verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışmanın kırkinci gün verileri ele alındığında, kontrol grubu CAT aktivitesi ($1,42\pm0,1$ nmol/min/ml) diğer gruplarla kıyaslandığında en düşük değeri vermiş

olmakla birlikte istatistiksel olarak % 0,1 KS grubu ($1,96 \pm 0,61$ nmol/min/ml) ve % 1 KS grubu ($1,75 \pm 0,28$ nmol/min/ml) arasında bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0,05$). Bunlardan farklı olarak % 0,5 KS grubunun CAT aktivitesi ($2,01 \pm 0,23$ nmol/min/ml) diğer tüm gruplara kıyasla artmıştır ($P < 0,05$).

Altmışınıcı gün verileri değerlendirildiğinde tüm deneme gruplarının CAT aktivitesi kontrol grubuna ($1,72 \pm 0,16$ nmol/min/ml) kıyasla azalmıştır ($P < 0,05$). Bununla birlikte % 0,1 KS grubu ($1,17 \pm 0,42$ nmol/min/ml) ve % 0,5 KS grubu ($1,19 \pm 0,83$ nmol/min/ml) arasında farklılık gözlenmezken bunlardan farklı olarak %1 KS grubu ($0,72 \pm 0,69$ nmol/min/ml) en düşük değerine ulaşmıştır ($P < 0,05$).

Grupların günlere bağlı relatif CAT aktivitesi Grafik 4.4'te verilmiştir.



Grafik 4.4. Günlere göre Relatif CAT aktivitesi

Çalışmada elde edilen CAT verileri grupların kendi içlerinde günlere bağlı değişimleri olarak incelendiğinde kontrol grubunun CAT aktivitesinin 20 ve 60.

günlerde benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak 40. günde önemli derecede azaldığı (P<0,05) tespit edilmiştir.

% 0,1 KS grubunun günlere bağlı CAT aktivitesindeki değişimleri incelendiğinde 20 ve 40. Günlerde CAT aktivitesinde bir değişiklik gözlenmemişken bunlardan farklı olarak 60. gün CAT aktivitesinin önemli derecede azaldığı gözlenmektedir (P<0,05).

%0,5 KS grubunun günlere bağlı CAT aktivitesindeki değişimleri incelendiğinde % 0,1 KS grubuna benzer şekilde 20 ve 40. günlerde benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak 60. günde önemli derecede azaldığı (P<0,05) tespit edilmiştir.

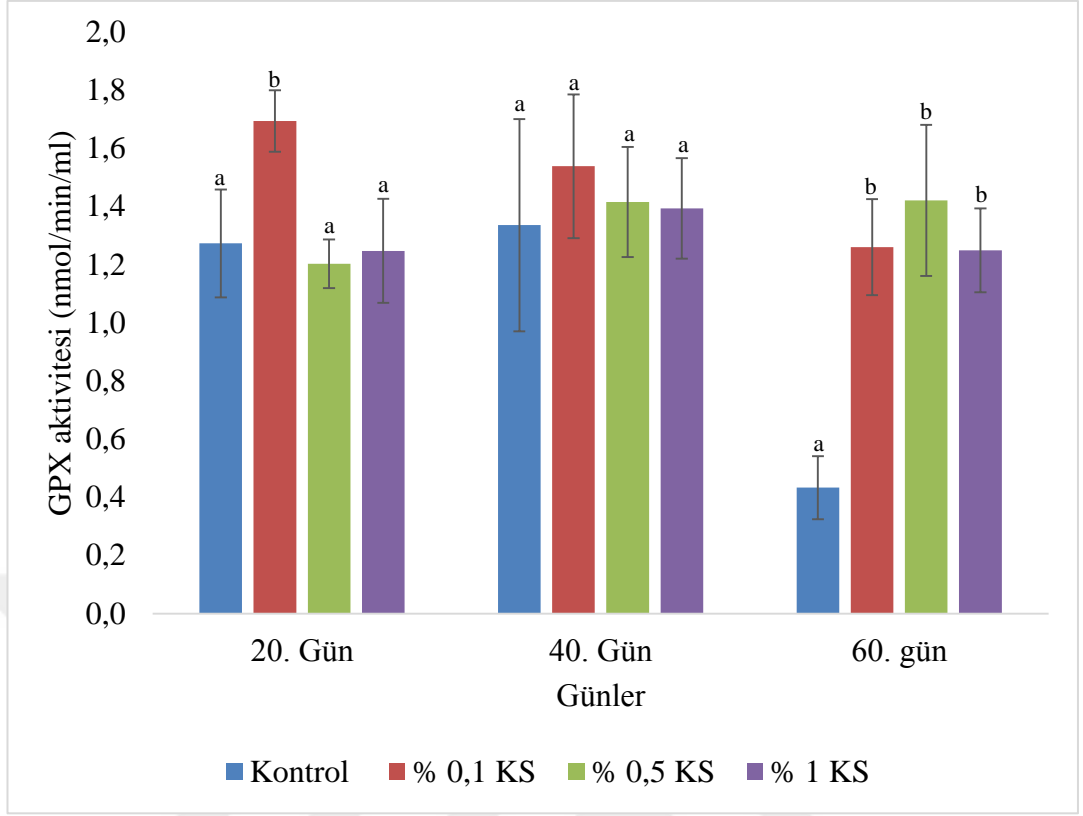
%1 KS grubunun günlere bağlı CAT aktivitesindeki değişimleri incelendiğinde ise diğer KS gruplarına benzer olarak zamana bağlı bir azalmanın söz etmek mümkündür. Sonuç olarak tüm KS gruplarının 20 ve 40. Günlerde benzerlik gösteren CAT aktiviteleri 60. günde azalmıştır.

4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPX)

60 gün süren bu çalışmada 20, 40 ve 60. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılan GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler Grafik 4.5Te verilmiştir.

Çalışma sonuçlarına yirminci gün verileri değerlendirildiğinde kontrol grubu (1,27±0,19 nmol/min/ml), %0,5 KS (1,2±0,08 nmol/min/ml) ve %1 KS (1,25±0,18 nmol/min/ml) grubu GPX aktiviteleri arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05). Bunlardan farklı olarak % 0,1 KS grubu (1,69±0,11 nmol/min/ml) GPX aktivitesi aynı örnekleme gününün diğer tüm gruplarında kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir (P<0,05).

Çalışmanın kırkıncı gün sonuçları değerlendirildiğinde ise GPX aktiviteleri grupları (Kontrol; 1,34±0,66 nmol/min/ml, %0,1 KS: 1,54±0,25 nmol/min/ml, %0,5 KS: 1,42±0,19 nmol/min/ml, %1 KS: 1,39±0,17 nmol/min/ml) arasında önemli bir farklılık oluşturmamıştır (P>0,05).

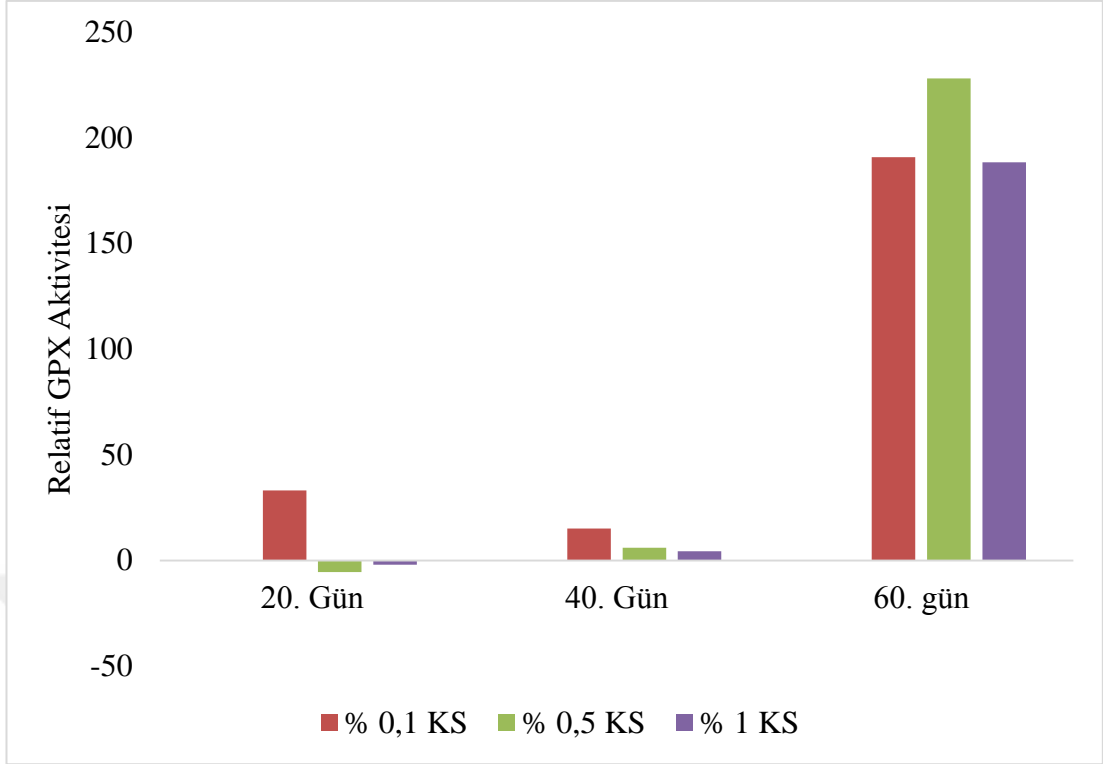


Grafik 4.5. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşaağı alabalıklarının karaciğer dokularında GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler (nmo/min/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları

verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışmanın altmışıncı gün verileri değerlendirildiğinde kontrol grubu GPX aktivitesi ($0,43 \pm 0,11$ nmol/min/ml) diğer tüm deneme grupları GPX aktivitelerinde önemli derecede düşük bulunmuştur ($P < 0,05$). % 0,1 KS ($1,26 \pm 0,17$ nmol/min/ml), %0,5 KS ($1,23 \pm 0,26$ nmol/min/ml) ve %1 KS ($1,25 \pm 0,14$ nmol/min/ml) gruplarının GPX aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla yüksek tespit edilirken gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0,05$).

Grupların relatif GPX aktiviteleri Grafik 4.6'da verilmiştir.



Grafik 4.6. Günlere göre Relatif GPX aktivitesi

Grupların kendi içlerinde günlere bağlı olarak GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, kontrol grubu GPX aktivitesinin yirmi ($1,27 \pm 0,19$ nmol/min/ml) ve kırkinci ($1,34 \pm 0,36$ nmol/min/ml) günlerde benzerlik gösterirken ($P > 0,05$) bunlardan farklı olarak altmışıncı gün ($0,43 \pm 0,11$ nmol/min/ml) GPX aktivitesinin kayda değer oranda azaldığı görülmektedir.

%0,1 KS grubunun günlere bağlı olarak GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, 20 ($1,69 \pm 0,11$ nmol/min/ml) ve 40. günlerin ($1,54 \pm 0,25$ nmol/min/ml) GPX aktiviteleri arasında bir farklılık gözlenmezken ($P > 0,05$) bunlardan farklı olarak 60. gün GPX aktivitesinin ($1,26 \pm 0,17$ nmol/min/ml) bu günlere kıyasla azaldığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

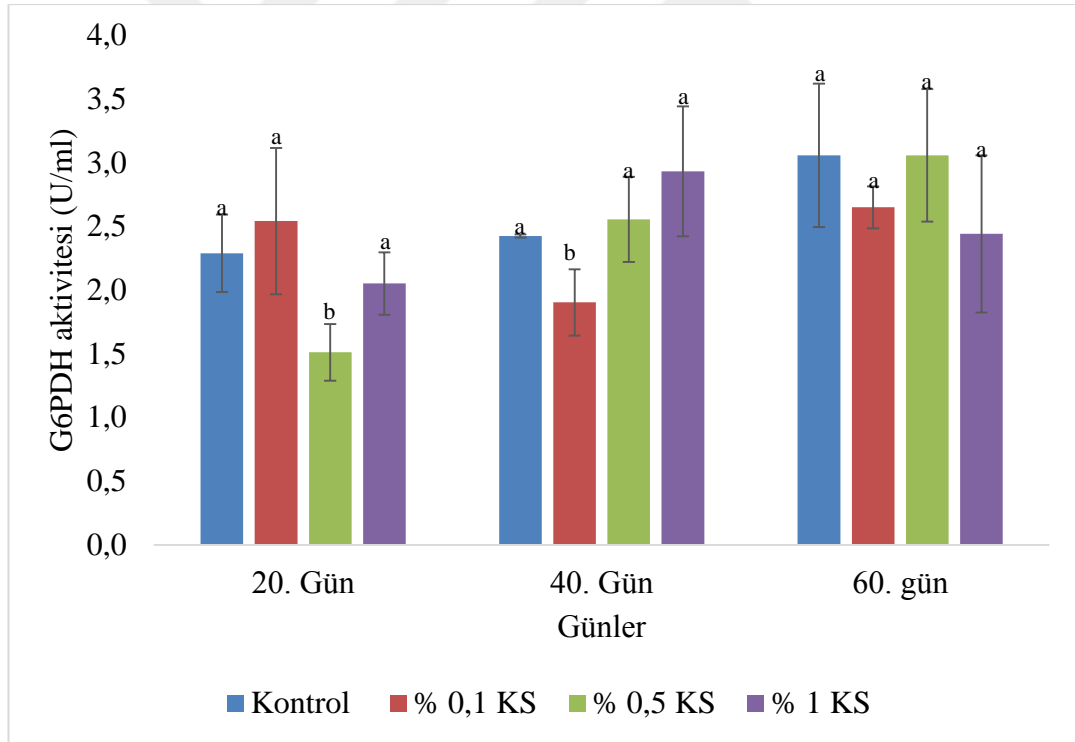
% 0,5 KS grubunun günlere bağlı olarak GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, diğer gruplardan farklı olarak 20. gün GPX aktivitesinin ($1,2 \pm 0,08$ nmol/min/ml) 40 ($1,42 \pm 0,19$ nmol/min/ml) ve 60 gün ($1,42 \pm 0,26$

nmol/min/ml) verilerinde kayda değer oranda düşük olduğu bununla birlikte 40 ve 60. günler arasında önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$).

%1 KS grubunun günlere bağlı olarak GPX aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, 20 ve 60. günlerdeki GPX aktivitesi örnekleme günleri açısından benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte en yüksek GPX aktivitesi 40. gün elde edilmiştir.

4.1.4. Glukoz-6- Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi

60 gün süren bu çalışmada 20, 40 ve 60. günlerde balıklardan alınan karaciğer örneklerinden yapılan G6PDH aktivitelerinde meydana gelen değişimler Grafik 4.7'de verilmiştir.



Grafik 4.7. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşacağı alabalıklarının karaciğer dokularında G6PDH aktivitelerinde meydana gelen

değişimler (U/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışma sonuçlarının yirminci gün verileri değerlendirildiğinde kontrol grubu ($2,29 \pm 0,3$ U/ml), %0,1 KS ($2,54 \pm 0,57$ U/ml) ve %1 KS ($2,05 \pm 0,24$ U/ml) grubu G6PDH aktiviteleri arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0,05$). Bunlardan farklı olarak % 0,5 KS grubu ($1,51 \pm 0,22$ U/ml) G6PDH aktivitesini aynı örnekleme gününün diğer tüm gruplarından kayda değer oranda düşük olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Çalışmanın kırkıncı gün sonuçları değerlendirildiğinde ise G6PDH aktiviteleri %0,1 KS grubunda ($1,9 \pm 0,26$ U/ml) kontrol grubuna kıyasla önemli derecede azalmıştır ($P < 0,05$). Kontrol grubu, %0,5 ve %1 KS grupları arasında ise önemli derecede bir farklılık tespit edilememiştir ($P > 0,05$).

Altmışınıcı gün verileri değerlendirildiğinde %0,1 KS ve %1 KS gruplarının G6PDH aktiviteleri kontrol ve %0,5 KS grubu değerlerine kıyaslandığında bir azalma söz konusudur. Bununla birlikte bu azalma istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0,05$).

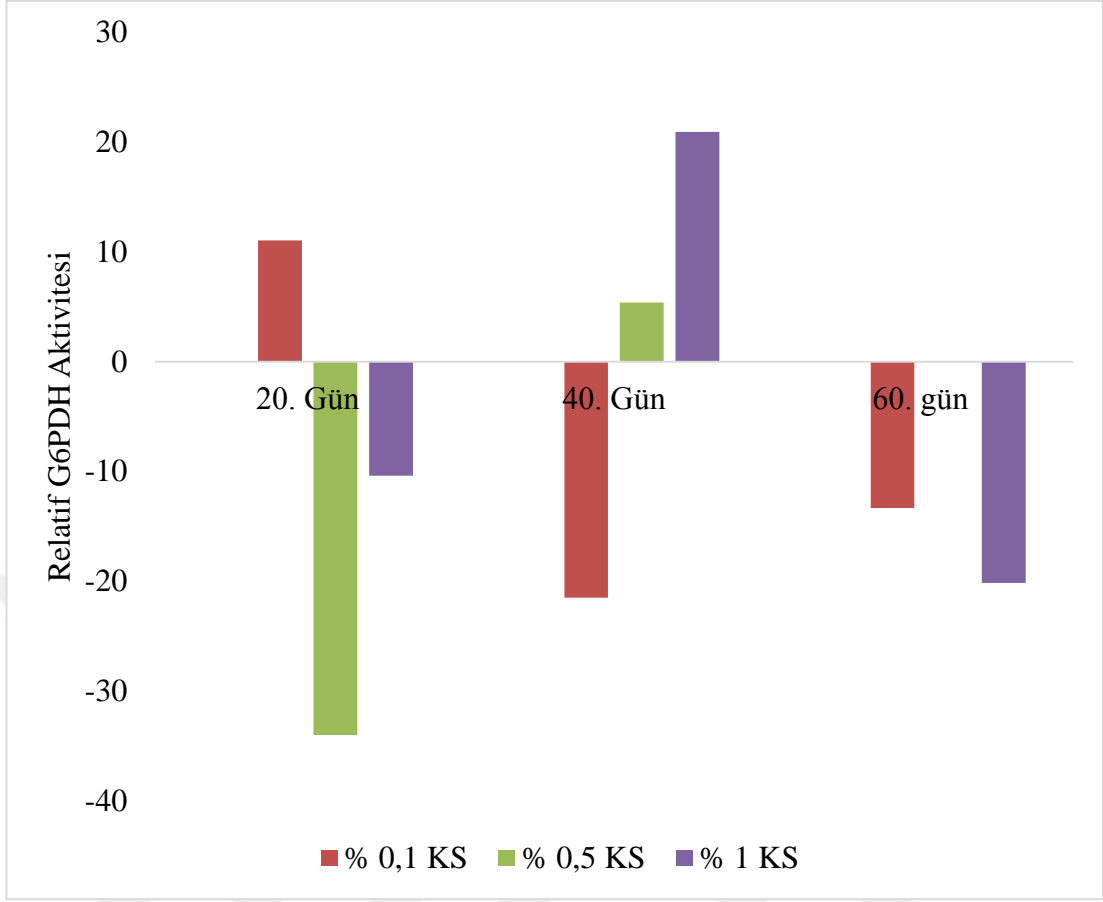
Çalışma sonuçları kendi içlerinde günlere bağlı olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda kontrol grubu G6PDH aktivitesi sonuçları 20 ve 40. günlerde benzerlik göstermiştir. Bunlardan farklı olarak 60 gün G6PDH aktivitesi kayda değer oranda artış göstermiştir ($P < 0,05$).

%0,1 KS grubunun G6PDH aktiviteleri 20 ve 60. Günlerde benzerlik göstermişti ($P > 0,05$). Bunlardan farklı olarak 40. gün verileri değerlendirildiğinde bir azalmadan öz etmek mümkündür ($P < 0,05$).

%0,5 KS, 20. gün G6PDH aktivitesi 40 ve 60. gün verilere kıyasla düşük olmuştur ($P < 0,05$). 40 ve 60. gün verileri kayda değer artış gösterirken bu iki grup arasında kayda değer bir farklılık tespit edilememiştir.

%1 KS grubu kendi içinde değerlendirildiğinde yirminci ve altmışınıcı gün G6PDH aktivitelerinin birbiri ile farklılık oluşturmadığı gözlenmektedir. Bunlardan farklı olarak kırkıncı gün verilerinde artışta söz etmek mümkündür ($P < 0,05$).

Çalışmada elde edilen relatif G6PDH verileri Grafik 4.8'de verilmiştir.

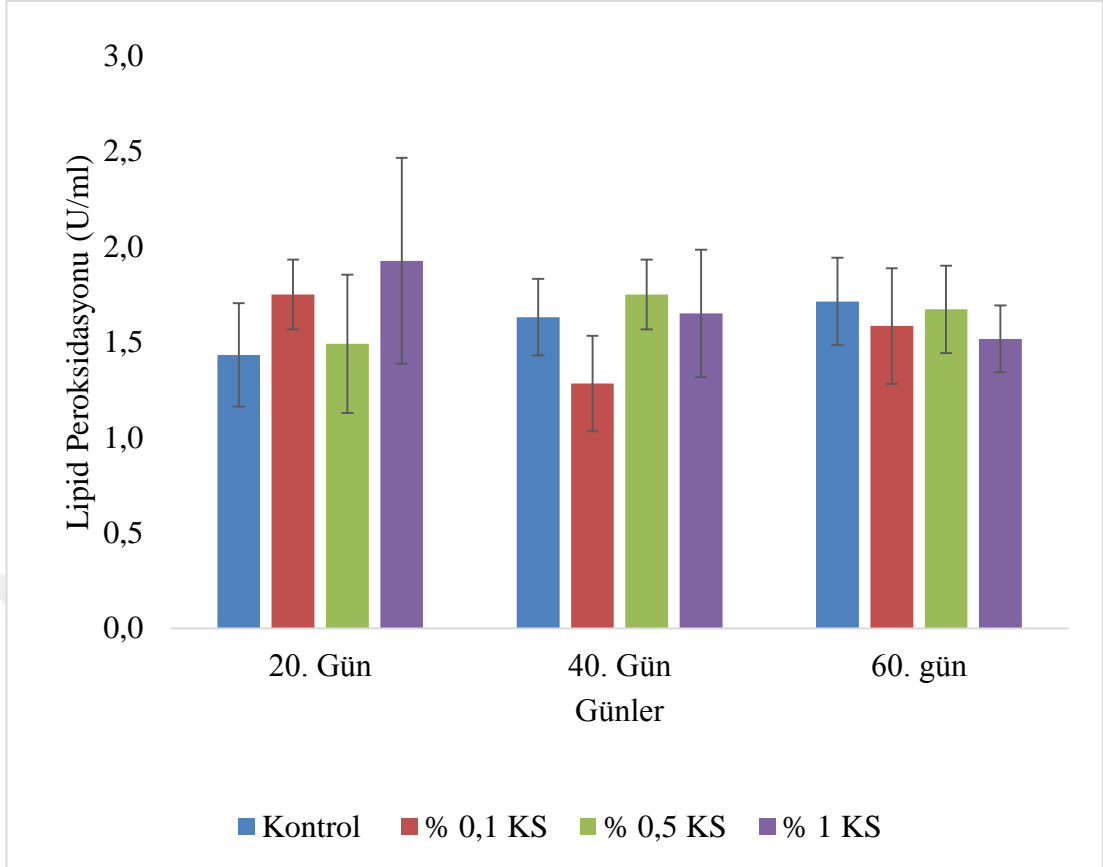


Grafik 4.8. Günlere göre Relatif G6PDH aktivitesi

4.1.5. Lipit Peroksidasyonu

Altmış gün süren bu çalışmada 20, 40 ve 60. günlerde balıklardan beyaz kas örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların lipit peroksidasyonlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Grafik4.9'da ifade edilmiştir.

Çalışmanın 20. gün verileri değerlendirildiğinde, malondialdehit miktarında %1 KS grubunda ($1,93 \pm 0,54$ U/ml) diğer tüm gruplara oranla bir artış gözlenmektedir. Bununla birlikte bu artış istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0,05$). Yirminci gün lipid peroksidasyonları tüm gruplarda benzerlik göstermiştir.



Grafik 4.9. Kiraz sapı sulu metanolil özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşacağı alabalıklarının beyaz kas dokularında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler (U/ml). (Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir (n= 3). Küçük üst harfler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder.

Çalışmanın tüm örnekleme dönemlerinde lipid peroksidasyonunda farklı değerler elde edilmiş olmakla birlikte bu değerler arasında hiçbir örnekleme döneminde bir farklılık tespit edilememiştir. Dolayısıyla kiraz sapı metanolik özütü ile beslenen gökkuşacağı alabalıklarının lipid peroksidasyonlarında bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmada elde edilen relatif lipid peroksidasyonu Grafik 4.10'da verilmiştir. Grupların kendi içlerindeki lipid peroksidasyonlarında meydana gelen değişimler incelendiğinde grupların günlere bağlı bir değişim göstermediği aradaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir.



Grafik 4.10. Günlere göre Relatif lipid peroksidasyonu.

4.2. İmmun Yanıtlarda Meydana Gelen Değişimler

4.2.1. NBT Aktivitesi

Altmış gün süren bu çalışmada 20, 40 ve 60. günlerde balıklardan kan örnekleri alınarak uygulama yapılan tüm grupların NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.1.'de ifade edilmiştir.

Çalışmanın yirminci gününde gruplar incelemediğinde, kontrol grubu ve % 0,1 KS grubu arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir. Bunlardan farklı olarak % 1 KS grubu NBT aktivitesi bu gruplardan kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir. % 0,5 KS grubu NBT aktivitesi tüm grupların NBT aktivitelerinde kayda değer oranda düşük tespit edilmiştir.

Kırkıncı gün verileri değerlendirildiğinde %1KS grubunda diğer gruplara kıyasla bir azalmadan söz etmek mümkün olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel açıdan önemli olamamıştır ($P>0,05$).

Tablo 4.1. Kiraz sapı sulu metanolik özütü ile 60 gün boyunca beslenen gökkuşuğu alabalıklarının NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimler (U/ml).

Gruplar	20. gün	40. gün	60. gün
Kontrol	0,24±0,03 ^a	0,90±0,10 ^a	0,48±0,05 ^a
% 0,1 KS	0,28±0,07 ^a	0,91±0,15 ^a	0,46±0,06 ^a
% 0,5 KS	0,19±0,11 ^b	0,82±0,10 ^a	0,46±0,07 ^a
% 1 KS	0,33±0,11 ^c	0,75±0,17 ^b	0,47±0,10 ^a

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3).

Çalışmanın altmışıncı gün verileri değerlendirildiğinde de gruplara arasında NBT aktivitesi açısından önemli bir farklılık tespit edilememiştir.

Grupların kendi içlerinde günlere bağlı NBT aktiviteleri değerlendirildiğinde ise kontrol grubunun 20 ve 60. Gün verileri benzerlik gösterirken bundan farklı olarak 40. Gün verileri kayda değer oranda artış göstermiştir.

% 0,1 KS grubu değerleri de kontrol grubuna paralellik göstermektedir. Çalışmada 20 ve 60. günlerde benzer sonuçlar elde edilirken bunlardan farklı olarak 40. gün NBT aktivitesi önemli derecede yükselmiştir (P<0,05).

%0,5 KS grubunun günlere göre NBT aktivitelerinde meydana gelen değişimleri incelendiğinde 20. gün verilerinin en düşük değerde olduğu görülmektedir (P<0,05). 60. gün verileri bundan farklı olarak yüksek tespit edilirken (P<0,05), en yüksek NBT aktivitesi 40. günde tespit edilmiştir (P<0,05).

%1 KS grubu verileri değerlendirildiğinde de kontrol grubuna paralellik göstermektedir. Çalışmada 20 ve 60. günlerde benzer sonuçlar elde edilirken bunlardan farklı olarak 40. gün NBT aktivitesi önemli derecede yükselmiştir (P<0,05).

4.3. Hematolojik Analizler

Çalışma süresince her yirmi günde bir olmak üzere balıklardan alınan kan örneklerinden hematolojik analizler yapılmıştır. Bu analizlerin sonuçları Tablo 4.2, 4.3 ve 4.4'te özetlenmiştir.

Tablo 4.2. *Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 20. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.*

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,07±0,01	1,18±3,86 ^a	25,62±1,82	240,58±27,16	71,50±2,46	4,61±16,68 ^a
% 0,1 KS	1,02±0,10	9,00±0,89 ^b	23,73±2,59	234,64±36,50	69,63±5,73	38,15±5,26 ^b
% 0,5 KS	0,98±0,17	8,87±0,25 ^b	22,03±2,20	228,58±32,04	82,60±2,85	40,28±4,82 ^b
% 1 KS	0,93±0,19	9,37±1,29 ^b	21,77±3,42	239,99±99,73	73,80±8,75	43,95±6,43 ^b

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu

Tablo 4.2'de görüldüğü üzere hemoglobin seviyelerinde bir artış söz konusudur. Hemoglobin seviyeleri deneme gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış göstermiştir. Bununla birlikte denem grupları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir (P>0,05). MCHC değerleri de HGB değerlerine benzerlik göstermiştir. Tüm deneme gruplarının MCHC değerleri kontrol grubuna göre önemli derece artış gösterirken (P<0,05),i grupların kendi içlerinde bir farklılık gözlenmemiştir (P>0,05).

Çalışmanın kırkıncı gününde kan parametrelerinde meydana gelen hematolojik değişimler Tablo 4.3'te verilmiştir. Bu bağlamda grupların hematokrit seviyelerinde bir farklılıktan söz etmek mümkündür. Hematokrit seviyeleri kontrol ve %0,1 KS gruplarında benzerlik gösterirken bunlardan farklı olarak %0,5 ve %1 KS grupları yüksek tespit edilmiştir (P<0,05). Bu grupların kendi içlerinde bir farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Tablo 4.3. Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 40. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	1,09±0,01	8,95±1,29	18,55±3,42 ^a	170,08±99,73 ^a	90,40±8,75	48,10±6,43 ^a
% 0,1 KS	0,80±0,30	9,47±0,54	23,87±2,66 ^a	328,69±85,25 ^b	101,03±10,91	40,02±3,30 ^a
% 0,5 KS	1,05±0,27	8,40±0,10	30,60±6,80 ^b	316,13±52,22 ^b	91,90±2,55	27,75±3,26 ^b
% 1 KS	1,06±0,05	8,50±1,02	38,13±3,32 ^b	359,27±24,18 ^b	106,33±4,47	22,93±5,45 ^b

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu

Çalışmanın 60. gününde elde edilen hematolojik değişimler Tablo 4.4'te verilmiştir. tüm grupların hematokrit seviyeleri birbirlerinden farklı olmuştur. En düşük HCT seviyesi kontrol grubunda tespit edilirken sırasıyla %0,1 KS, %0,5 ve %1 KS gruplarının HCT seviyeleri dozla birlikte önemli derecede artış göstermiştir (P<0,05).

MCHC değerleri de tüm gruplarda kontrol grubuna göre azalmıştır. bununla birlikte en düşük MCHC değeri %1 KS grubunda elde edilirken %0,1 KS ve %0,5 KS gruplarının MCHC değerleri %1 KS grubundan kayda değer oranda yüksek tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu iki grup arasında önemli bir istatistiksel farklılık tespit edilememiştir (P>0,05).

Tablo 4.4. Çalışmada kiraz sapı sulu metanolik özütü ile beslenen alabalıklarda, çalışmanın 60. günündeki hematolojilerinde meydana gelen değişimler.

	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC
Kontrol	0,89±0,12	8,10±1,02	19,20±3,32 ^a	217,54±24,18	95,35±4,47	42,81±5,45 ^a
% 0,1 KS	1,08±0,20	8,48±0,67	23,87±2,66 ^b	224,65±22,16	92,97±6,51	35,45±3,28 ^b
% 0,5 KS	1,24±0,15	9,27±0,85	30,60±6,80 ^c	248,99±19,17	90,27±4,25	30,57±1,54 ^b
% 1 KS	1,52±0,35	9,23±1,08	38,13±6,41 ^d	254,83±15,70	105,10±13,26	24,76±4,55 ^c

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. Farklı üstel ifadeler gruplar arasındaki farklılığı ifade eder (n= 3). RBC: Kırmızı kan hücresi, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin, MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu

4.4. Büyüme Performansı

Altmış gün süren bu çalışmada çalışma sonunda balıkların büyüme performanslarından elde edilen veriler Tablo 4.5'te verilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen bu verilere göre deme gruplarındaki balıklar ile kontrol grubu arasında ağırlık kazanımların açısından istatistiksel açıdan önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında balıkların büyüme performansı açısından gruplar arasında bir farklılık oluşmadığı KS uygulamasının balıkların büyüme performansına olumlu yada olumsuz etki etmediği tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. *Kiraz sapı sulu metanolik özütü ile altmış gün boyunca beslenen gökkuşacağı alabalıklarının büyüme performanslarında meydana gelen değişimler*

	Başlangıç Ağırlığı	Bitiş Ağırlığı	Ağırlık Kazanımı	SBO	YDO
Kontrol	13,2±0,2	51,2±0,3	288,2±10,21	2,3±0,1	1,1±0,01
% 0,1 KS	13,4±0,1	51,2±0,5	280,5±9,35	2,2±0,1	1,1±0,02
% 0,5 KS	13,9±0,1	52,1±0,32	275,6±5,23	2,2±0,09	1,1±0,01
% 1 KS	13,8±0,2	52,4±0,2	278,8±3,28	2,2±0,1	1,1±0,02

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. KS: Kiraz sapı; SBO: Spesifik Büyüme Oranı; YDO: Yem değerlendirme oranı.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı oranlarda kiraz sapı sulu methanolik özütü ile altmış gün boyunca beslenen gökkuşuğu alabalıklarının antioksidan sistemlerinde meydana gelen değişimler SOD, CAT, GPX, G6PDH aktiviteleri ve lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler 20, 40 ve 60. günlerde belirlenmiştir. Benzer olarak bağışıklık yanıtta meydana gelen değişimler NBT aktivitesi ve yine hematolojik olarak yapılan çalışmalara ile belirlenmiştir.

Yaşamsal faaliyetlerin devam ettirilmesinde reaktif oksijen türlerinin eliminasyonu son derece büyük önem arz etmektedir. Reaktif oksijen türlerinin yıkımı hücrenin yaşamsal fonksiyonları açısından son derece önemliken buna ek olarak bağışıklık yanıtın bir sonucu olarak da patojenlerin yok edilmesinde bu dengenin hassas olarak kurulması gerekmektedir. Reaktif oksijen türlerinden süperoksit radikalının yıkımında önemli rol alan SOD enzimi bu anyonların temizlenmesi işlemini gerçekleştirmektedir. Bu bağlamda ökaryot canlılar içerisinde en iyi bilenen enzim olan SOD enzimi O_2^- 'i ortamdan uzaklaştıran bir enzim türüdür. SOD aktivitesindeki artışlar hücre içerisinde süperoksit radikallerindeki artışa bağlı olarak artış gösterdiği düşünülebilir. Bu bağlamda devreye NBT aktivitesi girmektedir. BU çalışmada önemli bir bağışıklık parametresi olan NBT aktivitesi de kontrol edilmiştir. Hem SOD hem de NBT'nin birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmesi mümkün değildir. Bu iki değerlendirme ele alındığında teorik olarak NBT'nin arttığı durumlarda SOD aktivitesinin de artması gerekmektedir. Zira NBT artışı süperoksit radikal salınımının hücre tarafından artırıldığını SOD aktivitesindeki artış ise artan süperoksit radikallerinin yıkımının arttığını ve hücrenin bu şekilde uyarıldığını ifade edebilir.

Çalışma verileri değerlendirildiğinde SOD aktiviteleri çalışmanın 20. gününde tüm gruplarda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Çalışmanın 20. Gün NBT aktiviteleri değerlendirildiğinde kontrol ve %0,1 KS grubu benzerlik gösterirken %0,5 KS grubu tüm gruplara göre azalma göstermiş ve bunlardan farklı olarak %1 KS grubunda ise en yüksek değerine ulaşmıştır ($P<0,05$). Bu veriler tam anlamıyla kiraz sapı sulu methanolik özütünün antioksidatif özellikleri yanında bağışıklık uyarıcı etkilerinin de

olduğunu göstermektedir. Gülçin vd. (2009) çalışmamızda KS kullanılan gruplara benzer olarak melatonin içeren yemlerle besledikleri alabalıklarda SOD aktivitesinde artışlar tespit ifade etmişlerdi. Yine çalışmamıza benzer olarak *Citrullus colcyntis* uygulamasının SDO aktivitesinin arttırdığını tespit edilmiştir (Thirunavukkarasu vd., 2010). Keleştemur ve Özdemir, 2013 çalışmalarında A ve E vitamini katkıları ile beslenen gökkuşığı alabalıklarının SOD aktivitelerinde kayda değer artışlar tespit etmişlerdir. Sönmez vd. (2015), adaçayı ve kekik uygulanan alabalık yavrularında SOD aktivitesinin arttırdığını belirlenmişlerdir. Benzer olarak SOD aktivitesinde artışlara neden olan bir çok çalışmadan bahsetmek mümkündür (Yonar vd., 2015; Zhang vd., 2015; Zhao vd., 2017).

Çalışmamızdan farklı olarak Li vd. (2010), gökkuşığı alabalıklarında karbamaepin uygulamasının SOD aktivitelerini kayda değer azalttığını tespit etmişlerdir. Thirunavukkarasu vd. (2010), *Suaeda maritime*'den elde edilen özütlerle muamelinin SOD aktivitesinde düşüslere neden olduğunu ifade etmişlerdir. Nane uygulanan alabalık yavrularında SOD aktivitesinde azalmalar gözlenmiştir(Sönmez vd., 2015). Elgaml vd. (2015), tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarını selenyum ve alfa-tokoferol içeren yemlerle besledikleri çalışmada SOD aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan NBT yöntemi de SOD gibi ele alındığında tıbbi bitkiler ile çalışılmış birçok çalışmada değişik sonuçlar elde edilmiştir. Bilen vd. (2011), tera tozu ile besledikleri gökkuşığı alabalıklarında NBT aktivitelerinde bir artış gözlemlemişlerdir. Bu çalışmamız ile örtüşmektedir. Yine zencefil uygulanan alabalıklardan artan bir süperoksit radikal salınımından bahsetmek mümkündür (Nya ve Austin, 2009a). Çalışmamızda 20. gün verilerinden % 0,5 KS grubu, 40. Gün %1 KS grupları haricinde benzer şekilde Bilen ve Bulut (2010) defne yaprağı tozu ile besledikleri alabalıkların NBT aktivitelerinde bir değişiklik gözlenmediğine paralel sonuçlar elde edilmiştir.

CAT hücre içerisinde peroksizomlarda bulunup, SOD enzimi vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırılan süperoksit radikallerini H₂O₂'ye dismutasyonunu katalizlemektedir. Genelde CAT aktivitesi SOD aktivitesindeki artışlara bağlı olarak artış gösterebilir. Bu çalışmada, CAT aktivitesinin çalışmanın 40. gününde %0,5 KS grubunda artışı

gözlenmektedir. Bu farklılık çalışma sonunda katalaz aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla bir düşüşle sonuçlanmıştır. Bu bağlamda çalışmada kiraz sapı uygulamasının 40 gün süre ile etkili bir CAT aktivatörü olarak kullanılabileceği söylenebilir. Bununla birlikte CAT aktivitesindeki genel düşüşler ilgili bitkinin CAT açısından uygun bir antioksidatif içerik sunmadığı konusunda yoğunlaşmaktadır.

Çalışmamızdan farklı olarak melatonin ile beslenen alabalıklarda CAT aktivitesinde bir artıştan söz etmek mümkündür (Gülçin vd., 2009). Bu durum çalışmamızın 40. gün %0,5 KS grubundan elde edilen verilerle uyusmaktadır. Benzer şekilde Kızak ve Çelik (2012), Çoruh alabalıklarını farklı oranlarda kefir içeren yemlerle besledikleri çalışmalarında CAT aktivitelerinde artış gözlemlemişlerdir. Nane ile beslenen alabalıklarda çalışmamızın genel sonucu olan CAT azalması yada değişimin gözlenmemesi sonucuna benzer şekilde CAT aktivitelerinde azalma gözlenmiştir (Sönmez vd., 2015). Çalışmamızdan farklı olarak zencefil ile beslenen tilapia balıklarında, Amer (2016), magnezyum ve E vitamini ile zenginleştirilmiş yemlerle beslenen japon levreklerinde (*Lateolabrax japonicus*) (Zhang vd., 2015), *Spirulina platensis* ile beslenen tilapia balıklarında (Şahan vd., 2016) CAT aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Çalışmamıza benzer olarak, Özlüer-Hunt vd. (2016) maya nükleotidi proteini ile besledikleri alabalıklarda CAT aktivitesinde bir değişim tespit edememişlerdir.

GPX enzimi, glutatyon redüktaz enziminin çalışması için gerekli olan NADPH ve GSSG oluşumunu katalizlemektedir. Bu bağlamda genel olarak kiraz sapı ile beslenen gökkuşığı alabalıklarda GPX aktivitesinde bir artış söz konusudur. Bu artış özellikle çalışmanın son örnekleme tarihinde altmışıncı günde ortaya çıkmaktadır. Çalışma sonuçlarına göre GPX aktivitesinin kiraz sapı sulu metanolik öztünün uzun süreli kullanımı ile birlikte olumlu olarak etkilendiği söylenebilir. Çalışmamıza benzer olarak magnezyum ve E vitamini ile beslenen japon levreklerinde GPX aktivitesinde kayda değer artışlara neden olmuştur (Zhang vd., 2015). Yanr vd., (2015) çalışmalarında trikolorfon uyguladıkları tilapia balıklarında, Sönmez vd. (2015), Kekik ve adaçayı uyguladıkları gökkuşığı alabalığı yavrularında çalışmamıza benzer olarak GPX aktivitelerinde artış kaydetmişlerdir. Bundan farklı olarak, karbamaepin uygulamasının alabalıkların GPX aktivitelerinde kayda değer azalmalara neden

olduğunu tespit edilmiştir (Liv d., 2010).

G6PDH enzimi NADPH üreterek pentoz fosfat yolunu katalizler. Dolayısıyla üretilen NADPH, gulutasyon redüktaz ve CAT enzimleri için esansiyeldir. Bu bağlamda G6PDH enzimi H₂O₂ dekompozisyonu için hayati önem sahiptir. G6PDH aktivitesi genel olarak tüm sakal yosunu gruplarında bir azalma göstermiştir. En yüksek veriler % 1 K grubunda 75. günde tespit edilmiştir. Bu bağlamda % 1 oranında karahindiba ile balıkların 75 gün süreyle beslenmelerinin uygun olacağı kanaatine varılmıştır. G6PDH enziminin tespiti bu tür çalışmalar içerisinde önemli detayları oluşturmaktadır. Çalışma sonuçlarına göre karahindiba ile beslenen gruplardaki G6PDH artışı Sönmez vd.(2015)'nin alabalıklarda yaptıkları çalışma ile örtüşmektedir.

Malondialdehit (MDA), oksijen serbest radikallerinin sebep olduğu lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve oksidatif stresin belirlenmesinde son derece önemli bir etmendir. Temel olarak MDA seviyelerindeki artış oksidatif stresin artığına ve hücrelerin lipid peroksidasyonunu attığına bir işaret olarak gösterilmektedir (Yagi, 1984). Bu çalışma sonuçlarına göre temelde kiraz sapı uygulamasının lipid peroksidasyonunda herhangi bir olumlu yada olumsuz etkisinden bahsetmek mümkün değildir. Keleştemur ve Özdemir (2013) çalışmamızdan farklı olarak, selenyum ve alfa-tokoferol uyguladıkları tilapia balıklarında MDA seviyelerini arttırdığını tespit etmişlerdir. Farklı uygulamaların yapıldığı çalışmalarda örneğin, kuşburnu ile beslenen alabalıklarda (Şahan vd., 2017), spirulina ile beslenen tilapialarda (Amer, 2016) ve melatonin ile beslenen alabalıklarda MDA seviyelerinde kayda değer düşümler tespit etmişlerdir (Gülçin vd., 2009). Genel olarak yapılan çalışmalarda uygulanan ürüne bağlı olmakla birlikte MDA seviyelerinde düşüş gözlemlendiği tespit edilmektedir (Özlüer-Hunt vd., 2016; Sönmez vd., 2015; Yonar vd., 2015; Kızak ve Çelik 2012) seviyelerini arttırdığı tespit etmişlerdir.

Balıkların büyüme performansları değerlendirildiğinde, gruplar arasında ağırlıkça büyüme, SBO ve YDO açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Bu bağlamda kiraz sapının gökkuşağı alabalıklarında büyüme performansı üzerinde olumlu yada olumsuz bir etkisinin olmadığı söylemek mümkündür. Çalışmamıza benzer olarak Giannenas vd.

(2012), karvakrol ve timol ile besledikleri alabalıkların büyüme performanslarında bir farklılık tespit edememişlerdir. Yine çalışmamıza bezer olarak Kızak ve Çelik (2012), Çoruh alabalığı ile yaptıkları çalışmada kefir uygulamasının büyüme performansı üzerinde bir etki oluşturmadığını tespit etmişlerdir.

Tüm bu veriler ışığında alabalıkların oksidatif stres açısından KS ile beslenmelerinin uygun olacağı genel bağlamda KS'nin alabalıklarda oksidatif stres üzerinde etkili bir antioksidan özellik gösterdiği söylenebilir. Bununla birlikte bu uygulamanın zaman bağlı olarak yapılmasında fayda olduğu kanaatine varılmıştır. Özellikle balıkların 40 gün süreyle bu uygulamaya tabi tutulmaları veya 20 gün gibi sürelerde uygulamanın devam ettirilmesi uygun olacaktır. Büyüme performansında herhangi bir olumu yada olumsuz etinin gözlememiş olması çalışma açısından kullanım süresi bağlantılı uygulamanın üzerine kısıtlayıcı bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Ayrıca bağışıklık yanıtlarından NBT aktivitesindeki olumlu yanıtların bu ürünün bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilirliğine dikkat çekmektedir. Daha sonraki çalışmalarda bağışıklık parametrelerinin detaylı incelenmesi bu konuya daha net açıklık getirecektir. Bu çalışmalar neticesinde su ürünleri üretiminde kullanılacak alternatif katkı maddelerinin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmad S. (1995) Preface. In: Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. Chapman & Hall, NY.
- Aikens, J., Dix, T.A. (1991). Peroxyl radical (HOO[•]) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *The Journal of Biological Chemistry*, 69(B), 893-896.
- Amer, S. A. (2016). Effect of *Spirulina platensis* as feed supplement on growth performance, immune response and antioxidant status of mono-sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Benha Veterinary Medical Journal*, 30(1), 1- 10.
- Auroma, O.I. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 8(1), 53-63.
- Baytop, T. (1999). Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). No. 3255 (2nd ed.), Publications of the Istanbul University, Istanbul, 271 sayfa.
- Bilen, S., Altunoğlu, Ç.Y., Ulu, F., Biswas, G. (2016b). Innate immune and growth promoting responses to caper (*Capparis spinosa*) extract in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 57, 206-212. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.08.040
- Bilen, S., Bilen, A.M., Önal, U. (2015). The effects of oxygen supplementation on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in different stocking densities. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14(3), 538-545.
- Bilen, S., Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Veterinary and Animal Advances*, 9(8), 1275-1279. DOI: 10.3923/javaa.2010.1275.1279
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973). Routine Hematological Methods for use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781.
- Boustie, J., Grube, M. (2005). Lichens—A promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genet. Resour.* 3, 273-278. doi: 10.1079/PGR200572.
- Buechter, D.D., 1988. Free radicals and oxygen toxicity. *Pharmaceutical Research*, 5 (5), 253-260
- Clare, B.A., Conroy, R.S., Spelman, K. (2009). The diuretic effect in human subjects of an extract of *Taraxacum officinale folium* over a single day. *J Altern Complement Med.* 15(8), 929-934.

- Dafre, A.L., Reischl, E. (1990). High hemoglobin mixed disulfide content in hemolysates from stressed shark. *Comp. Biochem. Physiol.* 96(B), 215–219.
- Davies, K.J.A., 2000. An overview of oxidative stres. *IUBMB Life.* 50, 241-244.
- Elbeshti, H.T. (2016). Gökkuşağı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı *Cotinus coggygia* bitki özütünün in vivo tedavi edici etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Elgaml, S. A., Khalil, R., Hashish, E. A., El-Murr, A. (2015). Protective effects of selenium and Alpha-tocopherol against lead-induced hepatic and renal toxicity in oreochromis niloticus. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(1), 1.
- FAO, (2017). The state of World fisheries and aquaculture. Roma. ISBN 978-92-5-109185-2.
- Giannenas, I., Triantafyllou, E., Stavrakakisa, S., Margaronic, M., Mavridis, S., Steinere, T., Karagounic, E. (2012). Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350–353, 26–32.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Hisar, O., Köksal, E., Reiter, R. J. (2009). Melatonin administration increases antioxidant enzymes activities and reduces lipid peroxidation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) erythrocytes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(3), 241-245.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd ed.) Clarendon Press, Oxford.
- Hardig, J., Hoglund, L.B. (1983). Seasonal and ontogenetic effects on methaemoglobin and reduced glutathione content in the blood of reared baltic salmon. *Comp. Biochem. Physiol.* 75(A), 27–34.
- Imlay, J.A., Linn, S. (1988). DNA damage and oxygen radical toxicology. *Science*, 240, 1302-1309.
- Keleştemur, G. T., & Özdemir, Y. (2013). Effects of dietary vitamin A and E on growth performance and antioxidant status in blood of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) exposed to flow rate stress. *JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3), 821-827.
- Kızak, M. K., Çelik, H. T. (2012). The effects of different dosage of kefir with different durations on growth performances and antioxidant system in the

blood and liver tissues of Çoruh trout (*Salmo coruhensis*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 1-2.

- Lawrey, J.D. (1986). Biological role of lichen substances. *Byrologist*, 86;89, 111–122. doi: 10.2307/3242751.
- Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates, I. (2006). Dacie and Lewis Practical Haematology, ed: Lewis SM., Bain BJ., Bates I., Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia.
- Li, Z. H., Li, P., Randak, T. (2010). Effect of a human pharmaceutical carbamazepine on antioxidant responses in brain of a model teleost in vitro: an efficient approach to biomonitoring. *Journal of Applied Toxicology*, 30(7), 644-648.
- Madamombe, I.T., Afolayan, A.J. (2003). Evaluation of antimicrobial activity of extracts from South African *Usnea barbata*. *Pharmaceutical Biology*, 41(3), 199-202.
- Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A. (2005). Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15, 75–88.
- Modaresi, M., Resalatpour, N. (2012). The Effect of Taraxacum officinale Hydroalcoholic Extract on Blood Cells in Mice. *Advances in Hematology*, 2012, Article ID 653412, 4.
- Özlüer-Hunt, A., Özkan-Yılmaz, F., Berköz, M., Engin, K., Gündüz, S. G., & Yalın, S. (2016). Effects of dietary nucleotide yeast on immune responses and antioxidant enzyme activities of rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). *Israeli Journal Of Aquaculture-Bamidgeh*, 68.
- Reiter, R.J., Melchiorri, D, Sewerynek, E, Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., Ortiz, G.G., Acuña-Castroviejo, D.J. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Pineal Res.*, 18(1),1-11.
- Rocha-e-Silva, T.A.A., Rossa, M.M., Rantin, F.T., Matsumura- Tundisi, T., Tundisi, J.G., Degtarev, I.A. (2004). Comparison of liver mixed-function oxygenase and antioxidant enzymes in vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 137(C), 155–165.
- Sarı, A.O., Oğuz, B., Bilgiç, A., Tort, N., Güvensen, A., Şenol, S.G. (2010). Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 1-21.

- Schütz, K., Carle, R., Schieber, A. (2006). Taraxacum— A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 107 (3), 313–323.
- Shrestha G., St. Clair L.L. Lichens: A promising source of antibiotic and anticancer drugs. *Phytochem. Rev.* 2013;12:229–244. doi: 10.1007/s11101-013-9283-7.
- Sies, H. (1986) Biochemistry of oxidative stress. *Ang. Chem.-Int.*, 25, 1058–1071.
- Siwicki A. K., Anderson, D.P. (1993). Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Pages 1–24 in A. K. Siwicki, and D. P. Anderson, editors. *The Nordic Symposium on Fish Immunology*, Lysekil, Sweden.
- Sönmez, A.Y., Bilen S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., Biswas, G., 2015. Growth performance and Antioxidant Enzyme Activities In Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles Fed Diets Supplemented With Sage, Mint and Thyme Oils. *Fish Physiology and Biochemistry*. 41:165–175. DOI :10.1007/s10695-014-0014-9.
- Şahan, A., Duman, S., Çolak, S. Ö., Çınar, E., Bilgin, R. (2017). Determination of some hematological and non-specific immune defences, oxidative stress and histopathological status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed rosehip (*Rosa canina*) to *Yersinia ruckeri*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17,91-100.
- Şahan, A., Özütok, S., Kurutaş, E. B. (2016). Determination of some hematological parameters and antioxidant capacity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) fed ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe) to *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(1), 197-204.
- Thirunavukkarasu, P., Ramkumar, L., Ramanathan, T. ve Silambarasan D. (2010). Anti Oxidant activity of selected coastal medicinal plants. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(2), 134-137.
- Yagi, K. 1984. Assay for plasma lipid peroxidase. *Methods in Enzymology*, 109, 328-331. doi: 10.1016/S0076- 6879(84)05042-4.
- Yonar, M. E., Yonar, S. M., Pala, A., Silici, S., & Saglam, N. (2015). Trichlorfon-induced haematological and biochemical changes in *Cyprinus carpio*: ameliorative effect of propolis. *Diseases of aquatic organisms*, 114(3), 209-216.
- Zhang, C. X., Huang, F., Li, J., Wang, L., Song, K., & Mai, K. S. (2015). Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, body

composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed oxidized oil. *Aquaculture Nutrition*. 22(3), 708-722.

Zhao, Y., Jiang, X., Kong, X., Di, G., Nie, G., & Li, X. (2017). Effects of hypoxia on lysozyme activity and antioxidant defences in the kidney and spleen of *Carassius auratus*. *Aquaculture Research*. 48(1), 223-235.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Osama A. Ambiya AMOUSH
Doğum Yeri ve Yılı : 1987 – IFREN
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce, Türkçe
E-posta : amoshlibya3@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Um Algrsan Lisesi
Lisans : West- Mountain Üniversitesi/ Libya