



**FARKLI SU SICAKLIKLARINDAKİ PULLU
SAZAN (*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758)' DA
POLENİN ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Merve TAŞKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. M. Enis YONAR

ARALIK-2017

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI SU SICAKLIKLARINDAKİ PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*
LİNNAEUS, 1758)' DA POLENİN ANTİOKSİDAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Merve TAŞKAN

(141128102)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 Kasım 2017
Tezin Savunulduğu Tarih : 19 Aralık 2017

Tez Danışmanı : Doç. Dr. M. Enis YONAR (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Naim SAĞLAM (F.Ü)

Yrd. Doç. Dr. Engin ŞEKER (M.Ü)



ARALIK-2017

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının tüm aşamalarında yardımlarını gördüğüm danışman hocam sayın Doç. Dr. Muhammet Enis YONAR'a, araştırmanın yürütülmesi için gereken altyapıyı sağlayan Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na, çalışmayı maddi yönden destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimine teşekkür ederim.

Merve TAŞKAN
ELAZIĞ- 2017

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
TABLolar LİSTESİ	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Bilgisi	2
1.1.1. Su Sıcaklığı.....	2
1.1.2. Polen	3
1.1.3. Balıklarda İmmun Sistem	4
1.1.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	6
2. MATERYAL ve METOT	9
2.1. Materyal	9
2.1.1. Çalışma Alanı ve Balık	9
2.1.2. Polen	9
2.2. Metot	10
2.2.2. Çalışmada Kullanılan Yemlerinin Hazırlanması	10
2.2.2. Deneysel Uygulama	10
2.2.3. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması	11
2.2.4. Oksidatif Radikal Üretimi (Nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi).....	12
2.2.5. Toplam Protein (TP) Düzeyi.....	12
2.2.6. Toplam İmmunoglobulin (TI) Düzeyi	12
2.2.7. Malondialdehid (MDA) Düzeyi	13
2.2.8. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyi.....	13
2.2.9. Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesi	13
2.2.10. Protein Düzeyi.....	13
2.2.11. İstatistiksel Analizler.....	14
3. BULGULAR	15
3.1. Oksidatif Radikal Üretimindeki (Nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi)	

	Değişimler	15
3.2.	Toplam Protein (TP) Düzeyindeki Değişimler	16
3.3.	Toplam İmmunoglobulin (TI) Düzeyindeki Değişimler	17
3.4.	Malondialdehid (MDA) Düzeyindeki Değişimler	18
3.5.	Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyindeki Değişimler	20
3.6.	Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesindeki Değişimler	22
4.	SONUÇLAR ve TARTIŞMA	24
5.	ÖNERİLER	30
	KAYNAKLAR	31
	ÖZGEÇMİŞ	39



ÖZET

Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda polen uygulanmış pullu sazanda bazı immunolojik ve antioksidan parametrelerdeki değişimlerin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, balıklar su sıcaklığı ayarlanabilir termostatlı ısıtıcılarla 23 °C' ye ayarlanmış 6 farklı cam akvaryuma stoklandı. Onbeş günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan 2' sinin sıcaklığı 18 °C' ye düşürülürken, diğer ikisinin ise 28 °C' ye yükseltildi. Bu gruplara % 2,5 oranında polen 14 gün süreyle verildi. Kan ve doku (karaciğer, böbrek ve solungaç) örnekleri deneme sonunda balıklardan alındı ve immunolojik parametreler (oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi), total protein ve total immunoglobulin düzeyleri) ile oksidan/antioksidan parametreler (malondialdehit ve redükte glutasyon düzeyleri ile glutasyon-S-transferaz aktivitesi) için analiz edildi.

Kontrol grubu (23 °C) ile aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan grubun (23 °C + Po) NBT aktivitesi, total protein ve total immunoglobulin düzeyleri arttı ($p < 0,05$). Kontrol grubu (23 °C) ile kıyaslandığında, 18 °C' deki grubun NBT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir artış belirlendi ($p < 0,05$). 28 °C' deki grubun NBT aktivitesinde belirlenen azalma istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$). 18 °C' deki grubun total protein ve total immunoglobulin düzeyleri azalırken ($p < 0,05$), 28 °C' deki grubun total protein ve total immunoglobulin düzeyinde belirlenen artış önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po ve 28 °C + Po) grupların NBT aktivitesi, total protein ve total immunoglobulin düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi ($p > 0,05$).

Kontrol grubu (23 °C) ile aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan grubun (23 °C + Po) doku MDA düzeyleri azaldı ($p < 0,05$). Kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla, 18 °C ve 28 °C' deki grupların doku MDA düzeyleri arttı ($p < 0,05$). Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak polen uygulanan grupların (18 °C + Po ve 28 °C + Po) MDA düzeyleri 18 °C ve 28 °C' deki gruplardan daha düşüktü ($p < 0,05$). Kontrol grubu (23 °C) ile aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan grubun (23 °C + Po) doku GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla arttı ($p < 0,05$). Kontrol grubu (23 °C) ile kıyaslandığında, 18 °C ve 28 °C' deki grupların doku GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri

azaldı ($p < 0,05$). Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak polen uygulanan gruplarda ($18^{\circ}\text{C} + \text{Po}$ ve $28^{\circ}\text{C} + \text{Po}$) GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri 18°C ve 28°C 'deki gruplardan daha yüksekti ($p < 0,05$).

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, Bağışıklık, Balık, Oksidatif stres, Sıcaklık.



SUMMARY

Investigation of Antioxidant Effect of Pollen in Scaly Carp (*Cyprinus Carpio* Linnaeus, 1758) in Different Water Temperature

In this study, it was aim to investigate changes in some immunological and antioxidant parameters of pollen treated scaly carp (*Cyprinus carpio*) in different temperatures. For this purpose, fish were stocked to six different glass aquarium which was adjusted to 23 °C water temperature with adjustable thermostat heaters. After fifteen days adaptation period, temperatures of the two aquarium were dropped to 18 °C, while temperatures of the other two were upgrade to 28 °C. These groups were given to % 2,5 pollen for 15 days. Blood and tissue (liver, kidney, and gills) samples were collected at the end of the experiment and analysed to determine the immunological parameters (oxidative radical production (nitroblue tetrazolium-NBT activity), total plasma protein and total immunoglobulin levels) and oxidant/antioxidant status (malondialdehyde and reduced glutathione levels and glutathione-S-transferase activity).

The NBT activity, the total protein and total immunoglobulin levels in the group (23 °C + Po) that maintained at the same temperature with the control group (23 °C) and applied pollen were increased ($p < 0.05$). When compared to the control group (23 °C), a statistically significant increase in the NBT activity of the groups at 18 °C was observed ($p < 0.05$). Decrease in the NBT activity of the group at 28 °C was statistically insignificant ($p > 0.05$). The total protein and total immunoglobulin levels of the group at 18 °C were decreased ($p < 0,05$), while increase in the total protein and total immunoglobulin levels of the group at 28 °C was not significant ($p > 0,05$). When compared to the control group (23 °C), the NBT activity, the total protein and total immunoglobulin levels in the groups (18 °C + Po ve 28 °C + Po) that maintained at the same temperature with the control group (23 °C) and applied pollen did not show any statistically significant difference ($p > 0.05$).

The tissue MDA levels in the group (23 °C + Po) that maintained at the same temperature with the control group (23 °C) and applied pollen were decreased ($p < 0.05$). The tissue MDA levels were increased in the groups at 18 °C and 28 °C when compared to the control group (23 °C) ($p < 0.05$). The tissue MDA levels of the groups (18 °C + Po ve 28 °C + Po) treated pollen simultaneously with the change in temperature were lower than

the groups at 18 °C and 28 °C. The tissue GSH levels and GST activities in the group (23 °C + Po) that maintained at the same temperature with the control group (23 °C) and applied pollen were increased ($p < 0.05$). The tissue GSH levels and GST activities were decreased in the groups at 18 °C and 28 °C when compared to the control group (23 °C) ($p < 0.05$). The tissue GSH levels and GST activities of the groups (18 °C + Po ve 28 °C + Po) treated pollen simultaneously with the change in temperature were higher than the groups at 18 °C and 28 °C.

Key words: Antioxidants, Fish, Immunity, Oxidative stress, Temperature.



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan akvaryumlar.....	10
Şekil 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarında NBT aktivitesi.....	16
Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarında TP düzeyi.....	17
Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarında TI düzeyi.....	18
Şekil 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeyleri.....	20
Şekil 3.5. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeyleri.....	21
Şekil 3.6. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktiviteleri.....	23

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1.	Deneyisel grupların oksidatif radikal üretimi (NBT aktivitesi, mg/mL), total protein (TP, mg/mL) ve total immunoglobulin (TI, mg/mL)) düzeylerinde belirlenen değişimler.....	15
Tablo 3.2.	Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç malondialdehid (MDA, nmol/g protein) düzeylerinde belirlenen değişimler.....	19
Tablo 3.3.	Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç redükte glutatyon (GSH, µmol/g protein) düzeylerinde belirlenen değişimler.....	21
Tablo 3.4.	Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç glutatyon-s-transferaz (GST, µmol/dakika/mg protein) aktivitelerinde belirlenen değişimler.....	22

1. GİRİŞ

Gerek ülkemizde gerekse dünya da gün geçtikçe artan insan nüfusu insanların besin ihtiyaçlarının da artmasına neden olmuştur. Bu durum, besin kaynaklarının sınırlı olması ve içerdiği yüksek protein miktarı bakımından su ürünlerinin büyük kısmını oluşturan balığın öneminin artmasını sağlamıştır. Su ürünlerinin yetiştirilmesinde önemli bir faktör olan su kaynakları, gelişen teknoloji ile birlikte artan sanayileşmenin sonucu kirlenmekte ve bunun sonucu olarak bu kaynaklarda doğal olarak yaşayan balık popülasyonlarının sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum su kaynakları bakımından zengin birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de dikkatleri kültür balıkçılığına yöneltmiştir.

Balık yetiştiriciliği, dünyada hızla gelişen ve önem kazanan bir endüstri kolu haline gelmiştir. Ancak dışarıdan alınan pestisitler, ağır metaller, sıcaklık değişimleri, diyet tipleri, oksijen miktarı, parazitler ve farklı çevresel koşullar gibi faktörler, balıkları fizyolojik açıdan olumsuz olarak etkilemekte dolayısıyla da ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu faktörler içerisinde en önemlilerden biri olan su sıcaklığı; balıkların yaşamını, büyümesini, beslenmesini ve diğer birçok fizyolojik fonksiyonlarını etkileyen en önemli faktörlerden biridir (Lou vd., 2011). Çünkü balıklar poikiloterm (soğukkanlı) canlılar oldukları için vücut ısıları, içinde bulundukları su sıcaklığı ile aynıdır ve bu nedenle de su sıcaklığının değişimiyle doğrudan tüm yaşamsal faaliyetler etkilenmektedir.

Balıklarda immun sistem çevresel faktörlerden oldukça fazla etkilenmektedir. Bu çevresel faktörlerin başında da su sıcaklığı gelmektedir (Buchtíková vd., 2011). Diğer taraftan yüksek sıcaklık (Parihar ve Dubey, 1995; Heise vd., 2006; Luschchak ve Bagnyukova, 2007) ve düşük sıcaklık (Malek vd., 2004; Martinez-Alvarez vd., 2005) balıklarda oksidatif strese yol açmaktadır. Yüksek sıcaklık oksijen ihtiyacını artırmakta bu artış da balıklarda oksidatif strese neden olmaktadır. Diğer taraftan düşük sıcaklık antioksidan sistemi zayıflatarak veya radikal oluşumuna yol açarak oksidatif stresi indüklemektedir (Lushchak, 2011).

Küçük hücrelerden oluşmuş, bitkinin kalıtsal özelliklerini taşıyan, bitkilerin çiçeklenme dönemleri boyunca görülen, çiçeklerde erkek üreme organlarının başlık bölümünde bulunan tozlara polen denilmektedir. Polen çiçekli bitkilerin erkek cinsiyet hücreleri olup, dişi organın tozlaşmasını sağlar. Polen arıların büyümesi ve salgı bezlerinin

gelişmesi için gerekli olan başlıca protein kaynağıdır ve arı kolonisinin yavru üreterek devamlılığını sağlaması ancak polenle mümkündür. Genellikle sarı renkli olan polenler kremden siyaha kadar değişen farklı renklerde alabilirler (Çankaya ve Korkmaz, 2008). Antibakteriyel, antifungal, antikarsinojenik, antioksidan ve immunomodulator özellikleri yapılan çalışmalarla kanıtlanan polene verilen önem, içerdiği besin maddelerinin zenginliği nedeniyle son zamanlarda daha fazla artmıştır (Yang vd., 2007; Eraslan vd., 2009; Xu vd., 2009; Abbass vd., 2012). Protein ve karbonhidrat polenin yapısında yüksek oranda bulunmakla birlikte yağ asitleri, vitaminler, mineral maddeler, enzimler ve aminoasitler yapılan analizler sonucunda belirlenen diğer maddelerdir. Bununla birlikte karotenoidler, steroidler, flavonoidler ve renk maddelerinin polendeki varlığı da ispatlamıştır (Abbas vd., 2012).

Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda tutularak ısı stresi oluşturulmuş pullu sazanda immunolojik ve antioksidan parametreler kullanılarak arı polenin koruyucu etkisini araştırmak, ayrıca immunostimulan ve antioksidan özellikteki arı polenin balıklarda kullanılabilirliğini belirlemek amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından SÜF.16.07. nolu proje olarak desteklenmiştir.

1.1. Literatür Bilgisi

1.1.1. Su Sıcaklığı

Göl, akarsu ve deniz gibi içinde yaşayan canlılara doğal bir yaşam alanı oluşturan suların özellikleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerin etkisi altındadır. Suyun fiziksel özellikleri içerisinde yer alan sıcaklık, tüm canlı organizmalarda olduğu gibi balıklarda da bütün yaşamsal faaliyetleri doğrudan etkilemektedir (Cirik ve Cirik, 1990; Tanyolaç, 2004; Dikel, 2009).

Canlıların hayatlarını devam ettirebilmeleri için gerekli sıcaklık dereceleri her canlıya göre değişmektedir. Balıkların sıcaklığa toleransları türlere göre farklıdır. Dar bir sıcaklık aralığında yaşayan balıklara stenoterm, geniş sıcaklık aralığında yaşayan balıklara ise euroterm balık denilmektedir. Stenoterm türler çevredeki sıcaklık değişimlerine, euroterm olanlardan daha az dayanıklıdır (Avşar, 2005; Tanyolaç, 2004).

Sıcaklık balıklar için fizyolojik açıdan kilit bir rol oynamaktadır. Ovaryum ve yumurta gelişimi, bağışıklık sisteminin çalışması, canlı ağırlık kazanımı, osmoregülasyon gibi birçok yaşamsal faaliyet su sıcaklığının etkisi altındadır (Dikel, 2009).

Balıklar poikilotermik yani değişken sıcaklıklı canlılardır. Başka bir ifadeyle bu tür canlıların vücut ısıları içinde bulundukları su sıcaklığı ile aynıdır. Bunun bir sonucu olarak balıkların içinde bulunduğu su sıcaklığı değişince vücut ısıları da değişmektedir. Tüm biyokimyasal işlemler sıcaklığa bağlı olarak gerçekleştiği için sıcaklıkta oluşacak her 10 °C'lik bir yükselme tür ve türün yaşamsal alanına bağlı olmak şartıyla biyokimyasal süreci yaklaşık iki katına çıkarmaktadır. Diğer taraftan oksijen ve oksijen tüketimi de sıcaklıkla etkilenmektedir. Oksijen tüketimi sıcaklığın maksimum noktasına kadar bir artış gösterdikten sonra sıcaklık artışı devamında orantılı bir şekilde azalır ve öldürücü sıcaklık noktasında biter (Dikel, 2009).

Sazanlar için optimum su sıcaklığı 23-24 °C arasındadır. Bu sıcaklığın altında üreme şansı bulunmamaktadır. 20 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yem aldığından devamlı büyümektedir. Bu nedenle sıcaklığın düşük olduğu yerlerde 3-4 yılda pazar boyuna ulaşırken bu süre sıcak ülkelerde 1-1,5 yıla inmektedir. Bu açıdan Türkiye'de sazan üretimi açısından çok uygun koşullar mevcuttur (Çağiltay, 2007). Su sıcaklığının 27-28 °C ve üzerine çıkması gelişme ve yem alınımları üzerine negatif etki yaptığından balıklar olumsuz etkilenmektedir (Alpbaz, 2005).

1.1.2. Polen

Kısaca çiçek tozu anlamına gelen polen, dişi organın tozlaşmasını sağlayan, farklı renklerde olabilen, çok çekirdekli haploit kromozoma sahip çiçekli bitkilerin erkek üreme organında oluşan erkek gametofitler olarak tanımlanabilir (Gülhan, 2014; Fişne, 2016; Tümerdem 2016). Vejetatif ve generatif olarak iki hücreden oluşmuş n kromozomlu mikrospor ana hücresinin mayoz bölünme geçirmesiyle polenler oluşmaktadır (Fişne, 2016). Mayoz bölünme sonucu oluşan dört haploid hücre yani tetrattan ayrılan mikrosporlar polen tanesi olarak isimlendirilirler (Tümerdem, 2016).

Polenin temel vazifesi aynı türün dişi üreme organına ulaşarak ovaryumdaki yumurtanın döllenmesini gerçekleştirmek ve bu sayede neslin devamlılığını sağlamaktır. Çiçekler açmaya başladığında, çiçekler arasındaki tozlaşma da baharla birlikte başlamaktadır. Polenlerin çiçeğin dişi organına taşınması olarak bilinen tozlaşma olayını,

büyük oranda böcekler yapmaktadır. Böcekler içerisinde de poleni en etkili şekilde toplayan bal arılarıdır ve topladıkları polene kendi salgılarını da eklediklerinde arı poleni oluşur (Fişne, 2016). Bu nedenle polinasyon için çiçekli bitkiler arılara, arılar da yaşamlarını devam ettirebilmek için gerekli besinleri karşılamada çiçeklere ihtiyaç duyarlar. Yapılan arkeolojik araştırmalarda bu iki canlı grubunun birlikte evrimleştiğini gösteren kanıtlar bulunmuştur. Nektar ve polen toplamak için birçok çiçeği ziyaret eden arılar topladıkları nektarları karbonhidrat kaynağı, polenleri ise protein kaynağı olarak kullanırlar. Bal arıları için polen kaynağı bulundukları ortamın doğal florasıdır (Gülhan, 2014).

Polen insan metabolizması için gerekli olan çok değerli besin maddelerinin birçoğunu içermektedir. Protein ve karbonhidratca zengin olmasının yanında yüksek derecede vitamin (A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, C, D, E ve K vitamini) ve mineral madde (kalsiyum, fosfor, demir, bakır, potasyum, magnezyum, manganez, silis, sülfür, sodyum, nikotinamid, iyot, klorin, bor, molibden, aliminyum, titanyum, çinko ve nikel) içermektedir (Gülhan, 2014). Kimyasal analizler sonucunda polenin aminoasitleri (sistin, lisin, triptofan, histidin, fenilalanin, arjinin, metiyonin, lösin, izolösin, glutamin ve valin), proteinleri, karbonhidratları, lipidleri (doymuş ve doymamış yağ asitlerini; palmitik, myristik, linoleik, oleik, stearik ve diğer asitler), şekerleri (fruktoz, sukroz ve glukoz) ve suyu içerdiği belirlenmiştir. Bunun yanında çeşitli madensel tuzlar, karotenoidler, steroidler, esansiyel yağ asitleri ve hormon benzeri büyüme faktörleri, diastaz, fosfataz ve amilaz gibi değerli enzimler ile renk pigmentleri de polende tespit edilen maddelerdir. Diğer taraftan arı polenin yapısındaki flavonoidler ile fenolik bileşiklerin güçlü bir antioksidan, antimikrobiyal, antiinflammatuvar, antikarsinojen, vazodilatör, antiallerjik, antiviral, çevresel kontaminantlara karşı koruyucu fonksiyonlara sahip olma gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir (Gülhan, 2014).

1.1.3. Balıklarda İmmun Sistem

Balıklarda immün sisteminin en önemli organları ön böbrek, timus ve dalaktır. Omurganın iki yanına yerleşmiş olarak bulunan böbrek, ön ve arka böbrek şeklinde iki lob halindedir. Önemli bir hematopoetik organ olan ve antikorların üretildiği ön böbrek, yüksek vertebratlardaki kemik iliği ile morfolojik olarak benzerlik göstermektedir. Balıklarda kemik iliği bulunmamaktadır. Solungaçların dorsolateral bölgesinde bulunan,

bir çift lobdan oluşan ve önemli bir lenfoid organ olan timus, T hücrelerinin gelişmesinin başladığı yerdir. Timus bir taraftan lenfositlerin çoğalmasını sağlarken, diğer taraftan vücudun kendi antijenlerine karşı reaksiyon verebilen lenfositleri yok etmektedir. Ayrıca timus antikor cevabına da yardımcı olmaktadır. Kırmızı ve beyaz pulpadan oluşan dalak önemli bir lenfoit organdır. Organın önemli bir bölümünü oluşturan kırmızı pulpa, makrofaj ve lenfosit hücre popülasyonunu kontrol etmektedir (Ellis, 1981; Ellis, 1988; Van Muiswinkel, 1992; Dalmo vd., 1997; McL Pres ve Evensen, 1999; Sakai, 1999; Magnadottir vd., 2005; Magnadottir, 2006). Bu organların dışında karaciğer, deri, mukus ve gastrointestinal sistemin bağışıklıkla ilgili görevleri farklı araştırmacılar tarafından açıklanmıştır (Ellis, 1981; Demir, 1992; Arda vd., 1994; Dalmo vd., 1997; Magnadottir, 2006)

Balıklarda bağışıklık diğer canlılara benzer şekilde spesifik ve non-spesifik bağışıklık olarak ikiye ayrılmaktadır (Ellis, 1981; Van Muiswinkel, 1992; Dalmo vd., 1997).

Balıklarda spesifik bağışıklığın en önemli elamanlarını oluşturan ve B lenfositlerinin başkalaşımı sonucu oluşan immünoglobulinlerden yalnızca IgM' nin varlığı kesin olarak kanıtlanmıştır. Oysa memelilerde IgG, IgM, IgA, IgE ve IgD olmak üzere beş immünoglobulin sınıfı bulunmaktadır (Darson, 1981; Tizard, 1992; Arda vd., 1994; Diker, 1998). Ayrıca *Carassius carassius*' larda IgG benzeri (Roberts, 1978), *Myxinidae* ailesine ait balıklarda ise IgN olarak isimlendirilen ve IgM' ye benzer ikinci bir immünoglobulinin var olabileceği açıklanmıştır (Tizard, 1992).

Balıklarda non-spesifik bağışıklığın kilit hücreleri, granülositler ve monositler/makrofajlardır. Balıklarda da memelilerde olduğu gibi nötrofil, eozinofil ve bazofil olmak üzere üç farklı granülosit bulunmaktadır (Ellis, 1977; 1981; Dalmo vd., 1997). Balıklarda non-spesifik savunma mekanizmalarının en önemli elemanlarını fagositik hücreler oluşturmaktadır. Fagositik hücreler, makrofajlar ve nötrofillerdir. Vücuttaki hemen hemen bütün immunolojik aktivitelerde direkt yada dolaylı önemli görevler üstlenen makrofajlar, birçok dokuda bulunurlar ve özellikle 1-10 µm boyutundaki partikülleri, hücresel atıkları ve vücuttaki ölü ve hasta hücreleri vücuttan uzaklaştırırlar. Fagositik hücrelerin ikincisi nötrofiller ise balıklarda böbrek ve az miktarda dalakta bulunur (Ellis,1981; Diker, 1998). Memeli nötrofillerine histokimyasal ve morfolojik olarak benzeyen balık nötrofillerinin fagositik aktivitesi kesin olarak açıklanmış olsa da bazı çelişkili ifadeler de bulunmaktadır (Ellis, 1977; 1981). Örneğin; Ellis (1976) pisi

balıklarında (*Pleuronectes platessa*) nötrofillerin karbon taneciklerini fagosite edemediğini bildirmiş, bunun aksine Finn ve Nielson (1971) gökkuşağı alabalığında deneysel olarak oluşturulan yara iltihaplanmasında makrofajların ve nötrofillerin fagositozunu kesin olarak göstermişlerdir. Diğer taraftan gökkuşağı alabalığı epidermisinde fagositik hücrelerin birkaç tipinin varlığı tespit edilmiştir (Peleteiro ve Richards 1990).

Memelilerde fagositik hücrelerin gerçekleştirdiği solunum patlaması (respiratory burst) aktivitesine benzeyen bir savunma balıklar da görülmektedir. Fagositik hücreler bir uyarıyla karşılaştıkları zaman hızlı oksijen (O_2) tüketimine bağlı olarak metabolik aktivitelerinde bir artış gözlenir. Bu artış “metabolik” veya “respiratory burst (RB)” olarak ifade edilmektedir (Babior, 1978). Kemotaktik hareketinin başlangıcından itibaren başlayan ve fagositoz olayının sonuna kadar devam eden RB, O_2 tüketimindeki belirgin artış ve bunun sonucu olarak süperoksit (O_2^-) radikalının aktivasyonu ile karakterizedir (Diker, 1998).

Ayrıca balıklarda sitokinler, interferonlar ve yirmi serum proteinin oluşturduğu komplement sistem, NK hücreleri (doğal öldürücü hücreler), tripsin, lizozim, CRP(C-reaktif protein), seruloplazmin, lizozim, transferin, kitinaz, katepsin, ve proteinaz inhibitörleri gibi çeşitli antimikrobiyal maddeler non-spesifik humoral bağışıklıkta görevlidir (Jolles ve Jolles, 1984; Grinde vd., 1988; Murai vd., 1990; Nakanishi vd., 1991; Dalmo vd., 1997; Ellis, 1999, Jiang vd., 2004; Lange vd., 2004a; Lange vd., 2004b; Magnadottir vd., 2005).

1.1.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, dış orbitalinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen türleri ya da oksidan moleküller olarak da isimlendirilen serbest radikaller, normal hücresel metabolizma sırasında oluşmaktadırlar. Eşlenmemiş elektronlar nedeniyle değişken, kısa ömürlü ve oldukça reaktif olan serbest radikaller, kararlı hale gelebilmek için hücrenin diğer bileşiklerinden elektron koparır ve elektronu koparılan bileşik radikal haline gelir. Bu reaksiyonlar zincirleme devam eder ve sonuçta hücreler zarar görür. Yani diğer bir ifadeyle serbest radikaller etkileşime girdiği maddenin yapısını bozar (Lushchak, 2014).

Serbest radikaller, elektron eksiklikleri yüzünden başka moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilen ve moleküler oksijenden su oluşuncaya kadar oluşan

radikaller (süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), alkoksil radikali ($RO\cdot$) ve peroksil radikali ($ROO\cdot$)) ve elektron eksikliği bulunmamasına rağmen başka moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşebilen non-radikaller (hidrojen peroksit (H_2O_2), lipit hidroperoksit ($ROOH$) ve hipokloröz asit ($HOCl$)) şeklinde ikiye ayrılırlar (Cheeseman ve Slater, 1993; Benzer, 2001).

Vücutta antioksidanların yetersiz kalması durumunda hücre içinde serbest radikaller birikmekte ve söz konusu radikaller yüksek reaktif olmaları sebebiyle nükleik asitler, proteinler ve yağlar gibi hücre bileşenlerine de zarar vermektedirler. Serbest radikaller tarafından en fazla hasara uğrayan bileşikler poliansatüre yağ asitlerinin fosfolipit gruplarıdır. Lipit peroksidasyon herhangi bir serbest radikalın bir doymamış yağ asidine saldırması ve metilen grubundan bir hidrojenin uzaklaştırılmasıyla başlamaktadır. Bu reaksiyon sonucunda karbon merkezli lipit radikali oluşur. Lipit radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek lipit peroksit radikali oluşturabilir. Bu radikal diğer yağ asitleriyle beraber yeni lipid radikallerinin oluşumuna neden olurken ve olay kendi kendine katalizlenerek sürer (Lushchak, 2014). Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan lipid hidroperoksitlerinin yıkımlanmasıyla biyolojik olarak son derece olan aktif aldehydler oluşur (Köse ve Doğan, 1992; Akkuş, 1999; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999; Benzer, 2001). Bu aldehydler hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olarak hücrenin diğer bölümlerine hasar verirler. Lipid peroksidasyonun sonucu oluşan en önemli ürünlerden birisi malondialdehit olup, oluşan MDA hücre membranlarında iyon alışverişini etkileyerek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanması, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuzluklara yol açar. MDA'nın ölçülmesi lipid peroksidasyonun seviyesinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Morales vd., 2004).

Serbest radikallerden kaynaklanabilecek oksidatif hasarı önlemek için, vücutta oluşan savunma mekanizmalarına antioksidanlar denir. Fizyolojik olarak normal şartlarda serbest radikallerin dolaşımı antioksidanlar tarafından etkili bir şekilde kontrol edilerek hücre hasarı kontrol altında tutulmaktadır. Ancak, biyolojik sistemlerde serbest radikallerin oluşması ve antioksidan seviye arasındaki dengenin serbest radikallerin oluşumu tarafına kayması sonucunda, diğer bir ifadeyle antioksidanların yetersiz kalması durumunda oksidatif stres oluşmaktadır (Çakır Atabek, 2012). Bu dengenin korunması ve oksidatif hasarın engellenmesi için antioksidan savunma mekanizmaları sistemler büyük bir önem taşımaktadır. Antioksidan savunma mekanizmaları, birincil ve ikincil savunma

mekanizmaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincil savunma mekanizmasında antioksidan bileşikler ve antioksidan enzimleri yer almaktadır. Antioksidan bileşikler, glutatyon, β -karoten, ürik asit, C ve E vitaminleri, antioksidan enzimler ise SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GSH-PX (glutatyon peroksidaz), GST (glutatyon-S-transferaz) ve GR (glutatyon redüktaz)' den oluşmaktadır. Lipolitik ve proteolitik enzimler de ikincil savunma mekanizmasını oluşturur ve her iki grupta bulunan enzimler, hasar gören, değişen ya da bozulan yağ veya proteinlerin temizlenmesinde ikinci bir savunma hattı gibi görev yaparlar (Kaya, 2005).



2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışma Alanı ve Balık

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yürütülen bu çalışmada, 33 x 100 x 60 cm boyutlarındaki 18 akvaryum kullanıldı (Şekil 2.1).

Çalışmada, DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edilen, yaklaşık ağırlığı 40 ± 5 g olan 0+ yaş grubundaki 180 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio*) kullanıldı.

2.1.2. Polen

Arıcılardan temin edilen polen örnekleri, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi'nden Prof. Dr. Sibel SİLİCİ tarafından palinolojik olarak tanımlanmıştır. Yapılan analiz sonucunda çalışmada kullanılan polenin miks polen (*Castanea sativa*, Fabaceae, Asteraceae, Trifolium spp) olduğu belirlendi.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan akvaryumlar

2.2. Metot

2.2.1. Çalışmada Kullanılan Yemlerin Hazırlanması

Polen içeren yemlerin hazırlanması için önce polen örnekleri % 2,5 oranında tartılıp 1 L su içerisinde çözüldü. Daha sonra özel bir firmadan alınarak toz haline getirilmiş pelet yemler polen içeren 1 L' lik su ile hamur haline getirildi. Bu karışım kıyma makinesinden geçirildi ve tekrar pelet haline dönüştürüldü. Hazırlanan peletler tepsilere yerleştirilip yem fırınında kurutuldu. Yemler kullanılana kadar 4 °C' de muhafaza edildi (El-Asely vd., 2014).

2.2.2. Deneysel Uygulama

Çalışmada canlı olarak temin edilen pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) örnekleri, 33 x 100 x 60 cm ebatlarında ve su sıcaklığı ayarlanabilir ısıtıcılarla 23 °C' ye ayarlanmış 18 farklı cam akvaryuma her birine 10 adet olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 2.1).

15 günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan 2' sinin sıcaklığı 18 °C' ye düşürülürken, diğer ikisinin ise 28 °C' ye yükseltildi. Bu işlem her iki saatte bir sıcaklığın 1 °C azaltılması/arttırılması şeklinde yapıldı. Böylece 18, 23 ve 28 °C su sıcaklığına sahip aşağıdaki gruplar oluşturularak polen uygulandı.

Grup 1 (18 °C): 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan grup,

Grup 2 (23 °C-Kontrol Grubu): 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan grup,

Grup 3 (28 °C): 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan grup,

Grup 4 (18 °C + Po): 18 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup,

Grup 5 (23 °C + Po): 23 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup,

Grup 6 (28 °C + Po): 28 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup.

Çalışma sırasında su sıcaklığının ayarlanan seviyelerde sabit kalarak süreklilik göstermesi için günde 4 defa ölçüm yapıldı.

Sazanlar için optimum su sıcaklığı 22-24 °C olduğu için (Çelikkale, 1994), 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar kontrol grubu olarak seçildi. Polen uygulanan dozu (% 2,5 w/w) ise El-Asely vd. (2014)' e göre belirlendi.

Çalışma 3 tekrarlı olarak yürütüldü ve her bir tekrar için 60 adet olmak üzere toplamda 180 balık kullanıldı. Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Protokol No: 2015/112, Karar No: 203).

Araştırma 15 gün sürdü ve çalışmanın 3., 7. ve 10. günlerinde akvaryum sularının 2/3' ü sifonlama yapılarak değiştirildi. Eksilen sular daha önceden sıcaklıkları 18, 23 ve 28 °C' ye ayarlanmış sularla tamamlandı.

2.2.3. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Çalışmanın sonunda kan örnekleri, benzocain (25mg/L) ile anestezi edilen balıklardan kavdal pedünkül bölgesinin kesilmesiyle EDTA'lı tüplere alındı. Kan örneklerinin alınmasından sonra klinik muayenesi yapılan balıklar otopsi edildi (Arda vd., 2005) ve karaciğer, böbrek ve solungaç örnekleri çıkarıldı. Doku örnekleri folyolara sarılarak - 20 °C' deki derin dondurucuya bırakıldı.

EDTA' lı tüplere alınan kan örneklerinde plazmalar çıkarılmadan önce oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi) belirlendi. Daha sonra plazmada total

protein (TP) ve total immunoglobulin (TI) düzeylerinin belirlenmesi için kan örnekleri 3500 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.

Antioksidan parametrelerin belirlenmesi için homojenatlar hazırlandı. Karaciğer, böbrek ve solungaç örneklerinden homojenatların hazırlanması için Yonar (2008)' in bildirdiği yöntem kullanıldı. Homojenizasyon işleminin sonunda elde edilen süpernatantlarda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi, antioksidan durumun belirlenmesi için ise redükte glutatyon (GSH) düzeyi ve glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi belirlendi.

2.2.4. Oksidatif Radikal Üretimi (Nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi)

Kanın 0,1 ml' si mikrotiter tabaklara bırakıldıktan sonra üzerine % 0,2' lik NBT solusyonundan bırakılarak süspanyon hazırlandı. Oda sıcaklığındaki 30 dakikalık inkübasyonun ardından bu süspansiyondan 0,5 ml alınarak cam deney tüplerine bırakıldı ve üzerine N, N-dimetyhl formamidden 1 ml eklendi. Tüplerin 3000 g' de 5 dakika santrifüjünden sonra üstte kalan tabaka 540 nm' de spektrofotometrede okundu (Siwicky vd., 1994).

2.2.5. Toplam Protein (TP) Düzeyi

Biüret yöntemiyle TP düzeyi belirlendi. Bunun için 0,9 ml distile su içeren spektrofotometrik tüplere 0,1 ml plazma ve bunların üzerine de 4 ml biüret çözeltisi ilave edildi. Karanlıkta 30 dakika beklenildikten sonra tüpler spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okundu (Siwicky vd., 1994).

2.2.6. Toplam İmmunoglobulin (TI) Düzeyi

TI düzeyi, TP düzeyinin ölçülmesi için kullanılan yöntemle ölçüldü. Fakat bunun için plazma örnekleri % 12'lik polietilenglikolle çöktürüldü. Örneklerin spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunmasından sonra elde edilen sonuçların protein değerinden çıkarılmasıyla toplam immunoglobülin düzeyi bulundu (Siwicky vd., 1994)

2.2.7. Malondialdehid (MDA) Düzeyi

Karaciğer, böbrek ve solungaç dokusundaki malondialdehit (MDA) düzeylerinde oluşan değişimler, Placer vd. (1966)' nin modifiye edilen yöntemine göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Bunun için 0,25 ml doku örneğinin üzerine 2,25 ml renk ayırıcı (2-Thiobarbituric acid (TBA) ve Trikloroasetik asit (TCA)) eklendi. 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilen karışım, 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildikten sonra 532 nm' de okundu.

2.2.8. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyi

Ellman (1959) tarafından bildirilen yöntem kullanılarak GSH düzeyi ölçüldü. Buna göre, çöktürücü solüsyonla (metafosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), sodyum klorür (NaCl)) 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilen karaciğer, böbrek ve solungaç örneklerinden alınan süpernatantlara Ellman ayırıcı ve disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) ilave edildi. Karışım 412 nm'de köre karşı spektrofotmetrede okundu.

2.2.9. Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesi

Habig vd. (1974) tarafından bildirilen yöntem kullanılarak GST aktivitesindeki değişimler ölçüldü.

2.2.10. Protein Düzeyi

GST spesifik enzim aktivitesi ile MDA ve GSH düzeylerini hesaplamak için ölçülen doku protein düzeyleri Lowry vd. (1951)' nin tarif ettiği yöntemine göre belirlendi.

2.2.11. İstatistiksel Analizler

Sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 22.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneysel grupların immunolojik ve antioksidan parametrelerinde oluşan değişimlerin belirlenmesi için tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Least Significant Difference (LSD) test edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Grafikler EXCEL programı kullanılarak çizildi.



3. BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önceki 15 günlük adaptasyon sürecinde pullu sazanlarda herhangi bir ölüm olayına rastlanmadı. Adaptasyon ve deneme süresi boyunca yem alımlarında herhangi bir aksaklık yaşanmadı. Deneme süresi boyunca kontrol ve deneme grubu balıklarında ölüm gözlenmedi. Su sıcaklığının ayarlanan seviyelerde sabit kaldığı ve değişiklik göstermediği tespit edildi.

3.1. Oksidatif Radikal Üretimindeki (Nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi) Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının NBT aktivitesinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.1 ve Şekil 3.1).

Tablo 3.1. Deneysel grupların oksidatif radikal üretimi (NBT aktivitesi, mg/mL), total protein (TP, mg/mL) ve total immunoglobulin (TI, mg/mL)) düzeylerinde belirlenen değişimler.

Gruplar	NBT	TP	TI
18 °C	1,72 ± 0,17 ^c	25,59 ± 4,13 ^a	10,41 ± 2,41 ^a
23 °C (Kontrol)	1,34 ± 0,11 ^a	31,24 ± 3,15 ^b	13,11 ± 3,62 ^b
28 °C	1,30 ± 0,09 ^a	32,08 ± 5,37 ^b	14,09 ± 4,06 ^b
18 °C + Po	1,32 ± 0,10 ^a	30,86 ± 5,19 ^b	12,84 ± 2,33 ^b
23 °C + Po	1,61 ± 0,14 ^b	37,15 ± 6,11 ^c	19,71 ± 3,20 ^c
28 °C + Po	1,33 ± 0,12 ^a	32,27 ± 4,32 ^b	13,40 ± 3,34 ^b

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan grup,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan grup (kontrol grubu),

28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan grup,

18 °C + Po: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup,

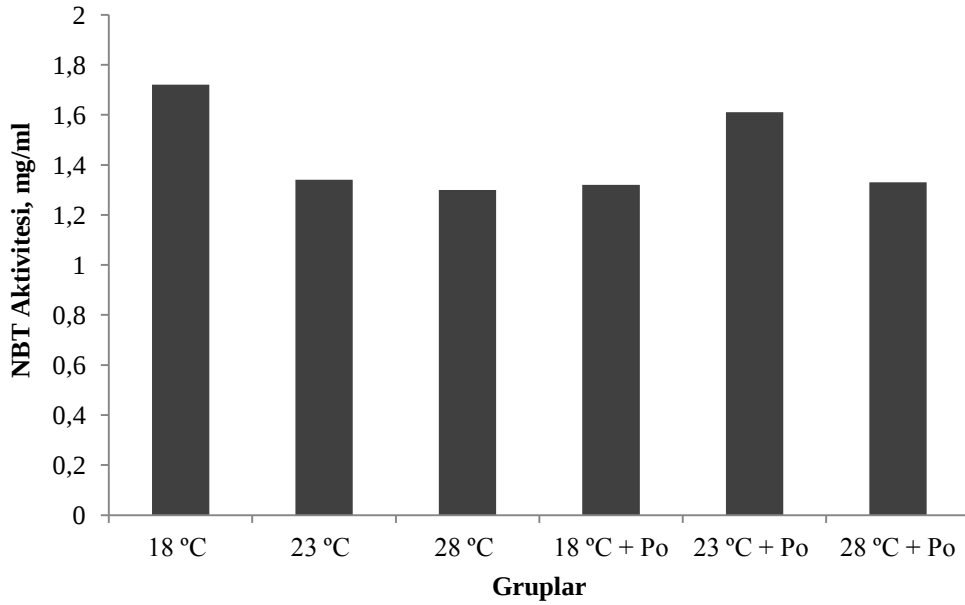
23 °C + Po: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup,

28 °C + Po: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 oranında polen uygulanan grup.

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarında NBT aktivitesi $1,34 \pm 0,11$ mg/ml olarak belirlendi. Kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların NBT aktivitesinin $1,61 \pm 0,14$ mg/ml' ye yükseldiği tespit edildi. Bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$). 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen

uygulanmayan balıklarda NBT aktivitesi sırasıyla $1,72 \pm 0,37$ ve $1,30 \pm 0,09$ mg/ml olarak belirlendi. 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların NBT aktivitesinde belirlenen artış istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların NBT aktivitesinde belirlenen azalma önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Kontrol grubuna kıyasla 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların NBT aktivitesi sırasıyla $1,32 \pm 0,10$ ve $1,33 \pm 0,12$ mg/ml olarak bulundu. Bu değerlerin kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ($p > 0,05$).



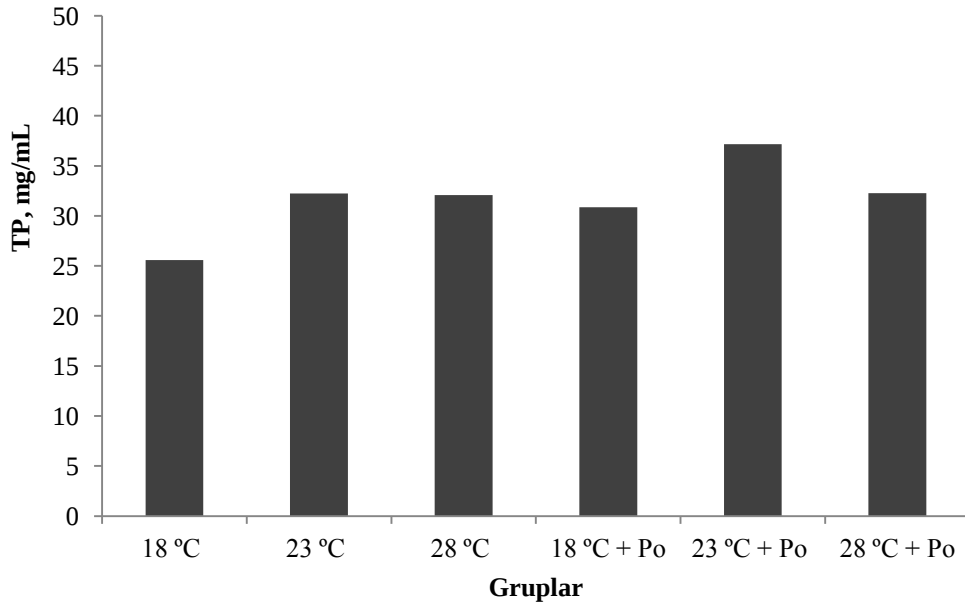
Şekil 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarında NBT aktivitesi

3.2. Toplam Protein (TP) Düzeyindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının TP düzeyinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.1 ve Şekil 3.2).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarında TP düzeyi $31,24 \pm 3,15$ mg/ml olarak belirlendi. Kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların TP düzeyinin $37,15 \pm 6,11$ mg/ml' ye yükseldiği saptandı. Bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$). 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen

uygulanmayan balıklarda TP düzeyi sırasıyla $25,59 \pm 4,13$ ve $32,08 \pm 5,37$ mg/ml olarak tespit edildi. 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların TP düzeyinde belirlenen azalma istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların TP düzeyinde belirlenen artış önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Kontrol grubuna kıyasla 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların TP düzeyi sırasıyla $30,86 \pm 5,19$ ve $32,27 \pm 4,32$ mg/ml olarak bulundu. Bu değerlerin kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ($p > 0,05$).



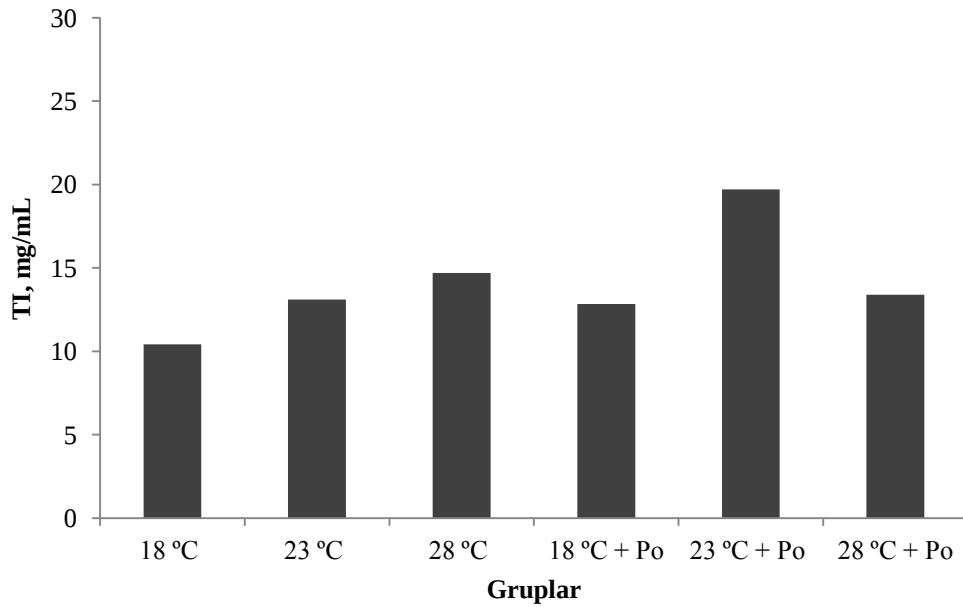
Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarında TP düzeyi

3.3. Toplam İmmunoglobulin (TI) Düzeyindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının TI düzeyinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.1 ve Şekil 3.3).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarında TI düzeyi $13,11 \pm 3,62$ mg/ml olarak saptandı. Kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların TI düzeyinin $19,71 \pm 3,20$ mg/ml' ye yükseldiği belirlendi. Bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$). 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen

uygulanmayan balıklarda TI düzeyi sırasıyla $10,41 \pm 2,41$ ve $14,09 \pm 4,06$ mg/ml olarak bulundu. 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların TI düzeyinde belirlenen azalma istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların TI düzeyinde belirlenen artış önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Kontrol grubuna kıyasla 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların TI düzeyi sırasıyla $12,84 \pm 2,33$ ve $13,40 \pm 3,34$ mg/ml olarak bulundu. Bu değerlerin kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ($p > 0,05$).



Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarında TI düzeyi

3.4. Malondialdehid (MDA) Düzeyindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.2. ve Şekil 3.4.).

Kontrol grubu (23 °C)' yla kıyaslandığında, kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinde belirlenen düşüş istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulundu.

Kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla, 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıklarda karaciğer ve solungaç MDA düzeylerinin istatistiksel olarak

önemli düzeyde yükseldiği ($p < 0,05$) saptandı. Bu grubun böbrek MDA düzeyinde belirlenen artış ise istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0,05$). Yine kontrol grubuyla kıyaslandığında 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı ($p < 0,05$) belirlendi.

18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan gruplarla kıyaslandığında 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin istatistiksel olarak düştüğü ($p < 0,05$) tespit edildi. Fakat her iki grubun (18 °C + Po ve 28 °C + Po) karaciğer ve solungaç dokusundaki MDA düzeyi düşmesine rağmen yinede kontrol grubundan yüksek bulunurken, 18 °C + Po grubunun böbrek MDA düzeyi kontrol grubundan düşük bulundu.

Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç malondialdehid (MDA, nmol/g protein) düzeylerinde belirlenen değişimler.

Gruplar	Karaciğer	Böbrek	Solungaç
18 °C	2,91 ± 1,09 ^e	1,56 ± 0,76 ^c	2,52 ± 1,14 ^e
23 °C (Kontrol)	1,49 ± 0,71 ^b	1,50 ± 0,57 ^{b,c}	1,97 ± 0,89 ^b
28 °C	3,45 ± 1,25 ^f	2,67 ± 1,10 ^e	3,92 ± 0,99 ^f
18 °C + Po	1,69 ± 0,86 ^c	1,43 ± 0,57 ^b	2,19 ± 0,86 ^c
23 °C + Po	1,24 ± 0,54 ^a	1,35 ± 0,69 ^a	1,72 ± 0,65 ^a
28 °C + Po	2,33 ± 1,22 ^d	1,93 ± 0,67 ^d	2,37 ± 0,84 ^d

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

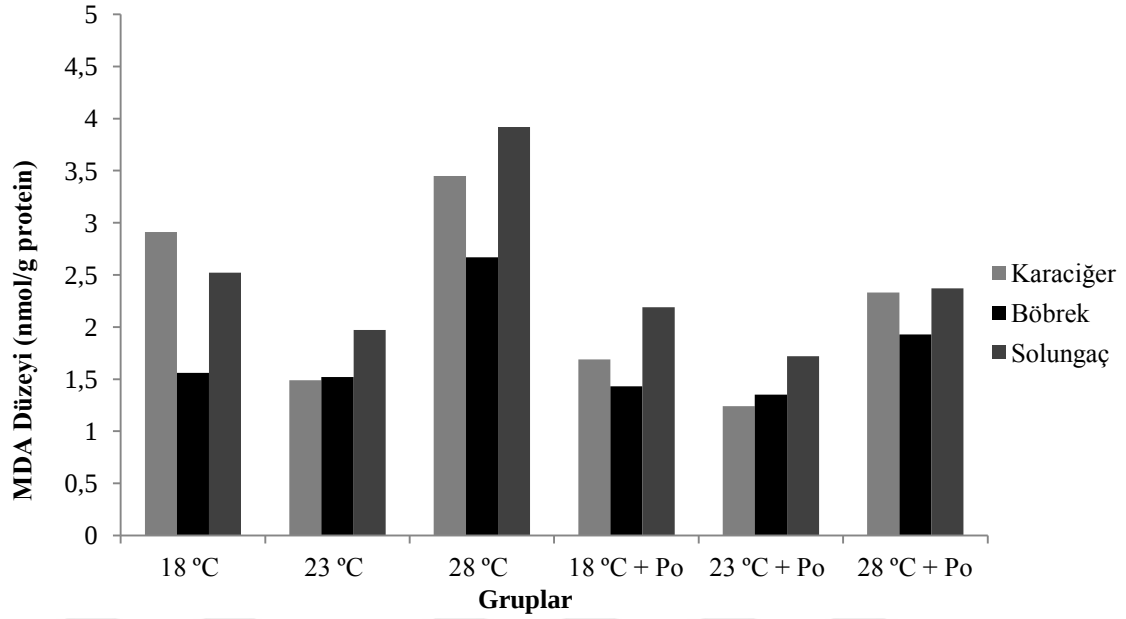
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

18 °C + Po: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

23 °C + Po: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

28 °C + Po: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup.

a,b,c,d,e Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0,05$).



Şekil 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeyleri.

3.5. Redükte Glutasyon (GSH) Düzeyindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.3 ve Şekil 3.5).

Kontrol grubu (23 °C)' ulla kıyaslandığında, kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeylerinde belirlenen artış istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulundu.

Kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla, 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıklarda karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı ($p < 0,05$) belirlendi.

18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan gruplarla kıyaslandığında 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeylerinin istatistiksel olarak arttığı ($p < 0,05$) tespit edildi. Fakat her iki grubun (18 °C + Po ve 28 °C + Po) karaciğer ve böbrek dokusundaki GSH düzeyi artmasına rağmen yinede kontrol grubundan düşük bulunurken, solungaç dokusunun GSH düzeyi kontrol grubundan yüksek bulundu.

Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç redükte glutatyon (GSH, $\mu\text{mol/g}$ protein) düzeylerinde belirlenen değişimler.

Gruplar	Karaciğer	Böbrek	Solungaç
18 °C	29,95 $\pm$ 7,14 ^b	33,75 $\pm$ 7,01 ^b	11,98 $\pm$ 3,87 ^b
23 °C (Kontrol)	40,21 $\pm$ 8,91 ^d	45,85 $\pm$ 7,94 ^e	14,69 $\pm$ 2,21 ^c
28 °C	23,75 $\pm$ 7,31 ^a	26,94 $\pm$ 6,19 ^a	10,53 $\pm$ 3,41 ^a
18 °C + Po	38,81 $\pm$ 7,28 ^d	40,97 $\pm$ 7,55 ^d	19,04 $\pm$ 3,57 ^e
23 °C + Po	52,31 $\pm$ 9,71 ^e	54,96 $\pm$ 6,75 ^f	23,67 $\pm$ 3,61 ^f
28 °C + Po	35,59 $\pm$ 6,78 ^c	37,58 $\pm$ 7,89 ^c	17,53 $\pm$ 3,93 ^d

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

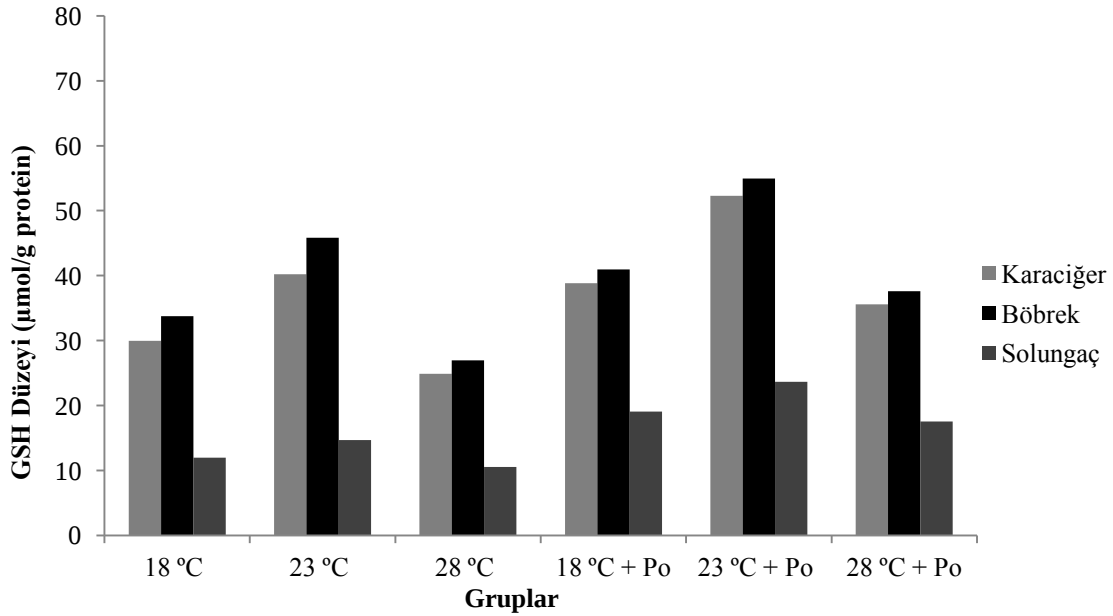
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

18 °C + Po: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

23 °C + Po: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

28 °C + Po: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup.

a,b,c,d,e Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 3.5. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç GSH düzeyleri.

3.6. Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi (Tablo 3.4. ve Şekil 3.6.).

Kontrol grubu (23 °C)' yla kıyaslandığında, kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı ($p < 0,05$) tespit edildi.

Kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla, 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıklarda karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı ($p < 0,05$) belirlendi.

18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan gruplarla kıyaslandığında, 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po) ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan (28 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı ($p < 0,05$), fakat yinede kontrol grubundan düşük olduğu tespit edildi.

Tablo 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç glutasyon-s-transferaz (GST, $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$) aktivitelerinde belirlenen değişimler.

Gruplar	Karaciğer	Böbrek	Solungaç
18 °C	96,43 $\pm$ 19,62 ^a	98,71 $\pm$ 16,30 ^b	105,06 $\pm$ 15,92 ^b
23 °C (Kontrol)	125,61 $\pm$ 17,21 ^d	130,96 $\pm$ 18,91 ^d	119,81 $\pm$ 17,53 ^c
28 °C	93,78 $\pm$ 18,44 ^a	92,59 $\pm$ 15,02 ^a	99,53 $\pm$ 18,74 ^a
18 °C + Po	118,48 $\pm$ 18,11 ^c	118,58 $\pm$ 15,57 ^c	116,48 $\pm$ 11,43 ^c
23 °C + Po	137,29 $\pm$ 23,87 ^e	146,49 $\pm$ 20,10 ^e	132,69 $\pm$ 17,35 ^d
28 °C + Po	105,73 $\pm$ 17,64 ^b	102,47 $\pm$ 17,85 ^b	115,73 $\pm$ 16,74 ^c

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

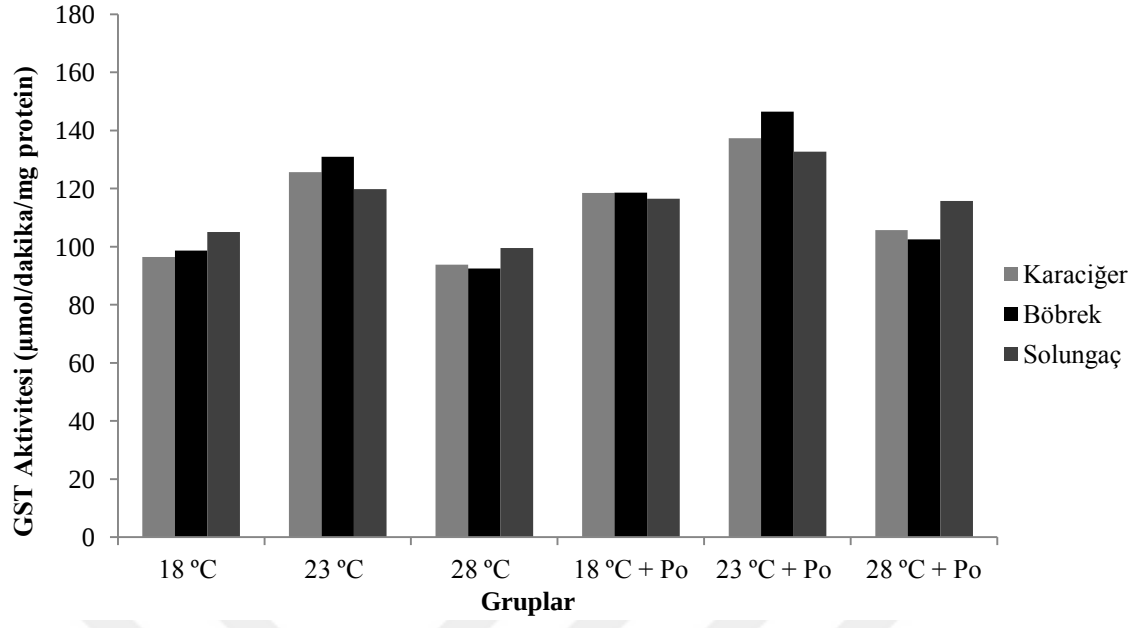
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanmayan balıklar,

18 °C + Po: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

23 °C + Po: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup,

28 °C + Po: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve % 2,5 (w/w) oranında polen içeren yem verilen grup.

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0,05$).



Şekil 3.6. Kontrol ve deneme grubu balıklarında karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktiviteleri

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Balıklarda nonspesifik immun direncin en önemli basamağını oluşturan fagositoz kemotaksis, opsonizasyon, absorpsiyon, intraselüler yıkım ve sindirim gibi birçok safhada gerçekleşmektedir. Fagositozda birinci derecede görev alan makrofajlar ve polimorfnükleer lökositler (özellikle nötrofiller) respiratory burst (solunum patlaması) sırasında reaktif oksijen türleri üretirler. Nötrofillerin oksidatif radikal üretimi yani bir başka ifadeyle ürettikleri reaktif oksijen türlerinin miktarı, nötrofillerin fagositik aktivitesinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. Bunun için de en çok kullanılan yöntemlerin başında NBT testi gelmektedir (Siwicki ve Studnicka, 1987). Tilapia (*Oreochromis niloticus*)' larda yapılmış bir çalışmada balıkların fagositik hücre (nötrofil ve monositler) sayısının polen uygulamasıyla arttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Mişe Yonar vd., (2014) tarafından yapılan çalışmada, güçlü bir antioksidan ve immunostimulan olan ayrıca yapısındaki bileşiklerle polene benzerlik gösteren propolisin uygulandığı sazanlarda NBT aktivitesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada da kontrol grubu (23 °C) balıklarıyla kıyaslandığında kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan, diğer bir ifadeyle sıcaklık değişimlerinden bağımsız olarak yalnız polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıklarda, NBT aktivitesinin yükseldiği tespit edilmiş, elde edilen bu sonuç yukarıdaki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiştir.

Diğer taraftan Ndong vd. (2007) 27 °C' ye adapte edilmiş tilapia (*Oreochromis mossambicus*)' larda sıcaklığın 19 ve 23 °C' ye düşürülmesi ve yine sıcaklığın 31 ve 35 °C' ye yükseltilmesi sonucunda spesifik ve nonspesifik bağışıklık parametrelerinde meydana gelen değişimleri araştırmışlardır. 12, 24, 48 ve 96 saat sonunda balıklardan alınan örneklerde, NBT testi kullanılarak belirlenen respiratory burst aktivitesinin 24, 48 ve 96 saatlerde, fagositik aktivitenin ise 12. saatten itibaren hem düşük hem de yüksek sıcaklıklarda tutulan balıklarda azaldığı belirlenmiştir. Yine bu çalışmada 48. saatten sonra düşük sıcaklıklarda tutulan balıkların fagositik aktivitesinin normal seviyeye geldiği fakat yüksek sıcaklıklarda tutulan balıklarda böyle bir sonucun gözlemlenmediği ifade edilmiştir. Bu araştırmacının elde ettiği bulguların aksine Nikoskelainen vd. (2004), gökkuşağı alabalığında respiratory burst aktivitesinin sıcaklıkla arttığını, Dittmar vd., (2014) ise 13, 18 ve 24 °C' de stoklanmış *Gasterosteus aculeatus* türü balıklarda

respiratory burst aktivitesinin ve lenfosit proliferasyonunun düşük sıcaklıkta arttığını, yüksek sıcaklıkta azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların NBT aktivitesi istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış, 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıklarda ise önemsiz bir şekilde azalmıştır. Diğer çalışmalardan elde edilen bulgularla bu çalışmadan elde edilen bulgular arasındaki farklılığın nedeni balığın türü, sıcaklık değerlerindeki farklılık ve sıcaklığın uygulanma süresi olabilir.

Toplam plazma proteini nonspesifik immun sistemin (Jeney vd., 1997), immunoglobulinler ise spesifik bağışıklığın en önemli humoral unsuru olarak kabul edilmektedir (Siwicki vd., 1994). Memelilerde beş farklı immunoglobulin sınıfı bulunurken (Diker, 1998; Arda vd., 1994), balıklarda bunlardan sadece IgM' nin varlığı kesin olarak belirlenmiştir (Darson, 1981; Tizard, 1992). Bu çalışmada kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan balıklarda, TP ve TI düzeylerinin yükseldiği gözlemlenmiştir. Benzer sonuçlar bazı araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir. Örneğin; farklı oranlarda polen içeren yemlerin uygulandığı tilapia (*Oreochromis niloticus*)' ların total plazma protein düzeyinde belirlenen artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (El-Asely vd., 2014). Benzer şekilde Yonar (2008), oral ve enjeksiyon yoluyla 2,5 mg, 5 mg ve 10 mg/kg balık oranında propolis uyguladığı bir çalışmada, alabalıkların toplam immunoglobulin düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını bulmuştur.

Ayrıca bu çalışmada 18 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların TP ve TI düzeyleri istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmış, 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan balıklarda ise önemsiz bir şekilde artmıştır. Balıklarda bağışıklığın humoral faktörlerinin yüksek sıcaklıkla arttığı belirtilmiştir (Ndong vd., 2007). Langston vd. (2002), Nikoskelainen vd. (2004) ve Holland vd. (2002) lizozim, C-raktif protein ve komplement aktivitesi gibi humoral faktörlerin balıklarda artan sıcaklıkla yükseldiğini ifade ederken, buna karşılık olarak lizozim aktivitesinin düşük sıcaklığa transfer edilen çipuralarda azaldığı belirtilmiştir (Tort vd., 1998; Tort vd., 2004). Genel bir fenomen olarak poikloterm bir canlı olan balıklarda su sıcaklığı ve antikor düzeyi arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Bu fenomen *Dicentrarchus labrax*, *Oreochromis aureus*, *Paralichthys olivaceus*, *Hippoglossus hippoglossus*, *Plecoglossus altivelis*, *Oreochromis niloticus*, *Gadus morhua* ve *Scophthalmus maximus* türlerini de içeren bir çok balık türünde kanıtlanmıştır. Bununla birlikte balıklarda nonspesifik bağışıklık düşük sıcaklıkta

daha fazla aktivite gösterirken, spesifik başışıklık ise yüksek sıcaklıkta daha fazla aktive olmaktadır (Makrinos ve Bowden, 2016). Yukarıda ifade edilen çalışmalarla uyumlu bir şekilde bu çalışmada da dūřuk sıcaklıkla TP ve TI dūzeyi azalmıştır. Fakat yüksek sıcaklığın bu parametrelere istatistiksel olarak herhangi bir etkisi belirlenememiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara bakılarak, sazanlarda etkili bir immün fonksiyon için sıcaklığın optimal sınırlar içinde olması gerektiği ve bu sıcaklığın 23 °C olduğu, dūřuk ve yüksek sıcaklığın immün parametrelerde dalgalanmalara yol açtığı (Makrinos ve Bowden, 2016) sūylenbilir. Bununla birlikte dūřuk ve yüksek sıcaklıklarla birlikte polen uygulanan 18 °C + Po ve 23 °C + Po grubu balıklarda, polen uygulamasının bir sonucu olarak sıcaklık farklılıklarının yol açtığı immün parametrelerdeki dalgalanmalar engellenebilir. Diđer taraftan kontrol grubu (23 °C) balıklarıyla kıyaslandığında kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan, diğer bir ifadeyle sıcaklık değişimlerinden bağımsız olarak yalnız polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıklarda incelenen tūm immün parametreler yūkseldiđi için polenin sazanlarda bir immünostimulan olarak kullanılabileceği sūylenbilir.

Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan serbest radikaller proteinlerin, lipidlerin, karbohidratların ve nūkleik asitlerin yıkımına sebep olabilirler. Bununla birlikte DNA' ya zarar verme, enzimlerin aktivasyonunu ve membran geçirgenliğini bozarma diğer olumsuz etkileridir. Doymamış yađ asitlerinin oksidatif yıkımıyla meydana gelen lipid peroksidasyon sonucu açığa çıkan aldehitlerden biri olan MDA, hūcrelerde oluşan oksidatif zararın en önemli gūstergelerinden birisidir (Bragadottir, 2001; Benzer, 2001; Morales vd., 2004; Fontagné vd., 2006). Bu çalışmada da karaciğer, bōbrek ve solungaç dokusunda, farklı su sıcaklıkları uygulamasıyla meydana gelen oksidatif stresin belirlenmesi için MDA dūzeyindeki değişimler araştırılmıştır.

Dastan vd., (2017) 96 saat sūreyle 0,5, 2,5, 5, 10, 20 ve 30 ppm konsantrasyonlarındaki polenin, alabalıklarda karaciđer MDA dūzeyini tūm deneysel gruplarda, dalak ve kalp MDA dūzeyini ise 0,5 ppm grubu dıřındaki tūm deneysel gruplarda dūřūrdūđūnū tespit etmiřlerdir. Bu arařtırmacıların elde ettiđi sonucun aksine Ferreira vd. (2012) bir fungusit olan tebukonazolūn etkisindeki *Rhamdia quelen* tūrū balıklarda, yalnız polenin uygulandıđı grubun karaciđer, bōbrek ve beyin MDA dūzeylerinde istatistiksel herhangi bir farklılık belirlememiřlerdir. Bu çalıřmada da Dastan vd. (2017) tarafından elde edilen sonuçlara paralel olarak, kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta

tutulan ve polen uygulanan gruptaki (23 °C + Po) balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir.

Su sıcaklığının balıklarda oluşturduğu stres konusunda bazı çalışmalar yapılmıştır. Örneğin; Kontrol (24 °C) grubuna göre 20 °C ve 28 °C' lik sıcaklıkların uygulandığı pullu sazanın karaciğer ve böbrek dokusundaki MDA düzeyinin önemli düzeyde arttığı ifade edilmiştir (Mişe Yonar vd., 2013). Benzer şekilde Vinagre vd. (2012), 16 °C' ye adapte ettikleri deniz levrekleri (*Dicentrarchus labrax*)' nde su sıcaklığının 18, 24 ve 28 °C' ye yükseltilmesiyle kas MDA düzeyinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Roche ve Bogé (1996) aynı balık türünde oksidatif stres üzerine sıcaklığın etkisini araştırdıkları çalışmalarında, lipid peroksidasyon ve katalaz aktivitesinin termal stresle arttığını bulmuşlardır. Hwang ve Lin (2002) tarafından yapılan bir çalışmada da 25 °C ve 35 °C' de 10 hafta için ayrı ayrı kültür edilen sazanlarda hepatopankreas ve kas dokusundaki TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) düzeyinin 35 °C' de tutulan balıklarda 25 °C' de tutulanlara kıyasla arttığı, bu balıklara vitamin C uygulamasıyla bu olumsuzluğun giderildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan düşük sıcaklığın balıklarda oluşturduğu oksidatif stres de araştırılmıştır. Örneğin 11 °C' den 8 °C' ye sıcaklığın düşürülmesiyle strese sokulmuş salmonların karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki lipid peroksidasyon düzeyleri araştırılmış, 48. saatten itibaren MDA düzeyindeki artış en yüksek böbrekte en az karaciğerde belirlenmiştir. Bunun nedeni de karaciğerde vitamin E düzeyinin yüksek, böbrekte ise düşük olmasına bağlanmıştır (Welker ve Congleton, 2004). Bu çalışmada da kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıkta tutulan fakat polen uygulanmayan grupta MDA düzeyi istatistiksel olarak artmış ve yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla paralel bulunmuştur. Fakat düşük (18 °C) ve yüksek (23 °C) sıcaklıklarda tutulan balıklara kıyasla, düşük ve yüksek sıcaklıklarda tutulan ve polen uygulanan (18 °C + Po ve 28 °C + Po) balıklarda MDA düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Polenin bu etkisi onun güçlü radikal temizleyici fonksiyonuyla (Eraslan vd., 2009) ve yapısında bulunan fenolik maddelerle (Leja vd., 2007) açıklanabilir.

Balıklarda antioksidanlar diğer yüksek omurgalılarda olduğu gibi enzimatik ve non-enzimatik olarak sınıflandırılırlar. Balıklarda bulunan antioksidan enzimler, süperoksit radikali (O_2^-)' ni temizleyen süperoksid dismutaz (SOD), hidrojen peroksit (H_2O_2)' i temizleyen katalaz (CAT), H_2O_2 ve lipid hidroperoksitleri yok eden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile glutatyona bağlı diğer enzimlerdir (Belló vd., 2000; Mourente vd., 2002; Puangkaew vd., 2005).

Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif stresten koruyan tripeptit karakterdeki GSH, çok önemli bir antioksidan olup non-enzimatik ve endojen özelliktedir. Protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutan GSH böylece çoğu protein ve enzimin inaktive olmasını önler (Hayes and McLellan 1999). Diğer taraftan GSH ile birlikte elektrofilik gruplar arasındaki konjugasyonu katalizleyen GST, ksénobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda görevli faz II enzim ailesinin bir üyesidir (Hamed vd., 2003). Bu çalışmada kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan balıklarda (23 °C + Po), GSH düzeyinin ve GST aktivitesinin kontrol grubuna (23 °C) göre arttığı belirlenmiştir. Aynı gruptaki balıkların MDA düzeyindeki düşüşle de ilişkili olarak antioksidan parametrelerde belirlenen bu artış polenin güçlü bir antioksidan olduğunu ve antioksidan kapasiteyi arttırdığını göstermektedir (Eraslan vd., 2009). Dastan vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, alabalıkların karaciğer, dalak ve kalp dokusundaki total serbest sülfirid grup düzeylerinin polenin uygulamasıyla arttığı, polenin toplam antioksidan kapasiteyi (TAS) artırarak total oksidan kapasiteyi (TOS) düşürdüğü belirlenmiştir. Ferreira vd. (2012) ise *Rhamdia quelen* türü balıklarda, polen uygulamasıyla karaciğer GST aktivitesinin arttığı, böbrek GST aktivitesinin düştüğü, beyin dokusundaki GST aktivitesinin ise etkilenmediğini ifade etmişlerdir. Yukarıda adı geçen araştırmacıların elde ettiği sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur.

Diğer taraftan bu çalışmada düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan fakat polen uygulanmayan balıkların karaciğer, böbrek ve solungacındaki GSH düzeyi, kontrol grubu (23 °C)' na göre düşük bulunmuştur. Hwang ve Lin (2002) 25 °C su sıcaklığında tutulan sazanlara kıyasla 35 °C' de tutulanların hepatopankreas ve kas dokusundaki GSH düzeylerinin azaldığını ifade etmişlerdir. Kısa süreli yüksek sıcaklık uygulanan *Heteropneustes fossilis* türü balıklarda solungaç GSH-Px aktivitesi ve GSH düzeyi azalmıştır (Parihar vd., 1997). Benzer şekilde yine düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan ancak polen uygulanmayan grupların karaciğer, böbrek ve solungacındaki GST aktivitesinin bu çalışmada azaldığı belirlenmiştir. *Paralichthys olivaceus* türü balıkların karaciğerindeki süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitesinin kontrol grubuna (25 °C) göre 28, 30 ve 32°C' deki deneme gruplarında uygulamanın 13. ve 19. günlerinde düştüğü belirlenmiştir (Lou vd., 2011). Kaur vd. (2005) 3 saat için sıcaklığın 12 °C artırılmasıyla 32 °C' de strese sokulmuş *Channa punctata* türü balıklarda karaciğer, böbrek ve solungaç GST enzim aktivitesinin kontrol grubu (20 °C)' na

göre azaldığını göstermişlerdir. Fakat bu çalışmada düşük ve yüksek sıcaklıklarda tutulan ancak polen uygulanan balıkların (18 °C + Po ve 28 °C + Po) karaciğer, böbrek ve solungacındaki GSH düzeyi ve GST aktivitesinin polen uygulanmayanlara (18 °C ve 28 °C) kıyasla arttığı bulunmuştur. Bunun nedeni kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan grupta da (23 °C + Po) gösterildiği gibi polenin serbest radikalleri temizlemesi ve antioksidan kapasiteyi arttırmasının bir sonucu olabilir.



5. ÖNERİLER

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, düşük ve yüksek sıcaklık immun parametrelerde dalgalanmalara sebep olmuştur. Bununla birlikte sıcaklığın azalması ve artması karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda MDA düzeyini arttırarak oksidatif strese yol açmıştır. Ayrıca sıcaklığın azaldığı ve arttığı grupların karaciğer, böbrek ve solungacında GSH düzeyi ve GST aktivitesi kontrol grubuna göre azalmıştır. Fakat polen uygulamasının bir sonucu olarak sıcaklık farklılıklarının yol açtığı immun parametrelerdeki dalgalanmalar giderilmiştir. Yine sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak polen uygulanan gruplarda MDA düzeyi, buna bağlı olarak da oksidatif stresin şiddeti kısmen engellenmiştir. Diğer taraftan sıcaklığın azaldığı ve arttığı gruplara polen uygulanmasıyla karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunun GSH düzeyi ve GST aktivitesi, uygulanmayanlara kıyasla artmıştır. Kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta tutulan ve polen uygulanan balıkların hem immunolojik ve hem de antioksidan parametreleri kontrol grubuna göre yükselmiş, polenin bu parametreleri olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar sıcaklık farklılıklarının balıkların fizyolojisi üzerine güçlü etkilerinin olduğunu tekrar kanıtlamıştır. Ayrıca;

Balıkların özellikle optimum aralıklar dışındaki çevresel sıcaklığa oldukça duyarlı olduğu,

İmmun sistemin ve antioksidanların etkilerinin su sıcaklığıyla değiştiği,

Polenin su sıcaklığının neden olduğu immun ve antioksidan parametreler üzerindeki olumsuz etkileri önleyebileceği,

Polenin balıklarda bir immunostimulan ve antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna varılabilir.

Fakat farklı balık türlerinde, farklı sıcaklık ve süreler için farklı dozlarda ve polen uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbass, A.A., El-Asely, A.M. and Kandiel, M.M.M.,** 2012. Effects of dietary propolis and pollen on growth performance, fecundity and some hematological parameters of *Oreochromis niloticus*, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **12**, 851-859.
- Akkuş, İ.,** 1999. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alpbaz, A.,** 2005. Su Ürünleri Yetiştiriciliği (II. Baskı), Alp Yayınları, Bornova/İzmir.
- Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M. ve Diker, K.S.,** 1994, İmmunoloji. Medisan Yayınevi, Ankara.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M.** 2005. Balık Hastalıkları, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Avşar, D.,** 2005. Balıkçılık Biyolojisi ve Popülasyon Dinamiği, Nobel Kitapevi, Ankara.
- Babior, B.M.,** 1978. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes, *The New England Journal of Medical*, **298**, 659-667.
- Belló, A.R.R., Fortes, E., Belló-Klein, A., Belló, A.A., Llesuy, S.F., Robaldo, R.B. and Bianchini, A.,** 2000. Lipid Peroksidasyon induced by *Clinostomum detrunctum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*, *Diseases of Aquatic Organisms*, **42**, 233-236.
- Benzer, F.,** 2001. Fasciola Hepatica ile Enfekte Koyunların Kan ve Karaciğer Dokularında Arginaz, Nitrik Oksit, Bazı Antioksidant Enzimler ve Lipid Peroksidasyon Düzeyleri ile Karaciğer Arginaz Enziminin Biyokimyasal Özellikleri, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Bragadottir, M.,** 2001. Endogenous antioxidants in fish, master of science in food science, Department of Food Science University of Iceland.
- Buchtíková, S., Šimková, A., Rohlenová, K., Flajšhans, M., Lojek, A., Lilius, E.M. and Hyršl, P.,** 2011. The seasonal changes in innate immunity of the common carp (*Cyprinus carpio*), *Aquaculture*, **318**, 169-175.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F.,** 1993. An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*, **49**, 481-493.
- Cirik, S. ve Cirik, Ş.,** 1999. Limnoloji Ders Kitapları Serisi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir.
- Çağıltay, F.,** 2007. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

- Çakır Atabek, H.**, 2012. Şiddeti Giderek Artan Direnç Egzersizin Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Direnç Egzersiz Antrenmanı Yapan ve Yapmayan Bireylerde İncelenmesi. *Doktora Tezi*, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Çankaya, N. ve Korkmaz, A.**, 2008. Polen. Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayın Şubesi Yayını, Samsun.
- Dalmo, R.A., Ingebrigtsen, K. and Bogwald, J.**, 1997. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES), *Journal of Fish Diseases*, **20**, 241-273.
- Darson, M.**, 1981. Role and characterization of fish antibody, *Developmental Biological Standardisation*, **49**, 307-319.
- Dastan, S.D., Gulhan, M.F., Selamoglu, Z., Dastan, T.**, 2017. The determination of different effective concentration of ethanolic extract of bee pollen on biochemical analysis in liver, spleen and heart tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **16(1)**, 326-340.
- Demir, N.**, 1992. İhtiyoloji, İ.Ü. Yayınları, İstanbul.
- Dikel, S.**, 2009. Su Sıcaklığının Balık Yetiştiriciliğine Etkisi, *Alinteri*, **16 (B)**, 42-49.
- Diker, S.**, 1998. İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Dikici, İ.**, 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- Dittmar, J., Janssen, H., Kuske, A., Kurtz, J. and Scharsack, J.P.**, 2014. Heat and immunity: an experimental heat wave alters immune functions in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*), *Journal of Animal Ecology*, **83**, 744-757.
- El-Asely, A.M., Abbass, A.A. and Austin, B.**, 2014. Honey bee pollen improves growth, immunity and protection of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against infection with *Aeromonas hydrophila*, *Fish and Shellfish Immunology*, **40**, 500-506.
- Ellis A.E.**, 1999. Immunity to bacteria in fish, *Fish and Shellfish Immunology*, **9**, 291-308.
- Ellis, A.E.**, 1976. Leucocytes and related cells in the plaice (*Pleuronectes platessa*), *Journal of Fish Biology*, **8**, 143-156.
- Ellis, A.E.**, 1977. The leucocytes of fish: a review, *Journal of Fish Biology*, **11**, 453-491.

- Ellis, A.E.**, 1981. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes, *Developmental Biological Standardisation*, **49**, 337-352.
- Ellis, A.E.**, 1988. Vaccination against enteric redmouth (ERM). In: Ellis, A.E. (ed) Fish vaccination, Academic Press, London, 85-92 pp.
- Ellman, G.L.**, 1959. Tissue sulphhydryl groups, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **82**, 70-77.
- Eraslan, G., Kanbur, M. and Silici, S.**, 2009. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen, *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 86-91.
- Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S.**, 2009. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen, *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 86-91.
- Ferreira, D., Unfer, T.C., Rocha, H.C., Kreutz, L.C., Gessi Koakoski, G., Barcellos, L.J.G.**, 2012. Antioxidant activity of bee products added to water in tebuconazole-exposed fish, *Neotropical Ichthyology*, **10(1)**, 215-220.
- Fişne, A.**, 2016. Trabzon yöresi ballarında polen analizi. *Doktora Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T. and Bergot, P.**, 2006. Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae, *Aquaculture*, **257**, 400-411.
- Grinde, B., Lie, Ø., Poppe, T. and Salte, R.**, 1988. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture, *Aquaculture*, **68**, 299-304.
- Gülhan, M.F.**, 2014. Nitrik oksit sentaz blokajı ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda propolis, cape ve polen'in kan basıncı, adma, NF-KB ve paraoksanaz düzeylerine etkileri. *Doktora Tezi*, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Niğde.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B.**, 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, **249 (71)**, 30-7139.
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E. and Abdalla, A.M.**, 2003. Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution, *The Environmentalist*, **23**, 313-322.
- Hayes, J.D. and McLellan, L.I.** 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stres, *Free Radical Research*, **31**, 273-300.

- Heise, K., Puntarulo, S., Nikinmaa, M., Abele, D. and Pörtner, H.O.,** 2006. Oxidative stress during stressful heat exposure and recovery in the North Sea eelpout *Zoarces viviparus* L., *Journal of Experimental Biology*, **209**, 353-363.
- Holland, M.C.H. and Lambris, J.D.,** 2002, The complement system in teleosts, *Fish and Shellfish Immunology*, **12**, 399-420.
- Hwang, D.F. and Lin, T.K.,** 2002. Effect of temperature on dietary vitamin C requirement and lipid in common carp, *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **131(1)**, 1-7.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z. and Anderson, D. P.,** 1997. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan, *Aquaculture*, **154**, 1-15.
- Jiang, Q, Goetz, F.W and Place, A.R.,** 2004. Chitinase a new member of the fish innate immune repertoire. Sixth International Symposium on Fish Immunology, May 24-29, Turku, Finland. Poster 14 (handbook), 51 p.
- Jolles, P. and Jolles, J.,** 1984. What's new in lysozyme research? Always a model system, today as yesterday, *Molecular Cell Biochemistry*, **63**,165-89.
- Kaur, M., Atif, F., Ali, M., Rehman, H. and Raisuddin, S.,** 2005. Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch, *Journal of Fish Biology*, **67**, 1653-1665.
- Kaya, E.,** 2005. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Isparta.
- Köse, K. ve Doğan, P.,** 1992. Lipit peroksidasyonu, *Erciyes Tıp Dergisi*, **1**, 340-350.
- Lange, S.R, Bambir, S., Dodds, A.W. and Magnadottir, B.,** 2004a. An immunohistochemical study on complement component C3 in juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), *Developmental and Comparative Immunology*, **28**, 593-601.
- Lange, S.R., Bambir, S., Dodds, A.W. and Magnadotti, B.,** 2004b. The ontogeny of complement component C3 in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) an immunohistochemical study, *Fish and Shellfish Immunology*, **16**, 359-367.
- Langston, A.L., Hoare, R., Stefansson, M., Fitzgerald, R., Wergeland, H. and Mulcahy, M.,** 2002. The effect of temperature on non-specific defence parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), *Fish and Shellfish Immunology*, **12**, 61-76.
- Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik, G., Klepacz-Baniak, J. and Czekońska, K.,** 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species, *Food Chemistry*, **100(1)**, 237-240.

- Lou, B., Xu, D., Xu, H., Zhan, W., Mao, G. and Shi, H.,** 2011. Effect of high water temperature on growth, survival and antioxidant enzyme activities in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *African Journal of Agricultural Research*, **6(12)**, 2875-2882.
- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L. and Randal, R.J.,** 1951. Protein measurement with folinphenol reagent, *Journal of Biochemistry*, **193**, 265-275.
- Lushchak, V.I. and Bagnyukova, T.V.,** 2007. Hypoxia induces oxidative stress in tissues of a goby, the rotan *Perccottus glenii*, *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **148(4)**, 390-397.
- Lushchak, V.I.,** 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals, *Aquatic Toxicology*, **101(1)**, 13-30.
- Lushchak, V.I.,** 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, **224**, 164-75.
- Magnadottir, B.,** 2006. Innate immunity of fish (overview), *Fish and Shellfish Immunology*, **20**, 37-151.
- Magnadottir, B., Lange, S., Gudmundsdottir, S., Bogwald, J. and Dalmo, R.A.,** 2005. Ontogeny of humoral immune parameters in fish, *Fish and Shellfish Immunology*, **19**, 429-439.
- Makrinos, D.L. and Bowden, T.J.,** 2016. Natural environmental impacts on teleost immune function, *Fish and Shellfish Immunology*, **53**, 50-57.
- Malek, R.L., Sajadi, H., Abraham, J., Grundy, M.A. and Gerhard, G.S.,** 2004. The effects of temperature reduction on gene expression and oxidative stress in skeletal muscle from adult zebrafish, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **138(3)**, 363-373.
- Martinez-Álvarez, R.M., Morales, A.E. and Sanz, A.,** 2005, Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors, *Fish Biology and Fisheries*, **15**, 75-88.
- McL Pres, C. and Evensen, Q.,** 1999, The morphology of the immune system in teleost fishes, *Fish and Shellfish Immunology*, **9**, 309-318.
- Mişe Yonar, S., Ural, MŞ., Silici, S. and Yonar, M.E.,** 2014. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of propolis, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **102**, 202–209.
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Sağlam, N. ve S. Silici, S.,** 2013. Farklı su sıcaklıklarında tutulmuş pullu sazan (*Cyprinus carpio carpio* linnaeus, 1758)’nın karaciğer ve böbreğindeki bazı antioksidan parametreler üzerine propolisin etkisi, *Menba, Kastomunu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **1**, 11-16.

- Morales, A.E., Pèrez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Gabriel C.G., 2004.** Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **139(1-3)**, 153-161.
- Mourente, G., Diaz-Salvago, E., Bell, J.G. and Tocher, D.R., 2002.** Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E, *Aquaculture*, **214**, 343-361.
- Murai, T., Kodama, H., Naiki, M., Mikami, T. and Izawa, H., 1990.** Isolation and characterization of rainbow trout C-reactive protein, *Developmental and Comparative Immunology*, **14**, 49-58.
- Nakanishi, Y., Kodama, H., Murai, T., Mikami, T. and Izawa, H., 1991.** Activation of rainbow trout complement by C-reactive protein, *American Journal of Veterinary Research*, **52**, 397-401.
- Ndong, D., Chen, Y., Lin, Y., Vaseeharan, B. and Chen, J., 2007.** The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures, *Fish and Shellfish Immunology*, **22**, 686-694.
- Nikoskelainen, S., Bylund, G. and Lilius, E.M., 2004.** Effect of environmental temperature on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) innate immunity, *Development and Comparative Immunology*, **28**, 581-592.
- Parihar, M.S. and Dubey, A.K., 1995.** Lipid peroxidation and ascorbic acid status in respiratory organs of male and female freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to temperature increase, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **112(3)**, 309-313.
- Parihar, M.S., Javeri, T., Hemnani, T., Dubey, A.K., and Prakash, P., 1997.** Responses of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the fresh water catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature, *Journal of Thermal Biology*, **22**, 151-156.
- Peleteiro, M.C. and Richards, R.H., 1990.** Phagocytic cells in the epidermis of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Journal of Fish Diseases*, **13**, 225-232.
- Placer, Z.A., Cushman, L. and Johnson, B.C., 1966.** Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids, *Analytical Biochemistry*, **16**, 359-364.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T., 2005.** Antioxidant Defense of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Relation to Dietary n-3 Highly Unsaturated Fatty Acids and Vitamin E Contents, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **140**, 187-196.

- Roberts, R.J.**, 1978. Fish Pathology, Bailliere Tindal, London, 368 p.
- Roche, H. and Boge, G.**, 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication, *Marine Environmental Research*, **41**, 27-43.
- Sakai, M.**, 1999. Current research status of fish immunostimulants, *Aquaculture*, **172**, 63-92.
- Siwicki, A. and Studnicka, M.**, 1987. The phagocytic ability of neutrophils and serum lysozyme activity in experimentally infected carp *Cyprinus carpio* L, *Journal of Fish Biology*, **31**(A), 57-60.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Rumsey, G.L.**, 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against frunculosis, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **41**, 125-139.
- Tanyolaç, J.**, 2004. Limnoloji, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Tizard, I.**, 1992. Veterinary Immunology an Introduction. W.B. Saunders Company, Pennsylvania, 498 p.
- Tort, L., Rotllant, J. and Roviva, L.**, 1998. Immunological suppression in gilthead sea bream *Sparus aurata* of the north-west Mediterranean at low temperatures, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **120**, 175-179.
- Tort, L., Rotllant, J., Liarte, C., Acerete, L., Hernández, A., Ceulemans, S., Coutteau, P. and Padros, F.**, 2004. Effect of temperature decrease on feeding rates, immune indicators and histopathological changes of gilthead sea bream *Sparus aurata* fed with an experimental diet, *Aquaculture*, **229**, 55-65.
- Tümerdem, Ç.**, 2016. Beypazarı ballarında polen analizi. *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Van Muiswinkel, W.B.**, 1992. Fish immunology and fish health, *Netherlands Journal of Zoology*, **42**, 494-499.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N. and Diniz, M.**, 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*, *Ecological Indicators*, **23**, 274-279.
- Welker, T.L. and Congleton, J.L.**, 2004. Oxidative stress in juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum), *Aquaculture Research*, **35**, 881-887.

- Xu, X., Sun, L., Dong, J. and Zhang, H.** 2009. Breaking the cells of rape bee pollen and consecutvive extraction of functional oil with superficial carbon oxide, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **10**, 42-46.
- Yanbeyi, S.**, 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yang, X., Guo, D., Zhang, J. and Wu, M.**, 2007. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide, *International Immunopharmacology*, **7(3)**, 401-408.
- Yonar, M.E.**, 2008. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın tedavisinde propolisin kullanılması, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 01.01.1989 tarihinde doğdum. İlk orta ve lise öğrenimimi ise Elazığ'da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ni 2011 yılında kazandım. Bu fakülteden 2014 yılında mezun oldum. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda 2014 yılında yüksek lisans yapmaya başladım. Halen bu eğitimim devam etmektedir.



Merve TAŞKAN