

**BAKIR SÜLFAT UYGULANAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM,1792)’NDA BAZI İMMUN
VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE SPİRULİNA’NIN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Hacı Bayram GÖKHAN

**Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Programı: Hastalıklar**

**Danışman: Prof. Dr. Naim SAĞLAM
İkinci Danışman: Prof. Dr. Seval YILMAZ**

OCAK -2015

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

**BAKIR SÜLFAT UYGULANAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*,
WALBAUM,1792)’NDA BAZI İMMUN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE
SPİRULİNA’NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Yük. Müh. Hacı Bayram GÖKHAN

(05128201)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Programı: Hastalıklar

Danışman: Prof. Dr. Naim SAĞLAM

İkinci Danışman: Prof. Dr. Seval YILMAZ

OCAK -2015

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

**BAKIR SÜLFAT UYGULANAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*,
WALBAUM,1792)'NDA BAZI İMMUN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE
SPİRULİNA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Yük. Müh. Hacı Bayram GÖKHAN

(05128201)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Programı: Hastalıklar

**Danışman: Prof. Dr. Naim SAĞLAM
İkinci Danışman: Prof. Dr. Seval YILMAZ**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 22 Aralık 2014

OCAK -2015

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAKIR SÜLFAT UYGULANAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*,
WALBAUM, 1792)'NDA BAZI İMMUN VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERE
SPİRULİNA'NIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hacı Bayram GÖKHAN

Doktora Tezi
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Bu tez 15.01.2015 tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile başarılı / başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Naim SAĞLAM

Üye: Prof. Dr. Nuri BAŞUSTA

Üye: Prof. Dr. Mustafa DÖRÜCÜ

Üye: Doç. Dr. M. Enis YONAR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Ünal İSPİR

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve
.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanması ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Naim SAĞLAM'a ve ikinci tez danışmanım Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Seval YILMAZ'a, DSİ 9. Bölge Müdürlüğü, Keban Su Ürünleri Şubesi Üretim Tesisleri Müdürü sayın Yasin CELAYİR'e, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Metin ÇALTA'ya, değerli arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Ünal İSPİR'e, F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na, F.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na, çalışmamı maddi yönden destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimine, ayrıca her türlü desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Hacı Bayram GÖKHAN
ELAZIĞ – 2015

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	IV
SUMMARY.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	6
2. 1. Bakır Sülfat Hakkında Genel Bilgiler.....	6
2.1.1. Bakır Sülfatın Balıklarındaki Etki Mekanizması, Akut, Kronik Toksisitesi ve Dokularda Birikimi.....	6
2.1.2. Spirulina Hakkında Genel Bilgiler ve Daha Önce Yapılmış Çalışmalar...	9
2. 2. Balıklarında Bağışıklık Sistemi.....	13
2.2.1. Balıklarında Non-spesifik Savunma Mekanizmaları.....	13
2.2.2. Balıklarında Spesifik Savunma Mekanizmaları.....	16
2.3. Balıklarında Antioksidan Savunma Sistemi.....	17
2.3.1. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi İle ilişkisi.....	17
2.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	18
2.3.2.1. Süperoksit Radikalleri.....	18
2.3.2.2. Hidroksil Radikali (HO [•]).....	19
2.3.2.3. Tekli (Singlet) Oksijen (¹ O ₂).....	19
2.3.2.4. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	20
2.3.2.5. Lipid Peroksit Radikali (LOO [•]).....	20
2.3.2.6. Hipoklorik Asit (HOCl).....	21
2.3.2.7. Nitrik Oksit (NO [•]).....	21
2.3.3. Serbest Radikallerin Antioksidan Savunma Sistemi ile ilişkisi.....	21
2.3.4. Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hasarlar.....	23
2.3.4.1. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	23
2.3.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri.....	24
2.3.4.3. Serbest Radikallerin DNA üzerine etkileri.....	24
2.3.4.4. Serbest Radikallerin Hücre Zarı ve Membran Lipidleri Üzerine etkileri.....	25
2.3.4. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	26
2.3.4.1. Endojen Antioksidanlar.....	26
2.3.4.1.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar.....	26
2.3.4.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	26
2.3.4.1.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	26
2.3.4.1.1.3. Glutasyon Redüktaz.....	27
2.3.4.1.1.4. Glutasyon S-Transferaz (GST).....	27
2.3.4.1.1.5. Katalaz	27

2.3.4.1.1.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz.....	28
2.3.4.1.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	28
2.3.4.1.2.1. Melatonin (Epifiz hormonu).....	28
2.3.4.1.2.2. Seruloplazmin.....	28
2.3.4.1.2.3. Glutasyon (GSH).....	29
2.3.4.1.2.4. Ürik asit.....	30
2.3.4.1.2.5. Hemoglobin.....	30
2.3.4.1.2.6. Balıklarında Bulunan Enzim Olmayan Endojen Bazı Antioksidanlar....	31
2.3.4.2. Eksojen Antioksidanlar.....	32
2.3.4.2.1 E vitamini (α -tokoferol).....	32
2.3.4.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit).....	32
2.3.4.2.3. A Vitamini.....	33
2.3.4.2.4. Folik Asit.....	33
2.3.4.2.5. Flavonoidler.....	33
2.3.4.2.6. Ubikinon (Koenzim Q, CO-Q10).....	34
2.3.4.2.7. Selenyum.....	34
2.3.4.2.8. İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar	35
2.3.4.2.9. Gıdalardaki Eksojen Antioksidanlar	35
2.3.5. Antioksidanların Genel Etki Mekanizmaları.....	35
3. MATERYAL ve METOT.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.1.1 Uygulama Yeri ve Balık Materyali.....	37
3.1.2. Su Materyali.....	38
3.1.3. Bakır Sülfat.....	38
3.1. 4. Spirulina Materyali.....	38
3.2. Metot.....	38
3.2.1. Bakır Sülfatın Sublethal Dozunun Belirlenmesi ve Balıklara Uygulanması.....	38
3.2.2. Spirulinanın Oral ve Enjeksiyon Yoluyla Gökkuşığı Alabalığına Uygulanması.....	38
3.2.2.1. Besleme Grupları İçin Yemlerin Hazırlanması.....	39
3.2.2.2. Enjeksiyon İçin Spirulinanın Hazırlanması ve Balıklara Uygulanması.....	39
3.2.3. Suyun Sıcaklık, pH ve Çözünmüş Oksijen Değerleri İle bazı Parametrelerinin Belirlenmesi.....	41
3.2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	41
3.2.5. Kan glikoz Düzeyinin Belirlenmesi.....	43
3.2.6. Hemoglobin Düzeylerinin Belirlenmesi.....	43
3.2.7. Nötrofillerin Toplam Oksidatif Radikal Üretimi (Nitroblue Tetrazolium (NBT) Aktivitesinin Tespiti).....	43
3.2.8. Seruloplazmin Düzeyinin Belirlenmesi.....	43
3.2.9. Plazma Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi	43
3.2.10. Toplam İmmunoglobulinin (Ig) Belirlenmesi.....	44
3.2.11. Kan ve Dokuda Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması.....	44
3.2.12. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	45

3.2.13.	Kan ve Dokuda Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi	46
3.2.14	Glutasyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi Tayini.....	47
3.2.15.	Doku Protein Düzeyinin Belirlenmesi.....	48
3.2.16.	İstatistiksel Analizler.....	49
4.	BULGULAR.....	50
4.1	Toksisite denemeleri, Makroskopik Gözlemler ve Davranış Değişimleri...	50
4.2.	Kan glikoz Düzeyleri.....	53
4.3.	Hemoglobin Düzeyleri.....	57
4.4.	Nötrofillerin Total Oksidatif Radikal Üretimi (Nitroblue Tetrazolium (NBT)) Aktivitesi.....	61
4.5.	Seruloplazmin Düzeyleri.....	65
4.6.	Toplam Protein Düzeyi.....	69
4.7.	Toplam İmmunoglobulin (Ig) Miktarı.....	73
4.8.	Kan ve Dokuda Malondialdehit (MDA) Düzeyi.....	77
4.9.	Dokuda Süperoksit Dismütaz (SOD) Aktivitesi.....	93
4.10.	Kan ve Dokuda Katalaz Aktivitesi.....	105
4.11.	Dokuda Glutasyon-S transferaz (GST) Aktivitesi.....	121
5.	SONUÇ VE TARTIŞMA	133
6.	ÖNERİLER.....	143
7.	KAYNAKLAR.....	145
	ÖZGEÇMİŞ.....	

ÖZET

Tıbbi bitkiler veya bitki ekstraktlarının balık hastalıklarının kontrolü için kullanımı yeni bir akım olarak düşünülebilir, antibiyotik direnç problemlerinin üstesinden gelinebilir ve antibiyotiklerin kullanımındaki aynı sonuçlar elde edilebilir. Bu çalışmada gökkuşığı alabalığında antioksidan ve immun sistem üzerine spirulinanın etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada; ortalama $99,20 \text{ g} \pm 9,71 \text{ g}$ (89-120 g) olan yaklaşık 1500 adet gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Balıklara toksisite testleriyle belirlenen subletal dozda (0,2 mg/ml) bakır sülfat 21 gün boyunca banyo şeklinde uygulandı. Bu balıklara hem oral yolla (200-400-800 mg/kg yem) hem de enjeksiyon yoluyla (200-400-800 mg/kg balık) saf halde spirulina verildi. Balıklardan kan ve doku örnekleri alınarak bazı immunolojik (kan glikozu, hemoglobin miktarı, nötrofillerin toplam oksidatif radikal üretimi (NBT) aktivitesi, seruloplazmin seviyesi, toplam plazma proteini ve toplam immunoglobulin düzeyleri) ve antioksidan parametrelere (Malondialdehit düzeyleri, Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon S-Transferaz aktiviteleri) bakıldı.

Yapılan çalışma sonucunda subletal dozda bakır sülfata maruz bırakılarak stres oluşturularak spirulina uygulanan balıklarda immun sistemin bazı parametrelerinin önemli ölçüde değiştirdiği belirlendi. ($p<0,05$) Sadece bakır sülfat uygulanan grupta NBT, protein ve toplam immunoglobulin düzeylerinin düştüğü, fakat kontrol ve spirulinanın her üç dozunun uygulandığı balıklarda ise bu parametrelerin yükseldiği tespit edildi ($p<0,05$).

Stres indikatörü olan MDA düzeyi spirulina uygulanan gruplarda önemli ölçüde düşük bulunurken ($p<0,05$), enzim aktivite sonuçları dikkate alındığında katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon S- transferaz aktivitelerinin kontrol gruplarına göre önemli derecede arttığı belirlendi ($p<0,05$).

Gökkuşığı alabalığında bakır sülfat ile oluşturulan stresi azaltma yönünde enjeksiyon ile uygulamada daha fazla görülmekle birlikte oral yolla da uygulanan spirulinanın immun ve antioksidan mekanizmada olumlu etkilerinin olması, bu maddenin balık yetiştiriciliğinde güvenli bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Bakır sülfat, Spirulina, Gökkuşığı alabalığı, Bağışıklık sistemi, Kan glikozu, Hemoglobin, NBT, Seruloplazmin, Toplam protein, Toplam immunoglobulin, Oksidatif stres, Malondialdehit, Katalaz, Süperoksit dismutaz, Glutasyon S-transferaz.

SUMMARY

Investigation on the effects of Spirulina on some immun and antioxidant system parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM,1792) exposed to copper sulfate

Using medicinal plants or plant extracts can be considered as a novel trend for control of fish diseases and hoping to achieve the same results as in the use of antibiotics and to overcome the problem of antibiotic resistance. The aim of this study is mainly focused to evaluate of effect of spirulina on antioxidant and immune system of rainbow trout.

In this study; with average $99.20 \text{ g} \pm 9.71 \text{ g}$ (89-120 g) weight about 1500 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were used. Sublethal dose (0.2 mg / ml) of copper sulfate determined by toxicity test was applied to the fish with bath for 21 days. Pure spirulina was practiced to the fish with both orally (200-400-800 mg/ kg feed) and by injection (200-400-800 mg/ kg fish). Some immunological (blood glucose, hemoglobin, nitroblue tetrazolium (NBT) activity, ceruloplasmin, total plasma protein, total immunoglobulin) and antioxidant system parameters (MDA, catalase, superoxide dismutase, glutathione S-transferase) were examined from blood and tissue samples.

As a results of studies, stressed fish by exposure to sublethal dose of copper sulfate, some parameters of the immune system applied by spirulina were significantly changed ($p < 0,05$). NBT, total protein and total immunoglobulin levels in only copper sulfate applied fish were decreased, but in control and 3 spirulina applied groups those parameters were increased ($p < 0,05$).

While stress indicator MDA in spirulina applied groups were found to be low ($p < 0,05$), considering enzyme activity; catalase, superoxide dismutase and glutathione S-transferase activities were found to be higher compared to control groups ($p < 0,05$).

In terms of reducing stress formed by copper sulfate, although more prevalent in application with injection, positive effects of orally administrated spirulina on immune and antioxidant mechanism is shows that it can be used safely in fisheries.

Key Words: Copper sulphate, sublethal dose, Spirulina, Rainbow trout, Immune system, Blood glucose, Hemoglobin, NBT, Ceruloplasmin, Total protein, Total immunoglobulin, Oxidative stress, Malondialdehyde, Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione S-transferase.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Mavi-yesil alglerden elde edilen değerli kimyasal ve biyoaktif maddeler.....	11
Şekil 2.2. Mavi-yesil alglerden elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri.....	11
Şekil.2.3. Oksidanların üretilmesi ve giderilmesi arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif hasar oluşması.....	17
Şekil.2.4. Reaktif oksijen türleri ve antioksidan enzimler.....	18
Şekil 2.5. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu.....	25
Şekil 2.6. Genel olarak antioksidanların hücredeki fonksiyonları.....	36
Şekil 3.1. Denemede kullanılan tanklar	37
Şekil 3.2. Enjeksiyon için spirulinanın hazırlanması	40
Şekil 3.3. Balıktan kan alımı için kuyruk yüzgecinin kesilmesi	42
Şekil 3.4. Balıkların kuyruklarından kan alınması.....	42
Şekil 4.1. Bakır sülfat uygulanmış balıklarda vücut yüzeyindeki mavi renkli lekeler.....	51
Şekil 4.2. Bakır sülfat uygulanmış balıklarda solungaçların birbirine yapışması...	51
Şekil 4.3. Bakır sülfat uygulanmış balıklarda iç organların genel görünümü ve karaciğerde hemorajilerin oluşması.....	52
Şekil 4.4. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	54
Şekil 4.5. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	56
Şekil 4.6. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	58
Şekil 4.7. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	60
Şekil 4.8. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	62
Şekil 4.9. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme ve kontrol grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	64
Şekil 4.10. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi	66
Şekil 4.11. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	68
Şekil 4.12. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi	70
Şekil 4.13. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	72
Şekil 4.14. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	74

Şekil 4.15.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi.....	76
Şekil 4.16.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	78
Şekil 4.17.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	80
Şekil 4.18.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	82
Şekil 4.19.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	84
Şekil 4.20.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	86
Şekil 4.21.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	88
Şekil 4.22.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	90
Şekil 4.23.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	92
Şekil 4.24.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	97
Şekil 4.25.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	96
Şekil 4.26.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	98
Şekil 4.27.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	100
Şekil 4.28.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	102
Şekil 4.29.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	104
Şekil 4.30.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme ve kontrol grubu balıklarında kan katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	106

Şekil 4.31.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	108
Şekil 4.32.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	110
Şekil 4.33.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	112
Şekil 4.34.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	114
Şekil 4.35.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	116
Şekil 4.36.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	118
Şekil 4.37.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	120
Şekil 4.38.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	122
Şekil 4.39.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	124
Şekil 4.40.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi..	126
Şekil 4.41.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	128
Şekil 4.42.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	130
Şekil 4.43.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	132

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.	10 gram spirulinanın içerdığı aminoasit ve vitamin oranları..... 10
Tablo 2.2.	Spirulinanın diğer protein kaynaklarıyla kıyaslanması..... 10
Tablo 2.3.	Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri..... 23
Tablo 3.1.	MDA analizi için deneysel plan..... 45
Tablo 3.2.	SOD aktivitesin belirlenmesi için uygulanan deneysel plan..... 46
Tablo 3.3.	Katalaz aktivitesinin belirlenmesi için deney planı..... 47
Tablo 3.4.	GST aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan deneysel plan..... 48
Tablo 3.5.	Doku protein düzeyinin belirlenmesi için deneysel plan..... 49
Tablo 4.1.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 54
Tablo 4.2.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 56
Tablo 4.3.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 58
Tablo 4.4.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 60
Tablo 4.5.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi..... 62
Tablo 4.6.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi..... 64
Tablo 4.7.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi..... 66
Tablo 4.8.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi..... 68
Tablo 4.9.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 70
Tablo 4.10.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 72
Tablo 4.11.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 74
Tablo 4.12.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi..... 76
Tablo 4.13.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi..... 78

Tablo 4.14.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	80
Tablo 4.15.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	82
Tablo 4.16.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	84
Tablo 4.17.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	86
Tablo 4.18.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	88
Tablo 4.19.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	90
Tablo 4.20.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	92
Tablo 4.21.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	94
Tablo 4.22.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	96
Tablo 4.23.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	98
Tablo 4.24.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	100
Tablo 4.25.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	102
Tablo 4.26.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	104
Tablo 4.27.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	106
Tablo 4.28.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	108
Tablo 4.29.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	110

Tablo 4.30.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	112
Tablo 4.31.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	114
Tablo 4.32.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	116
Tablo 4.33.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	118
Tablo 4.34.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	120
Tablo 4.35.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	122
Tablo 4.36.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	124
Tablo 4.37.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	126
Tablo 4.38.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	128
Tablo 4.39.	Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	130
Tablo 4.40.	Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi.....	132

1. GİRİŞ

Balıkların yaşadıkları su ortamı birçok patojen mikroorganizmayı içermektedir. Bu nedenle balıkların mikroorganizmalara karşı göstereceği direnç büyük önem taşımaktadır. Bu direnç koruyucu tedavi uygulamasıyla artırılabilir (İspir vd., 2004).

Koruyucu önlemler alınarak hastalıkları önlemek, hastalığın tedavisinden daha ucuza ve daha kaliteli ürünlerin elde edilmesine neden olmaktadır. Koruyucu önlemlerin en önemlisi balığın bağışıklık sistemini güçlendirmektir. Balıklarda bağışıklık sistemi, enfeksiyonların meydana gelmesini engelleyen ve enfeksiyona karşı vücudun cevap vermesini sağlayan faktörlerin birçoğunu içermektedir.

Antibiyotik başta olmak üzere çeşitli dezenfektanların gelişi güzel kullanımı sonucu balıkların bağışıklık sistemi olumsuz etkilenmektedir. Özellikle yumurtadan yeni çıkan balıklarda bu ilaçların yan etkileri görülmektedir. İmmünolojik olarak anaçlardan gelen bağışıklıktaki yetersizlik, balığın kolay hasta olmasına, hastalıktan kurtulma süresinin uzamasına, kullanılan ilacın normal dozunun etkisiz olmasına ve etkenin patojenitesinin artmasına neden olmaktadır (Rath, 1993).

Su ürünleri sektörünün büyük bir hızla ilerlediği günümüzde üretim ve yetiştiricilikte ekonomik yatırımların yapılması her açıdan önem kazanmakta ve değişik alternatif su ürünlerinin kullanım alanları genişlemektedir. Alternatif su ürünleri içinde yer alan Spirulina'nın üretiminin kolay, fiyatının ucuz olması ve saf halde bulunup kullanılabilir olması onu diğer antioksidan maddelere göre daha üstün kılmaktadır (Kılıç vd., 2006). Spirulina yapısında doğal antioksidanları, lipopolisakkaritleri ve esansiyel bazı aminoasitleri ihtiva ettiği için hem immünoestimulan hem de antioksidan olarak balık hastalıklarının önlenmesinde kullanılabilir. Spirulina, serbest radikaller ve ağır metaller gibi çevresel faktörlere bağlı hücresel hasarı azaltabilir. Bu tip çevresel kirliliklere karşı hücreleri korumak için kullanılabilir ve aynı zamanda iyi bir detoksifiye edicidir (Mustafa vd., 1997; Demirel ve Özpınar, 2003; Işık vd., 2006).

Çevresel toksinler, aşırı alınmış oksijen, çözücüler, petrokimya ürünleri gibi maddeler ile enfeksiyonlar ve bu enfeksiyonların tedavisi sırasında kullanılan kemoterapötikler vücutta serbest oksijen radikalleri oluşumuna neden olurlar. Bu radikaller, eşleşmemiş elektron içeren atom, atom grubu veya moleküllerdir. Ancak Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de eşleşmemiş elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak

kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Serbest radikaller tek bir hücrede tahribat yapabildikleri gibi, fizyolojik sistemlerin tümünde de ciddi tahribat oluşturabilir. Bunlar, proteinler arasında çapraz bağlantılar kurarak kitleler meydana getirebilir, tüm vücudun esnek ve hareketli yapısını bozabilir. Serbest radikaller; kalp, beyin ve diğer organlara besin sağlayan damarları daraltıp tamamen tıkanmasına ve tahribatına neden olabilir. Serbest radikaller ile mücadelede üç grup savunma hattı vardır. Bunlar hücre içi enzim sistemi, hücre dışı savunma sistemi, dışardan alınan besinlerdir (Ames vd., 1993; Frei, 1994; Augustin vd., 1997; Klebanoff, 1998; Babior, 2000; Öner, 2004; Yıldız, 2001).

Antioksidanlar serbest radikaller için kolay bir elektron hedefidir. Böylece serbest radikalleri birleştirerek onları etkisizleştirir. Eğer serbest radikaller etkisizleştirilmezlerse vücutta DNA mutasyonlarına, hücre ölümlerine ve hastalıklara neden olarak çok ciddi hasarlar yapabilirler (Thompson, 2004).

Balık yetiştiriciliğinde hastalıkların çıkmasını ve çıkınca da yayılmasını önlemek ve enfeksiyona neden olan etkeni yok etmek için çeşitli kimyasallar kullanılır. Bakır sülfat balıkçılıkta alglere mücadelede, parazitlerin yok edilmesinde ve havuzların dezenfekte edilmesinde ve tarımda zirai mücadelede sıklıkla kullanılan bir kimyasal maddedir. Bakır hücresel metabolizmada önemli rol oynar, fakat aynı zamanda artan konsantrasyonlarda birikerek toksik etki oluşturmaktadır (EIFAC, 1976; Arda vd., 2005).

Balık hastalıklarının sağaltımında kullanılan bakır sülfat kolay bulunabilmesi ve ucuz olması nedeni ile balık üreticileri ve yetiştiricileri tarafından en çok kullanılan kimyasal maddelerden biridir. Her kimyasal madde gibi bakır sülfat da vücutta birikme eğilimindedir. Az miktarlarda bakırın uzun süreli alınımı, birikme sonucu kronik zehirlenmeye yol açabilir. Alınan bakırın vücuttan atılımı çok yavaş olup, daha çok karaciğerde birikir. Bu yüzden besleyici ve koruyucu olarak düşük dozlarda ve uzun süreçte verilen bakır bileşikleri beklenmedik zamanlarda kronik zehirlenme riski yaratabilir. Diğer yandan, yaşamsal öneme sahip olan enzimlerin ve benzeri proteinli yapıların tiyol gruplarıyla birleşerek, enzimlerin fizyolojik görevlerini engeller. Bakır sülfat, eritrosit membranlarından içeri girerek, ya direkt olarak eritrosit membranında zararlara neden olur ve organizmada hemolitik anemi ortaya çıkar ya da oksidatif strese sebep olarak, enzimleri inaktive eder (Vera ve Pocsidio, 1998; Jyothi ve Narayan, 1999; Dautremepuits vd., 2004; Franke vd., 2005; Borazan-Özkurt, 2006; Öz, 2006).

Antibiyotik ve dezenfektanların, çevrede ve canlı vücudunda birikmesi ve strese sebep olması, doğal antioksidanların balık hastalıklarında koruyucu olarak kullanılmasını kaçınılmaz hale getirmiştir. Yetiştiricilikte yem içerisine ilave edilerek kullanılan immünostimülan maddeler, boylama, transfer, adaptasyon, aşılama gibi işlemlerin yarattığı stresi azaltırken aynı zamanda hayvanı patojene karşı zayıf kalmasını engelleyerek bulunduğu ortamda korur. Artan teknolojik gelişme ve bilimsel ilerlemelerle birlikte biyokimya ve fizyoloji alanda yapılan çalışmalar sayesinde yeni antioksidanlar keşfedilmekte ve her geçen gün üzerine yenileri eklenmektedir. Sağlık açısından son derece önemli olan, hastalıkların önlenmesinde ve hastalıklar neticesinde oluşmuş doku hasarının onarılmasında antioksidanlar çok önemli rol üstlenmiştir. Balıkçılıkta her geçen gün doğal antioksidanların kullanımı artmaktadır. Bunun için birçok bitkisel ürün kullanılmaktadır. Bu ürünlerden biri olan Spirulina gerekli altyapı oluşturulduğu takdirde kolayca üretilebilir (Demirel ve Özpınar 2003).

Spirulina, alkali ortamlarda yetişen, mavi-yeşil algler grubundan olup, sahip oldukları yüksek klorofil miktarı ile güneş ışığını en etkin kullanan ve enerjiye dönüştüren organizmalardandır. Bulunduğu göl veya havuzları koyu mavi-yeşil renge çevirir. Çin geleneksel tıbbında binlerce yıldır kullanılan Spirulina sağlıklı bir besin ve şifa maddesi olarak Kuzey Amerika ve Avrupa'da gözde bir ürün haline gelmiştir. Ülkemizde de giderek daha iyi tanınmakta ve tüketimi yaygınlaşmaktadır. (Richmond, 1992; Yılmaz, 2006).

Spirulinanın düşük kalorili ve az yağ içeren bütün temel amino asitleri yapısında bulunduran bir protein kaynağı olduğu, kan hücrelerinin üretimini teşvik ettiği, kansızlık sorunları olanlarda etkili olduğu, içerdiği gama-linoleik asitler sayesinde kolesterolü dengelediği, tansiyonu düzenlediği, hava kirliliğinin yarattığı zararlı etkilerin önüne geçilmesinde önemli katkılar sağladığı bilinmektedir. Antioksidan unsurlar içerdiği için, yaşlanmanın yanı sıra, kanser, diyabet, artrit ve katarakt gibi sağlık sorunlarının da temel bir faktörü oldukları düşünülen serbest radikallerin kötü etkilerine karşı hücreleri korur. Ayrıca vücudu immun sistem yönünden güçlendirir. Yapılan çalışmalar Spirulina'nın T lenfosit hücrelerinin fonksiyonlarını arttırdığı ve bu yolla vücudun savunma mekanizmasını kuvvetlendirdiğini göstermiştir. Alabalıklarda ve akvaryum balıklarında pigmentasyonu artırmak amacıyla yemlere Spirulina'nın katıldığı bilinmektedir (Schiffirin vd., 1997; Demirel ve Özpınar 2003; Layam vd., 2007; Yeşilayer vd.,2008).

Spirulina’da klorofilin yanında protein, B₁, B₅, B₆, B₁₂ C ve E vitaminleri, folik asit, karotenoidler (özellikle β -karoten), esansiyel amino asitlerden methionine ve diğer mikro besin maddeleri (kalsiyum, magnezyum, çinko, demir, selenyum) bulunmaktadır. Spirulina çok sayıda enzim içerir. Bunlardan biri süperoksit dismutazdır. Bu enzim, hücre içi, fagosite edilmiş bakterilerin yok edilmesinde rol oynamaktadır (Mustafa vd., 1997; Borazan Özkurt, 2006; Işık vd., 2006).

Dünyada kemoterapötik maddelerin balıkların immun sistemine etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Grondel ve Boesten (1982); Wishkowsky vd., (1987); Grondel vd., (1987); Taffala vd., (1999) oxytetracycline’nin, Cravedi vd., (1987); Siwicki vd., (1989) oksolinik asit ve kloromfenikol’ün balıkların humoral ve selüler bağışıklığına etkilerini araştırmışlardır. Watanuki vd., (2006) yaptıkları çalışmada Spirulina’nın sazanlarda immünostimulan etkisini araştırmışlardır. Ülkemizde de balıklarda immun sistem konusunda yapılmış çalışmalar (Keleş vd., 2002; Düğenci vd., 2003; Özen vd., 2003; İspir vd., 2004) az da olsa mevcuttur. Ayrıca balıklarda ve diğer su ürünlerinde antioksidan sistem üzerine yapılmış olan bazı çalışmalar (Mulero vd., 1998; Kolaylı ve Keha, 1999; Oruç ve Üner, 2004; Cheung vd., 2001; Abele ve Puntarulo, 2004; Avcı, vd., 2005; Piner, 2005; Lushchak ve Bagnyukova, 2006) da bulunmaktadır.

Çeşitli kimyasal maddelerin, balıklarda antioksidan sistem üzerindeki etkileri konusunda bazı çalışmalar (Vera ve Pocsidio 1998; Jyothi ve Narayan, 1999; Borazan Özkurt, 2006) yapılmış olmasına rağmen, balıklarda bakır sülfatın toksisitesini azaltmak için Spirulina’nın kullanılması konusunda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Araştırmada bakır sülfata maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında kan glikoz seviyeleri, hemoglobin, nötrofillerin fagositik aktivitesi, seruloplazmin, toplam protein, toplam immunoglobulin, malondialdehit, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S-transferaz aktivitesi, gibi bazı oksidatif stres ve immun sistem parametreleri üzerine spirulinanın etkilerinin araştırılmıştır. Böylelikle spirulinanın su ürünlerinde hem immünostimulan hem de antioksidan olarak kullanılabilirliği belirlenmiş olup balıklarda bakır sülfat gibi kimyasal maddelerin toksisitesinin gidermesinde bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Hastalıklar Anabilim Dalı ile Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalından yararlanılarak gerçekleştirilen bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Destekleme Koordinatörlüğü tarafından 1767 nolu araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Bakır Sülfat Hakkında Genel Bilgiler

Bakır sülfat; algisit, fungusit, insektisit, mollusit, nematisit ve dezenfeksiyon ürünü olarak dünyanın her yerinde çok geniş ve yaygın bir şekilde kullanılan pestisitlerdendir ve ilk kullanılması 1900'li yılların başlarındadır (Siemering vd., 2005; Yıldız vd., 2005).

Bakır sülfat, inorganik pestisitlerden, inorganik bir tuzdur. Bakır sülfat mavi renkli olup kokusuz ve kristal halindedir. Ürün formülasyon tipleri; ıslanabilir toz formülasyonu ile suda çözünabilir mavi granül ya da kristal toz şeklindedir. Bakır sülfat pentahidrat, bakır sülfatın çok geniş bir şekilde kullanılan bir formudur (Tomlin, 2000; Siemering vd., 2005).

2.1.1. Bakır Sülfatın Balıklardaki Etki Mekanizması, Toksisitesi ve Dokularda Birikimi

Bakır sülfatın, kullanıldığı canlılar üzerindeki etki mekanizması, bakır iyonları ile mantar ve alglerin enzimlerini deaktive ve hücrel proteinlerini denatüre etmesi şeklindedir (Siemering vd., 2005).

Metalik bakır ve tuzlarının toksisitesi iyonize olma özelliklerine göre değişir. Temelde bakır iyonları kanın ve protoplazmanın organik molekülleriyle birleşmek suretiyle fizyolojik görevlerini yapamaz duruma sokar. Bakır iyonları, yüksek yoğunlukta irkitici ve nekroz yapıcı olarak etkir. Emildikten sonra kalp ve vasküler sisteme yönelik olumsuz etkiler oluşturur. Yüksek yoğunluklarda karaciğerde birikmek suretiyle bu organın atrofiye uğramasına sebep olur. Öte yandan bakır tiyoloptiv zehirler arasında bulunur. Bu özelliği nedeniyle, yaşamsal öneme sahip olan enzimlerin ve benzeri proteinli yapıların tiyol gruplarıyla (-SH) birleşmek suretiyle, fizyolojik görevlerini engeller (Şanlı, 1995).

Bakır sülfat suda yüksek oranda çözünerek bakır ve sülfat iyonlarına ayrılır. Canlılar üzerinde bakır sülfat pentahidratın toksik etkisini ağır bir metal olan bakır iyonları gösterir. Sülfat iyonları ise su ortamlarında, toprak, sediment ve kayalarda doğal olarak bulunan bir iyondur. Sülfat iyonları vücuda alındığında, bağırsaktan çok az emilir ve

böbreklerden elimine edilerek atılır. Yapılan çalışmalarda sülfatın, oral veya inhalasyonla organizmaya alındığında, akut toksisitesi, kronik ve subkronik toksisitesi, gelişim ve üreme üzerine etkileri görülmemiştir (World Health Organization (WHO), 1984; Öz, 2006).

Bakır sülfat, bakır iyonları etkisiyle hücrelerde çok güçlü yükseltgen ajandır. Bakır iyonları organizmada hücrelerin mukoz membranlarının parçalanmasına sebep olur. Hücre zararı ve hücre ölümleri, hücrede aşırı miktarda bakır toplanmasından kaynaklanır. Bunun muhtemel sebebi Cu-metallotiyonein bağlanması sonucu, bakırın hücredeki geçişi engellemesidir (Dash, 1989; Steinebach ve Wolterbeek, 1994).

Metallotiyonein, sistince zengin düşük molekül ağırlıklı metal bağlayan bir proteindir. Ağır metal iyonlarının depolanması ve hücredeki normal Cu (II), Zn (II) metabolizmasının düzenlenmesi ve ağır metal iyonlarının etkisiz hale getirilmesinde görev yapar. Aynı zamanda organizmalarda tepkimeler sonucu ortaya çıkan serbest radikallerin yarattığı oksidatif strese karşı da koruyucudur. Organizmada bakır iyonları yüksek miktarlarda alındığında, metallotiyonein konsantrasyonu artar, bunun sonucunda da, karaciğerde fiziksel, kimyasal stres, enfeksiyon riski ve glukokortikoidler artar (Dash, 1989; Steinebach ve Wolterbeek, 1994).

Bakır sülfat, eritrosit membranlarından içeri girerek, ya direk olarak eritrosit membranında zarara sebep olur ve organizmada hemolitik anemi ortaya çıkar ya da enzimleri inaktive ederek oksidatif strese sebep olur. Bu enzimlerin en önemlisi glutatyon redüktazdır. Bu enzim; hücre içi glutatyonun, hücreye bakır iyonlarının ilk girişinde savunma mekanizmasını başlatır. Cu (II) iyonları hemoglobine ait demir iyonlarını oksitleyebilir. Böylece organizmanın kan özelliklerini bozar (Chuttani vd., 1965; Mital vd., 1966).

Bakır sülfat midenin asidik ortamından emilerek, kan içerisine geçer. Sindirim sisteminin mukoz zarı, ağız yoluyla bakırın emilmesine karşı bariyer olarak görev yapar. Oral yolla alınan bakır sülfat pentahidratın, %99'dan fazlası dışkı yoluyla atılır. Buna rağmen kalan bakır, organizmada biyolojik birikime uğrar; karaciğer, beyin, kalp, böbrek ve kaslarda depolanır (Kamrin 1997; Siemering vd., 2005; Bulut vd.,2014).

Lauren ve McDonald, (1986), Reid ve McDonald, (1988) ve Wilson vd. (1993), bakırın etkisi ile balıklarda iyon regülasyonunun engellendiğini belirtmişler, yaptıkları çalışmalarda, gökkuşağı alabalığında, solungaçlarda bakırın kalsiyum taşınmasına etkisi olmadığını ancak sodyumun giriş çıkışını etkilediğini bildirmişlerdir.

Svobodova vd., (1994), aynalı sazan (*Cyprinus carpio*)’ da bakırın etkisi ile deri ve solungaç mukusunda artış, solungaçlarda yeşil, kırmızı renk değişimi ve şiddetli kanamalar, karaciğerde kanamalar ve plazma glikozunda artmanın meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Sayer vd., (1989) bakırın etkisinde kalan deniz alası (*Salmo trutta*)’nda kalsiyum, sodyum ve potasyum alımının azaldığını bildirmişlerdir.

Nemcsok ve Hughes (1988), bakır sülfatın, gökkuşağı alabalığındaki fizyolojik etkilerini araştırmışlardır. Balıklara 48 saat boyunca 200 ile 2000 µg/l arasında bakır sülfat pentahidrat konsantrasyonları uygulanmıştır. Araştırma sonucunda, bakırın 2000 µg/l konsantrasyonunun ilk 24 saat içerisinde balıkların kan glikoz aktivitesini, ALT ve AST seviyelerini arttırdığını, 48 saat sonunda ise kan glikoz aktivitesini ve ALT ve AST’ni düşürdüğünü bildirmişlerdir. Her bir bakır konsantrasyonunda ise özellikle asetil kolinesteraz enzimi aktivitesinde azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Bakır sülfatın 200 µg/l konsantrasyonunda ise ilk 24 saat içerisinde dokularda önemsiz zararlar ve biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde yine önemsiz etkiler olduğunu saptamışlardır.

Arillo vd., (1984), gökkuşağı alabalığı’nda 4 aylık periyot için 30-100 µg/l bakıra eşdeğer bakır sülfata maruz bırakarak, bakırın balıkların kanındaki biyokimyasal parametrelere etkilerini araştırmışlardır. Deney sonucunda; karaciğerde aminolaevulinik asit dehidrataz (ALAD) ve kanda karbonik anhidraz enzim aktivitesinin azaldığı, solungaçlarda siyalik asit miktarının arttığı, karaciğer mitokondrilerinde ise oksijen tüketimi ve solunum kontrol oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Salvelinus fontinalis; *Oncorhynchus mykiss* ve *Cyprinus carpio* türlerinde yapılan deneylerde, bakır etkisi ile eritrositlerin ve hemoglobinin arttığı, lökositin ve lenfositin azaldığı belirlenmiştir (Dick ve Dixon, 1985).

Khangarot ve Tripathi (1991), *Saccobranchus fossilis*, (Asya kedi balığı) türü üzerinde bakır etkisiyle hematokrit ve hemoglobin düzeylerinin azaldığını saptamışlardır.

McKim vd., (1970), *Salvelinus fontinalis* türü balığı bakır sülfat pentahidrata maruz bırakmışlar ve deney sonucunda Serum Glütamik Oksalasetik Transaminaz (SGOT) enzimi ve toplam protein içeriğinde artış olduğunu, plazma kloritinde ve osmolaritesinde ise azalma meydana geldiğini gözlemişlerdir.

Sellers vd., (1975), gökkuşağı alabalığında bakır sülfat pentahidrat etkisi ile mukus artışı olduğunu bildirmişlerdir.

Handy (1992), gökkuşağı alabalığının solungaçlarından bakırın 10 saatte % 50'sinin temizlendiğini, karaciğerden ise bakırın temizlenmesinin 16 saatten daha uzun olduğunu belirlemiştir.

Erdem ve Kargın (1990), 1, 5, 10 ve 20 gün süreyle 0.1, 1.0 ve 10.0 ppm bakırın etkisine bırakılan tilapialarda (*Tilapia nilotica*), çalışılan doku ve organlarındaki bakır birikiminin, süre ve derişimle orantılı olarak arttığını saptamışlardır. En fazla bakır birikiminin dalakta ve karaciğerde olduğunu, daha sonra sırasıyla bağırsak, mide, solungaç ve kas dokusunda olduğunu bildirmişlerdir.

Dethloff ve Bailey (2009), üç farklı dozda bakır sülfat (6.4, 16.0 ve 26.9 µg/l) uyguladıkları çalışmalarında gökkuşağı alabalıklarında 21gün boyunca monositlerin ve lenfositlerin yüzdelерinde artışın olduğunu, solunum patlaması aktivitesinin ise azaldığını bildirmiştir.

Metabolik bakımdan aktif olan karaciğer, dalak ve böbrek dokularının birikimde öncelik göstermesi, ağır metallerin metabolizmayı etkilemesi ve bu organların metal detoksifikasyonu ile yakından ilişkili olmalarından ileri gelmektedir (Sarkar,1989).

Balıklarda ve bazı su omurgasızlarında kas dokusu ağır metal bağlamada etkin bir doku değildir. Ancak bu dokuda biriken metalin besin zinciri yolu ile insana kadar ulaşabilmesi nedeniyle üzerinde oldukça fazla araştırma yapılmıştır (El Nabawi vd., 1987; Miller vd., 1992).

2.1.2. Spirulina Hakkında Genel Bilgiler ve Daha Önce Yapılmış Çalışmalar

Spirulina tek hücreli bir mavi-yeşil alg olarak bilinmektedir. Bulunduğu göl veya havuzları koyu mavi-yeşil renge çevirir. Spirulina çok güçlü bir protein ve klorofil kaynağıdır. Spirulina'da vitaminler, özellikle B12 ve folik asit, karotenoidler ve diğer mikro besin maddeleri bulunmaktadır (URL-2, 2012).

Mikroalgler ve mavi-yeşil algler, çok eski yıllardan beri terapötik amaçlı kullanılmaktadır. Spirulina'nın, Texcoco gölü kıyısında yaşayan Aztekler tarafından tüketildiğine ilişkin en eski kaynak 1524 yılına dayanmaktadır. Ayrıca Çad gölü kıyısında yaşayan Kanembu Kabilesi yerlileri de bu besini tanımakta ve yiyecek olarak tüketmektedirler. Ayrıca Aztekli kadınlar Spirulina'yı ciltlerine sürerek daha parlak ve sağlıklı ciltlere kavuşmuşlardır. Ancak, ticari kültürlerinin yapılması ve bilimsel alandaki çalışmaların başlaması, ürünün 1963 yılında Fransız Petrol Araştırma Enstitüsü tarafından ortaya çıkarılarak, % 60–70 oranında protein içeren Spirulina'yı laboratuvar koşullarında

üretmeleriyle olmuştur (URL-1, 2012). Spirulina'nın içerdiği amino asit ve vitaminler Tablo 2.1' de, diğer proteinlerle kıyaslaması ise Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo.2.1. 10 gram Spirulinanın içerdiği aminoasit ve vitamin oranları (URL-2, 2012).

Vitamin	içerik/10 gr. SPIRULINA
Beta Karoten (Provit A)	2300 IU
Siyanokobalamin (B12)	20 mcg
Pridoksin (B6)	80 mcg
Niasin (B3)	1.4 mg
Tiamin (B1)	0.35 mg
Folik Asit	1 mcg
Tokoferol (E)	1 IU
Pantotenik asit	10 mcg
İnositol	6.4 mcg
K vitamini	200 mcg

Tablo2.2 Spirulinanın diğer protein kaynaklarıyla kıyaslanması (URL-1, 2012)

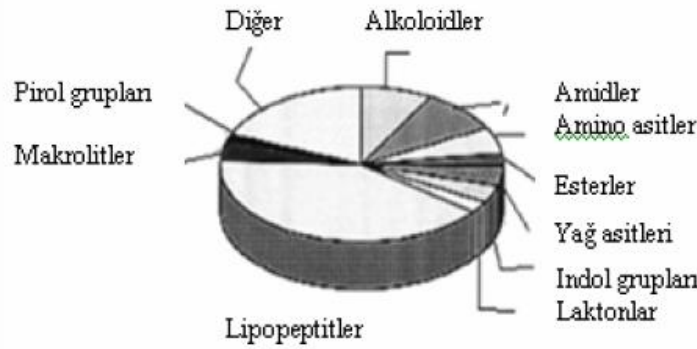
Protein Kaynağı	% Su	% Protein
SPIRULINA	5	60-70
Soya	8	36,7
Süt Tozu	4	36
Sardalye	50	20,6
Alabalık	77,6	19,22
Tavuk eti	61,3	17,4
Sığır eti	56,5	12,8
Yumurta	74	5,6
Koyun sütü	81,6	5,6
Yoğurt	86,1	4,8
İnek sütü	88,5	3,2

Spirulinanın, *in vivo* ve *in vitro* deneyler sonucunda; bazı alerjileri, kanseri, karaciğer toksisitesini, viral ve kardiyovasküler hastalıkları, hiperglisemi, hiperlipidemi (yüksek kolesterol ve trigliserid), bağışıklık sistemi yetersizliğini ve yangılı süreçleri tedavide etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu etkilerin birçoğu Spirulinanın kendisine veya içerdiği omega-3 ve omega-6, beta-karoten, alfa-tocopherol, pyhcocyanin ve fenolik bileşikler nedeniyle antioksidan özellik göstermektedir (Şekil 2.1) (Chamorro vd., 2002).

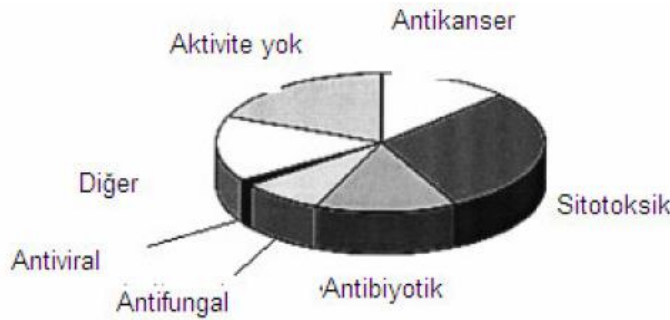
Günümüzde birçok kullanım alanına sahip olan algler, yetiştiriciliğe uygun olup, doğadan sürdürülebilir bir şekilde elde edilebilmekte ve balık yemleri için alternatif bitkisel bir hammadde kaynağı olarak kullanılmaktadır (Valente vd., 2006; Güroy vd.,

2006; Diler vd., 2007; Ergün vd., 2009; James vd., 2009; Güroy ve Ergün, 2009). Algler, yenilenebilir enerji üretiminde yaşamı ve çevreyi destekleyen özellikleri ile önemli sürdürülebilir bir kaynaktır (Muller-Feuga, 2000). Bu nedenle su ürünleri sektörünün de dahil olduğu birçok alan için son yıllarda çok değerli bir hammadde haline gelmiştir.

Bazı mikroalg ve mavi-yesil algler, biyoaktif bileşenleri nedeniyle antiinflamatuar ve antioksidan etki göstermektedir (Şekil 2.1). Siyanobakteriyel biyoaktif komponentler, antitümör, antiviral, antibiyotik gibi farklı biyolojik aktivitelere sahiptirler (Şekil 2.2). İmmun etkininin yanı sıra mavi-yesil algler, metabolizmayı düzenlemekte ve geliştirmektedirler (Singh vd., 2005).



Şekil 2.1 Mavi-yesil alglerden elde edilen değerli kimyasal ve biyoaktif maddeler (Singh vd., 2005).



Şekil 2.2. Mavi-yesil alglerden elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri (Singh vd., 2005).

Alglerin balık yemlerinde kullanımı ile ilgili günümüze kadar çok sayıda çalışma yapılmıştır. Son yıllarda, farklı türdeki makro ve mikro alglerin larva ve ergin balıklar üzerine olan etkileri çalışılmaktadır. (Güroy vd., 2006; Diler vd., 2007; Ergün vd., 2009)

Watanuki vd., (2006) sazan (*Cyprinus carpio*)' da yaptıkları çalışmada spirulinanın immunostimulan etkisini araştırmışlar. Araştırmada fagositik aktivitenin, solunum

patlaması aktivitesinin arttığını ve IL-1 ve TNF α gibi sitokinlerin miktarının yükseldiğini tespit etmişlerdir.

James vd., (2006) 30 gün boyunca farklı oranlarda (%0, 1, 3, 5 ve 8) spirulina ile beslenen kılıçkuyruk balıklarında gelişmenin oranlara bağlı olarak arttığını ve kuyruk yüzgeçlerinin daha renkli olduğunu, nonosit, nötrofil ve lenfosit miktarlarının attığını bazofil hücrelerinin sayısının ise azaldığını bildirmişlerdir.

Lin vd., (2010) beyaz karideste spirulinanın sıcak su ekstresinin pH stresinden sonra antioksidan enzimler ile immun sistemin bazı parametreleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir.

Andrews vd., (2011) Hint sazanında maya ekstraktı ve spirulinanın *Aeromonas hydrophila*'ya karşı hayatta kalma hematoimmunolojik direnç üzerindeki etkilerini araştırmışlardır.

Promya ve Chitmanat (2011) bir yayın balığı türünde (*Clarias gariepinus*) yaptıkları çalışmada spirulina ile 60 gün beslenen balıklarda lizozom aktivitesinin, kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin sayısının arttığını belirlemişlerdir.

Ragap vd., (2012) spirulina ile beslenen tilapialarda spirulinanın immunostimulan etkisini, bakterisidal, fagositik aktivite ve lizozom aktivitesi gibi immünolojik bazı parametreleri incelemişlerdir.

Ibrahim vd., (2013) nil tilapiasında bakteriyel enfeksiyonlara direnç, bağışıklık ve gelişme üzerine spirulinanın etkilerini araştırmışlar özellikle NBT aktivitesinin zamanla arttığını belirlemişlerdir.

Kim vd., (2013) *Edwardsiella tarda*'ya karşı spirulina ve quercetinin etkisi ile antioksidan kapasitesini araştırmışlardır.

Krishnaveni vd., (2013) 105 gün boyunca spirulina ile beslenen *Catla catla*'da kan parametrelerinin ve özellikle de fagositik aktivitenin arttığını vurgulamışlardır.

Abdel-Latif ve Khalil (2014) patojen bir etken olan *Vibrio alginolyticus*'un nil tilapiası (*Oreochromis niloticus*)'nın vücut direnci ve serum antioksidan enzim aktivitesi üzerine spirulinanın etkisini araştırmışlardır.

Bai vd., (2014) yavru sazanlarda 30 gün boyunca besleme yapmış *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna maruz bırakmışlar ve spirulina vererek bağışıklık sistemi ve büyüme üzerinde etkisini incelemişlerdir.

Chen vd., (2014) spirulinadaki fikosiyanin maddesinin antioksidan kapasitesini belirlemişlerdir.

Sayedı ve Fawzy (2014) spirulina ile beslenen yayın balıklarında hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve lökosit gibi kan parametrelerinin değiştiğini, büyük ölçüde de lenfositlerin attığını belirlemişlerdir.

Macias-Sancho vd., (2014) beyaz karides (*Litopenaeus vannamei*)'e 50 gün boyunca spirulina vermişler; bazı immünolojik parametreler ve gelişme üzerinde spirulinanın etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Radhakrishnan vd., (2014) *Macrobrachium rosenbergii*'de üç farklı alg türünün enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktivitelere etkisini araştırmışlardır.

Salehi-Farsani vd., (2014) mersin balıklarında spirulinanın diyetle verilmesiyle balıkların karkas miktarında ve bazı büyüme parametrelerinden artışa sebep olduğunu; ayrıca bazı biyokimyasal parametreleri değiştirdiğini saptamışlardır.

Sarumathi vd., (2014) alkolik karaciğer hastalığına karşı spirulinanın koruyucu etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

2. 2. Balıklarda Bağışıklık Sistemi

Vücudun çeşitli patojen etkenlere karşı kendini koruması, hayatını devam ettirebilmesi için zorunludur. Savunma mekanizmalarının önemi enfeksiyonların ortaya çıkmasından sonra daha iyi anlaşılmaktadır. Balıklar, bulundukları ortam nedeniyle hastalık yapabilme kabiliyetindeki birçok mikroorganizma ile her an karşılaşma riskine sahip iken, bu karşılaşmanın çok az bir kısmında tehlikeli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Çünkü vücudun savunma sistemi, önemli bir belirti göstermeden patojen mikroorganizmayı etkisiz hale getirmektedir. Bu nedenle enfeksiyona yakalanma olasılığının çok yüksek olduğu su ortamında yaşamak zorunda olan balıklar için patojen mikroorganizmalara karşı vücudun göstereceği direnç büyük önem taşımaktadır. Bu direnci arttırmak için birçok immünostimulant madde kullanılmaktadır. İmmünostimulantların, balıkların spesifik olmayan savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği bilinmektedir (Ellis, 1981; Aoki, 1992; İspir, 2007).

Balıklarda da immun sistem diğer canlılarda olduğu gibi non-spesifik ve spesifik bağışıklık olmak üzere ikiye ayrılır (Ellis, 1981; Van Muiswinkel, 1992; Dalmo vd., 1997).

2.2.1. Balıklarda Non-spesifik Savunma Mekanizmaları

Balıklarda non-spesifik savunma mekanizmaları; konakçıda fizyolojik ve morfolojik hasara neden olan etkenleri ortadan kaldıran, enfeksiyonun meydana gelişini

engelleyen, oluşmasını geciktiren veya vücudun cevap vermesini sağlayan deri, mukus, gastrointestinal bölge, fagositik hücreler vb. gibi faktörlerin bir çoğunu içine almaktadır (Ellis, 1981;).

Balıklarda deri; keratin içermeyen epidermis hücreleriyle yüksek omurgalılarınkinden farklılık göstermektedir. Birçok patojenik mikroorganizma sağlıklı deriden geçememektedir. Sağlam derinin epitel örtüsü mikroorganizmaların girişini önleyen önemli ve iyi bir bariyerdir. Mikroorganizmalara karşı balığın ilk savunma sistemi olan deri ve solungaçlarda mukus salgılanarak epitel artışın sağlanmasıdır. Hastalık etkenlerinden korunabilmek için bu epitel katmanının yaralanmaması ve bütünlüğünün bozulmaması gerekmektedir (Ellis, 1981; Arda vd., 2005).

Mukus; antimikrobiyal sistemde komplementin oluşması için oldukça önemlidir. Balık ile çevresi arasında koruyucu bir tabaka konumunda olan mukus, çevrede patojen mikroorganizmaların görülmesiyle tüm vücudu kaplamaktadır (Ellis, 1981). Mukus kıvam olarak çok yoğun ve akışkan bir maddedir. Mikroorganizmaların içeri girebilmeleri için önce bu mukus bariyeri geçmesi ve sonra da epitel hücrelere temas ederek onlara tutunması gerekmektedir. Mukoid tabakanın devamlı hareket halinde olması mikropların hücrelere direk temasını zorlaştırmaktadır (Arda vd., 1994). Fiziksel ve kimyasal tahrişler ile enfeksiyonlara tepki esnasında mukus salgısının oranı artmaktadır. Derideki mukus komponentleri; antimikrobiyal sistemde önemli etkiye sahip olmaktadır (Dalmo vd., 1997).

Gastro-intestinal sistem; uzun bir süre yalnızca mikroorganizmaların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için enerji ve doku yenilenmelerinde kullanılan temel maddelerin, alınan besinlerden üretildiği bir organlar gurubu olarak bilinmekteydi. Fakat yapılan araştırmalar bu sistemin, bu ana görevi yanında canlının yaşamını tehlikeye sokacak çeşitli etkenlere karşı korunmasında da rol oynadığı ortaya koyulmuştur (İstanbuluoğlu, 1978). Gastro-intestinal bölge mikrobiyal invazyon için bir bariyer görevi görür. Düşük pH'ın etkisiyle çevredeki kuvvetli patojenlere karşı midenin tripsin ve pepsin gibi enzimlerin salgılanması bu sistemin önemli görevlerindendir (Ellis, 1981; Dalmo vd., 1997).

Balıklarda non-spesifik savunma mekanizmalarının en önemli faktörlerinden biri de fagositik hücrelerdir. Memelilerde makrofaj ve nötrofil olmak üzere başlıca iki fagositik hücre tipi vardır. Makrofajlar bir çok dokuda bulunmasına rağmen lenf düğümleri, dalak ve karaciğerde oldukça fazladır. Teleostlarda ise solungaçları içine alan dokularda da bulunmasına rağmen kalbin atriumunda, dalak ve karaciğerin retikuloendotelyal hücrelerinde daha fazla bulunmaktadır (Ellis, 1981).

Balıklarda non-spesifik hücresel immunitenin yanında; NK (Doğal Öldürücü Hücreler) hücreleri, tripsin, lizozim, CRP (C-reaktif protein), seruloplazmin (Cp) ve proteinaz inhibitörler gibi çeşitli antimikrobiyal maddelerin non-spesifik humoral savunma oluşturduğu bilinmektedir (Dalmo vd., 1997).

Lizozim (Muramidase) ilk defa 1922 yılında *Micrococcus lysoidekticus* üzerine etkisi gösterilerek tanımlanmıştır. Mukolitik enzim etkisi gösteren bazik bir proteindir. Lizozim, lökositler tarafından salgılanmakta olup Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarındaki polisakkaritleri şekere indirgeyerek bakterilerin parçalanmasına ya da parçalanmadan ölmesine neden olur. İntrasellüler olarak Gram negatif bakterilere de etkilidir. Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarındaki peptidoglikan ve muramik asit maddeleri en dıştaki dış membran tarafından korunduğundan bunlara da lizozimin komplementle birlikte etkisi vardır (Dalmo vd., 1997; Bilgehan, 1999).

C-Reaktif Protein; bir rastlantıya bağlı olarak *Streptococcus pneumoniae* kapsülünde bulunan C polisakkaritine bağlanma özelliği gösterdiğinden bu ismi almıştır. CRP her biri 21.500 kDa ağırlığında olan aynı yapıdaki beş alt ünite içeren yaklaşık 110.000 molekül ağırlığında bir proteindir. C-reaktif protein; bakterilere bağlanarak, aynı zamanda buraya komplementin tutunmasını da sağlar. Bu şekilde kaplanan bakteriler fagositler tarafından daha kolay fagosit edilir. Memelilerde görülen CRP ile serum amiloid proteinin (SA) bazı balık türlerinde bulunduğu kanıtlanmıştır. Gökkuşaağı alabalıklarında ön böbrek lenfositlerinin ve dış yüzeylerinin CRP ile kaplandığı tespit edilmiştir. Mitojenik (Konkavalin A ve LPS) stimulasyondan sonra CRP-pozitif lenfositlerin yüzdelik oranının yükseldiği gözlenmiştir. Ön böbrek fagositleri ve onların bakteri reseptörleri ile fagositozda CRP'nin etkileri üzerine yeteri kadar bilgi yoktur (Dalmo vd., 1997; Bilgehan, 1999).

Apotransferrinler (apotransferrine iki demir iyonun bağlanması); seruloplazmin ve metallothionin (bakır, çinko, kadmium ve civa gibi metal iyonlarının bağlandığı) gibi metal bağlayıcı proteinler (Siderofilinler) bakterilerin büyümesini engeller (Dalmo vd., 1997).

α_2 - makroglobulin gibi maddeler balık serumundaki proteinaz inhibitörlerdir. Proteinaz inhibitörlerin temel görevi kan ve diğer vücut sıvılarının hemostasisini sürdürmek ve komplement ile pıhtılaşma gibi mekanizmaların hareketini düzenlemektir (Dalmo vd., 1997).

Bunlardan başka balıklarda; sitokinler, interferon ve yaklaşık yirmi serum proteinin oluşturduğu komplement sistem de non-spesifik humoral savunma mekanizmasında görevlidir (Dalmo vd., 1997).

2.2.2. Balıklarda Spesifik Savunma Mekanizmaları

Balıklarda spesifik savunma mekanizmalarının en önemli elemanlarını immunoglobulinler oluşturmaktadır. B lenfositlerin başkalaşımı ile ortaya çıkan immunoglobulinler antijenik uyarımlar sonucu vücutta plazma hücreleri tarafından sentezlenen ve homolog antijenler ile birleşerek spesifik bir reaksiyon verebilen glikoprotein karakterindeki moleküllerdir. İmmunoglobulinler bütün memelilerin kan sıvısında (plazmada) bulunur. Daha az miktarda dokularda hücreler arası sıvılarda yer alırlar. Kan veya plazma pıhtılaştığında serumda bulunurlar. Bu gün memelilerde IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE olmak üzere beş farklı immunoglobulin sınıfı bulunduğu bilinmektedir (Arda vd., 1994). Balıklarda ise bir sınıf immunoglobulin kesin olarak teşhis edilmiştir. Bu immunoglobulin memelilerde makroglobulin veya IgM olarak isimlendirilen sınıfa oldukça benzerlik göstermektedir (Darson, 1981; Tizard, 1992). Kıkırdaklı balıkların serumunda IgM'nin pentamerik (19 S) ve monomerik (7 S) formları; kemikli balıklarda ise tetramerik (17 S) ve monomerik formları bulunmaktadır (Tizard, 1992).

Balıklarda antikorlar serumda, doku sıvılarında, sindirim kanalında, deriden ve solungaçlardan salgılanan mukus içinde bulunmaktadır. Teleost balıklarda bulunan IgM'nin dışında, hiperimmunize edilmiş havuz balıklarında (*Carassius carassius*) IgG benzeri; Avusturalya cadı balıklarında (*Myxinidae*) ise molekül ağırlığı 118 kDa olan ve IgN adı verilen IgM benzeri ikinci bir immunoglobulinin olabileceği bildirilmiştir (Tizard, 1992).

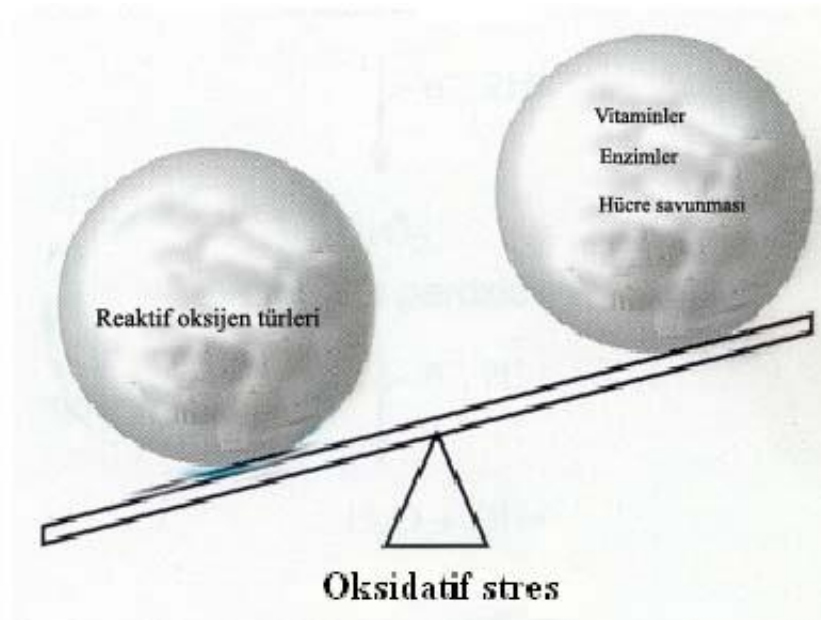
T lenfositleri T yardımcı klonlarının yanı sıra hücreler arası bağışıklıktan (Cells mediated immunity, CMI) sorumlu klonlara da sahiptir. immun yanıtın bu bölümü geniş bir sahayı içine alır ve vücudu istila eden mikroorganizmaları fagosite ederek sindirmek suretiyle vücudun non-spesifik koruma mekanizmasını oluşturan makrofajların teminini sağlar. Primer antijen stimülasyonunda T lenfosit klonları CMI'da rol alan öldürücü, supresör ve lenfokin üreten hücreler gibi farklı fonksiyonel hücrelere dönüşür. Bu hücrelerde, spesifik hücresel bağışıklığın yürütülmesinden sorumludurlar (Ellis, 1988; Gannam ve Schrock, 1999).

2.3. Balıklarda Antioksidan Savunma Sistemi

2.3.1. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistem ile İlişkisi

Balıklarda bağışıklık sisteminin yanı sıra bir de antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Oksidatif stresle ilişkili olarak stresin bağışıklık sistemi üzerine pek çok etkisinin olduğu hem memelilerde hem de balıklarda pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Oksidanların üretilmesi ve giderilmesi arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif hasar oluşur (Şekil 2. 3) (Cheung vd., 2001; Ögüt, 2005).

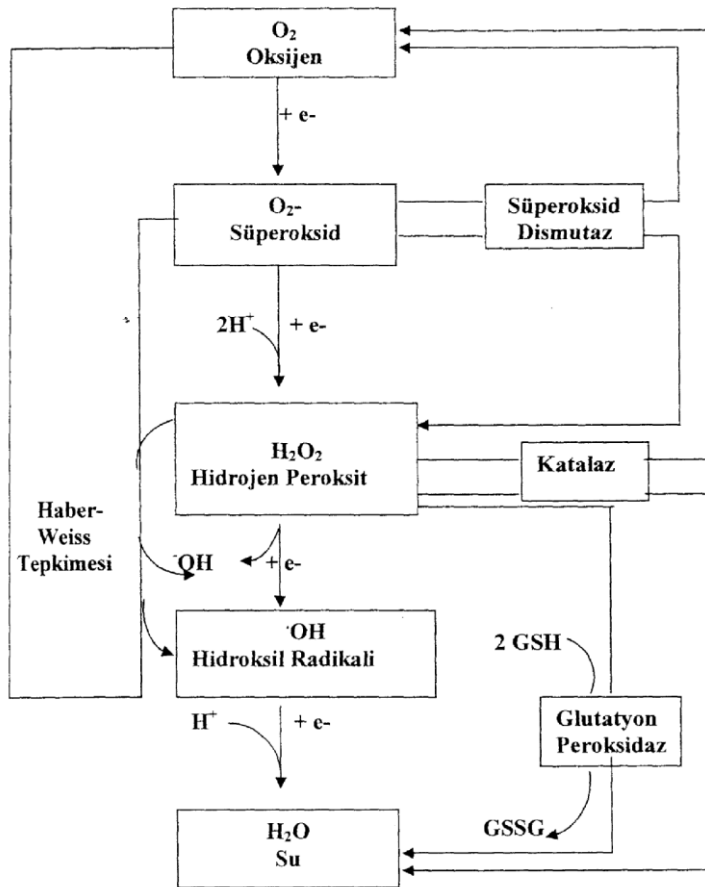
Balıklarda bulunan en önemli prooksidanlar; yapısında hem olan ve olmayan pigmentler, kompleks demir, ferritin, mitokondri-sarkoplazmik retikulum enzim sistemi, NADH (nikotinamid adenin dinükleotid hidrojenaz) ve lipoksijenaz'dır. Antioksidanlar ise; suda çözünen süperoksit dismutaz, katalaz, Fe-tutucular, askorbat, glutatyon peroksidaz, E vitamini, C vitamini, ubiquinol ve karotenoidler'dir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), proteinler, DNA ve bazı renk pigmentleri, prooksidanların etkisi altındadır. Balıklar diğer omurgalılarından farklı olarak ya günlük ya da mevsimsel sıcaklık ve oksijen değişikliğine maruz kaldıkları için kararsız çevre şartlarına uyum sağlayan metabolizmaya sahiptirler. (Filho, 1996; Abele ve Puntarulo, 2004; Ögüt, 2005; Piner, 2005; Borazan Özkurt, 2006; Alak ve Hisar, 2008).



Şekil.2.3 Oksidanların üretilmesi ve giderilmesi arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif hasar oluşması (Cheung vd., 2001).

2.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller ($R^\bullet$), peroksit radikalleri ($ROO^\bullet$), alkoksi radikalleri ($RO^\bullet$), organik peroksitler ($ROOH$), hidroperoksi (ROO^-) tiyil radikalleri ($RS^\bullet$), sülfenil radikalleri ($RSO^\bullet$), tiyil peroksit radikalleri ($RSO_2^\bullet$) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Şekil 2.4)(Altınışık, 2006).



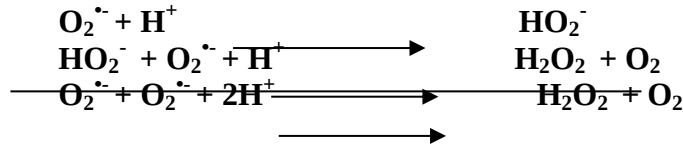
Şekil.2.4. Reaktif oksijen türleri ve antioksidan enzimler (Altınışık, 2006).

2.3.2.1. Süperoksit Radikalleri

Moleküler oksijenin tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan ve oksijen metabolizmasında en sık karşılaşılan, genellikle ilk olarak meydana gelen, ana oksijen radikali diye bilinen oksijen radikali. Mitokondriyal oksijenin yaklaşık % 4'ü solunum zinciri reaksiyonlarındaki elektron akışı ile süperoksit, hidrojen peroksit, tekli oksijen,

hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerini oluşturarak eksik redüksiyona uğramaktadır (Altınışik, 2006; Gökhan, 2007).

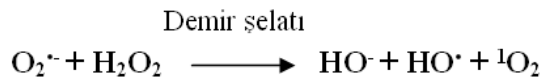
Temel halde moleküler oksijen dış orbitallerinde eşleşmemiş bir elektron içerir. Bu dış orbitallerin her biri birer elektron daha kabul edebilir. Orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu, iki elektron alması ile peroksil anyonu oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksil anyonu ortamdaki iki proton alarak hidrojen peroksiti oluşturabilir. Süperoksit radikali aldığı tek elektronu tekrar vererek oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici olarak davranabilir veya iki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri indirgenir ve böylece hidrojen peroksit ve moleküler oksijen meydana gelir (Gökhan, 2007)



Süperoksit radikallerin ortamdaki temizlendiği bu tepkimeye "dismutasyon tepkimesi" denir. Eğer bu tepkimede katalizör olarak süperoksit dismutaz enzimi varsa tepkime kendiliğinden dismutasyondan 10^9 kez daha hızlı gerçekleşir. Reaksiyon sonucu açığa çıkan hidrojen peroksit, hücrede antioksidan enzim olarak bilinen katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile parçalanarak zararlı etkisi ortadan kaldırılır (Yıldız, 2001).

2.3.2.2. Hidroksil Radikali ($\text{HO}^{\cdot}$)

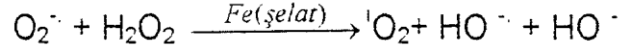
Süperoksit dismutaz bulunmayan bir ortamda süperoksit üretilirse, kısa süre için bile olsa, süperoksit birikimi olur ve kendi dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ve tekli oksijenin üretimine neden olur (Yıldız, 2001).



2.3.2.3. Tekli (Singlet) Oksijen (${}^1\text{O}_2$):

Ortamda süperoksit birikmesi durumunda kendiliğinden dismutasyon ile oluşabilen bir radikaldir. Tekli oksijen, hidroksil radikali gibi çok reaktif olup çok düşük derişimlerde bile bütün canlılar için toksik etkilidir. Bu iki radikalın biyolojik moleküller ile tepkimeye

girme hızları moleküllerin difüzyonu limitine yakındır. Yine hidroksil radikali oluşumunda olduğu gibi özellikle Haber- Weiss tepkimesi ile oluşur (Kırşan, 2002).



2.3.2.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) :

Hidrojen peroksit reaksiyona girdiği maddeye bağlı olarak yükseltgen veya indirgen olarak görev yapabilir. Zararlı oksijen radikallerinin oluşumundan sorumludur. Hidrojen peroksit, hücre membranlarından kolayca geçebilir ve uzun ömürlü bir oksidandır. Asıl üretim süperoksitin dismutasyonu ile olur (Kırşan, 2002).

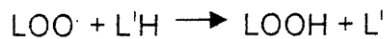
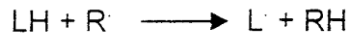
SOD



Bu tepkime ya kendiliğinden ya da süper oksit dismutaz varlığı ile gerçekleşir.

2.3.2.5 Lipid peroksit radikali (LOO•):

Hücre zarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu (PUFA'nın oksidasyonu) ile yağ asidi radikali (L•) oluşur. Bu radikal oksijenle hızla reaksiyona girerek lipid peroksit radikali (LOO•) meydana gelir. Bu radikal ise zincirleme tepkimenin taşıyıcısıdır ve başka bir yağ asidini (LH) oksitleyerek yeni bir zincir tepkimesi başlatır. Açığa çıkan lipid hidroperoksit (LOOH) yıkılarak reaktif radikalleri ve aldehitler oluşur (Tekkeş, 2006).



2.3.2.6 Hipoklorik asit (HOCl):

Bağıışıklık sistemine ait hücreler dış kaynaklı saldırganlara karşı hücumu geçtiklerinde doğal olarak oluşturulan hipoklorik asit, hidrojen peroksit ve klorun bir araya gelmesiyle oluşur ve yıkıcı özelliktedir. Hipoklorik asit (klorlu beyazlatıcılarda bulunan bir madde), hem proteinler ve onların yapı taşları (aminoasitler) için hem de DNA'daki kodlamayı oluşturan nükleotid bazları için bilhassa tahrip edicidir (Kırşan, 2002).

2.3.2.7. Nitrik oksit (NO•):

Nitrik oksit hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. Nitrik oksit sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir. Nitrik oksit, muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS, EC 1.14.13.39) etkisiyle sentezlenir. Nitrik oksit Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziste rol oynar (McSorley, 1998).

Nitrik oksitin süperoksit dismutaz enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar (McSorley, 1998; Altınışık, 2006).

2.3.3. Serbest Radikallerin Antioksidan Savunma Sistemi ile ilişkisi

Oksijenin canlılardaki toksik etkisi, ksenobiyotiklerin ve oksijenin metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Oluşan reaktif oksijen türleri nedeniyle sucul organizmalar genelde aşırı derecede oksidatif strese maruz kalır (Borazan Özkurt, 2006).

Deniz ve tatlısu balıkları karşılaştırdığında; deniz balıklarının karaciğer katalaz aktivitesi tatlı su balıklarından düşüktür. Bunun sebebi, denize göre tatlı suyun daha asidik yapıda olması ve yüksek hidrojen peroksit konsantrasyonuna bağlanır. Süperoksit dismutaz aktivitesinin deniz balıklarının karaciğer dokusunda tatlı su balıklarına göre daha yüksek bulunması, denizin alkalinitesinin ve süperoksit radikalleri konsantrasyonunun yüksek olmasıyla açıklanır (Filho, 1996; Kolaylı ve Keha, 1999; Şahan vd., 2003; Piner, 2005; Yılmaz vd., 2006).

Karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) sistemi, pek çok substratı hidroksile ederek ve suda çözünür hale getirerek redükte glutatyona, glukuronik aside ve sülfatlara bağlanarak

atılmasını sağlar. Bu sistemin substratları endojen ve eksojen olarak iki kategoride toplanır. Eksojen substratlar; hemen hemen bütün ilaçlar, benzen içeren organik çözücüler, etanol, aseton, bazı mantar toksinleri, antibiyotikler, kemoteropatik ajanlar, bitkisel terpenler, antioksidanlar, polisiklik hidrokarbon ve halojenli hidrokarbon içeren çevre kirleticileridir (Ariza vd., 1999; Cheung vd., 2001; Yüksek, 2006).

PAH (Polisiklik aromatik hidrokarbonlar) bileşikleri midyelerde, katalaz düzeyini düşürürken, kirleticisi miktarına bağlı olarak glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz düzeyleri artar. Organik kirleticilerden TCDD (2,3,7,8 tetraklorodibenzo-p-dioksin) ile kirlenmiş sulardaki alabalıklarda karaciğer süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeyleri daha yüksektir (Borazan Özkurt, 2006).

Metaller, deniz kirliliğine neden olan kontaminantlar arasında en büyük kısmı oluştururlar. Teknolojik gelişmelere paralel olarak son yıllarda düzeyleri daha da artmıştır. Özellikle midye, istiridye gibi bazı yumuşakçalar denizlerdeki metal kirliliğinin tespitinde biyoindeksör öneme sahiptir. Bu organizmalar akvatik sistemdeki metalleri çekerek, bünyelerinde biriktirirler (Mercan, 2004; Zorria vd., 2005).

Sublethal derişimde deneysel malationa maruz bırakılan balıklarda katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim düzeylerindeki değişimler, histopatolojik değişimlerden çok daha erken oluşur. Malationa maruz kalan balıklarda katalaz aktivitesinde önemli düzeyde azalma meydana gelirken, diğer iki enzimde artış gözlenir (Rosety, 2005).

Akuatik türlerde biyobelirteçler, stres faktörlerinin tayininde çok önemli rol oynamaktadır. Çevresel kirliliğin en çok kullanılan biyobelirteçleri; antioksidan enzimler, stokrom P-450 monooksijenazlar, glutatyon, malondialdehit ve karmaşık fonksiyon oksidaz sistemi faz II enzimleridir (Borazan Özkurt, 2006).

Asetilkolinesteraz aktivitesi organofosforlu ve karbamatlı insektisit kirliliğinin ölçümünde yüksek spesifiteye sahip biyobelirteçtir. Katalaz ve lipid peroksidasyonu oksidatif stres belirteçleridir. Glutatyon S-transferaz aktivitesi ise organik bileşikler ve metal kirliliği ile ilgilidir (Narbonne, 2005).

Denizlerdeki kirlenmenin göstergesi olarak biyobelirteçlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bu amaçla hem omurgalı deniz canlıları hem de omurgasızlar kullanılmaktadır. Son yıllarda deniz kabuklularının biyobelirteç çalışmalarında kullanımı artmıştır. Omurgalılarda, ethoxyresofurin dealkylation (EROD) miktarındaki artışın saptanması o bölgedeki kalıcı kirliliğin bir göstergesi kabul edilir (Sarkar vd., 2006).

2.3.4. Serbest Radikallerin Neden Olduğu Hasarlar

Serbest radikaller tek bir hücrede tahribat yapabildikleri gibi, fizyolojik sistemlerin tümünde de ciddi tahribat oluşturabilir. Serbest radikaller; kalp, beyin ve diğer organlara besin sağlayan damarları daraltarak ve neticede tamamen tıkayarak tahribata neden olabilir (Tablo 2.3) (Yanbeyi, 1999).

Tablo 2. 3. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri (Yanbeyi, 1999).

Etkilediği bileşikler	Etki sonucu meydana gelen reaksiyonlar
Doymamış yağlar	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon Lipidlerde çapraz bağlanmalar Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbonhidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	Hidroksilasyonlar Mutasyonlar, Kimyasal modifikasyonlar Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Nükleik asitler	Tek ve çift iplikçik kırılmaları Proteinlerde çapraz bağlar Baz içermeyen bölgeler
Kükürtlü amino asitler	Protein denatürasyonu ve çaprazlanma Enzimlerde inhibisyon
Proteinler	Peptid zincirlerinde kopma Denatürasyon

2.3.4.1. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar üzerine etkileri

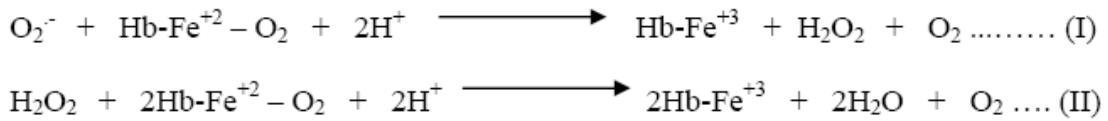
Hidrojen peroksit ve okzoaldehitler monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu açığa çıkarlar ve bu maddeler diabette önemli rol oynarlar. Kanseri ve yaşlanma olaylarında ise özellikle okzoaldehitler etkili olurlar. Bunlar DNA, RNA ve proteinlere çapraz bağlar oluşturarak bağlanabilme özelliklerine sahiptirler. Bu nedenle antimitotik etki gösterirler (Akkuş, 1995).

Jyothi ve Narayan (1999) *Clarias batrachus* üzerinde yaptıkları bir çalışmada bazı pestisitlerin balıkların serumlarında karbonhidrat metabolizmasında düzensizliklere sebep olduğunu ve kan glikoz seviyesinde değişikliklerin meydana geldiğini belirtmişlerdir.

2.3.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler (Akkuş, 1995).

Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Kanda oksijenin taşınmasında görev alan hemoglobinin yapısını oluşturan Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görür. Özellikle oksihemoglobin ($\text{Hb-Fe}^{+2} - \text{O}_2$) süperoksit radikali (I) veya hidrojen peroksit (II) ile reaksiyona girerek methemoglobin (Hb-Fe^{+3}) oluşur (Rice-Evans vd., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



2.3.4.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Hidroksil radikali ve tekli oksijen gibi radikaller nükleik asitlerle kolaylıkla tepkimeye girerler. Özellikle hidroksil radikali nükleik asitlerde hidrojen çıkarma veya katılma tepkimeleri verir. Nötrofillerin aktivasyonundan kaynaklanan hidrojen peroksit hücre zarından kolaylıkla geçerek çekirdek DNA'sında hasar meydana getirir. Hücre disfonksiyonuna ve zaman zaman hücre ölümüne bile neden olabilir. Tekli oksijen radikali; güçlü bir oksitleyicidir. Bu yüzden yüksek elektron yoğunluğu içeren guanin molekülü ile daha kolay reaksiyon verir (Thompson, 2004).

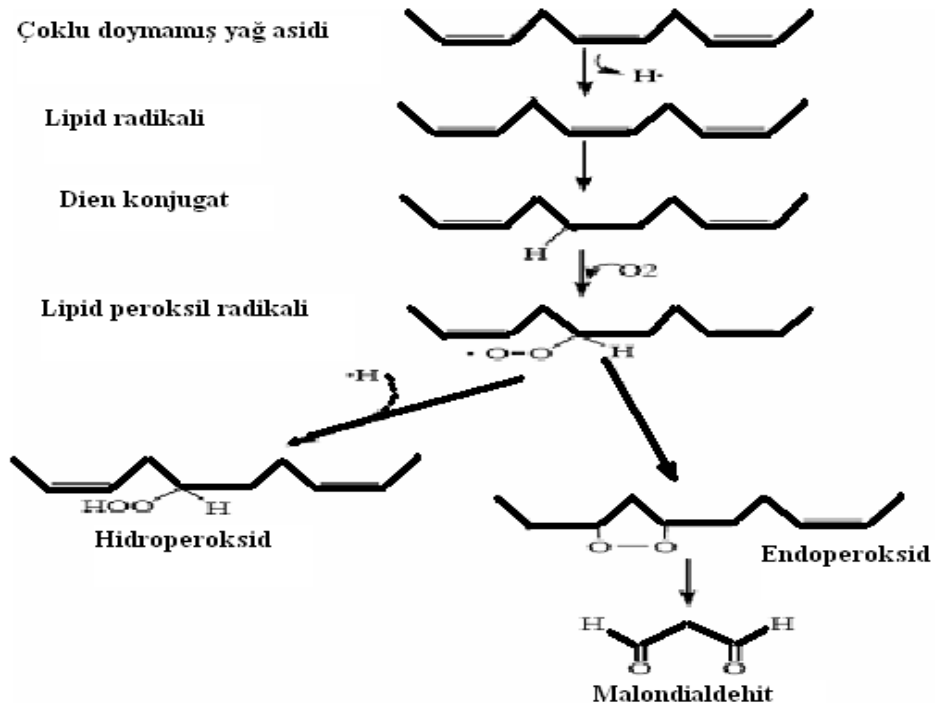
Serbest radikaller, her iki kolu da aynı anda tahrip edebilir ya da çift sarmalın polimer iskeletini parçalayabilirler. Ayrıca, tüm DNA'nın etrafında proteinlerden oluşmuş sarmalayıcı bir bulut vardır. Bu moleküllerin, DNA'yı hareket ettirdiği ve çekirdek içinde moleküllerin taşınması için yollar oluşturduğu düşünülmektedir. Serbest radikaller,

DNA'yı saran bu proteinler arasında çapraz bağlar oluşturarak onları etkisiz hale getirebilir ve DNA'nın işlevini kısıtlayabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

2.3.4.4. Serbest radikallerin Hücre Zarı ve Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Tüm biyolojik zarlar, çoklu doymamış yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. Lipid peroksidasyonu (LPO), çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve oto katalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Yanbeyi, 1999).

Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan hidroksil radikalının membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Şekil 2.5)(Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999). Lipid peroksidasyonu reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır ya da oto katalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder. Serbest radikaller hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Dikici, 1999).



Şekil 2. 5. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Altınışik, 2006).

2.3.4. Antioksidanların Sınıflandırılması

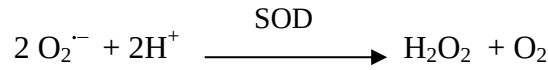
2.3.4.1. Endojen Antioksidanlar

2.3.4.1.1 Enzim olan endojen antioksidanlar

Balıklarda antioksidan enzimlerin aktiviteleri, diğer omurgalı hayvanlarınkine benzemekle beraber balık türlerine, balığın cinsiyetine, büyüklüğüne, su sıcaklığına, sudaki oksijen düzeyine, sudaki kirleticilerin bulunmasına, hastalıklar gibi nedenlere bağlı olarak değişebilir (Yıldız, 2001).

2.3.4.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1, EC-SOD) süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



Balıklarda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır. Fe-SOD balıklarda bulunmaz. Kofaktör olarak demir içermesi dışında Mn-SOD'a benzer. Çevreden gelen radikallere karşı koruyucu fonksiyon görür (Yıldız, 2001).

Süperoksit dismutazın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Süperoksit dismutaz, fagosit edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. Süperoksit dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Süperoksit dismutazın hücre dışı aktivitesi çok düşüktür (Ihara vd., 2005; Lushchak ve Bagnyukova, 2006).

Soğuk bölgelerde yaşayan balıklarda süperoksit dismutaz aktivitesi sıcak bölgelerde yaşayan balıklara oranla daha fazladır (Abele vd., 2004).

Bakır sülfat ile muamele görmüş balıklarda süperoksit dismutaz ve Mn SOD aktivitesinde azalma görülür (Varanka vd., 2001).

2.3.4.1.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

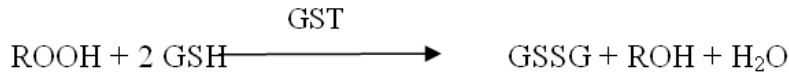
Glutasyon peroksidaz (glutasyon: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9), sitozolde bulunur, dört selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutasyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (Yıldız, 2001).

2.3.4.1.1.3. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.8.1.7), glutasyon peroksidaz vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun tekrar indirgenmiş glutatyona dönüşümünü katalize eder (Altınışık, 2006).

2.3.4.1.1.4. Glutasyon S-Transferaz (GST)

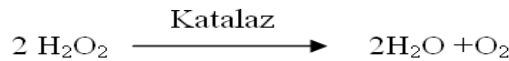
Glutasyon S-transferaz (GST, EC 2.5.1.18) her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. Glutasyon S-transferazlar, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Altınışık, 2006).



Glutasyon S-transferaz katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptir. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Glutasyon S-transferaz, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizler (Altınışık, 2006).

2.3.4.1.1.5. Katalaz (CAT)

Katalaz ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar.



Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (Atif vd., 2006).

Katalaz sucul organizmaların antioksidan enzim çalışmalarında çok önemli bir yere sahiptir (Avcı vd., 2005).

2.3.4.1.1.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksiti detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla besin maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksitin zararlı etkilerine engel olurlar (Altınışık, 2006).

2.3.4.1.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar

2.3.4.1.2.1. Melatonin (Epifiz hormonu)

Melatonin (MEL), karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Melatonin, epifizde triptofan amino asidinden, serotonin üzerinden sentez edilir. Antioksidan enzim sentezini uyarmaktadır. En zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır (Blanc ve diğ, 2003; Yazıcı ve Köse, 2004).

Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez Ianas vd., (1991) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan *in vitro* (Tan vd., 1993; Pakkila vd., 1998) ve *in vivo* (Yamamoto ve Tang, 1996) çalışmalarla desteklenmiştir.

2.3.4.1.2.2. Seruloplazmin

Seruloplazmin hem bakır hem de demir metabolizmasında görevli antioksidandır. Seruloplazmin süperoksit dismutaza benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder. Bu protein, serbest radikalleri etkisizleştirmek için bir elektron vermeye istekli olan bir bakır molekülü içerir. Bu süperoksiti, hidroksil radikali, tekli oksijeni etkisiz hale getirir ve kan dolaşımındaki antioksidan aktivitenin hemen hemen %70 'ini gerçekleştirir. Yaralanmalardan sonra seruloplazmin düzeyleri yükselir. Bu da inflamasyon sonucu oluşan fazla miktardaki serbest radikale karşı savaş gerektiğinde, seruloplazminin indüklenebildiğini gösterir. Seruloplazmin, inflamasyon sırasında hücre ölümlerini engeller (Cousins, 1985; Güner, 2005).

Askorbat serbest radikalleri, askorbik asitin, süperoksit ve hidroksil radikali ile reaksiyonu yolu ile de oluşabilir, ancak, değişken metallerin varlığında, özellikle bakır,

oksidasyondan daha çok etkilenir. Bu oksidasyon, seruloplazmine bağılı olan bakır atomları ve albümin ile birleşmiş olan demir atomlarından oluşmuş katalitik redoks sistemi aracılığıyla gerçekleşir (Gürer, 2005).

Seruloplazminin temel fizyolojik fonksiyonları şunlardır (Gürer, 2005):

- Plazma ferrooksidaz aktivitesi (Demir homeostazisinin sağlanması)
- Askorbat oksidaz aktivitesi
- Bakır taşınması ve depolanması
- Organik substratların yıkımı
- Antioksidan aktivite
- Prooksidan aktivite
- NO oksidasyonu
- Akut faz proteini

Bakteri, virus veya diğer enfeksiyonlarda hastalığın erkenden tespit edilmesinde hayvanın seruloplazmin aktivitesi önemli ipuçları vermektedir. Bu testlerin sonucunda erkenden teşhis pratik bir yol olup tedavi edici veya koruyucu önlemler alınabilir.

Yetiştiriciliği yapılan balıklarda seruloplazminin fizyolojik aktivitedeki etkisi hakkında bilgi oldukça azdır. Balıklarda seruloplazminin yaşa bağılı olarak azaldığı görülmektedir. Bu sonuç insanlarda yapılan seruloplazmin çalışmalarıyla uyum sağlamaktadır. Balıklarda hastalık durumunda seruloplazmin aktivitesi yüksek bir düzeye ulaşmaktadır (Siwicki ve Studnicka, 1987).

2.3.4.1.2.3. Glutasyon (GSH)

Glutasyon, karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan çok önemli bir antioksidandır. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutasyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar (Şekil 4. 5). Glutasyon, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Piner, 2005).

Selenyum, glutatyonun önemli bir bölümünü oluşturur. Diyetle ve içme suyunda yüksek düzeyde selenyum bulunmasının birçok kanser türüne karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Selenyum alımı, aynı zamanda karbon tetrakloridin karaciğerde yaptığı tahribata karşı da korur. Karbon tetraklorid, son derece reaktif olan triklor metil serbest radikale parçalanmak suretiyle tahribat yapar. Bu durum glutatyon sisteminin serbest radikal tahribatını önlediğinin başka bir kanıtıdır (Yıldız, 2001).

Glutatyon sistemi, lipit peroksitleri temizleyen yegâne enzim sistemidir. Lipit peroksitlerin temizlenişinin üç önemli işlevi vardır (Yıldız, 2001):

1. Lipit peroksinin, çapraz bağ oluşturan aldehite dönüşümünü önler.
2. Lipit peroksinin demir veya bakırla etkileşimini durdurur ki bu zincir dallanma reaksiyonu alkoksi radikal ve hidroksi radikali gibi iki serbest radikal daha oluşturur.
3. Daha fazla bağışıklık hücrenin ortama çekilmesine neden olan kemotaktik maddelerin üretilmesine yol açan kimyasal reaksiyonu engeller. Bu reaksiyonu azaltmak suretiyle serbest radikal saçan fagositlerin ortama gelişini yavaşlatır ve kemotaktik maddeler oluşumunun yol açtığı serbest radikal oluşumunun önüne geçer.

2.3.4.1.2.4. Ürik asit

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Ayrıca C vitamini oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır. Ürik asit, laboratuvar testlerinde C vitamini kadar etkin bir biçimde süperoksiti etkisizleştirir. Bu aynı zamanda hem hidroksil radikali hem de hücre zarının serbest radikal hücumuna maruz kalmasıyla ilk olarak ortaya çıkan lipit peroksit radikalini ($LOO^{\cdot}$) etkisiz hale getirir (Altınışık, 2006).

2.3.4.1.2.5. Hemoglobin

Kana kırmızı rengini veren hemoglobin kendine has özelliklere sahip, olağanüstü antioksidan kompleks bir moleküldür. Hemoglobin oksijeni taşıırken ona tam olarak bağlanmaz, oksijeni tıpkı bir maşa ile tutar gibi bir ucundan yakalar ve götüreceği yere kadar bu şekilde taşır. Hemoglobin molekülünde dört zincirden oluşmuş “globin” adı verilen bir protein bulunmaktadır. Her globin, "hem grubu" adı verilen bir başka moleküle bağlıdır. Hem grupları, oksijenin hemoglobine bağlanmasında son derece önemlidirler. Hem gruplarının her biri birer demir iyonu taşır. Hemoglobin molekülündeki dört hem, normal şartlarda birbirlerine paralel, globin molekülüne ise dikey durumdadır. Ancak hem

grupları kendilerine oksijen bağladıklarında, bu paralellik kaybolur. Paralelliğin kaybolma sebebi hem gruplarının birbirlerinden mümkün olduğunca uzaklaşmasıdır. Kendisine oksijen atomu bağlayan hem gruplarından bir tanesi, bu bağlanmanın ardından öyle çarpılır ve bükülür ki, kendisinden sonra gelen diğer grubun da çarpılmasına neden olur. Böylece ikinci hem, daha kolay oksijen bağlayabilmekte ve bu bağlanmalar sırasında demirler arasında oluşabilecek bir oksijen köprüsünün kurulması önlenmiş olmaktadır (Altınışik, 2006; Leknes, 2001).

2.3.4.1.2.6. Balıklarda bulunan enzim olmayan endojen bazı antioksidanlar

Balıklarda bulunduğu bilinen diğer bazı enzim olmayan endojen antioksidanlar ve görevleri şunlardır (Akkuş, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Tiano vd., 2003; Altınışik, 2006; Mulder vd.,2007);Transferrin ve Laktoferrin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar.

Bilirubin: Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda çok etkili bir lipid antioksidandır. Bilirubinin mikromolar konsantrasyonlarda dahi peroksil radikalini yakaladığı ve zincir kıran antioksidan olarak davrandığı gösterilmiştir Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.

Albümin: Plazmanın zincir kırıcı antioksidan aktivitesine yol açan plazma sülfidril gruplarının major komponentidir. Albümin plazmada güçlü bir LOOH ve hipoklorik asitin (HOCl) toplayıcısıdır.

Ferritin: Dokudaki demiri bağlar.

Desferroksamin: Serbest Fe^{+3} 'ü bağlar.

Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.

Ebselen: Selenyumlu bir bileşiktir, glutatyon peroksidaz aktivitesini güçlendirir ve lipoksijenaz yolunu inhibe eder.

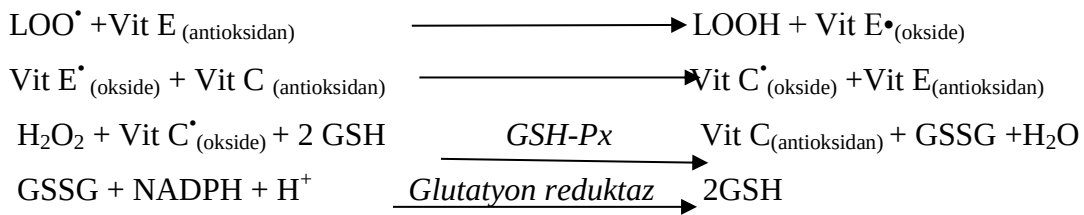
Sitokinler: Başta katalaz olmak üzere antioksidan enzimleri aktive ederler. Ancak proteolitik enzimleri aktive ettiklerinden dolayı zararlı da olabilirler. Balıklarda da bulunduğu bildirilmiştir.

Demir şelatörleri: Hücre içine girerek serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler, böylece Fenton reaksiyonunu ve sonuçta hidroksil radikali oluşumunu inhibe ederler.

2.3.4.2. Eksojen Antioksidanlar

2.3.4.2.1. E vitamini (α -tokoferol)

E vitamini bulunduğu biyolojik ortamlardaki serbest radikal türlerini toplayarak peroksidasyonun erken döneminde zar fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur. Bir diğer yol ile de tekli oksijen, süperoksit ve daha çok hidroksil radikallerini indirger. Bu işlevini peroksidasyon reaksiyon zincirini sonlandırarak gerçekleştirir. (Evelson vd., 1997; Stratton and Liebler, 1997).



Glutasyon peroksidaz ile E vitamini, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutasyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (Wise vd., 1993).

2.3.4.2.2. C Vitamini (askorbik asit)

C vitamini organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. Bağışıklık ve yaraların iyileşmesinde etkilidir (Mustafa vd., 1997).

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdan temizler (Halliwell, 2001).

Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı C vitamini, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. C vitamininin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir (Polat ve Tokur, 2000; Franke vd., 2005).

2.3.4.2.3. A Vitamini

A vitamini bir ucunda β -iyonon halkası diğer ucunda bir alkol grubu bulunan hidrokarbon zinciridir. Retinol, retinal, retinoik asit ve β -karoten gibi bir grup biyolojik olarak aktif moleküle A vitamini adı verilmektedir. Bunlardan yalnızca retinol tam bir A vitamini aktivitesine sahiptir (Yıldız, 2001).

β -karoten, tekli oksijeni etkisiz hale getirdiği bilinen en etkin maddedir ve bu şekilde enzimatik savunma mekanizmalarındaki boşluğu doldurmaktadır. β -karoten, diğer birçok serbest radikalle etkin bir şekilde mücadele eder; yağda erime özelliğine sahiptir ve bu da hücrenin lipid zarlarında E vitamini ile birlikte işlev göstermesini sağlar. DNA'yı kanser oluşumuna yol açan tahribattan koruyan çok önemli bir antioksidan olan A vitamininin metabolik ön maddesi β -karotenin, tekli oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan vazife gördüğü bildirilmiştir (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Haegele vd., 2000; Yıldız, 2001).

2.3.4.2.4. Folik asit

Folik asit birbirine bağlanmış pteridin bazı, p-amino benzoik asit (PABA) ve glutamik asitten meydana gelmiştir. Folik asidin biyolojik aktif şekli tetrahidrofolik asit (THF)'tir. Balıkta folik asit önce NADPH_2 ve askorbik asit varlığında tetrahidrofolik aside dönüştürülür. Karaciğerde depolanır. Vücuttaki birçok sentez olayına katılır. Özellikle nükleik asit metabolizmasında önemlidir. Hem sentezinde tek karbon taşıyıcısı olarak rol oynar. Kırmızı kan hücrelerinin oluşumu ve proteinlerin enerjiye dönüştürülmesi için gerekli olan önemli bir vitamindir. Folik asit antihemorajik bir vitamindir ve antianemik etkisi nedeniyle vitamin B_{12} ile yakından ilişkilidir. THF'in hücre bölünmesi ve büyümedeki etkisi bu maddelerin bağımlı olduğu enzimlerin pürin ve pirimidin sentezine katılmasındandır. Yaraların iyileşme süreci ve sindirim sistemi fonksiyonlarının devam etmesi, vücuttaki folik asit miktarına bağlıdır (Bragadottir, 2001)

Balıklarda folik asit yetersizliğinde eritrosit sayısında azalma eritrositlerde şekil bozuklukları görülür. Sazan balıklarının bu vitamini sentezlediği kanıtlanmıştır (Sarı ve Çakmak, 1996).

2.3.4.2.5. Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidanlar sınıfından olan flavonoidler, bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Başlıca besinsel kaynakları elma,

portakal, limon gibi meyveler ile patates, karnabahar gibi sebzelerdir. Şarap, üzüm suyu ve çay gibi bitkisel kaynaklı içeceklerde de bulunurlar (Dikici, 1999; Perez vd., 2002).

Görevi ROO• ve RO• radikalini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sonlandırmaktır. Ayrıca bakır iyonlarıyla kompleks oluşturabilirler. Bu durum antioksidan etkilerine bağlı olarak gelişir (Feredioon vd., 1992; Avcı, 2001).

2.3.4.2.6. Ubikinon (Koenzim Q, CO-Q10)

Bağışıklık sisteminin önemli bir parçasıdır. Antibiyotikler, bağışıklık sisteminin yeniden yapımına yardım edemezken CO-Q10, antibiyotik ve antiviral ilaçlardan daha fazla yardım eder. Öte yandan CO-Q10 bağışıklık sistemini doğal olarak uyarır ve sonuç olarak daha faydalı ve koruyucu etki sağlar. Enerji fabrikası olarak bilinen mitokondri gibi çoğu vücut enerji sistemlerinde önem arz eder. Askorbik asit ve ubikinon eksikliğinde mitokondride yaşlılık mutasyonları çok yüksek oranda olur. Yapılan çalışmalarda, CO-Q10' nun E vitamini ile ilişkili olduğu, E vitamininden 50 kez daha fazla serbest radikalleri yatıştırıcı yeteneğe sahip olduğu ve yine serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif hasardan membran proteinleri ve DNA'yı koruduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar CO-Q10'nun LDL oksidasyonunu önlediğini ve CO-Q10'nun LDL' ye E vitamini tarafından bağlandığını belirtmişlerdir. Laboratuvar hayvanlarının ömrünü uzattığı görülen CO-Q10'nun insan ve hayvanlar üzerinde toksik etkisine rastlanmamıştır (Bragadottir, 2001; Akarçay, 2004).

2.3.4.2.7. Selenyum

Antioksidan savunma mekanizmasının bir parçası olarak vücudun ihtiyacı olan bir elementtir. Mitokondride ATP biyosentezinde, koenzim biyosentezinde, immünolojik olaylarda rol oynar. Selenyum, glutatyon peroksidazın fonksiyonel bir ögesi olarak bu enzimi aktif durumda tutar. Selenyumun E vitamini ile de yakından ilişkisi vardır ve peroksidasyona karşı savaşta E vitamini'nin yükünü azaltır. Selenyum glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin ayrılmaz bir parçasıdır. Glutatyon peroksidaz, hücre membranında peroksidasyon olayını önler, böylece hücre oksidatif dejenerasyondan korunmuş olur. Selenyum ve E vitamini lipid peroksitlere karşı olan mücadelede birbirlerinin etkilerini güçlendirirler (Combs, 1975; Wise vd., 1993; Sarı ve Çakmak, 1996).

2.3.4.2.8. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar aşağıda verilmiştir (Altınışik, 2006).

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- Rekombinant süperoksit dismutaz
- Trolox-C (vitamin E analogu)
- Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri

2.3.4.2.9. Gıdalardaki eksojen antioksidanlar

Gıdalarda bulunan eksojen antioksidanlar aşağıda sıralanmıştır (Altınışik, 2006).

- Butylated hydroxytoluene (BHT)
- Butylated hydroxyanisole (BHA)
- Sodium benzoate
- Ethoxyquin
- Propylgalate
- Fe-süperoksit dismutaz

2.3.5. Antioksidanların Genel Etki Mekanizmaları

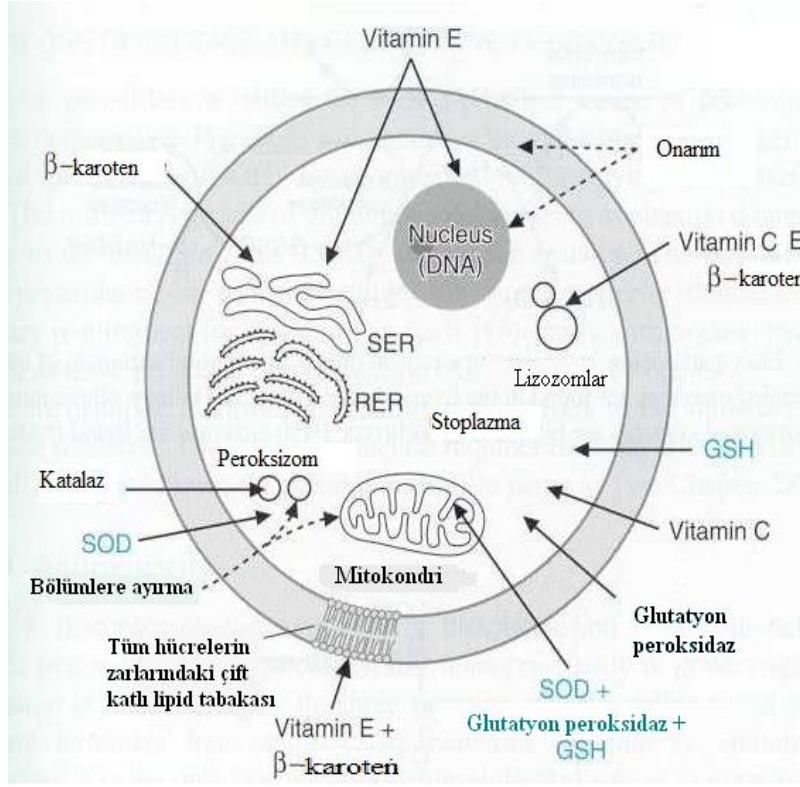
Antioksidanlar canlılara dört ayrı şekilde etki ederler (Altınışik, 2006) (Şekil 2. 6).

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme antioksidanların toplayıcı etkisidir. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme antioksidanların bastırıcı etkisidir. Vitaminler ve flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki antioksidanların zincir kırıcı etkisidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması antioksidanların onarıcı etkisidir.



Şekil 2. 6. Genel olarak antioksidanların hücredeki fonksiyonları (Altınışık, 2006).

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Uygulama Yeri ve Balık Materyali

Çalışmada; DSİ. 9. Bölge Müdürlüğü, Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü Üretim Tesisleri, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı ve Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarları kullanıldı.

Araştırmada ortalama ağırlığı $99,20 \text{ g} \pm 9,71 \text{ g}$ (89-120 g) olan yaklaşık 1500 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanıldı. Balıklar yerel bir işletmeden temin edilerek, araştırmanın yürütüldüğü DSİ. 9. Bölge Müdürlüğü, Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nün Üretim Tesislerine getirildi ve 80 x 75 x 90 cm ebatlarında 540 litrelik fiberglas tanklara stoklandı (Şekil 3.1). DeneySEL çalışmaya başlamadan önce yeni yerlerine alışmaları için ortama 15 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon süresince balıklara günde iki kere doyana kadar ticari alabalık yemi verildi.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan tanklar (Orjinal)

3.1.2. Su Materyali.

Araştırma boyunca DSİ. 9. Bölge Müdürlüğü, Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü Üretim Tesislerinin sıcaklığı ortalama $15 \pm 1,37$ °C, çözünmüş oksijeni $8,56 \pm 0,32$ mg/l, pH'sı $6,9 \pm 0,22$ olan su kullanıldı.

3.1.3. Bakır Sülfat Materyali

Bu çalışmada kullanılan bakır sülfat, suda çözünebilir kristal formda, % 25 metalik bakıra eşdeğer; molekül ağırlığı 249, 68 g/mol olan bakır sülfat pentahidratır ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

3.1.4. Spirulina Materyali

Çalışmada kullanılan saf haldeki toz spirulina özel bir şirketten sağlandı.

3.2. Metot

3.2.1. Bakır Sülfatın Sublethal Dozunun Belirlenmesi ve Balıklara Uygulanması

Bu amaçla bilinen standart toksikoloji metotlarından (Anonim, 1998) yararlanılarak farklı konsantrasyonlardaki (0,00 mg/l - 0,0625 mg/l - 0,125 mg/l - 0,25 mg/l - 0,5 mg/l - 1 mg/l - 2 mg/l - 4 mg/l - 8 mg/l - 10 mg/l) bakır sülfat solüsyonları hazırlandı. Toksisite denemelerinde biri kontrol olmak üzere her birinde 10 adet balık bulunan 80 x 75 x 90 cm ebatlarında 540 litrelik 10 fiberglas tank kullanıldı. Balıkların genel durumu 96 saat boyunca kontrol edildi. Bu süre sırasında balıklara yem verilmedi. Günde iki defa kontrol edilerek ölen balıklar uzaklaştırıldı ve not edildi. SPSS 12 paket programda probit analizi kullanılarak bakır sülfatın gökkuşağı alabalığı üzerindeki LD_{50} değeri belirlendi. Toksisite denemeleriyle LD_{50} değeri (1 mg/l) belirlendikten sonra bu değer %20'si sublethal doz (0,2 mg/l) olarak kabul edildi. Spirulinanın gökkuşağı alabalıklarının antioksidan ve immun sistem parametrelerine etkisinin araştırıldığı 21 günlük çalışma süresince balıklar bu yoğunluktaki bakır sülfata maruz bırakıldı. Çalışma boyunca suyun pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen miktarları sürekli kontrol edildi.

3.2.2. Spirulinanın Oral ve Enjeksiyon Yoluyla Gökkuşağı Alabalığına Uygulanması

Kontrol balıkları ile sublethal dozda bakır sülfat uygulanan balıklar fiberglas tanklara yerleştirildi. Her iki uygulama için ayrı ayrı aşağıdaki deneme grupları oluşturuldu. Her deneme grubunda 40 balık olacak şekilde balıklar tanklara yerleştirildi.

3.2.2.1. Besleme Grupları İçin Yemlerin Hazırlanması

Ticari alabalık yemi değirmende öğütülerek toz haline getirildi. 200- 400- 800 mg/ kg oranlarında spirulina içerecek şekilde üç ayrı yem hazırlandı. İyice karıştırılan yemler ilave yağ ve su katkısıyla hamur haline getirildi. Hamur haline getirilen yem örnekleri bir kıyma makinasından geçirilerek ayrı ayrı fırın tepsilerine yerleştirildi ve yem fırınına konuldu. Pelet haline gelip kuruduktan sonra yemler alınarak nem almayacak plastik kaplara konuldu. Kontrol için spirulina katkısı olmayan normal alabalık yemi kullanıldı.

Besleme grupları

1. Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış ve bazal diyetle beslenen kontrol grubu) **(NK)**
2. Pozitif kontrol (Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu) **(PK)**
3. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 200 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(DP1)**
4. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 400 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(DP2)**
5. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 800 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(DP3)**
6. 200 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(D1)**
7. 400 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(D2)**
8. 800 mg/ kg yem oranında spirulina ilave edilmiş yem ile beslenen deney grubu **(D3)**

3.2.2.2. Enjeksiyon Grupları için Spirulinanın Hazırlanması ve Balıklara Uygulanması

Ön çalışmalarla belirlenen oranlarda (200- 400- 800 mg/ kg balık) spirulina absolut etil alkol ile çözülerek ultrasonik homojenizatör ile iyice parçalandı. Daha sonra 3500 rpm de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatant alındı. Santrifüj işlemi 3 defa tekrarlanarak çalışmada kullanılacak spirulina çözeltisi elde edildi. Elde edilen çözelti balıklara enjeksiyon uygulaması yapılana kadar +4 °C 'de muhafaza edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Enjeksiyon için spirulinanın hazırlanması (orjinal).

İntraperitoneal enjeksiyonla farklı dozlarda spirulina uygulanacak balıklara banyo yoluyla 50 ppm anestetik madde (benzokain) verilerek enjeksiyon sırasında oluşabilecek stresin etkisi en aza indirildi. İnsülin enjektörlerine çekilen absolut alkolde çözünmüş spirulina her bir balığa aynı şekilde 200 µl olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyonla verildi. Kontrol gruplarına (ENKA, EPA ve EPK) ise sadece absolut alkol enjekte edildi.

Enjeksiyon Grupları

1. Negatif kontrol **(NK)** (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar)
2. Etil alkol uygulanmış negatif kontrol grubu **(ENKA)**
3. Etil alkol uygulanmış sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu **(EPA)**
4. Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu **(EPK)**
5. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu **(EP1)**
6. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu **(EP2)**
7. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu **(EP3)**
8. 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu **(E1)**

9. 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu (E2)

10. 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanmış enjeksiyon grubu (E3)

Deneme süresi boyunca tüm balıklar spirulina katkısı olmayan normal alabalık yemi ile beslendi.

3. 2. 3. Suyun Sıcaklık, pH ve Çözünmüş Oksijen Değerleri İle Bazı Parametrelerinin Belirlenmesi

Araştırma süresince her gün düzenli olarak, 0,1 hassasiyetli termometre ile suyun sıcaklığı, 0,003 hassasiyetli pH metre ile pH'sı ve 0,01 hassasiyetli YSI 5775 cihazı marka oksijenmetre ile çözünmüş oksijen miktarı ölçüldü. Suyun demir, fosfat, amonyum, klor, nitrit, nitrat, toplam sertlik gibi kimyasal analizleri ise NOVA 60 marka su analiz cihazıyla ticari kitler kullanılarak gerçekleştirildi.

3. 2. 4. Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması

Kontrol ve deneme grubu balıkları 3., 7., 14. ve 21. günlerde 50 ppm benzokain ile anestezi edilerek balıkların kuyrukları kesildi (Şekil 3.3). Kan örnekleri EDTA'lı tüplere bırakıldı. Kuyruktan son birkaç damla kandan glikometreye alınarak kan glikoz seviyesi okundu. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde (Şekil 3.4) aynı gün hemoglobin değeri ile NBT aktivitesi tespit edildi ve geriye kalan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazmada seruloplazmin, toplam protein ve toplam immunoglobuline bakıldı.

Katalaz aktivitesinin belirlenmesi için plazması ayrılan kan örneklerinden elde edilen hemolizat serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) ile üç kez yıkandı. Elde edilen plazma örnekleri ve hemolizat kullanılcaya kadar -20°C de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Biyokimyasal analizler için balıklardan karaciğer, böbrek ve dalak dokuları alındı. Kullanılincaya kadar -20°C derin dondurucuda muhafaza edildi. Alınan doku örneklerinden homojenatların hazırlanması için örnekler tartıldı. İki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra 1: 10 oranında distile su sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 50 ml'lik propilen tüplere alınarak +4 °C' de 3200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant elde edildi.



Şekil 3.3. Balıktan kan alımı için kuyruk yüzgecinin kesilmesi (Orjinal).



Şekil 3.4. Balıkların kuyruklarından kan alınması (Orjinal).

Balıklardan alınan kan ve doku örneklerindeki bazı immunolojik ve biyokimyasal değişimler aşağıda açıklanan metotlara göre belirlendi.

3.2.5. Kan Glikoz Düzeyinin Belirlenmesi

Kan glikoz düzeyi hazır test stripleri üzerine 1 damla kan damlatıldıktan sonra Finetest gluco prestige marka glikometre kullanılarak tespit edildi.

3.2.6. Hemoglobin Düzeylerinin Belirlenmesi

Deney tüplerine 20 µl kan bırakıldı. Üzerine 5 ml Drabkin's solüsyonu eklenerek 10 dakika karanlıkta beklendi ve 540 nm'de spektrofotometrede drabkin solüsyonuna karşı okundu (Drabkin, 1946).

3.2.7. Nötrofillerin Toplam Oksidatif Radikal Üretimi (Nitroblue Tetrazolium (NBT)) Aktivitesinin Tespiti

Mikrotiter tabaklara 100 µl kan ve eşit miktarda Nitroblue tetrazolium (NBT) ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Bu karışımdan 50 µl alarak 1 ml N, N dimetil formamide içeren cam tüplere kondu. Tüpler 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek üstteki tabaka 1 ml'lik küvette 540 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrede okundu (Siwicki vd., 1994).

$$\text{Absorbans} \times 4 = \text{mg NBT formazan} / 1 \text{ ml Kan}$$

3.2.8. Seruloplazmin Düzeyinin Belirlenmesi

Kan 5 dakika 1000 x g'de santrifüj edildi. Su banyosunda 24 °C'de tutulan 2 test tüpüne 0,5 ml buffer substrate (Asetat tamponda taze hazırlanmış % 0,1 P-Phenylenediamine) solüsyonu kondu, üzerine 0.05 ml plazma ilave edildi ve 37 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra test tüplerine 2,5 ml sodyum azid (% 0,02) ilave edildi. Kontrol tüpüne 0.05 ml serum ilave edildi ve her iki tüpün içeriği iyice karıştırıldı. Dalga boyu 540 nm'de test absorbansı kontrole karşı belirlendi (Siwicki ve Studnicka, 1987; Siwicki ve Anderson, 1993). Seruloplazmin aktivitesi şu formülle hesaplandı:

$$\text{Absorbans} \times 349 = \text{Uluslararası Ünite (IU)} / 1,910 \% \text{ mg Seruloplazmin aktivitesi.}$$

3.2.9. Plazma Toplam Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan kontrol ile deneme grubu balıkların plazmalarından 0,1ml pipetle alınarak içerisinde 0,9 ml distile su bulunan tüplere bırakıldı. Bunların üzerine 4 ml

biüret ayracı ilave edilerek 30 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okunarak protein miktarı belirlendi (Kwapinski,1965).

3.2.10. Toplam İmmunoglobulinin (Ig) Belirlenmesi

Mikrotiter tabaklara 0,1 ml plazma konuldu. Üzerine deiyonize suda bekletilen % 12'lik polietilenglikol'dan 0,1 ml ilave edildi ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 5000 x g'de 10 dakika santrifüj yapılarak üstte kalan kısımdan 0,1 ml alındı ve içerisinde 0,9 ml distile su bulunan tüplere konuldu. Üzerine 4 ml biüret ayracı ilave edilerek 30 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen sonuçlar protein değerinden çıkarılarak toplam immunoglobülin değeri belirlendi (Siwicki ve Anderson, 1993).

3.2.11. Kan ve Dokuda Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Saptanması

Plazma ve doku örneklerinde malondialdehid (MDA) düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer vd. (1966)'in bildirdiği yönteme göre spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelmektedir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okunur.

Ayraçlar:

Renk Ayracı: 3 kısım % 10 luk Trikarboksilik asit (TCA) ve 1 kısım TBA solüsyonu karıştırılarak renk ayracı hazırlandı.

%10'luk TCA nın hazırlanışı: 10 g TCA alınarak 100 ml distile suda çözüldü.

TBA solüsyonunun hazırlanışı: 0,67 g TBA alınarak % 10'luk perklorik asit ile 100 ml' ye tamamlandı (Günlük olarak hazırlandı).

Deneyin yapılışı:

MDA düzeyinin belirlenmesi için Tablo 3.1'de belirtildiği gibi kör ve doku homojenatlarından 0,25 ml alınarak üzerine 2.25 ml renk ayracı (TBA ve % 10'luk triklorasetik asit) ilave edildi. Karışım 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 532 nm' de spektrofotometrede köre karşı okundu.

Tablo 3.1. MDA analizi için deneysel plan

	Kör	Örnek
Serum fizyolojik	0,25 ml	-
Örnek (Plazma veya doku)	-	0,25 ml
Renk ayracı	2,25 ml	2,25 ml

Hesaplama:

Plazmada MDA (nmol/ml) = 65,08x (Optik Dansidite)

Dokuda MDA (nmol/g doku) = 10,87x (Optik Dansidite)

3.2.12. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz aktivitesinin saptanması, ksantin-ksantinoksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'ü indirgeyerek renkli formazanı oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbands verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip, mavi bir renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise indirgenme olayı olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte veya enzimin miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır (Sun, vd., 1988). Numune ve kör 560 nm dalga boyunda çalışma çözeltisine karşı okunur.

Ayraçlar:

1) Çalışma çözeltisi: Aşağıdaki maddeler (a,b,c,d,e) belirtilen molaritede hazırlanarak karıştırıldı ve kullanılabildiği kadar buzdolabında +4 °C'de saklandı.

a. 0.3 mmol/l ksantin: 9.13 mg ksantin alınıp, 200 ml bidistile suda çözülür. Çözme işlemi birkaç damla 1 M NaOH'lı ortamda hafifçe ısıtılarak yapılır.

b. 0.6 mmol/l EDTA Na₂: 25 mg EDTA Na₂ alınıp, 100 ml bidistile su ile çözülür.

c. 150 µmol/l NBT: 12,3 mg NBT alınıp, 100 ml bidistile su ile çözülür.

d. 400 mmol/l Na₂CO₃: 2,54 g Na₂CO₃ alınıp, 60 ml bidistile suda çözülür.

e. 1 g/l bovine serum albumin (BSA): 30 mg alınıp, 30 ml bidistile suda çözülür.

2) Ksantin oksidaz (167 U/L): 10 µl ksantin oksidaz (U, spesifik aktivite) alınıp, 1 ml buz gibi soğuk (0 °C de) 2 M (NH₄)₂SO₄ (2,64 g (NH₄)₂SO₄ alınıp, 10 ml bidistile suda çözülür) ile karıştırıldı. Enzim çözeltileri deney esnasında hazırlandı.

3) 0.8 mmol/L CuCl₂: 10,8 mg CuCl₂ alınıp, bir miktar bidistile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı:

Tablo 3.2'de belirtildiği gibi kör ve örnek numuneler hazırlanarak 25 °C sıcaklıkta 20 dakika inkubasyona bırakıldı. Inkubasyondan sonra üzerlerine CuCl₂ ilave edildi ve spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda okumalar yapıldı.

Tablo 3.2. SOD aktivitesin belirlenmesi için uygulanan deneysel plan

REAKTİFLER	Tüpler	
	Kör	Numune
Çalışma çözeltisi (mL)	2.85	2.85
Süpernatant (mL)	-	0.1
Bidistile su (mL)	0.1	-
Ksantin oksidaz (mL)	0.05	0.05
25°C sıcaklıkta 20 dakika inkubasyon		
CuCl ₂ (mL)	1.0	1.0

Hesaplama: Hesaplama üç adımda yapıldı.

$$\% \text{ inhibisyon} = [\text{Absorbans (kör)} - \text{Absorbans (numune)}] / \text{Absorbans (kör)} \times 100 \dots\dots\dots \text{(I)}$$

$$\text{Aktivite (U/mL)} = \% \text{ inhibisyon} / (50 \times 0.1) \dots\dots\dots \text{(II)}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/ mg protein)} = \text{Aktivite (U/mL)} / (\text{mg/mL protein}) \dots\dots\dots \text{(III)}$$

3.2.13. Kan ve Dokuda Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Plazması ayrılmış ve serum fizyolojik ile yıkanmış eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırılarak hemoglobin tayini yapıldı. Daha sonra dilüe edilen bu kan örnekleri fosfat tamponu ile tekrar sulandırıldı.

Kan ve dokulardaki katalaz aktivitesi Aebi (1984)' e göre tayin edildi.

Ayraçlar:

Fosfat Tamponu (50 mmol pH:7)

a) 6,81 g KH₂PO₄/ 1 l

b) 8,9 g Na₂HPO₄. 2 H₂O / 1 l

a/ b oranı 1/ 1,5 (V/V)

0,34 ml H₂O₂ alınarak fosfat tamponu ile 100 ml' ye tamamlandı (Solüsyon günlük olarak hazırlandı).

Deneyin yapılışı:

Tablo 3.3’de belirtildiği gibi kan ve doku örneklerinden 2 ml alındı ve üzerine 1 ml hidrojen peroksit solüsyonu ilave edilerek spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda de 0. ve 30. saniyedeki absorbands farkları ölçüldü.

Tablo 3.3. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi için deney planı

	Kör	Örnek
Süpernatant	1 ml	1 ml
H₂O₂ ‘li fosfat tamponu	-	0,5 ml
Fosfat Tamponu	0,5 ml	-

Hesaplama:

Katalaz aktivitesi (k/ml) = 0,077x (logA1/A2)x dilüsyon

A1: 0. saniyedeki ilk absorbands

A2: 30. saniyedeki absorbands

(Dilüsyon oranları her dokuda farklıdır. Katalaz analizinde dilüsyon fosfat tamponuyla yapıldı)

3.2.14. Glutatyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi Tayini

GST, elektrofilik bileşiklerin GSH’ın -SH grubu ile reaksiyonunu katalizleyerek bu bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlar. GST aktivitesi, 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB), GSH ile konjugasyonu sırasındaki absorbands farkının 340 nm dalga boyunda okunması ile ölçülür (Habig vd., 1974).

Ayırıcılar

1. 100 mM Tris Tamponu (pH 7.4)

2. 1 mM CDNB

Deneyin yapılışı:

Glutatyon S-transferaz aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere Tablo 3.4’ da belirtilen şekilde hazırlandı. Elde edilen kör ve örnekler vorteks ile çalkalandı ve 25°C’ de 340 nm dalga boyunda iki dakika süresince absorbandslarındaki artış kaydedildi.

Tablo 3.4. GST aktivitesinin belirlenmesi için uygulanan deneysel plan

Çözeltiler	Kör	Örnek
Tris tamponu	1.1 mL	1.05 mL
CDNB	50 µL	50 µL
GSH	50 µL	50 µL
Örnek	-	50 µL

Hesaplama:

GST Aktivitesi (µmol/dakika/mL) = $(\Delta OD \times t) / (t \times 0,0096 \times V_0)$

GST Spesifik Aktivitesi (µmol/dakika/mg protein) = (GST Aktivitesi) / Protein miktarı

ΔOD : 0. ve 2. dakikalar arası optik dansite farkı

V_t : Toplam hacim

V_0 : Örneğin hacmi

t : Toplam süre

0.0096: Sabit katsayı

3.2.15. Doku Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılmak üzere Lowry (1951)'nin bildirdiği metotla Protein tayini yapıldı.

Proteinlerin çoğu tirozin, triptofan veya her iki amino asiti de içerirler. Bu amino asitler serbest veya katlanmamış bir polipeptid zincirinde mavi renk oluşturmak üzere fosfotungustik asit-molibdrik asit ayıracını (Folin-Ciocalteu ayıracı) indirgerler. Bu yöntemde proteinler bakır-peptid bağı-protein kompleksini oluşturmak üzere alkali çözeltide Cu^{+2} ile reaksiyona girerler. Ortama Folin- Ciocalteu ayıracı eklendiğinde indirgeme süreci içerisinde bakır-protein kompleksleri ile tirozin, triptofan rezidüleri birleşirler. Renklendirilmiş çözeltinin absorpsansı 750 nm dalga boyunda ölçülür (Lowry vd., 1951).

Ayıraçlar:

1. Na_2CO_3 çözeltisi

2. Bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi

%1 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

%2 Na-K tartarat

Kullanılacağı zaman bu çözeltiler eşit hacimde karıştırılarak hazırlandı.

3. Alkali çözelti (Günlük olarak hazırlandı.): 50 ml alkali Na_2CO_3 çözeltisi 1 ml bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi ile karıştırılarak hazırlandı.

4. Folin-Ciocalteu ayıracı: 1 ml Folin-Ciocalteu 1.5 ml saf su olacak şekilde hazırlandı.

Deneyin yapılışı:

Tablo 3.5’de belirtilen oranlarda kör ve örneklerden 0,5 ml alındı ve üzerine 0,5 ml alkali bakır ayıracı ilave edildi. Vortex ile iyice karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Kör ve örneklerin üzerine 2 ml Folin-Ciocalteu ayıracı ilave edildi ve 55 °C lik buhar banyosunda 5 dakika bekletildi. Bu işlemlerden sonra örnekler spektropotometrede 650 nm dalga boyunda köre karşı okunarak absorbanlar kaydedildi.

Tablo 3.5. Doku protein düzeyinin belirlenmesi için uygulanan deneysel plan

	Kör (mL)	Örnek (mL)
Örnek	-	0.5
Su	0.5	-
Alkali bakır ayıracı	0.5	0.5
Karıştır. 10 dakika oda sıcaklığında beklet		
Folin-Ciocalteu ayıracı	2	2
5 dakika 55°C de bekletip 650 nm de spektrofotometrede absorbanlar okunur		

Hesaplama:

Protein (mg/ml) = $0.4 \times \text{O.D} \times \text{Sulandırma oranı}$

3.2.16. İstatistiksel Analizler

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 16 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıkların bazı immunolojik ve biyokimyasal parametrelerinde zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA)’yle, grup içi ve gruplar arası farklılıklar ise Duncan testi ile belirlendi. (Kinnear ve Gray,1995).

Bakır sülfatın sublethal dozlarının belirlenmesi için SPSS 12 programında probit analizi uygulandı. Grafiklerin çizimi ise Excel programı ile yapıldı.

4. BULGULAR

Tez çalışmasında 21 gün boyunca ölçülen su kalite parametrelerinin ortamları alındı. Suyun ortalama sıcaklığı $15 \pm 1,37$ °C, çözülmüş oksijeni $8,56 \pm 0,32$ mg/l, pH'sı $6,9 \pm 0,22$ olarak tespit edildi. Suyun bazı kalite parametreleri ise çalışmanın başlangıcında ve sonunda ölçüldü. Buna göre sudaki demir 0,31-0,32 mg/l, fosfat 0,48- 0,49mg/l, amonyum 0,22-0,20 mg/l, nitrit 0,02-0,02 mg/l, klor 0,29- 0,30 mg/l, nitrat 1,7- 1,8 mg/l ve toplam sertlik 69-71 mg/l (- Mg: 42- 43; - Ca: 27-28) olarak belirlendi.

Çalışmaya başlamadan önce 2 hafta için gözlem altında tutulan balıklarda herhangi bir ölüm gözlenmedi. Balıklarda adaptasyon süresi boyunca herhangi bir stres oluşumu ve yem alımlarında herhangi bir problem yaşanmadı.

4.1. Toksisite Denemeleri, Makroskopik Gözlemler ve Davranış Değişimleri

Toksisite çalışmasında deneme başlangıcından ilk 5 dakika içinde deneme süresince bakır sülfat konsantrasyonlarına bağlı olarak balıklarda yüzeyde toplanma ve etkiden uzaklaşma hareketleri gözlemlendi. Ayrıca kontrolsüz, ters ve yan yüzmeler, hızlı hareket, suyun dışına sıçrama hareketleri yaptıkları saptandı. Toksisite denemeleri süresince balıkların operkulum ve ağızlarının normalden daha fazla açıldığı gözlemlendi.

Toksisite denemelerinin yürütüldüğü 4 gün boyunca kontrol gruplarında herhangi bir ölüm görülmedi. Balıkların makroskopik gözlemlerinde de herhangi bir olumsuzluğa rastlanılmadı.

Bakır sülfat uygulanan alabalıklarda bakır etkisi ile deri üzerinde mavi bir renk tabakasıyla birlikte (Şekil 4.1) solungaçlarda şiddetli kanamalar ve aşırı mukus oluştuğu, solungaç lamellalarının birbirine yapıştığı (Şekil 4.2), iç organlarda (Şekil 4.3) ve özellikle de karaciğerde kanamaların meydana geldiği görüldü.

Yapılan toksisite testiyle gökkuşağı alabalığında bakır sülfatın konsantrasyonlarının 96 saatlik periyot için LD₅₀ değeri 1 mg/l olarak belirlendi. Bu değerin %20'si (0,2 mg/l) sublethal doz olarak kabul edildi.



Şekil 4.1. Bakır sülfat uygulanan balıklarda vücut yüzeyindeki mavi renkli lekeler (Orjinal).



Şekil 4.2. Bakır sülfat uygulanan balıklarda solungaçların birbirine yapışması (Orjinal).



Şekil 4.3. Bakır sülfat uygulanan balıklarda iç organların genel görünümü ve karaciğerde hemorajilerin oluşması (Orjinal).

4.2. Kan Glikoz Düzeyleri

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki glikoz düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca kan glikoz düzeyleri $82,60 \pm 8,90$ mg/dl ile $124,00 \pm 25,83$ mg/dl arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $69,80 \pm 14,07$ mg/dl ile $139,20 \pm 8,98$ mg/dl arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.4).

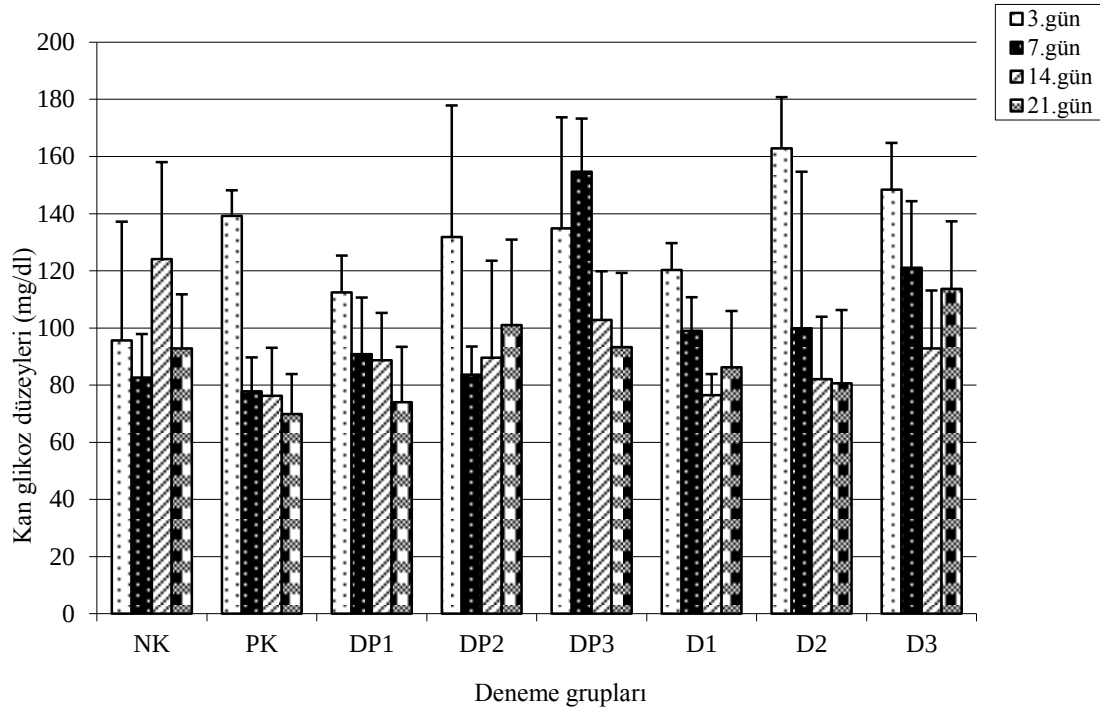
Kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $112,40 \pm 12,83 - 74 \pm 12,18$ mg/dl arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $131,80 \pm 46,02 - 101 \pm 20,86$ mg/dl arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $134,80 \pm 38,84 - 93,20 \pm 26,02$ mg/dl arasında olduğu tespit edildi (Tablo 4.1, Şekil 4.5).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $120,20 \pm 9,44 - 86,20 \pm 19,71$ mg/dl arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $162,80 \pm 17,88 - 80,60 \pm 25,68$ mg/dl arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $148,40 \pm 16,31 - 113,60 \pm 23,68$ mg/dl arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.1, Şekil 4.4).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların kan glikoz düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.1, Şekil 4.4).

Tablo 4.1. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H, $p < 0.05$). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	95,60 $\pm$ 41,5 ^{a,b; A}	82,60 $\pm$ 8,90 ^{a; A}	124,00 $\pm$ 25,83 ^{b; B}	92,80 $\pm$ 18,89 ^{a,b; A,B,C}
PK	139,20 $\pm$ 8,98 ^{b; B,C}	77,80 $\pm$ 37,41 ^{a; A}	76,20 $\pm$ 16,87 ^{a; A}	69,80 $\pm$ 14,07 ^{a; A}
DP1	112,4 $\pm$ 12,83 ^{b; A,B}	90,80 $\pm$ 21,46 ^{a, b; A,B}	88,60 $\pm$ 16,63 ^{a; A}	74,00 $\pm$ 12,18 ^{a; A,B}
DP2	131,80 $\pm$ 46,02 ^{b; A,B,C}	83,60 $\pm$ 9,91 ^{a; A,B}	89,60 $\pm$ 19,75 ^{a; A}	101,00 $\pm$ 20,86 ^{a,b; B,C}
DP3	134,80 $\pm$ 38,84 ^{b,c; A,B,C}	154,60 $\pm$ 18,62 ^{c; C}	102,80 $\pm$ 17,03 ^{a,b; A,B}	93,20 $\pm$ 26,02 ^{a; A,B,C}
D1	120,20 $\pm$ 9,44 ^{b; B}	99,00 $\pm$ 39,35 ^{a,b; A,B}	76,40 $\pm$ 4,82 ^{a; A}	86,20 $\pm$ 19,71 ^{a; A,B,C}
D2	162,80 $\pm$ 17,88 ^{b; C}	99,80 $\pm$ 17,89 ^{a; A,B}	82,00 $\pm$ 35,06 ^{a; A}	80,60 $\pm$ 25,68 ^{a; A,B}
D3	148,40 $\pm$ 16,31 ^{b; B,C}	121,00 $\pm$ 35,46 ^{a,b; B}	92,80 $\pm$ 20,24 ^{a; A}	113,60 $\pm$ 23,68 ^{a,b; C}



Şekil 4.4. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıklarının kanlarındaki glikoz düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca kan glikoz düzeylerinin $77,60 \pm 29,87$ mg/dl ile $90,60 \pm 27,73$ mg/dl arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $71,80 \pm 20,83$ mg/dl ile $117,80 \pm 21,35$ mg/dl arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $80,20 \pm 7,69$ mg/dl ile $106,40 \pm 9,76$ mg/dl arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.2, Şekil 4.5).

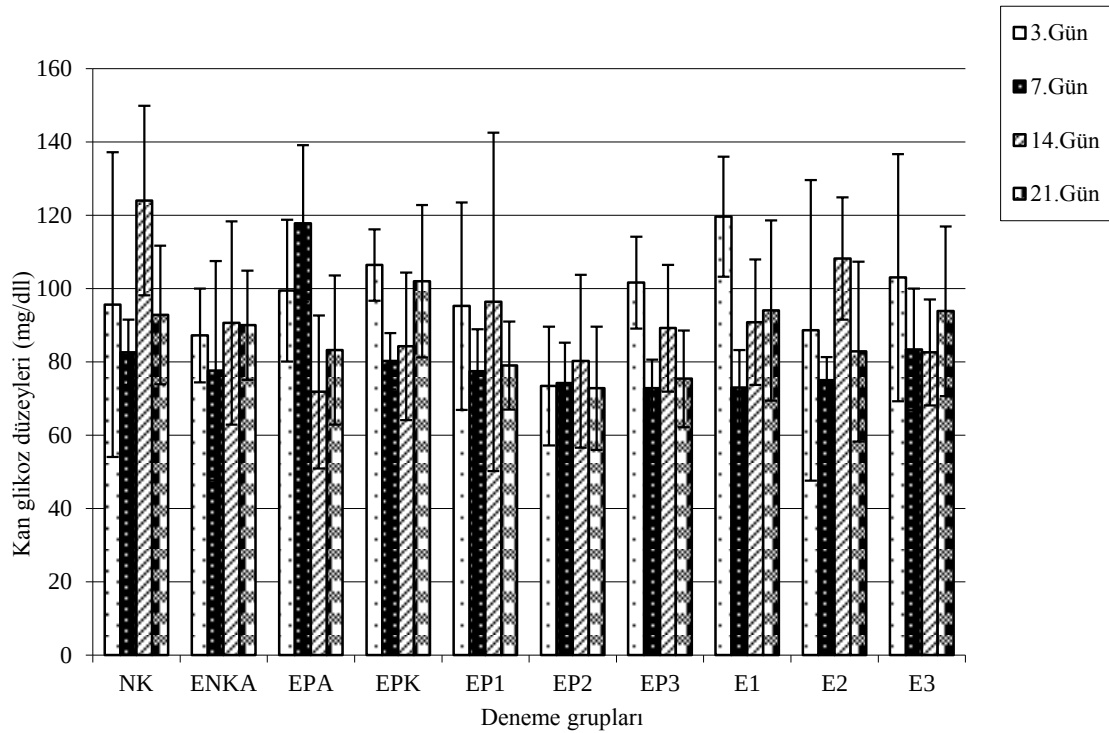
Kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $95,20 \pm 28,27$ – $79,00 \pm 12,00$ mg/dl arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $73,40 \pm 16,19$ mg/dl - $72,80 \pm 16,76$ mg/dl arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $101,60 \pm 12,54$ - $75,40 \pm 13,20$ mg/dl arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.2, Şekil 4.5).

Kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $119,60 \pm 16,36$ – $94 \pm 24,59$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $88,60 \pm 41,02$ - $82,80 \pm 24,57$ mg/dl arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $103,00 \pm 33,71$ - $93,80 \pm 23,11$ mg/dl arasında olduğu bulundu (Tablo 4.2, Şekil 4.5).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanan balıkların kanlarındaki glikoz düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.2, Şekil 4.5).

Tablo 4.2. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	95,60 $\pm$ 41,5 ^{a,b; A,B}	82,60 $\pm$ 8,90 ^{a; A}	124,00 $\pm$ 25,83 ^{b; B}	92,80 $\pm$ 18,89 ^{a,b; A,B}
ENKA	87,20 $\pm$ 12,79 ^{a; A,B}	77,60 $\pm$ 29,87 ^{a; A}	90,60 $\pm$ 27,73 ^{a; A,B}	90,00 $\pm$ 14,88 ^{a; A,B}
EPA	99,40 $\pm$ 19,34 ^{a,b; A,B}	117,80 $\pm$ 21,35 ^{b; B}	71,80 $\pm$ 20,83 ^{a; A}	83,20 $\pm$ 20,33 ^{a; A,B}
EPK	106,40 $\pm$ 9,76 ^{b; A,B}	80,20 $\pm$ 7,69 ^{a; A}	84,20 $\pm$ 20,12 ^{a; A}	102,00 $\pm$ 20,79 ^{a,b; B}
EP1	95,20 $\pm$ 28,27 ^{a; A}	77,40 $\pm$ 11,50 ^{a; A}	96,40 $\pm$ 46,15 ^{a; A,B}	79,00 $\pm$ 12,00 ^{a; A,B}
EP2	73,40 $\pm$ 16,19 ^{a; A}	74,20 $\pm$ 11,03 ^{a; A}	80,20 $\pm$ 23,59 ^{a; A}	72,80 $\pm$ 16,76 ^{a; A}
EP3	101,60 $\pm$ 12,54 ^{b; A,B}	72,80 $\pm$ 7,85 ^{a; A}	89,20 $\pm$ 17,29 ^{a,b; A,B}	75,40 $\pm$ 13,20 ^{a; A,B}
E1	119,60 $\pm$ 16,36 ^{b; B}	73,00 $\pm$ 10,24 ^{a; A}	90,80 $\pm$ 17,10 ^{a; A,B}	94,00 $\pm$ 24,59 ^{a; A,B}
E2	88,60 $\pm$ 41,02 ^{a; A,B}	75,00 $\pm$ 6,32 ^{a; A}	108,20 $\pm$ 16,70 ^{a; A,B}	82,80 $\pm$ 24,57 ^{a; A,B}
E3	103,00 $\pm$ 33,71 ^{a; A,B}	83,40 $\pm$ 16,59 ^{a; A}	82,60 $\pm$ 14,43 ^{a; A}	93,80 $\pm$ 23,11 ^{a; A,B}



Şekil 4.5. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan glikoz düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.3. Hemoglobin Düzeyleri

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki hemoglobin düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca kan hemoglobin düzeylerinin $4,95 \pm 0,46$ mg/ml ile $7,44 \pm 2,31$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $3,72 \pm 0,46$ mg/ml ile $6,89 \pm 2,26$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.3, Şekil 4.6).

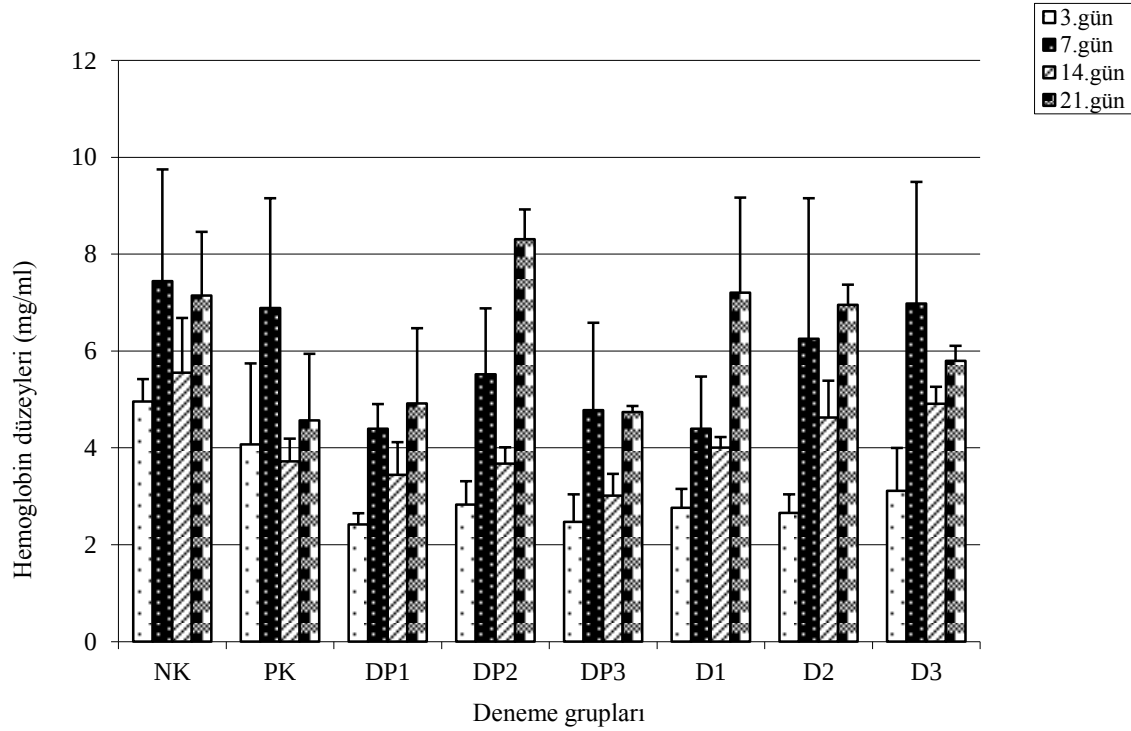
Kan hemoglobin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $2,42 \pm 0,23$ - $4,91 \pm 1,55$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $2,83 \pm 0,47$ - $8,31 \pm 0,61$ mg/ml arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $2,47 \pm 0,56$ - $4,74 \pm 0,12$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.3, Şekil 4.6).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda kan hemoglobin düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $2,76 \pm 0,38$ - $7,20 \pm 1,96$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $2,65 \pm 0,38$ - $6,95 \pm 0,41$ mg/ml arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $3,11 \pm 0,89$ - $5,79 \pm 0,31$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.3, Şekil 4.6).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların kanlarındaki hemoglobin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.3, Şekil 4.6).

Tablo 4.3. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H, $p < 0.05$). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	4,95 $\pm$ 0,46 ^{b; C}	7,44 $\pm$ 2,31 ^{c; B}	5,55 $\pm$ 1,13 ^{a; A, B}	7,14 $\pm$ 1,31 ^{c; B, C}
PK	4,07 $\pm$ 1,66 ^{b; C}	6,89 $\pm$ 2,26 ^{c; A, B}	3,72 $\pm$ 0,46 ^{a; A}	4,56 $\pm$ 1,37 ^{b; A}
DP1	2,42 $\pm$ 0,23 ^{a; B}	4,39 $\pm$ 0,50 ^{b; A}	3,44 $\pm$ 0,67 ^{a; B, C}	4,91 $\pm$ 1,55 ^{b; A}
DP2	2,83 $\pm$ 0,47 ^{a; B}	5,51 $\pm$ 1,36 ^{b; A, B}	3,67 $\pm$ 0,33 ^{a; C}	8,31 $\pm$ 0,61 ^{b; C}
DP3	2,47 $\pm$ 0,56 ^{a; B}	4,77 $\pm$ 1,80 ^{b; A}	3,01 $\pm$ 0,44 ^{b; C, D}	4,74 $\pm$ 0,12 ^{b; A}
D1	2,76 $\pm$ 0,38 ^{a; B}	4,39 $\pm$ 1,07 ^{b; A}	4,00 $\pm$ 0,21 ^{a; A, B}	7,20 $\pm$ 1,96 ^{c; B}
D2	2,65 $\pm$ 0,38 ^{a; B}	6,25 $\pm$ 2,90 ^{b; A, B}	4,62 $\pm$ 0,75 ^{a; B, C}	6,95 $\pm$ 0,41 ^{b; B}
D3	3,11 $\pm$ 0,89 ^{a; B}	6,97 $\pm$ 2,51 ^{b; A, B}	4,91 $\pm$ 0,35 ^{a; B, C}	5,79 $\pm$ 0,31 ^{b; A, B}



Şekil 4.6. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki hemoglobin düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca kan hemoglobin düzeyleri $5,44 \pm 1,19$ mg/ml ile $8,53 \pm 1,04$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $3,39 \pm 0,43$ mg/ml ile $6,92 \pm 1,33$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $3,07 \pm 0,81$ mg/ml ile $6,86 \pm 0,66$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.7).

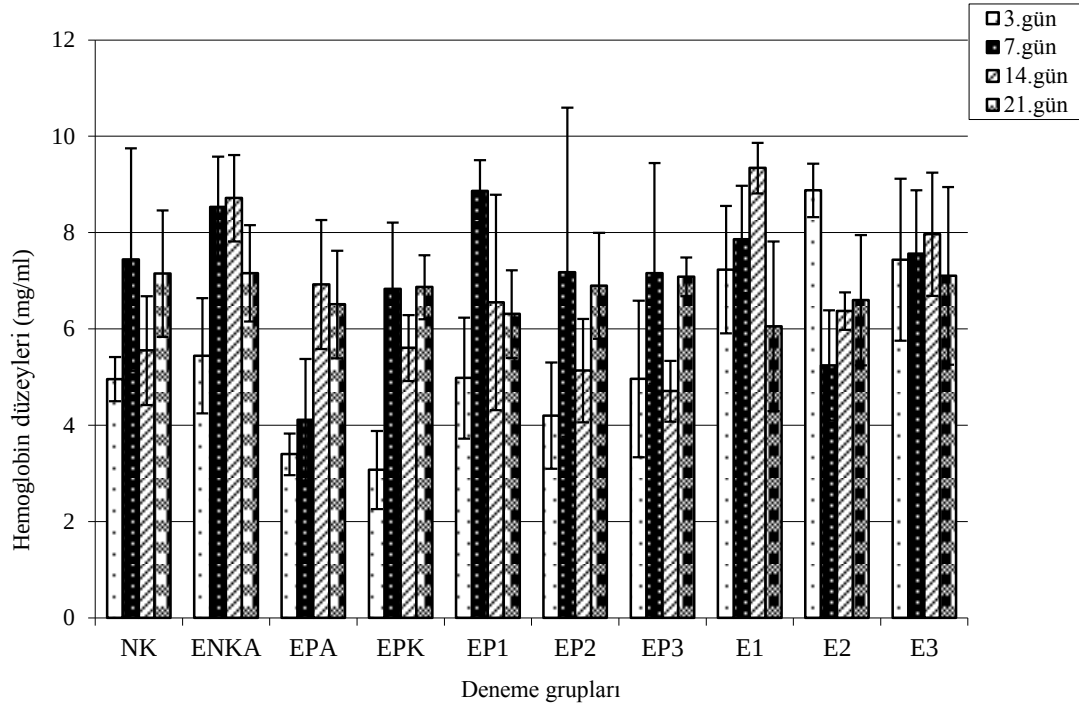
Kan hemoglobin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda sırasıyla $4,97 \pm 1,25$ - $6,30 \pm 0,91$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $4,19 \pm 1,10$ - $6,89 \pm 1,09$ mg/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $4,96 \pm 1,62$ - $7,08 \pm 0,40$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.4, Şekil 4.7).

Kan hemoglobin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $7,22 \pm 1,32$ - $6,05 \pm 1,76$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $8,87 \pm 0,55$ - $6,59 \pm 1,35$ mg/ml arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda ise $7,43 \pm 1,68$ - $7,10 \pm 1,84$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.4, Şekil 4.7).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların kanlarındaki hemoglobin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.4, Şekil 4.7).

Tablo 4.4. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	4,95 $\pm$ 0,46 ^{b; B,C}	7,44 $\pm$ 2,31 ^{c; B,C}	5,55 $\pm$ 1,13 ^{a; A}	7,14 $\pm$ 1,31 ^{c; A}
ENKA	5,44 $\pm$ 1,19 ^{a; C}	8,53 $\pm$ 1,04 ^{b; C}	8,71 $\pm$ 0,89 ^{c; F}	7,15 $\pm$ 1,00 ^{b; A}
EPA	3,39 $\pm$ 0,43 ^{a; A,B}	4,11 $\pm$ 1,26 ^{a; A}	6,92 $\pm$ 1,33 ^{b; D,E}	6,50 $\pm$ 1,11 ^{b; A}
EPK	3,07 $\pm$ 0,81 ^{a; A}	6,83 $\pm$ 1,37 ^{b; B,C}	5,60 $\pm$ 0,68 ^{b; B,C,D}	6,86 $\pm$ 0,66 ^{b; A}
EP1	4,97 $\pm$ 1,25 ^{a; B,C}	8,86 $\pm$ 0,64 ^{b; C}	6,55 $\pm$ 2,23 ^{a; C,D,E}	6,30 $\pm$ 0,91 ^{a; A}
EP2	4,19 $\pm$ 1,10 ^{a; A,B,C}	7,17 $\pm$ 3,41 ^{b; B,C}	5,13 $\pm$ 1,07 ^{a,b; B,C}	6,89 $\pm$ 1,09 ^{a,b; A}
EP3	4,96 $\pm$ 1,62 ^{a; B,C}	7,15 $\pm$ 2,28 ^{b; B,C}	4,70 $\pm$ 0,62 ^{a; B}	7,08 $\pm$ 0,40 ^{b; A}
E1	7,22 $\pm$ 1,32 ^{a,b; D}	7,86 $\pm$ 1,11 ^{b; B,C}	9,33 $\pm$ 0,52 ^{c; F}	6,05 $\pm$ 1,76 ^{a; A}
E2	8,87 $\pm$ 0,55 ^{c; E}	5,24 $\pm$ 1,14 ^{a; A,B}	6,36 $\pm$ 0,38 ^{a,b; C,D}	6,59 $\pm$ 1,35 ^{b; A}
E3	7,43 $\pm$ 1,68 ^{a; D}	7,55 $\pm$ 1,31 ^{a; B,C}	7,96 $\pm$ 1,28 ^{a; F}	7,10 $\pm$ 1,84 ^{a; A}



Şekil 4.7. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan hemoglobin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.4. Nötrofillerin Total Oksidatif Radikal Üretimi (Nitroblue Tetrazolium (NBT)) Aktivitesi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki NBT aktivitesinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca NBT aktivitesinin $0,71 \pm 0,22$ mg/ml ile $1,46 \pm 0,23$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $0,18 \pm 0,01$ mg/ml ile $1,81 \pm 0,24$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.5, Şekil 4.8).

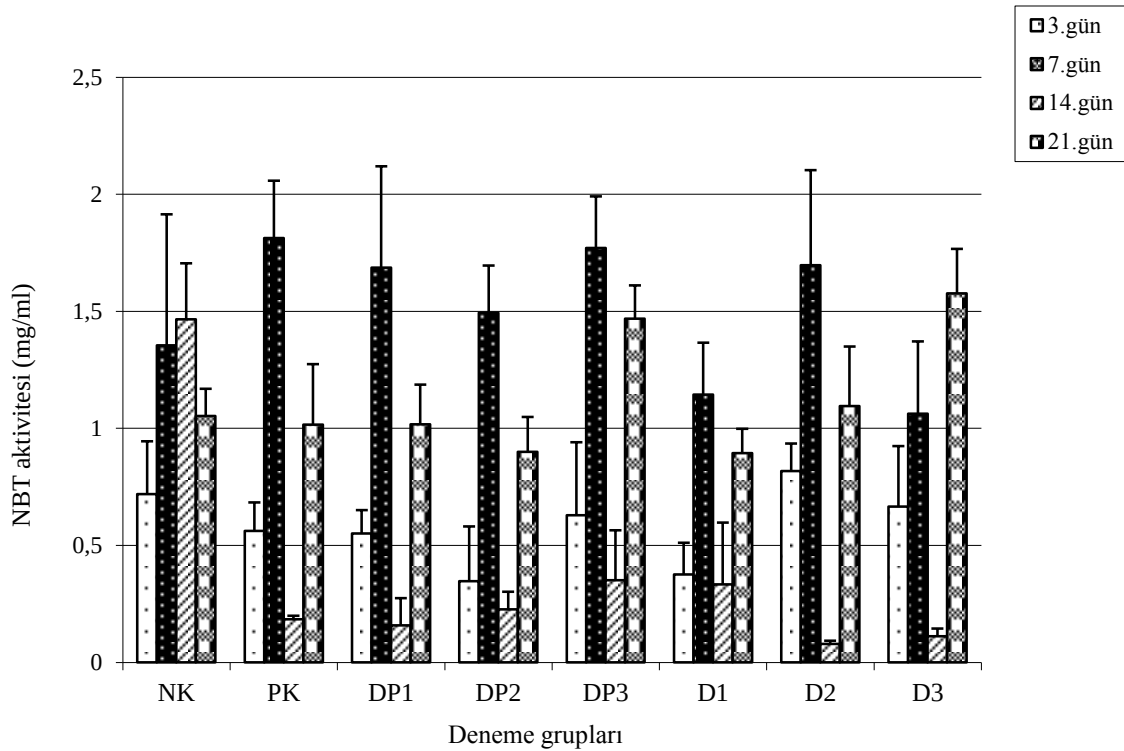
NBT aktivitesinin 3. ve 21. günlerde, 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $0,55 \pm 0,10$ - $1,01 \pm 0,16$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $0,34 \pm 0,23$ - $0,89 \pm 0,14$ mg/ml arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,62 \pm 0,31$ - $1,46 \pm 0,142$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.5, Şekil 4.8).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında NBT aktivitesinin 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,37 \pm 0,13$ - $0,89 \pm 0,10$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $0,81 \pm 0,11$ - $1,09 \pm 0,25$ mg/ml arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $0,66 \pm 0,25$ - $1,57 \pm 0,18$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.5, Şekil 4.8).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların kanlarındaki NBT aktivitelerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.5, Şekil 4.8).

Tablo 4.5. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,71 \pm 0,22^{a; B}$	$1,35 \pm 0,56^{b; A, B}$	$1,46 \pm 0,23^{b; C}$	$1,05 \pm 0,11^{a, b; A}$
PK	$0,56 \pm 0,12^{b; A, B}$	$1,81 \pm 0,24^{c; B}$	$0,18 \pm 0,01^{a; A, B}$	$1,01 \pm 0,25^{c; A}$
DP1	$0,55 \pm 0,10^{b; A, B}$	$1,68 \pm 0,43^{c; B}$	$0,15 \pm 0,11^{a; A, B}$	$1,01 \pm 0,16^{c; A}$
DP2	$0,34 \pm 0,23^{a; A}$	$1,49 \pm 0,20^{c; A, B}$	$0,22 \pm 0,07^{a; A, B}$	$0,89 \pm 0,14^{b; A}$
DP3	$0,62 \pm 0,31^{a; A, B}$	$1,77 \pm 0,22^{b; B}$	$0,352 \pm 0,21^{a; A, B}$	$1,46 \pm 0,142^{b; B}$
D1	$0,37 \pm 0,13^{a; A}$	$1,14 \pm 0,22^{b; A}$	$0,33 \pm 0,26^{a; B}$	$0,89 \pm 0,10^{b; A}$
D2	$0,81 \pm 0,11^{b; B}$	$1,69 \pm 0,40^{c; B}$	$0,074 \pm 0,01^{a; A}$	$1,09 \pm 0,25^{b; A}$
D3	$0,66 \pm 0,25^{b; B}$	$1,06 \pm 0,30^{c; A}$	$0,11 \pm 0,03^{a; A}$	$1,57 \pm 0,18^{d; B}$



Şekil 4.8 Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki NBT aktivitesi düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca NBT aktivitesinin $1,51 \pm 0,28$ mg/ml ile $2,17 \pm 0,11$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $0,90 \pm 0,29$ ile $1,93 \pm 0,03$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $1,26 \pm 0,26$ mg/ml ile $1,85 \pm 0,31$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.6, Şekil 4.9).

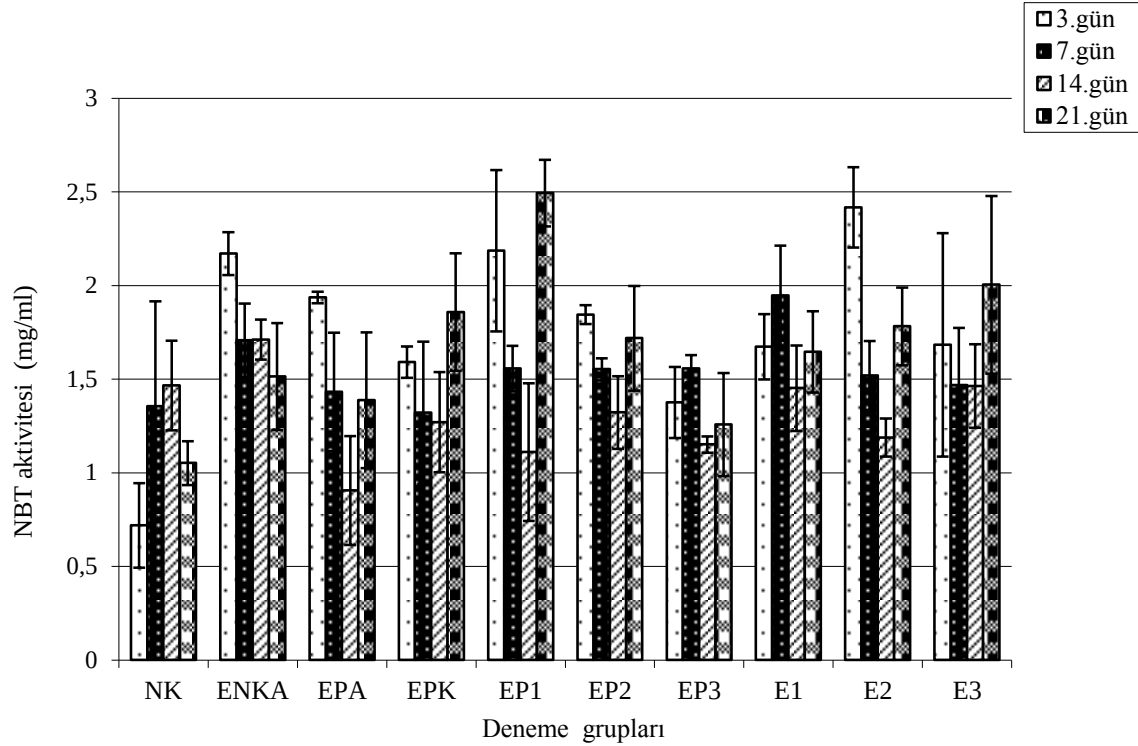
NBT aktivitesi düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda sırasıyla $2,18 \pm 0,43$ - $2,49 \pm 0,17$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $1,84 \pm 0,05$ - $1,71 \pm 0,27$ mg/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $1,37 \pm 0,19$ - $1,25 \pm 0,27$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.6, Şekil 4.9).

NBT aktivitesi düzeylerinin 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $1,67 \pm 0,17$ - $1,64 \pm 0,21$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $2,41 \pm 0,21$ - $1,78 \pm 0,20$ mg/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda ise $1,68 \pm 0,59$ - $2,00 \pm 0,47$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.6, Şekil 4.9).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların kanlarındaki NBT aktivitesinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.6, Şekil 4.9).

Tablo 4.6. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,71 $\pm$ 0,22 ^{a; A}	1,35 $\pm$ 0,56 ^{b; A}	1,46 $\pm$ 0,23 ^{b; C,D}	1,05 $\pm$ 0,11 ^{a; b; A}
ENKA	2,17 $\pm$ 0,11 ^{b; D,E}	1,70 $\pm$ 0,19 ^{a; A,B}	1,71 $\pm$ 0,10 ^{a; D}	1,51 $\pm$ 0,28 ^{a; B,C,D}
EPA	1,93 $\pm$ 0,03 ^{c; C,D}	1,43 $\pm$ 0,31 ^{b; A}	0,90 $\pm$ 0,29 ^{a; A}	1,38 $\pm$ 0,36 ^{b; A,B,C}
EPK	1,59 $\pm$ 0,08 ^{a; b; B,C}	1,32 $\pm$ 0,38 ^{a; A}	1,26 $\pm$ 0,26 ^{a; B,C}	1,85 $\pm$ 0,31 ^{b; D,E}
EP1	2,18 $\pm$ 0,43 ^{c; D,E}	1,55 $\pm$ 0,12 ^{b; A,B}	1,11 $\pm$ 0,36 ^{a; A,B}	2,49 $\pm$ 0,17 ^{c; F}
EP2	1,84 $\pm$ 0,05 ^{c; C,D}	1,55 $\pm$ 0,05 ^{a; b; A,B}	1,32 $\pm$ 0,19 ^{a; B,C}	1,71 $\pm$ 0,27 ^{b; c; C,D,E}
EP3	1,37 $\pm$ 0,19 ^{a; b; B}	1,55 $\pm$ 0,07 ^{b; A,B}	1,15 $\pm$ 0,04 ^{a; A,B,C}	1,25 $\pm$ 0,27 ^{a; A,B}
E1	1,67 $\pm$ 0,17 ^{a; b; B,C}	1,94 $\pm$ 0,26 ^{b; B}	1,45 $\pm$ 0,22 ^{a; C,D}	1,64 $\pm$ 0,21 ^{a; b; B,C,D,E}
E2	2,41 $\pm$ 0,21 ^{d; E}	1,51 $\pm$ 0,18 ^{b; A}	1,18 $\pm$ 0,10 ^{a; A,B,C}	1,78 $\pm$ 0,20 ^{c; C,D,E}
E3	1,68 $\pm$ 0,59 ^{a; B,C}	1,46 $\pm$ 0,30 ^{a; A}	1,46 $\pm$ 0,22 ^{a; C,D}	2,00 $\pm$ 0,47 ^{a; E}



Şekil 4.9. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan NBT aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.5. Seruloplazmin Düzeyleri

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki seruloplazmin düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma seruloplazmin düzeyleri $13,91 \pm 0,12$ % mg ile $29,02 \pm 1,84$ % mg arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $20,42 \pm 0,42$ % mg ile $23,87 \pm 0,67$ % mg arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.7, Şekil 4.10).

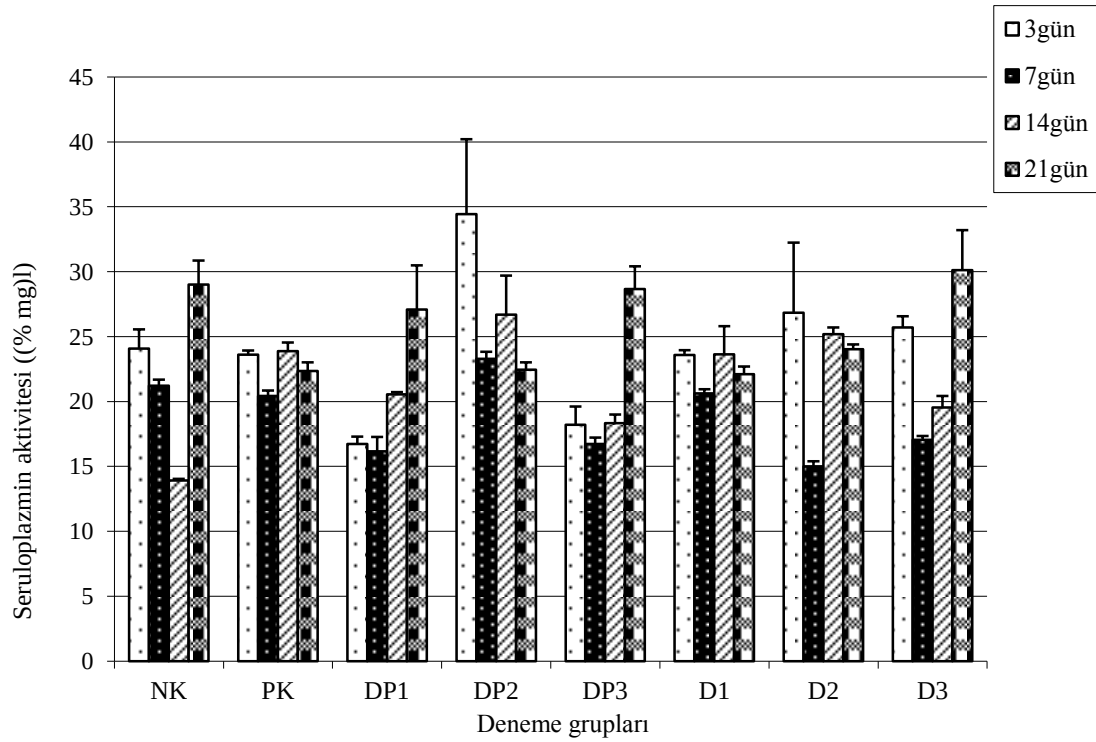
Plazma seruloplazmin düzeylerinin 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $16,744 \pm 0,56$ - $27,09 \pm 3,39$ % mg arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $34,44 \pm 5,77$ - $22,45 \pm 0,56$ % mg arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $18,21 \pm 1,41$ - $28,67 \pm 1,75$ % mg arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.7, Şekil 4.10).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında plazma seruloplazmin düzeylerinin 3. ve 21. günlerde sırasıyla $23,58 \pm 0,37$ - $22,10 \pm 0,60$ % mg arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $26,85 \pm 5,38$ - $24,02 \pm 0,39$ % mg arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $25,70 \pm 0,86$ - $30,11 \pm 3,08$ % mg arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.7, Şekil 4.10).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların plazmalarındaki seruloplazmin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.7, Şekil 4.10).

Tablo 4.7. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H,). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	24,07 $\pm$ 1,49 ^{c; B}	21,22 $\pm$ 0,45 ^{b; E}	13,91 $\pm$ 0,12 ^{a; A}	29,02 $\pm$ 1,84 ^{d; B, C}
PK	23,62 $\pm$ 0,32 ^{c; B}	20,42 $\pm$ 0,42 ^{a; D}	23,87 $\pm$ 0,67 ^{c; D}	22,35 $\pm$ 0,65 ^{b; A}
DP1	16,744 $\pm$ 0,56 ^{a; A}	16,17 $\pm$ 1,09 ^{a; A}	20,55 $\pm$ 0,18 ^{b; C}	27,09 $\pm$ 3,39 ^{c; B}
DP2	34,44 $\pm$ 5,77 ^{b; C}	23,30 $\pm$ 0,52 ^{a; F}	26,69 $\pm$ 3,00 ^{a; E}	22,45 $\pm$ 0,56 ^{a; A}
DP3	18,21 $\pm$ 1,41 ^{a; A}	16,74 $\pm$ 0,47 ^{a; B, C}	18,33 $\pm$ 0,66 ^{a; B}	28,67 $\pm$ 1,75 ^{b; B, C}
D1	23,58 $\pm$ 0,37 ^{b; B}	20,62 $\pm$ 0,33 ^{a; D, E}	23,65 $\pm$ 2,15 ^{b; D}	22,10 $\pm$ 0,60 ^{a, b; A}
D2	26,85 $\pm$ 5,38 ^{b; B}	15,01 $\pm$ 0,39 ^{a; A}	25,18 $\pm$ 0,52 ^{b; D, E}	24,02 $\pm$ 0,39 ^{b; A}
D3	25,70 $\pm$ 0,86 ^{c; B}	17,05 $\pm$ 0,29 ^{a; C}	19,55 $\pm$ 0,87 ^{b; B, C}	30,11 $\pm$ 3,08 ^{d; C}



Şekil 4.10. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki seruloplazmin düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma seruloplazmin düzeyinin $19,05 \pm 4,09$ % mg ile $35,92 \pm 2,13$ % mg arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $22,75 \pm 1,45$ mg/ml ile $37,86 \pm 3,02$ % mg arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $22,27 \pm 0,66$ % mg ile $31,74 \pm 3,54$ % mg arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.8, Şekil 4.11).

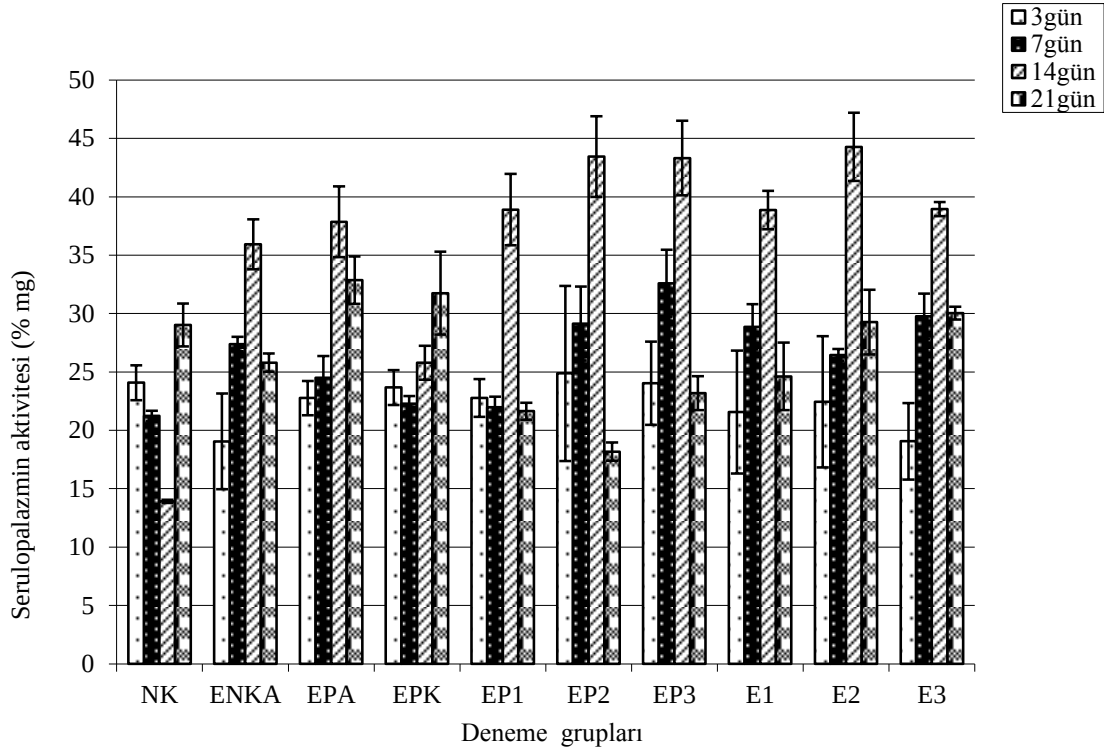
Plazma seruloplazmin düzeyinin 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $22,77 \pm 1,60$ - $21,63 \pm 0,73$ % mg arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $24,87 \pm 7,49$ - $18,17 \pm 0,77$ % mg arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $24,03 \pm 3,56$ - $23,18 \pm 1,44$ % mg arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.8, Şekil 4.11).

Plazma seruloplazmin düzeyinin 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $21,57 \pm 5,26$ - $24,61 \pm 2,88$ % mg arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $22,45 \pm 5,62$ - $29,27 \pm 2,77$ % mg arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $19,06 \pm 3,27$ - $30,03 \pm 0,56$ % mg arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.8, Şekil 4.11).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanan balıkların plazmalarında seruloplazmin aktivitesi düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4. 8, Şekil 4.11).

Tablo 4.8. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	24,07 $\pm$ 1,49 ^{c; A}	21,22 $\pm$ 0,45 ^{b; A}	13,91 $\pm$ 0,12 ^{a; A}	29,02 $\pm$ 1,84 ^{d; D}
ENKA	19,05 $\pm$ 4,09 ^{a; A}	27,38 $\pm$ 0,61 ^{b; D,E}	35,92 $\pm$ 2,13 ^{c; C}	25,79 $\pm$ 0,77 ^{b; C}
EPA	22,75 $\pm$ 1,45 ^{a; A}	24,49 $\pm$ 1,86 ^{a; B,C}	37,86 $\pm$ 3,02 ^{c; C}	32,84 $\pm$ 2,02 ^{b; E}
EPK	23,66 $\pm$ 1,49 ^{a,b; A}	22,27 $\pm$ 0,66 ^{a; A,B}	25,78 $\pm$ 1,46 ^{b; B}	31,74 $\pm$ 3,54 ^{c; D,E}
EP1	22,77 $\pm$ 1,60 ^{a; A}	21,98 $\pm$ 0,89 ^{a; A}	38,90 $\pm$ 3,04 ^{b; C}	21,63 $\pm$ 0,73 ^{a; B}
EP2	24,87 $\pm$ 7,49 ^{b; A}	29,14 $\pm$ 3,16 ^{b; E}	43,43 $\pm$ 3,45 ^{c; D}	18,17 $\pm$ 0,77 ^{a; A}
EP3	24,03 $\pm$ 3,56 ^{a; A}	32,59 $\pm$ 2,87 ^{b; F}	43,31 $\pm$ 3,18 ^{c; D}	23,18 $\pm$ 1,44 ^{a; B,C}
E1	21,57 $\pm$ 5,26 ^{a; A}	28,86 $\pm$ 1,93 ^{b; E}	38,86 $\pm$ 1,64 ^{c; C}	24,61 $\pm$ 2,88 ^{a,b; C}
E2	22,45 $\pm$ 5,62 ^{a; A}	26,45 $\pm$ 0,50 ^{a,b; C,D}	44,27 $\pm$ 2,91 ^{c; D}	29,27 $\pm$ 2,77 ^{b; D}
E3	19,06 $\pm$ 3,27 ^{a; A}	29,76 $\pm$ 1,93 ^{b; E}	38,94 $\pm$ 0,59 ^{c; C}	30,03 $\pm$ 0,56 ^{b; D}



Şekil 4.11. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma seruloplazmin aktivitesi düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.6. Toplam Protein Düzeyi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki protein düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazmalarındaki protein düzeyleri $27,97 \pm 4,08$ mg/ml ile $31,61 \pm 0,73$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanmış pozitif kontrol grubu balıklarında ise $28,80 \pm 1,59$ mg/ml ile $38,75 \pm 2,00$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.9, Şekil 4.12).

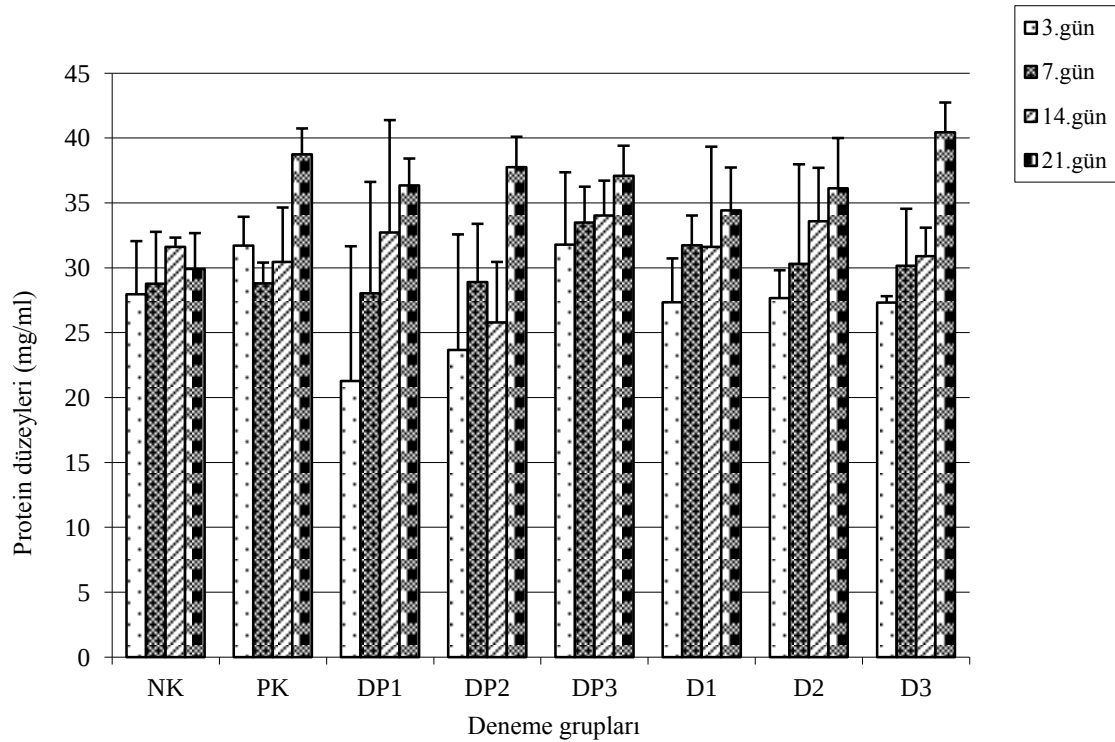
Plazma toplam protein düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $21,29 \pm 10,38$ - $36,36 \pm 2,07$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $23,67 \pm 8,90$ - $37,75 \pm 2,36$ mg/ml arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında ise $31,78 \pm 5,57$ - $37,08 \pm 2,32$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.9, Şekil 4.12).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $27,34 \pm 3,37$ - $34,42 \pm 3,30$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $27,67 \pm 2,15$ - $36,14 \pm 3,85$ mg/ml arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $27,31 \pm 0,50$ - $40,44 \pm 2,31$ mg/ml olduğu belirlendi (Tablo 4.9, Şekil 4.12).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların plazmalarındaki toplam protein düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.9, Şekil 4.12).

Tablo 4.9. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	27,97 $\pm$ 4,08 ^{a; A, B}	28,79 $\pm$ 3,99 ^{a; A}	31,61 $\pm$ 0,73 ^{a; A, B}	29,92 $\pm$ 2,75 ^{a; A}
PK	31,72 $\pm$ 2,20 ^{a; B}	28,80 $\pm$ 1,59 ^{a; A}	30,45 $\pm$ 4,21 ^{a; A, B}	38,75 $\pm$ 2,00 ^{b; C, D}
DP1	21,29 $\pm$ 10,38 ^{a; A}	28,03 $\pm$ 8,59 ^{a, b; A}	32,72 $\pm$ 8,66 ^{b; A, B}	36,36 $\pm$ 2,07 ^{b; B, C}
DP2	23,67 $\pm$ 8,90 ^{a; A, B}	28,89 $\pm$ 4,50 ^{a; A}	25,78 $\pm$ 4,66 ^{a; A}	37,75 $\pm$ 2,36 ^{b; B, C, D}
DP3	31,78 $\pm$ 5,57 ^{a; B}	33,50 $\pm$ 2,76 ^{a, b; A}	34,03 $\pm$ 2,69 ^{a, b; B}	37,08 $\pm$ 2,32 ^{b; B, C, D}
D1	27,34 $\pm$ 3,37 ^{a; A, B}	31,75 $\pm$ 2,27 ^{a, b; A}	31,61 $\pm$ 7,71 ^{a, b; A, B}	34,42 $\pm$ 3,30 ^{b; B}
D2	27,67 $\pm$ 2,15 ^{a; A, B}	30,31 $\pm$ 7,67 ^{a, b; A}	33,58 $\pm$ 4,13 ^{a, b; B}	36,14 $\pm$ 3,85 ^{b; B, C}
D3	27,31 $\pm$ 0,50 ^{a; B}	30,17 $\pm$ 4,37 ^{a; A}	30,898 $\pm$ 2,19 ^{a; A, B}	40,44 $\pm$ 2,31 ^{b; D}



Şekil 4.12. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kan toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki protein düzeyinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma protein düzeyi $33,61 \pm 3,05$ mg/ml ile $33,56 \pm 3,00$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $31,10 \pm 2,12$ mg/ml ile $34,72 \pm 0,76$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $28,916 \pm 1,85$ mg/ml ile $34,41 \pm 1,85$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.10, Şekil 4.13).

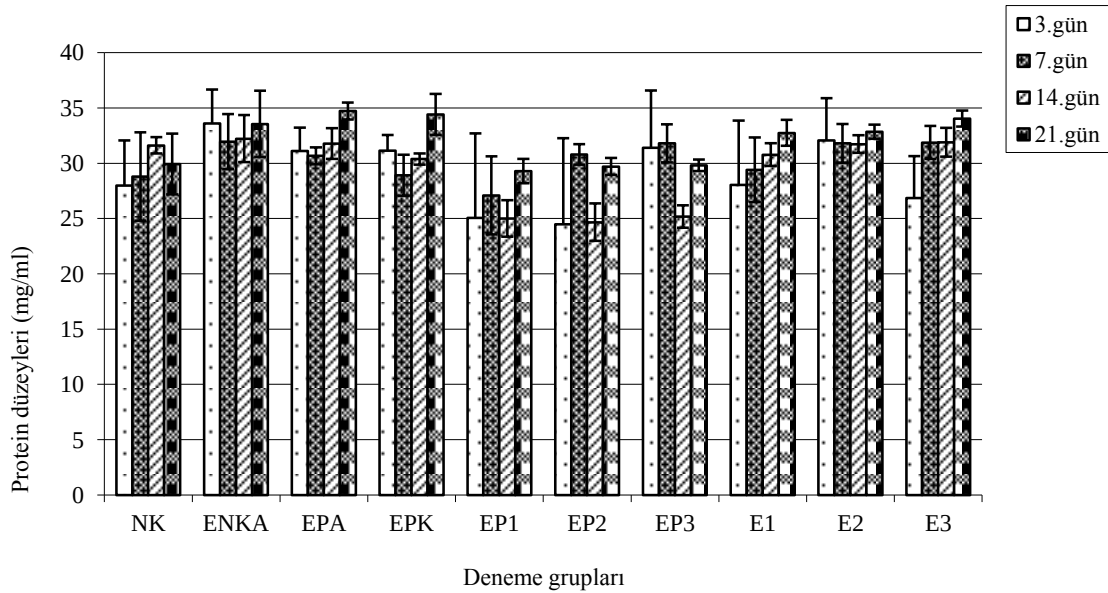
Plazma toplam protein düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $25,07 \pm 7,6$ - $29,29 \pm 1,09$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarında $24,49 \pm 7,76$ - $29,70 \pm 0,77$ mg/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $31,39 \pm 5,18$ - $29,81 \pm 0,52$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.10, Şekil 4.11).

Toplam protein düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $28,03 \pm 5,83$ - $32,75 \pm 1,17$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $32,06 \pm 3,82$ - $32,84 \pm 0,64$ mg/ml arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $26,85 \pm 3,80$ - $34,03 \pm 0,72$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.10, Şekil 4.13).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların plazmalarındaki toplam protein düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.10, Şekil 4.13).

Tablo 4.10. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	27,97 $\pm$ 4,08 ^{a; A,B,C}	28,79 $\pm$ 3,99 ^{a; A,B}	31,61 $\pm$ 0,73 ^{a; B}	29,92 $\pm$ 2,75 ^{a; A}
ENKA	33,61 $\pm$ 3,05 ^{a; C}	31,95 $\pm$ 2,47 ^{a; B}	32,22 $\pm$ 2,12 ^{a; B}	33,56 $\pm$ 3,00 ^{a; B}
EPA	31,10 $\pm$ 2,12 ^{a; A,B,C}	30,67 $\pm$ 0,75 ^{a; B}	31,77 $\pm$ 1,39 ^{a; B}	34,72 $\pm$ 0,76 ^{b; B}
EPK	31,15 $\pm$ 1,41 ^{b; A,B,C}	28,91 $\pm$ 1,85 ^{a; A,B}	30,38 $\pm$ 0,50 ^{a,b; B}	34,41 $\pm$ 1,85 ^{c; B}
EP1	25,07 $\pm$ 7,6 ^{a; A,B}	27,08 $\pm$ 3,52 ^{a; A}	25,00 $\pm$ 1,60 ^{a; A}	29,29 $\pm$ 1,09 ^{a; A}
EP2	24,49 $\pm$ 7,76 ^{a; A}	30,80 $\pm$ 0,93 ^{b; B}	24,66 $\pm$ 1,69 ^{a; A}	29,70 $\pm$ 0,77 ^{a,b; A}
EP3	31,39 $\pm$ 5,18 ^{b; A,B,C}	31,80 $\pm$ 1,73 ^{b; B}	25,18 $\pm$ 1,00 ^{a; A}	29,81 $\pm$ 0,52 ^{b; A}
E1	28,03 $\pm$ 5,83 ^{a; A,B,C}	29,40 $\pm$ 2,93 ^{a; A,B}	30,77 $\pm$ 1,02 ^{a; B}	32,75 $\pm$ 1,17 ^{a; B}
E2	32,06 $\pm$ 3,82 ^{a; B,C}	31,80 $\pm$ 1,74 ^{a; B}	31,73 $\pm$ 0,80 ^{a; B}	32,84 $\pm$ 0,64 ^{a; B}
E3	26,85 $\pm$ 3,80 ^{a; A,B,C}	31,88 $\pm$ 1,48 ^{b; B}	31,90 $\pm$ 1,30 ^{b; B}	34,03 $\pm$ 0,72 ^{b; B}



Şekil 4.13. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam protein düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.7. Toplam immunoglobulin (Ig) Düzeyi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin (Ig) düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyleri $17,21 \pm 3,08$ mg/ml ile $18,09 \pm 1,30$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanmış pozitif kontrol grubu balıklarında ise $15,10 \pm 2,19$ mg/ml ile $20,07 \pm 1,78$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.11, Şekil 4.14).

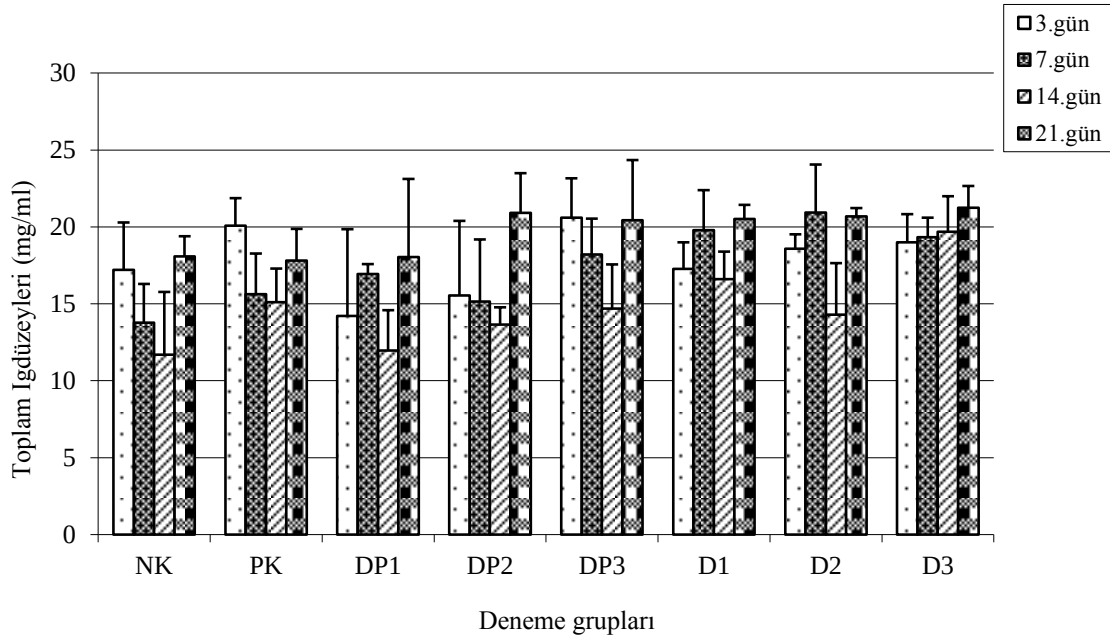
Balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $14,21 \pm 5,62$ - $18,04 \pm 5,07$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $15,54 \pm 4,85$ - $20,90 \pm 2,58$ mg/ml arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $20,59 \pm 2,56$ - $20,43 \pm 3,91$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.11, Şekil 4.14).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $17,27 \pm 1,72$ - $20,51 \pm 0,91$ mg/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $18,58 \pm 0,93$ - $20,69 \pm 0,53$ mg/ml arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $18,98 \pm 1,84$ - $21,24 \pm 1,42$ mg/ml olduğu belirlendi (Tablo 4.11, Şekil 4.14).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.11, Şekil 4.14).

Tablo 4.11. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında kanında toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	17,21 $\pm$ 3,08 ^{b, c; A, B, C}	13,76 $\pm$ 2,53 ^{a, b; A}	11,68 $\pm$ 4,09 ^{a; A}	18,09 $\pm$ 1,30 ^{c; A}
PK	20,07 $\pm$ 1,78 ^{b; B, C}	15,62 $\pm$ 2,63 ^{a; A, B}	15,10 $\pm$ 2,19 ^{a; A, B}	17,80 $\pm$ 2,06 ^{a; A}
DP1	14,21 $\pm$ 5,62 ^{a, b; A}	16,93 $\pm$ 0,64 ^{a, b; A, B, C}	11,96 $\pm$ 2,63 ^{a; A}	18,04 $\pm$ 5,07 ^{b; A}
DP2	15,54 $\pm$ 4,85 ^{a; A, B}	15,15 $\pm$ 4,01 ^{a; A, B}	13,65 $\pm$ 1,13 ^{a; A, B}	20,90 $\pm$ 2,58 ^{b; A}
DP3	20,59 $\pm$ 2,56 ^{b; C}	18,20 $\pm$ 2,32 ^{a, b; B, C, D}	14,68 $\pm$ 2,87 ^{a; A, B}	20,43 $\pm$ 3,91 ^{b; A}
D1	17,27 $\pm$ 1,72 ^{a; A, B, C}	19,79 $\pm$ 2,59 ^{b; C, D}	16,60 $\pm$ 1,80 ^{a; B, C}	20,51 $\pm$ 0,91 ^{b; A}
D2	18,58 $\pm$ 0,93 ^{b; A, B, C}	20,93 $\pm$ 3,12 ^{b; D}	14,29 $\pm$ 3,35 ^{a; A, B}	20,69 $\pm$ 0,53 ^{b; A}
D3	18,98 $\pm$ 1,84 ^{a; B, C}	19,32 $\pm$ 1,26 ^{a; C, D}	19,68 $\pm$ 2,31 ^{a; C}	21,24 $\pm$ 1,42 ^{a; A}



Şekil 4.14 Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanmış negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma toplam immunoglobulin düzeyinin $17,28 \pm 0,77$ mg/ml ile $20,37 \pm 1,09$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $18,89 \pm 0,63$ mg/ml ile $19,69 \pm 1,02$ mg/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $17,90 \pm 1,15$ mg/ml ile $18,03 \pm 1,07$ mg/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.12, Şekil 4.15).

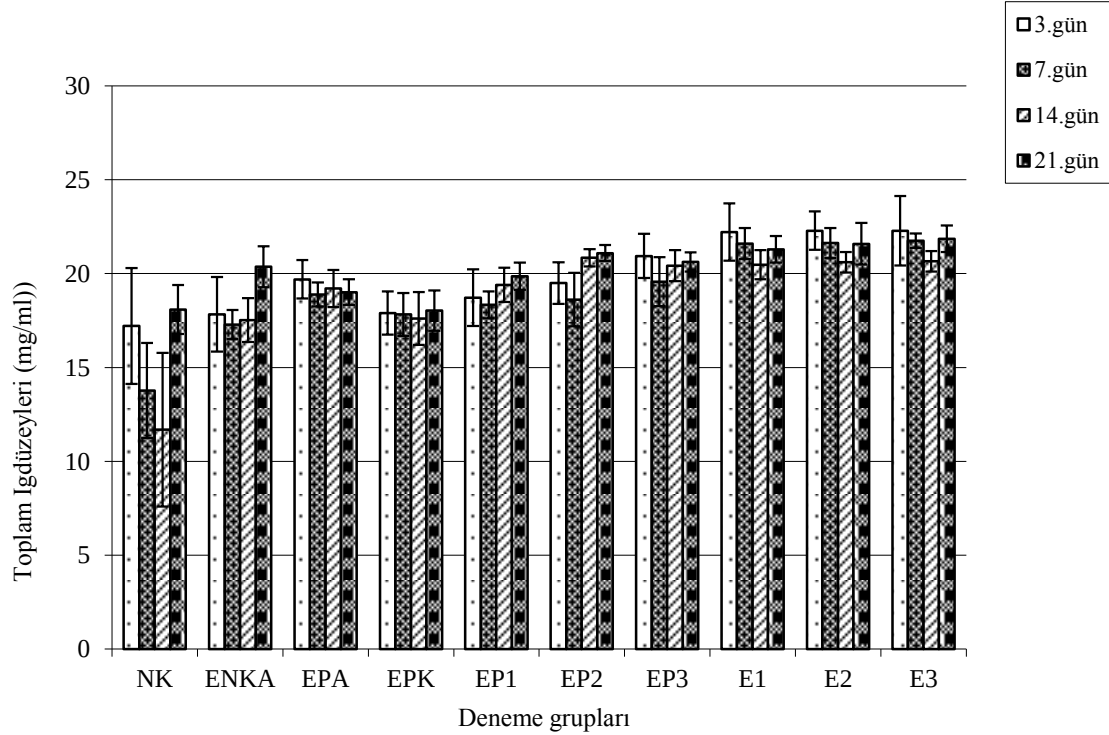
Balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $18,72 \pm 1,50$ - $19,86 \pm 0,71$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarında $19,50 \pm 1,10$ - $21,09 \pm 0,42$ mg/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $20,94 \pm 1,17$ - $20,62 \pm 0,50$ mg/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.12, Şekil 4.15).

Balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $22,21 \pm 1,52$ - $21,30 \pm 0,70$ mg/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $22,28 \pm 1,02$ - $21,59 \pm 1,11$ mg/ml arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $22,28 \pm 1,84$ - $21,85 \pm 0,70$ mg/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.12, Şekil 4.15).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların plazmalarındaki toplam immunoglobulin düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.12, Şekil 4.15).

Tablo 4.12. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (mg/dl, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	17,21 $\pm$ 3,08 ^{b,c; A}	13,76 $\pm$ 2,53 ^{a; A}	11,68 $\pm$ 4,09 ^{a; A}	18,09 $\pm$ 1,30 ^{c; A}
ENKA	17,82 $\pm$ 1,98 ^{a; A,B}	17,28 $\pm$ 0,77 ^{a; B}	17,52 $\pm$ 1,16 ^{a; B}	20,37 $\pm$ 1,09 ^{b; C,D}
EPA	19,69 $\pm$ 1,02 ^{a; B,C}	18,89 $\pm$ 0,63 ^{a; B,C}	19,21 $\pm$ 0,98 ^{a; B,C}	19,01 $\pm$ 0,67 ^{a; A,B}
EPK	17,90 $\pm$ 1,15 ^{a; A,B}	17,83 $\pm$ 1,13 ^{a; B}	17,61 $\pm$ 1,40 ^{a; B}	18,03 $\pm$ 1,07 ^{a; A}
EP1	18,72 $\pm$ 1,50 ^{a,b; A,B,C}	18,33 $\pm$ 0,70 ^{a; B,C}	19,39 $\pm$ 0,90 ^{a,b; B,C}	19,86 $\pm$ 0,71 ^{b; B,C}
EP2	19,50 $\pm$ 1,10 ^{a; A,B,C}	18,61 $\pm$ 1,42 ^{a; B,C}	20,84 $\pm$ 0,46 ^{b; C}	21,09 $\pm$ 0,42 ^{b; D,E}
EP3	20,94 $\pm$ 1,17 ^{a; C,D}	19,57 $\pm$ 1,30 ^{a; C}	20,42 $\pm$ 0,82 ^{a; C}	20,62 $\pm$ 0,50 ^{a; C,D,E}
E1	22,21 $\pm$ 1,52 ^{b; D}	21,59 $\pm$ 0,82 ^{a,b; D}	20,48 $\pm$ 0,77 ^{a; C}	21,30 $\pm$ 0,70 ^{a,b; D,E}
E2	22,28 $\pm$ 1,02 ^{b; D}	21,63 $\pm$ 0,80 ^{a,b; D}	20,60 $\pm$ 0,54 ^{a; C}	21,59 $\pm$ 1,11 ^{a,b; D,E}
E3	22,28 $\pm$ 1,84 ^{b; D}	21,76 $\pm$ 0,38 ^{a,b; D}	20,66 $\pm$ 0,54 ^{a; C}	21,85 $\pm$ 0,70 ^{a,b; E}



Şekil 4.15. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma toplam immunoglobulin düzeylerinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.8. Kan ve Dokuda Malondialdehit (MDA) Düzeyi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma MDA düzeyi $0,54 \pm 0,01$ nmol/ml ile $0,57 \pm 0,01$ nmol/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol balıklarında ise $0,94 \pm 0,008$ nmol/ml ile $1,01 \pm 0,01$ nmol/ml arasında belirlendi (Tablo 4.13, Şekil 4.16).

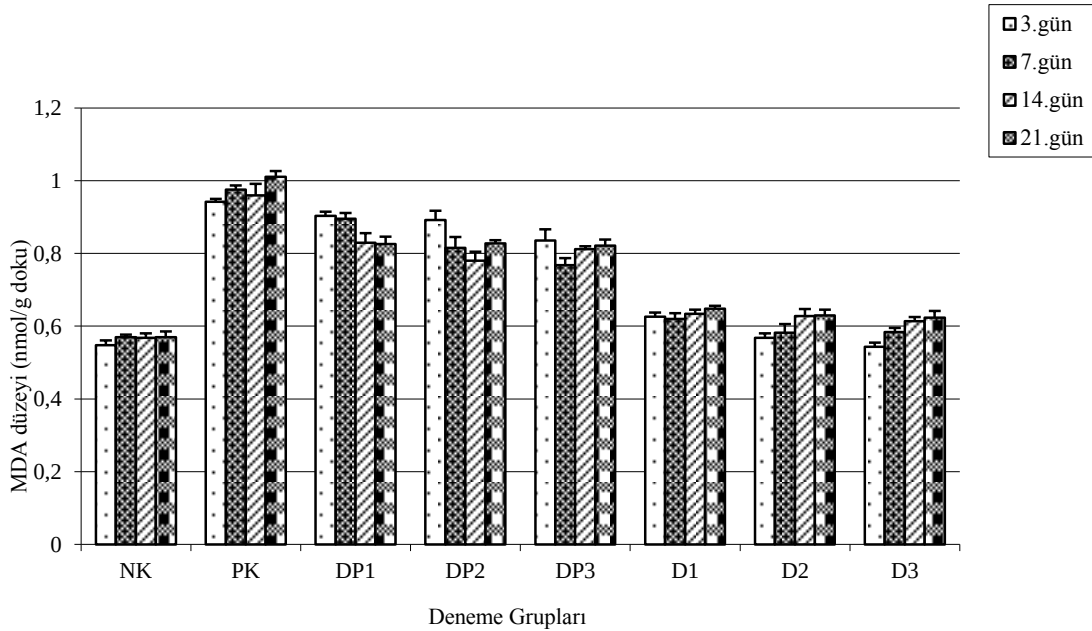
Plazmadaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,90 \pm 0,01$ - $0,82 \pm 0,02$ nmol/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $0,89 \pm 0,02$ - $0,82 \pm 0,008$ nmol/ml arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,83 \pm 0,03$ - $0,82 \pm 0,01$ nmol/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.13, Şekil 4.16).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan deney grubu balıklarında plazmalarındaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,62 \pm 0,01$ - $0,64 \pm 0,008$ nmol/ml arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $0,56 \pm 0,01$ - $0,63 \pm 0,01$ nmol/ml arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $0,54 \pm 0,01$ - $0,62 \pm 0,01$ nmol/ml olduğu belirlendi (Tablo 4.13, Şekil 4.16).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların plazmalarındaki MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.13, Şekil 4.16).

Tablo 4.13. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/ml, $\pm$ S.H). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,54 $\pm$ 0,01 ^{a; A, B}	0,57 $\pm$ 0,007 ^{b; A}	0,56 $\pm$ 0,01 ^{b; A}	0,57 $\pm$ 0,01 ^{b; A}
PK	0,94 $\pm$ 0,008 ^{a; F}	0,97 $\pm$ 0,01 ^{b; F}	0,96 $\pm$ 0,03 ^{a, b; F}	1,01 $\pm$ 0,01 ^{c; E}
DP1	0,90 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,89 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,83 $\pm$ 0,02 ^{a; D}	0,82 $\pm$ 0,02 ^{a; D}
DP2	0,89 $\pm$ 0,02 ^{c; E}	0,81 $\pm$ 0,02 ^{b; D}	0,78 $\pm$ 0,02 ^{a; C}	0,82 $\pm$ 0,008 ^{b; D}
DP3	0,83 $\pm$ 0,03 ^{b; D}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,81 $\pm$ 0,008 ^{b; D}	0,82 $\pm$ 0,01 ^{b; D}
D1	0,62 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,62 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{a, b; B}	0,64 $\pm$ 0,008 ^{b; C}
D2	0,56 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,58 $\pm$ 0,02 ^{a; A}	0,62 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{b; B}
D3	0,54 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,58 $\pm$ 0,01 ^{b; A}	0,61 $\pm$ 0,01 ^{c; B}	0,62 $\pm$ 0,01 ^{c; B}



Şekil 4.16. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların plazmalarındaki MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanmış negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca plazma MDA düzeyinin $0,50 \pm 0,02$ nmol/ml ile $0,55 \pm 0,01$ nmol/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $0,92 \pm 0,01$ nmol/ml ile $0,94 \pm 0,009$ nmol/ml arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,96 \pm 0,008$ nmol/ml ile $1,00 \pm 0,02$ nmol/ml arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.14, Şekil 4.17).

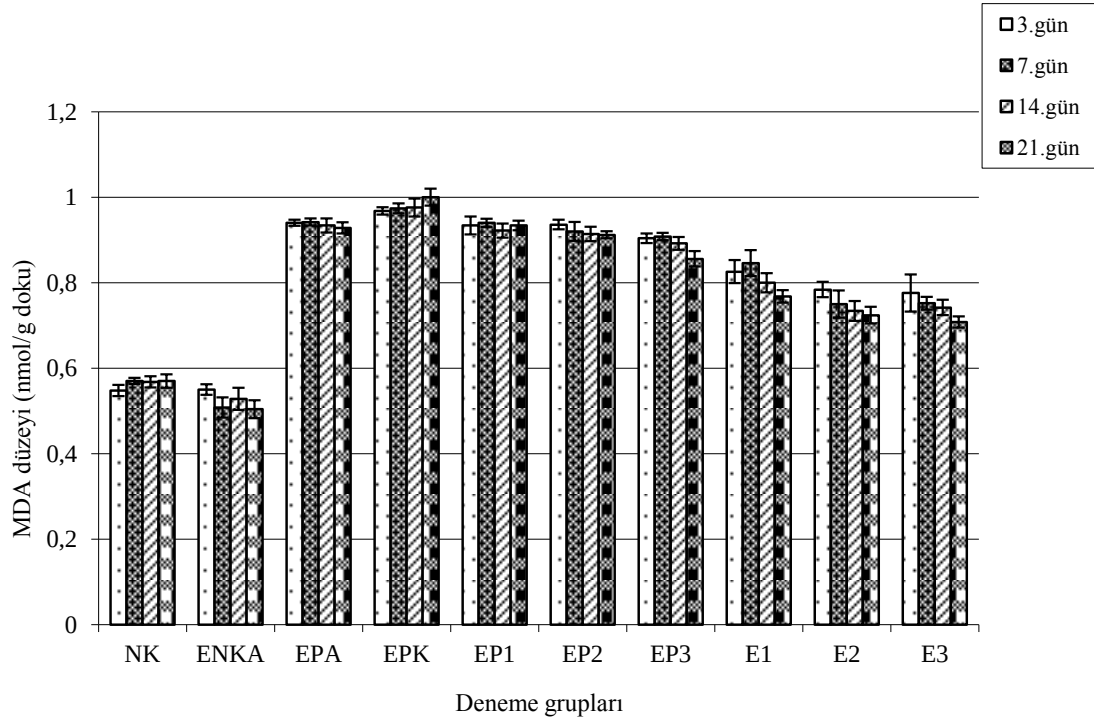
Balıkların plazmalarındaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $0,93 \pm 0,02$ - $0,93 \pm 0,01$ nmol/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,93 \pm 0,01$ - $0,91 \pm 0,008$ nmol/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $0,90 \pm 0,01$ - $0,85 \pm 0,01$ nmol/ml arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.14, Şekil 4.17).

Balıkların plazmalarındaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,82 \pm 0,02$ - $0,76 \pm 0,01$ nmol/ml arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $0,78 \pm 0,01$ - $0,72 \pm 0,01$ nmol/ml arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $0,77 \pm 0,04$ - $0,70 \pm 0,01$ nmol/ml arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.14, Şekil 4.17).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların plazma MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.14, Şekil 4.17).

Tablo 4.14 Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/ml, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,54 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,57 $\pm$ 0,007 ^{b; B}	0,56 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	0,57 $\pm$ 0,01 ^{b; B}
ENKA	0,55 $\pm$ 0,01 ^{b; A}	0,50 $\pm$ 0,02 ^{a; A}	0,52 $\pm$ 0,02 ^{a,b; A}	0,50 $\pm$ 0,02 ^{a; A}
EPA	0,94 $\pm$ 0,009 ^{a; E}	0,94 $\pm$ 0,007 ^{a; F}	0,93 $\pm$ 0,01 ^{a; F}	0,92 $\pm$ 0,01 ^{a; F,G}
EPK	0,96 $\pm$ 0,008 ^{a; F}	0,97 $\pm$ 0,01 ^{a; G}	0,97 $\pm$ 0,02 ^{a; G}	1,00 $\pm$ 0,02 ^{b; H}
EP1	0,93 $\pm$ 0,02 ^{a; E}	0,94 $\pm$ 0,01 ^{a; F}	0,92 $\pm$ 0,01 ^{a; F}	0,93 $\pm$ 0,01 ^{a; G}
EP2	0,93 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,92 $\pm$ 0,02 ^{a,b; E,F}	0,91 $\pm$ 0,01 ^{a,b; E,F}	0,91 $\pm$ 0,008 ^{a; F}
EP3	0,90 $\pm$ 0,01 ^{b; D}	0,90 $\pm$ 0,008 ^{b; E}	0,89 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,85 $\pm$ 0,01 ^{a; E}
E1	0,82 $\pm$ 0,02 ^{b,c; C}	0,84 $\pm$ 0,03 ^{c; D}	0,80 $\pm$ 0,02 ^{a,b; D}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{a; D}
E2	0,78 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	0,75 $\pm$ 0,03 ^{a; C}	0,73 $\pm$ 0,02 ^{a; C}	0,72 $\pm$ 0,01 ^{a; C}
E3	0,77 $\pm$ 0,04 ^{b; B}	0,75 $\pm$ 0,01 ^{b; C}	0,74 $\pm$ 0,01 ^{a,b; C}	0,70 $\pm$ 0,01 ^{a; C}



Şekil 4.17. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarında plazma MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıklarda karaciğer dokularındaki MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca karaciğer dokusundaki MDA düzeyi $0,86 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $0,89 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $1,04 \pm 0,09$ nmol/g ile $1,42 \pm 0,03$ nmol/g arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.15, Şekil 4.18).

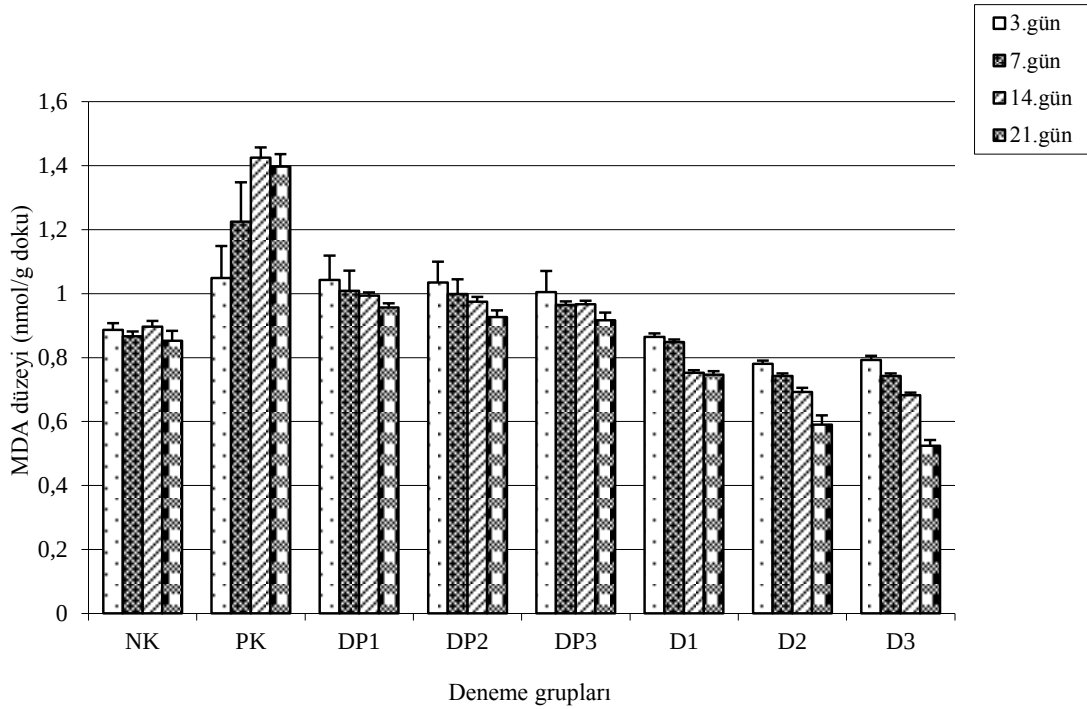
Balıkların karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $1,04 \pm 0,07$ - $0,95 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $1,03 \pm 0,06$ - $0,92 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $1,00 \pm 0,06$ - $0,91 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.15, Şekil 4.18).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,86 \pm 0,01$ - $0,74 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $0,78 \pm 0,01$ - $0,59 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $0,79 \pm 0,01$ - $0,52 \pm 0,01$ nmol/g doku olduğu belirlendi (Tablo 4.15, Şekil 4.18).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların karaciğer dokusundaki MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.15, Şekil 4.18).

Tablo 4.15. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,88 \pm 0,02^{b; C}$	$0,86 \pm 0,01^{a, b; B}$	$0,89 \pm 0,01^{b; C}$	$0,85 \pm 0,03^{a; D}$
PK	$1,04 \pm 0,09^{a; D}$	$1,22 \pm 0,12^{b; D}$	$1,42 \pm 0,03^{b; F}$	$1,39 \pm 0,03^{b; G}$
DP1	$1,04 \pm 0,07^{b; D}$	$1,00 \pm 0,06^{a, b; C}$	$0,994 \pm 0,01^{a, b; E}$	$0,95 \pm 0,01^{a; F}$
DP2	$1,03 \pm 0,06^{c; D}$	$0,99 \pm 0,04^{b; C}$	$0,97 \pm 0,01^{a, b; D, E}$	$0,92 \pm 0,02^{a; E, F}$
DP3	$1,00 \pm 0,06^{b; D}$	$0,96 \pm 0,01^{a, b; C}$	$0,96 \pm 0,01^{a, b; D}$	$0,91 \pm 0,02^{a; E}$
D1	$0,86 \pm 0,01^{c; B, C}$	$0,84 \pm 0,008^{b; B}$	$0,75 \pm 0,007^{a; B}$	$0,74 \pm 0,01^{a; C}$
D2	$0,78 \pm 0,01^{d; A}$	$0,74 \pm 0,00^{c; A}$	$0,69 \pm 0,01^{b; A}$	$0,59 \pm 0,02^{a; B}$
D3	$0,79 \pm 0,01^{d; A, B}$	$0,74 \pm 0,00^{c; A}$	$0,68 \pm 0,001^{b; A}$	$0,52 \pm 0,01^{a; A}$



Şekil 4.18. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanmış negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca karaciğer dokusunda MDA düzeyi $0,74 \pm 0,008$ nmol/g doku ile $0,75 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $0,83 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $0,96 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $1,07 \pm 0,08$ nmol/g doku ile $1,18 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.16, Şekil 4.19).

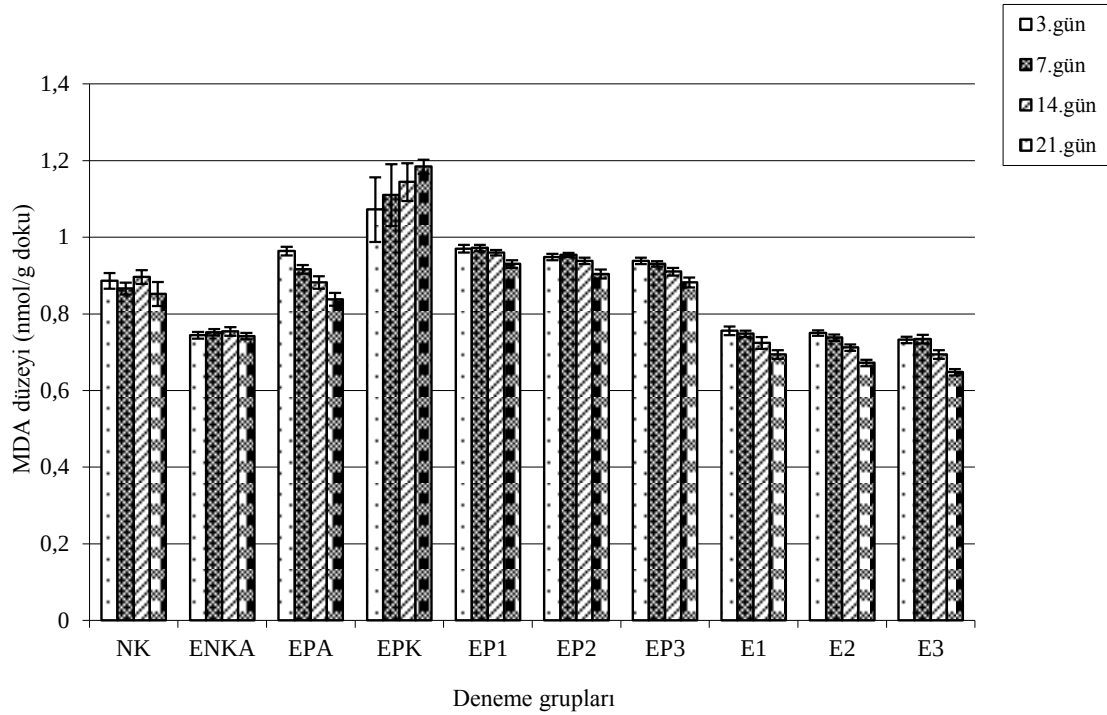
Balıkların karaciğer dokusunda MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda sırasıyla $0,97 \pm 0,01$ $0,93 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,94 \pm 0,006$ - $0,90 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $0,93 \pm 0,007$ - $0,88 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.16, Şekil 4.19).

Balıkların karaciğer dokusunda MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $0,75 \pm 0,01$ - $0,69 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $0,75 \pm 0,008$ - $0,67 \pm 0,008$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $0,73 \pm 0,008$ - $0,64 \pm 0,008$ nmol/g doku arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.16, Şekil 4.19).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların karaciğer dokusunda MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.16, Şekil 4.19).

Tablo 4.16. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,88 $\pm$ 0,02 ^{b; B}	0,86 $\pm$ 0,01 ^{a,b; B}	0,89 $\pm$ 0,01 ^{b; D,E}	0,85 $\pm$ 0,03 ^{a; E}
ENKA	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; A}	0,75 $\pm$ 0,008 ^{a; A}	0,75 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; D}
EPA	0,96 $\pm$ 0,01 ^{d; C}	0,91 $\pm$ 0,01 ^{c; C}	0,88 $\pm$ 0,01 ^{b; D}	0,83 $\pm$ 0,01 ^{a; E}
EPK	1,07 $\pm$ 0,08 ^{a; D}	1,11 $\pm$ 0,08 ^{a,b; F}	1,14 $\pm$ 0,04 ^{a,b; G}	1,18 $\pm$ 0,01 ^{b; I}
EP1	0,97 $\pm$ 0,01 ^{b; C}	0,97 $\pm$ 0,008 ^{b; E}	0,96 $\pm$ 0,007 ^{b; F}	0,93 $\pm$ 0,01 ^{a; H}
EP2	0,94 $\pm$ 0,006 ^{b,c; C}	0,95 $\pm$ 0,008 ^{c; D,E}	0,93 $\pm$ 0,006 ^{b; F}	0,90 $\pm$ 0,01 ^{a; G}
EP3	0,93 $\pm$ 0,007 ^{c; C}	0,93 $\pm$ 0,007 ^{c; C,D}	0,91 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,88 $\pm$ 0,01 ^{a; F}
E1	0,75 $\pm$ 0,01 ^{c; A}	0,74 $\pm$ 0,008 ^{c; A}	0,72 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	0,69 $\pm$ 0,01 ^{a; C}
E2	0,75 $\pm$ 0,008 ^{d; A}	0,73 $\pm$ 0,008 ^{c; A}	0,71 $\pm$ 0,008 ^{b; A,B}	0,67 $\pm$ 0,008 ^{a; B}
E3	0,73 $\pm$ 0,008 ^{c; A}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{c; A}	0,69 $\pm$ 0,01 ^{b; A}	0,64 $\pm$ 0,008 ^{a; A}



Şekil 4.19. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokularındaki MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca böbrek dokusundaki MDA düzeyi $13,12 \pm 0,29$ nmol/g doku ile $13,38 \pm 0,44$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $18,24 \pm 0,04$ nmol/g ile $18,45 \pm 0,05$ nmol/g olarak belirlendi (Tablo 4.17, Şekil 4.20).

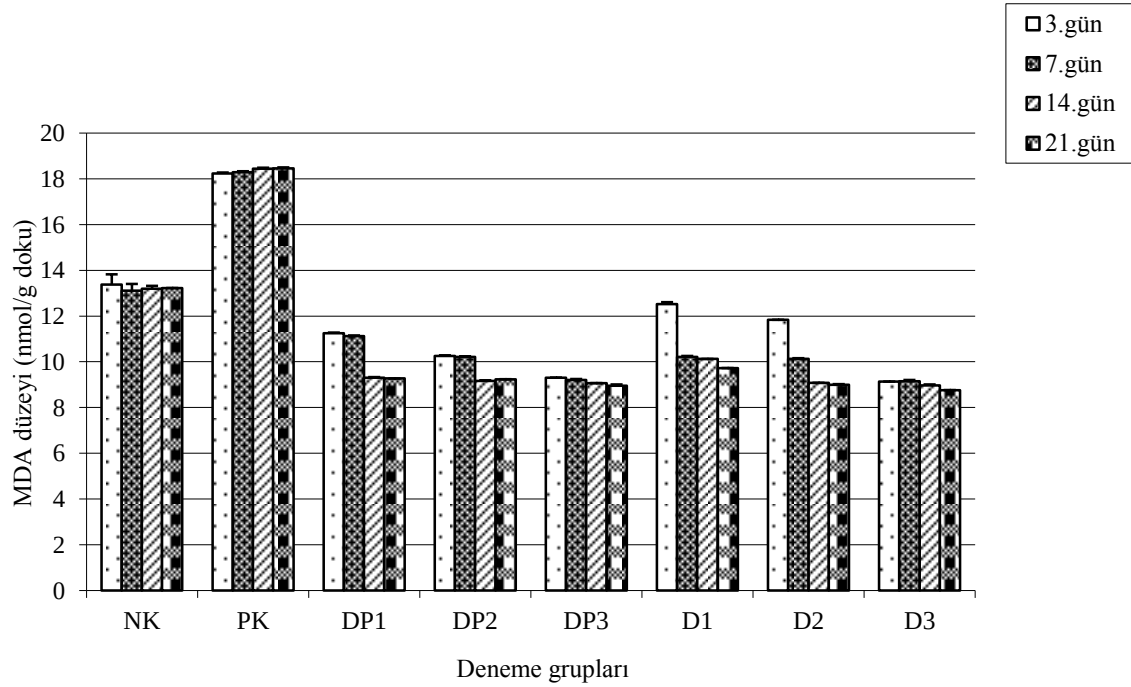
Balıkların böbrek dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $11,25 \pm 0,03$ - $9,27 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $10,25 \pm 0,03$ - $9,24 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $9,31 \pm 0,02$ - $8,96 \pm 0,04$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.17, Şekil 4.20).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda böbrek dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $12,53 \pm 0,07$ - $9,73 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $11,84 \pm 0,01$ - $8,99 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $9,13 \pm 0,03$ - $8,76 \pm 0,01$ nmol/g doku olduğu belirlendi (Tablo 4.17, Şekil 4.20).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların böbrek dokusundaki MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.17, Şekil 4.20).

Tablo 4.17. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	13,38 $\pm$ 0,44 ^{a; F}	13,12 $\pm$ 0,29 ^{a; D}	13,20 $\pm$ 0,12 ^{a; F}	13,23 $\pm$ 0,02 ^{a; E}
PK	18,24 $\pm$ 0,04 ^{a; G}	18,30 $\pm$ 0,03 ^{a; E}	18,44 $\pm$ 0,04 ^{b; G}	18,45 $\pm$ 0,05 ^{b; F}
DP1	11,25 $\pm$ 0,03 ^{c; C}	11,12 $\pm$ 0,02 ^{b; C}	9,30 $\pm$ 0,03 ^{a; D}	9,27 $\pm$ 0,01 ^{a; C}
DP2	10,25 $\pm$ 0,03 ^{d; B}	10,21 $\pm$ 0,03 ^{c; B}	9,16 $\pm$ 0,02 ^{a; C}	9,24 $\pm$ 0,02 ^{b; C}
DP3	9,31 $\pm$ 0,02 ^{d; A}	9,21 $\pm$ 0,03 ^{c; A}	9,07 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	8,96 $\pm$ 0,04 ^{a; B}
D1	12,53 $\pm$ 0,07 ^{d; E}	10,21 $\pm$ 0,04 ^{c; B}	10,12 $\pm$ 0,02 ^{b; E}	9,73 $\pm$ 0,02 ^{a; D}
D2	11,84 $\pm$ 0,01 ^{d; D}	10,12 $\pm$ 0,02 ^{c; B}	9,08 $\pm$ 0,03 ^{b; B}	8,99 $\pm$ 0,02 ^{a; B}
D3	9,13 $\pm$ 0,03 ^{c; A}	9,15 $\pm$ 0,05 ^{c; A}	8,96 $\pm$ 0,04 ^{b; A}	8,76 $\pm$ 0,01 ^{a; A}



Şekil 4.20. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokusunda MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca MDA düzeyi $7,31 \pm 0,03$ ile $7,36 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $7,38 \pm 0,07$ nmol/g doku ile $7,52 \pm 0,008$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $13,54 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $14,48 \pm 0,04$ nmol/g doku arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.18, Şekil 4.21).

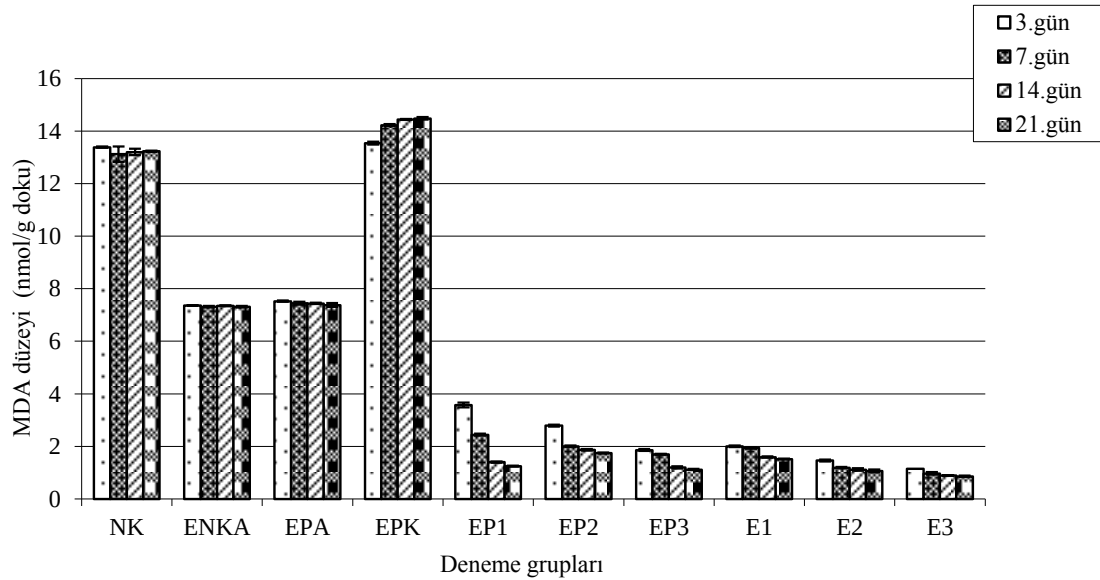
Balıkların böbrek dokusunda MDA düzeyi düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda sırasıyla $3,57 \pm 0,05$ - $1,25 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $2,79 \pm 0,09$ - $1,74 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $1,86 \pm 0,03$ - $1,12 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.18, Şekil 4.21).

Balıkların böbrek dokusunda MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $2,00 \pm 0,03$ - $1,52 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $1,46 \pm 0,03$ - $1,06 \pm 0,05$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda ise $1,14 \pm 0,03$ - $0,86 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.18, Şekil 4.21).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların böbrek dokusunda MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.18, Şekil 4.21).

Tablo 4.18. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	13,38 $\pm$ 0,44 ^{a; G}	13,12 $\pm$ 0,29 ^{a; H}	13,20 $\pm$ 0,12 ^{a; I}	13,23 $\pm$ 0,02 ^{a; I}
ENKA	7,36 $\pm$ 0,02 ^{b; F}	7,32 $\pm$ 0,03 ^{a; F}	7,34 $\pm$ 0,01 ^{a,b; G}	7,31 $\pm$ 0,03 ^{a; G}
EPA	7,52 $\pm$ 0,008 ^{c; F}	7,45 $\pm$ 0,05 ^{b; G}	7,44 $\pm$ 0,02 ^{a,b; H}	7,38 $\pm$ 0,07 ^{a; H}
EPK	13,54 $\pm$ 0,01 ^{a; G}	14,21 $\pm$ 0,04 ^{b; I}	14,44 $\pm$ 0,02 ^{c; J}	14,48 $\pm$ 0,04 ^{c; J}
EP1	3,57 $\pm$ 0,05 ^{d; E}	2,44 $\pm$ 0,03 ^{c; E}	1,40 $\pm$ 0,02 ^{b; E}	1,25 $\pm$ 0,01 ^{a; D}
EP2	2,79 $\pm$ 0,09 ^{d; D}	2,00 $\pm$ 0,03 ^{c; D}	1,87 $\pm$ 0,03 ^{b; F}	1,74 $\pm$ 0,01 ^{a; F}
EP3	1,86 $\pm$ 0,03 ^{d; C}	1,70 $\pm$ 0,01 ^{c; C}	1,19 $\pm$ 0,04 ^{b; C}	1,12 $\pm$ 0,02 ^{a; C}
E1	2,00 $\pm$ 0,03 ^{d; C}	1,94 $\pm$ 0,02 ^{c; C}	1,59 $\pm$ 0,02 ^{b; E}	1,52 $\pm$ 0,01 ^{a; E}
E2	1,46 $\pm$ 0,03 ^{d; B}	1,19 $\pm$ 0,02 ^{c; B}	1,12 $\pm$ 0,04 ^{b; B}	1,06 $\pm$ 0,05 ^{a; B}
E3	1,14 $\pm$ 0,03 ^{c; A}	0,97 $\pm$ 0,04 ^{b; A}	0,89 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,86 $\pm$ 0,02 ^{a; A}



Şekil 4.21. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokularındaki MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca dalak dokusundaki MDA düzeyi $5,56 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $5,63 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $9,46 \pm 0,03$ nmol/g ile $9,88 \pm 0,01$ nmol/g olarak belirlendi (Tablo 4.19, Şekil 4.22).

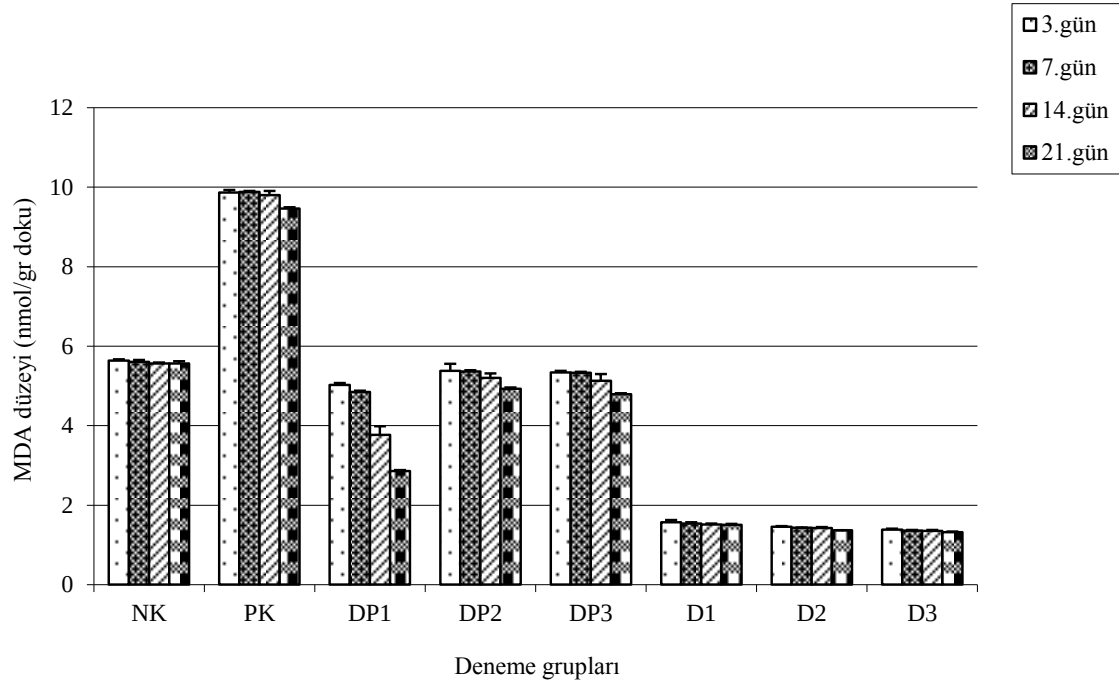
Balıkların dalak dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $5,02 \pm 0,04$ - $2,85 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $5,38 \pm 0,17$ - $4,92 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $5,33 \pm 0,03$ - $4,79 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.19, Şekil 4.22).

Yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıkların dalak dokusundaki MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $1,56 \pm 0,05$ - $1,50 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $1,45 \pm 0,01$ - $1,36 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $1,38 \pm 0,02$ - $1,31 \pm 0,02$ nmol/g doku olduğu belirlendi (Tablo 4.19, Şekil 4.22).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların dalak dokusundaki MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$), (Tablo 4.19, Şekil 4.22).

Tablo 4.19. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	5,63 $\pm$ 0,02 ^{b; E}	5,6 $\pm$ 0,05 ^{a, b; F}	5,56 $\pm$ 0,01 ^{a; E}	5,56 $\pm$ 0,05 ^{a; G}
PK	9,86 $\pm$ 0,06 ^{b; F}	9,88 $\pm$ 0,01 ^{b; G}	9,79 $\pm$ 0,10 ^{b; F}	9,46 $\pm$ 0,03 ^{a; H}
DP1	5,02 $\pm$ 0,04 ^{d; C}	4,84 $\pm$ 0,02 ^{c; D}	3,76 $\pm$ 0,21 ^{b; C}	2,85 $\pm$ 0,02 ^{a; D}
DP2	5,38 $\pm$ 0,17 ^{c; D}	5,35 $\pm$ 0,03 ^{c; E}	5,2 $\pm$ 0,11 ^{b; D}	4,92 $\pm$ 0,02 ^{a; F}
DP3	5,33 $\pm$ 0,03 ^{c; D}	5,33 $\pm$ 0,02 ^{c; E}	5,12 $\pm$ 0,17 ^{b; D}	4,79 $\pm$ 0,02 ^{a; E}
D1	1,56 $\pm$ 0,05 ^{b; B}	1,53 $\pm$ 0,03 ^{a, b; C}	1,51 $\pm$ 0,02 ^{a; B}	1,50 $\pm$ 0,02 ^{a; C}
D2	1,45 $\pm$ 0,01 ^{c; A}	1,43 $\pm$ 0,01 ^{b, c; B}	1,42 $\pm$ 0,01 ^{b; A, B}	1,36 $\pm$ 0,01 ^{a; B}
D3	1,38 $\pm$ 0,02 ^{c; A}	1,35 $\pm$ 0,01 ^{b, c; A}	1,35 $\pm$ 0,02 ^{b; A}	1,31 $\pm$ 0,02 ^{a; A}



Şekil 4.22. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokusunda MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca dalak dokusunda MDA düzeyi $5,44 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $5,51 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $5,27 \pm 0,02$ nmol/g doku ile $5,56 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $9,36 \pm 0,01$ nmol/g doku ile $9,57 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.20, Şekil 4.23).

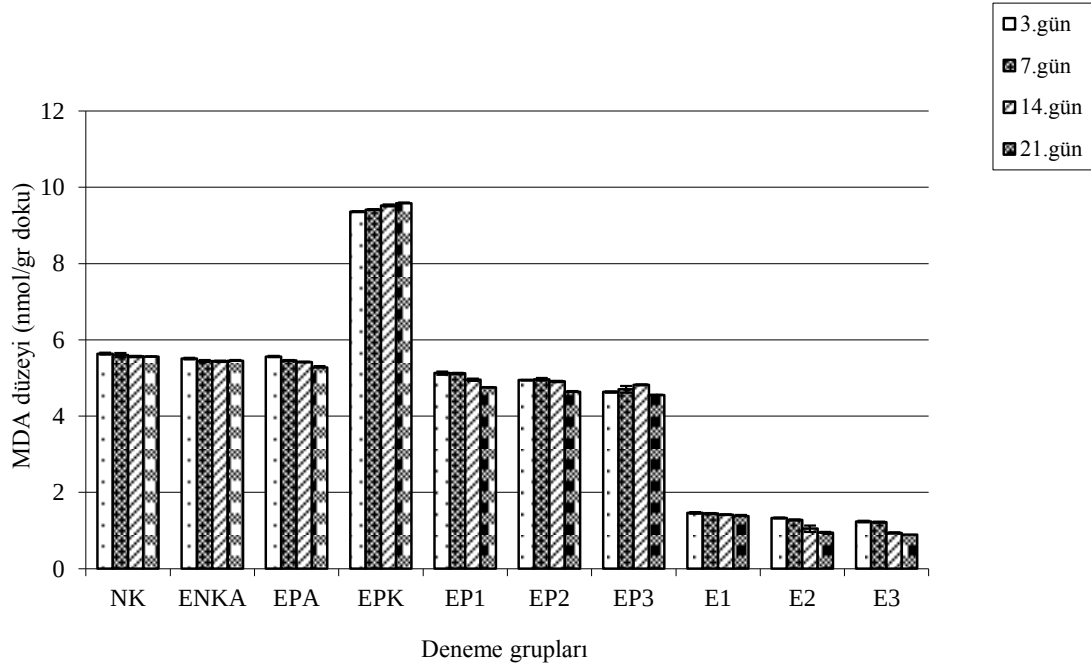
Balıkların dalak dokusunda MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda sırasıyla $5,12 \pm 0,04$ - $4,75 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $4,94 \pm 0,00$ - $4,63 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarda ise $4,63 \pm 0,01$ - $4,55 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.20, Şekil 4.23).

Balıkların dalak dokusunda MDA düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda sırasıyla $1,46 \pm 0,02$ - $1,38 \pm 0,01$ nmol/g doku arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $1,32 \pm 0,01$ - $0,94 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda ise $1,23 \pm 0,02$ - $0,89 \pm 0,02$ nmol/g doku arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.20, Şekil 4.23).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların dalak dokusunda MDA düzeylerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$, Tablo 4.20, Şekil 4.23).

Tablo 4.20. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (nmol/g doku, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$5,63 \pm 0,02^{b; I}$	$5,6 \pm 0,05^{a,b; H}$	$5,56 \pm 0,01^{a; H}$	$5,56 \pm 0,05^{a; I}$
ENKA	$5,51 \pm 0,02^{b; G}$	$5,44 \pm 0,02^{a; G}$	$5,43 \pm 0,01^{a; G}$	$5,44 \pm 0,01^{a; H}$
EPA	$5,56 \pm 0,01^{d; H}$	$5,45 \pm 0,01^{c; G}$	$5,41 \pm 0,01^{b; G}$	$5,27 \pm 0,02^{a; G}$
EPK	$9,36 \pm 0,01^{a; J}$	$9,41 \pm 0,00^{b; I}$	$9,52 \pm 0,02^{c; I}$	$9,57 \pm 0,02^{d; J}$
EP1	$5,12 \pm 0,04^{c; F}$	$5,12 \pm 0,01^{c; F}$	$4,95 \pm 0,03^{b; F}$	$4,75 \pm 0,01^{a; F}$
EP2	$4,94 \pm 0,00^{c; E}$	$4,96 \pm 0,03^{c; E}$	$4,90 \pm 0,01^{b; E}$	$4,63 \pm 0,01^{a; E}$
EP3	$4,63 \pm 0,01^{b; D}$	$4,70 \pm 0,08^{c; D}$	$4,82 \pm 0,01^{d; D}$	$4,55 \pm 0,01^{a; D}$
E1	$1,46 \pm 0,02^{c; C}$	$1,44 \pm 0,01^{c; C}$	$1,41 \pm 0,01^{b; C}$	$1,38 \pm 0,01^{a; C}$
E2	$1,32 \pm 0,01^{c; B}$	$1,27 \pm 0,01^{c; B}$	$1,04 \pm 0,08^{b; B}$	$0,94 \pm 0,02^{a; B}$
E3	$1,23 \pm 0,02^{c; A}$	$1,21 \pm 0,01^{c; A}$	$0,93 \pm 0,01^{b; A}$	$0,89 \pm 0,02^{a; A}$



Şekil 4.23. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki MDA düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.9. Dokuda Süperoksit Dismütaz (SOD) Aktivitesi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokularındaki SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi $0,73 \pm 0,006$ U/mg protein ile $0,74 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,79 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,97 \pm 0,01$ U/mg protein olarak belirlendi (Tablo 4.21, Şekil 4.24).

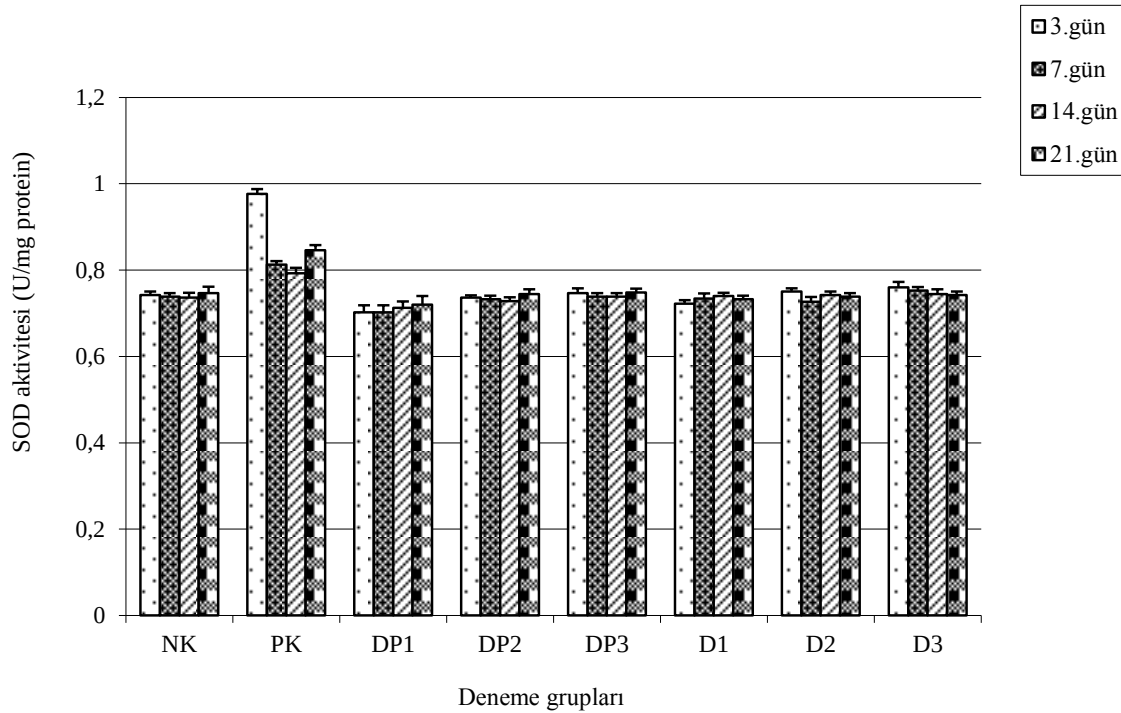
Balıkların karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,70 \pm 0,01$ - $0,72 \pm 0,02$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,73 \pm 0,008$ - $0,74 \pm 0,01$ U/mg protein doku arasında, ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,74 \pm 0,01$ - $0,74 \pm 0,008$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.21, Şekil 4.24).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,72 \pm 0,008$ - $0,73 \pm 0,008$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $0,75 \pm 0,007$ - $0,73 \pm 0,008$ U/mg protein arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $0,76 \pm 0,01$ - $0,74 \pm 0,008$ U/mg protein olarak belirlendi (Tablo 4.21, Şekil 4.24).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların karaciğer dokusundaki SOD aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, (Tablo 4.21. Şekil 4.24).

Tablo 4.21. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; C}	0,73 $\pm$ 0,006 ^{a; B, C}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{a; B, C}	0,74 $\pm$ 0,01 ^{a; B}
PK	0,97 $\pm$ 0,01 ^{d; E}	0,81 $\pm$ 0,007 ^{b; D}	0,79 $\pm$ 0,01 ^{a; D}	0,84 $\pm$ 0,01 ^{c; C}
DP1	0,70 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,70 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,71 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,72 $\pm$ 0,02 ^{a; A}
DP2	0,73 $\pm$ 0,008 ^{a, b; C}	0,73 $\pm$ 0,008 ^{a, b; B}	0,72 $\pm$ 0,008 ^{a; B}	0,74 $\pm$ 0,01 ^{b; B}
DP3	0,74 $\pm$ 0,01 ^{a; C, D}	0,73 $\pm$ 0,008 ^{a; B, C}	0,73 $\pm$ 0,007 ^{a; B, C}	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; B}
D1	0,72 $\pm$ 0,008 ^{a; B}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{a, b; B}	0,74 $\pm$ 0,007 ^{b; B, C}	0,73 $\pm$ 0,008 ^{a, b; A, B}
D2	0,75 $\pm$ 0,007 ^{b; C, D}	0,72 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,74 $\pm$ 0,008 ^{b; B, C}	0,73 $\pm$ 0,008 ^{b; B}
D3	0,76 $\pm$ 0,01 ^{b; D}	0,75 $\pm$ 0,008 ^{a, b; C}	0,74 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; B}



Şekil 4.24. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca karaciğer dokusunda SOD aktivitesi $0,75 \pm 0,008$ U/mg protein ile $0,76 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $0,73 \pm 0,008$ U/mg protein ile $0,75 \pm 0,007$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,73 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,77 \pm 0,008$ U/mg protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.22, Şekil 4.25).

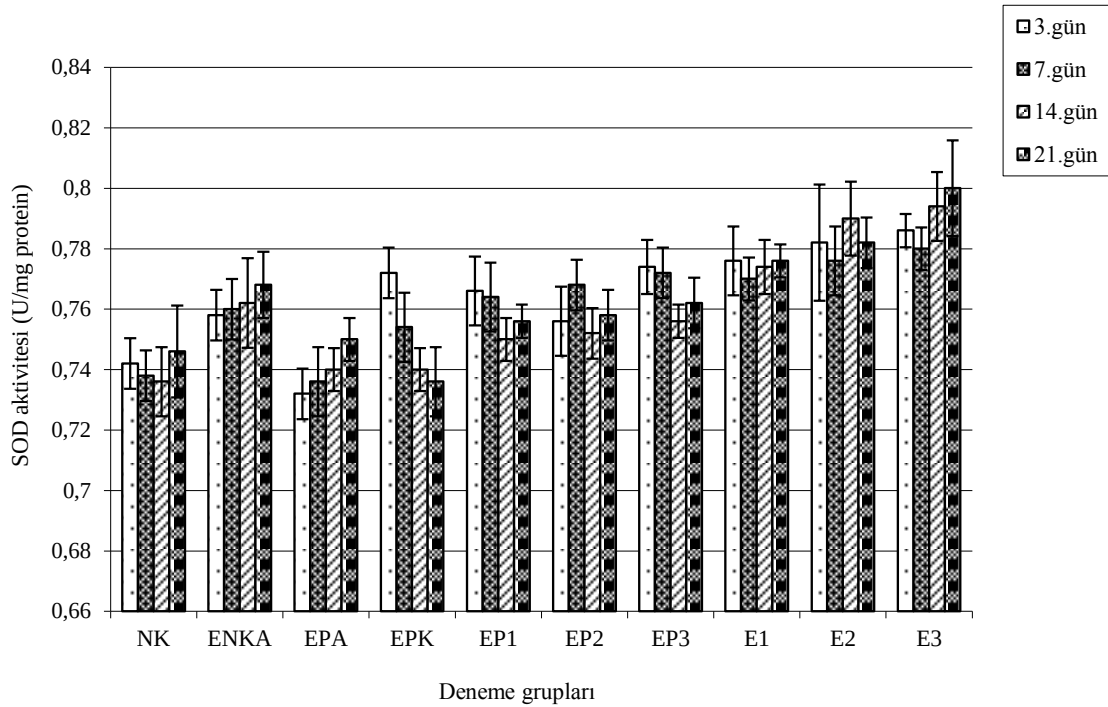
Balıkların karaciğer dokusunda SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $0,76 \pm 0,01$ - $0,75 \pm 0,005$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,75 \pm 0,01$ - $0,75 \pm 0,008$ U/mg protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $0,77 \pm 0,008$ - $0,76 \pm 0,008$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.22, Şekil 4.25).

Balıkların karaciğer dokusunda SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,77 \pm 0,01$ - $0,77 \pm 0,005$ U/mg protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $0,78 \pm 0,01$ - $0,78 \pm 0,008$ U/mg protein arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $0,78 \pm 0,005$ - $0,80 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.22, Şekil 4.25).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların karaciğer dokusunda SOD aktivitesinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.22, Şekil 4.25).

Tablo 4.22. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,74 $\pm$ 0,008 ^{a; A}	0,73 $\pm$ 0,006 ^{a; A}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,74 $\pm$ 0,01 ^{a; A,B}
ENKA	0,75 $\pm$ 0,008 ^{a; B,C}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{a; B,C}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{a; C,D}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{a; D,E}
EPA	0,73 $\pm$ 0,008 ^{a; A}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{a; A}	0,74 $\pm$ 0,007 ^{a,b; A,B}	0,75 $\pm$ 0,007 ^{b; B,C}
EPK	0,77 $\pm$ 0,008 ^{c; C,D,E}	0,75 $\pm$ 0,01 ^{b; B}	0,74 $\pm$ 0,007 ^{a; A,B}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{a; A}
EP1	0,76 $\pm$ 0,01 ^{b; B,C,D}	0,76 $\pm$ 0,01 ^{b; B,C,D}	0,75 $\pm$ 0,007 ^{a; B,C}	0,75 $\pm$ 0,005 ^{a,b; B,C,D}
EP2	0,75 $\pm$ 0,01 ^{a,b; B}	0,76 $\pm$ 0,008 ^{b; C,D,E}	0,75 $\pm$ 0,008 ^{a; B,C}	0,75 $\pm$ 0,008 ^{a,b; B,C,D}
EP3	0,77 $\pm$ 0,008 ^{c; D,E}	0,77 $\pm$ 0,008 ^{b,c; C,D,E}	0,75 $\pm$ 0,005 ^{a; C}	0,76 $\pm$ 0,008 ^{a,b; C,D}
E1	0,77 $\pm$ 0,01 ^{a; D,E}	0,77 $\pm$ 0,007 ^{a; C,D,E}	0,77 $\pm$ 0,008 ^{a; D}	0,77 $\pm$ 0,005 ^{a; E,F}
E2	0,78 $\pm$ 0,01 ^{a; E}	0,77 $\pm$ 0,01 ^{a; D,E}	0,79 $\pm$ 0,01 ^{a; E}	0,78 $\pm$ 0,008 ^{a; F}
E3	0,78 $\pm$ 0,005 ^{a,b; E}	0,78 $\pm$ 0,007 ^{a; E}	0,79 $\pm$ 0,01 ^{a,b; E}	0,80 $\pm$ 0,01 ^{b; G}



Şekil 4.25. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokularındaki SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca böbrek dokusundaki SOD aktivitesi $0,56 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,58 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,40 \pm 0,02$ U/mg protein ile $0,49 \pm 0,02$ U/mg protein olarak belirlendi (Tablo 4.23, Şekil 4.26).

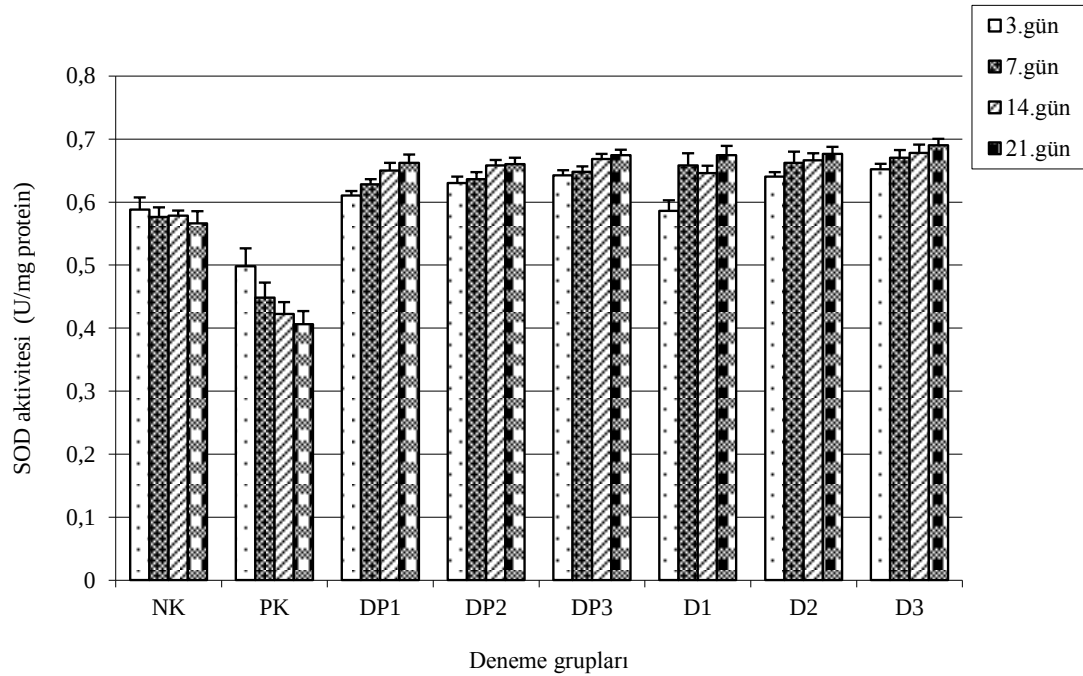
Balıkların böbrek dokusundaki SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,61 \pm 0,007$ - $0,66 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,63 \pm 0,01$ - $0,66 \pm 0,01$ U/mg protein doku arasında ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,64 \pm 0,008$ - $0,67 \pm 0,008$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.23, Şekil 4.26).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında böbrek dokusundaki SOD aktivitesi 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,58 \pm 0,01$ - $0,67 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $0,64 \pm 0,007$ - $0,67 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $0,65 \pm 0,008$ - $0,69 \pm 0,01$ U/mg protein olduğu belirlendi (Tablo 4.23, Şekil 4.26).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların böbrek dokusundaki SOD aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.23. Şekil 4.26).

Tablo 4.23. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,58 \pm 0,01^{a; B}$	$0,57 \pm 0,01^{a; B}$	$0,57 \pm 0,008^{a; B}$	$0,56 \pm 0,01^{a; B}$
PK	$0,49 \pm 0,02^{c; A}$	$0,44 \pm 0,02^{b; A}$	$0,42 \pm 0,01^{a, b; A}$	$0,40 \pm 0,02^{a; A}$
DP1	$0,61 \pm 0,007^{a; C}$	$0,62 \pm 0,008^{b; C}$	$0,65 \pm 0,01^{c; C, D}$	$0,66 \pm 0,01^{c; C}$
DP2	$0,63 \pm 0,01^{a; D}$	$0,63 \pm 0,01^{a; C}$	$0,65 \pm 0,008^{b; C, D, E}$	$0,66 \pm 0,01^{b; C}$
DP3	$0,64 \pm 0,008^{a; E, F}$	$0,64 \pm 0,008^{a; C}$	$0,66 \pm 0,008^{b; E, F}$	$0,67 \pm 0,008^{b; C, D}$
D1	$0,58 \pm 0,01^{B}$	$0,65 \pm 0,01^{b, c; D, E}$	$0,64 \pm 0,01^{b; C}$	$0,67 \pm 0,01^{c; C, D}$
D2	$0,64 \pm 0,007^{a; D, E}$	$0,66 \pm 0,01^{b; D, E}$	$0,66 \pm 0,01^{b; D, E, F}$	$0,67 \pm 0,01^{b; C, D}$
D3	$0,65 \pm 0,008^{a; E}$	$0,67 \pm 0,01^{b; E}$	$0,67 \pm 0,01^{b, c; F}$	$0,69 \pm 0,01^{c; D}$



Şekil 4.26. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıklarda böbrek dokusunda SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca böbrek dokusunda SOD aktivitesi $0,62 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,64 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $0,53 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,57 \pm 0,02$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,44 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,49 \pm 0,01$ U/mg protein doku arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.24, Şekil 4.27).

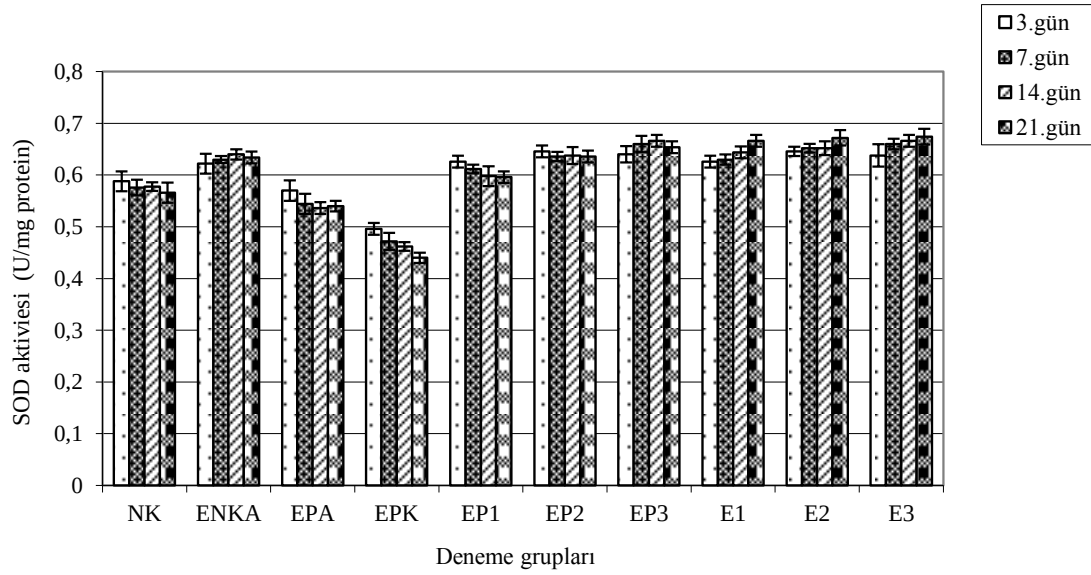
Balıkların böbrek dokusunda SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $0,62 \pm 0,01$ - $0,59 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,64 \pm 0,01$ - $0,63 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $0,64 \pm 0,01$ - $0,65 \pm 0,01$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.24, Şekil 4.27).

Balıklarda böbrek dokusunda SOD enzim aktivitesi düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,62 \pm 0,01$ - $0,66 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $0,64 \pm 0,008$ - $0,67 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $0,63 \pm 0,02$ - $0,67 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.24, Şekil 4.27).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların böbrek dokusunda SOD aktivitesinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.24, Şekil 4.27).

Tablo 4.24. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	0,58 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,57 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,57 $\pm$ 0,008 ^{a; C}	0,56 $\pm$ 0,01 ^{a; C}
ENKA	0,62 $\pm$ 0,01 ^{a; C}	0,63 $\pm$ 0,007 ^{a; E}	0,64 $\pm$ 0,01 ^{a; E}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{a; E}
EPA	0,57 $\pm$ 0,02 ^{b; B}	0,54 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,53 $\pm$ 0,01 ^{a; B}	0,54 $\pm$ 0,01 ^{a; B}
EPK	0,49 $\pm$ 0,01 ^{c; A}	0,47 $\pm$ 0,01 ^{b; A}	0,46 $\pm$ 0,008 ^{b; A}	0,44 $\pm$ 0,01 ^{a; A}
EP1	0,62 $\pm$ 0,01 ^{b; C,D}	0,61 $\pm$ 0,008 ^{a,b; D}	0,59 $\pm$ 0,01 ^{a; D}	0,59 $\pm$ 0,01 ^{a; D}
EP2	0,64 $\pm$ 0,01 ^{a; D}	0,63 $\pm$ 0,008 ^{a; E,F}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{a; E}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{a; E}
EP3	0,64 $\pm$ 0,01 ^{a; C,D}	0,66 $\pm$ 0,01 ^{b; G}	0,66 $\pm$ 0,01 ^{b; F}	0,65 $\pm$ 0,01 ^{a,b; F}
E1	0,62 $\pm$ 0,01 ^{a; C,D}	0,63 $\pm$ 0,01 ^{a,b; E}	0,64 $\pm$ 0,01 ^{b; E}	0,66 $\pm$ 0,01 ^{c; F,G}
E2	0,64 $\pm$ 0,008 ^{a; D}	0,65 $\pm$ 0,008 ^{a; F,G}	0,65 $\pm$ 0,01 ^{a; E,F}	0,67 $\pm$ 0,01 ^{b; G}
E3	0,63 $\pm$ 0,02 ^{a; C,D}	0,66 $\pm$ 0,01 ^{b; G}	0,66 $\pm$ 0,01 ^{b; F}	0,67 $\pm$ 0,01 ^{b; G}



Şekil 4.27. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokularındaki SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca dalak dokusundaki SOD aktivitesi $0,51 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,54 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,42 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,48 \pm 0,008$ U/mg protein olarak belirlendi (Tablo 4.25, Şekil 4.28).

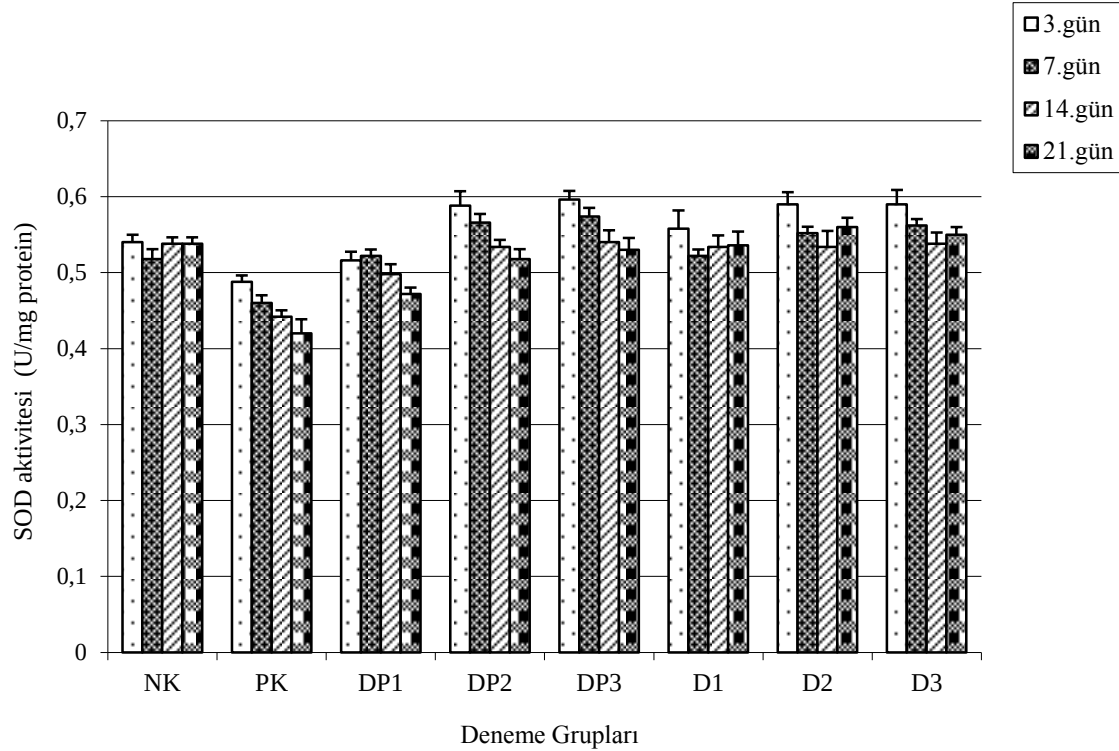
Balıkların dalak dokusundaki SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,51 \pm 0,01$ - $0,47 \pm 0,008$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,58 \pm 0,01$ - $0,51 \pm 0,01$ U/mg protein doku arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,59 \pm 0,01$ U/mg protein ile 21. günde $0,53 \pm 0,01$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.25, Şekil 4.28).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıkların dalak dokusundaki SOD aktivitelerinin 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,55 \pm 0,02$ - $0,53 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $0,59 \pm 0,01$ - $0,56 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $0,59 \pm 0,01$ - 21. günde $0,55 \pm 0,01$ U/mg protein olduğu belirlendi (Tablo 4.25, Şekil 4.28).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların dalak dokusundaki SOD aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.25. Şekil 4.28).

Tablo 4.25. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,54 \pm 0,01^{b; C}$	$0,51 \pm 0,01^{a; B}$	$0,53 \pm 0,008^{b; C}$	$0,53 \pm 0,008^{b; D, E}$
PK	$0,48 \pm 0,008^{d; A}$	$0,46 \pm 0,01^{c; A}$	$0,44 \pm 0,008^{b; A}$	$0,42 \pm 0,01^{a; A}$
DP1	$0,51 \pm 0,01^{c; B}$	$0,52 \pm 0,008^{c; B}$	$0,49 \pm 0,01^{b; B}$	$0,47 \pm 0,008^{a; B}$
DP2	$0,58 \pm 0,01^{c; D}$	$0,56 \pm 0,01^{b; D}$	$0,53 \pm 0,008^{a; C}$	$0,51 \pm 0,01^{a; C}$
DP3	$0,59 \pm 0,01^{c; D}$	$0,57 \pm 0,01^{b; D}$	$0,54 \pm 0,01^{a; C}$	$0,53 \pm 0,01^{a; C, D}$
D1	$0,55 \pm 0,02^{b; C}$	$0,52 \pm 0,008^{a; B}$	$0,53 \pm 0,01^{a, b; C}$	$0,53 \pm 0,01^{a, b; C, D, E}$
D2	$0,59 \pm 0,01^{c; D}$	$0,55 \pm 0,008^{a, b; C}$	$0,53 \pm 0,02^{a; C}$	$0,56 \pm 0,01^{b; F}$
D3	$0,59 \pm 0,01^{c; D}$	$0,56 \pm 0,008^{b; C, D}$	$0,53 \pm 0,01^{a; C}$	$0,55 \pm 0,01^{a, b; E, F}$



Şekil 4.28. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokusunda SOD aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca dalak dokusunda SOD enzim aktivitesi $0,53 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,56 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $0,47 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,50 \pm 0,02$ U/mg protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,42 \pm 0,01$ U/mg protein ile $0,50 \pm 0,01$ U/mg protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.26, Şekil 4.29).

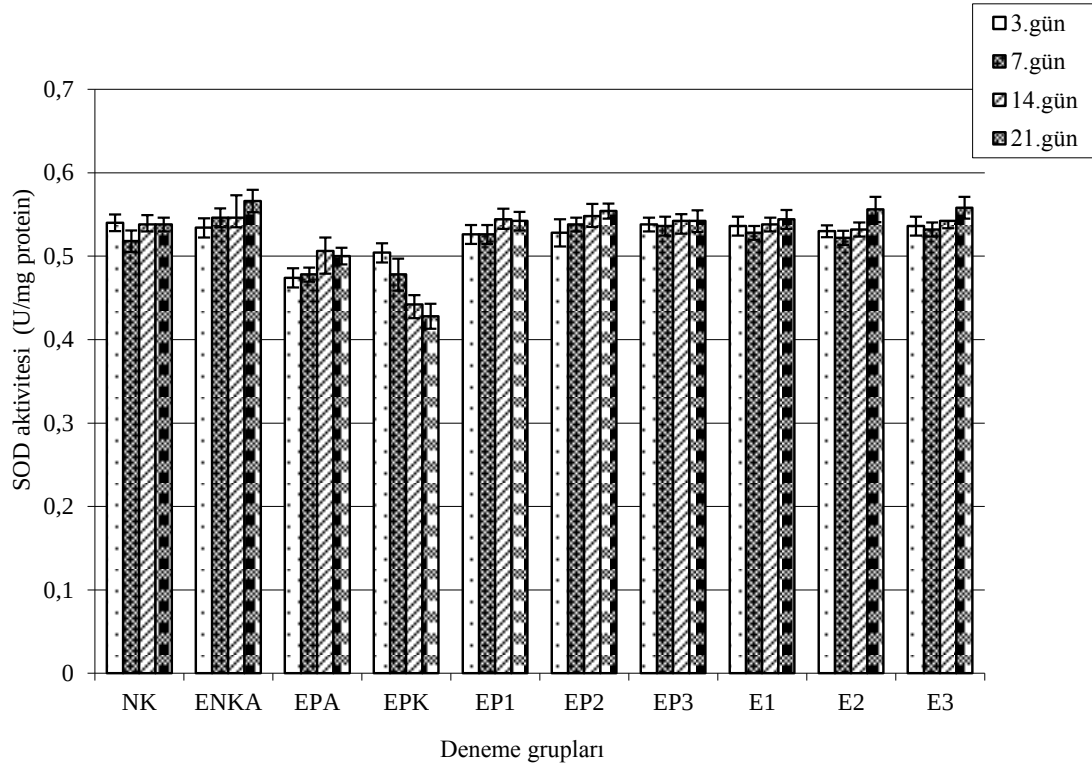
Balıkların dalak dokusunda SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $0,52 \pm 0,01$ - $0,54 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,52 \pm 0,01$ - $0,55 \pm 0,008$ U/mg protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $0,53 \pm 0,008$ - $0,54 \pm 0,01$ U/mg protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.26, Şekil 4.29).

Balıkların dalak dokusunda SOD aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,53 \pm 0,01$ - $0,54 \pm 0,01$ U/mg protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $0,53 \pm 0,007$ - $0,55 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $0,53 \pm 0,01$ - $0,55 \pm 0,01$ U/mg protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.26, Şekil 4.29).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların dalak dokusunda SOD aktivitelerinde farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$, Tablo 4.26, Şekil 4.29).

Tablo 4.26. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (U/mg protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,54 \pm 0,01^{b; C}$	$0,51 \pm 0,01^{a; B}$	$0,53 \pm 0,008^{b; C}$	$0,53 \pm 0,008^{b; C}$
ENKA	$0,53 \pm 0,01^{a; C}$	$0,54 \pm 0,01^{a; D}$	$0,54 \pm 0,01^{a; C}$	$0,56 \pm 0,01^{b; E}$
EPA	$0,47 \pm 0,01^{a; A}$	$0,47 \pm 0,008^{a; A}$	$0,50 \pm 0,02^{b; B}$	$0,50 \pm 0,01^{b; B}$
EPK	$0,50 \pm 0,01^{c; B}$	$0,47 \pm 0,01^{b; A}$	$0,44 \pm 0,01^{a; A}$	$0,42 \pm 0,01^{a; A}$
EP1	$0,52 \pm 0,01^{a; C}$	$0,52 \pm 0,01^{a; B, C}$	$0,54 \pm 0,01^{b; C}$	$0,54 \pm 0,01^{b; C, D}$
EP2	$0,52 \pm 0,01^{a; C}$	$0,53 \pm 0,008^{a, b; C, D}$	$0,54 \pm 0,01^{b; C}$	$0,55 \pm 0,008^{b; C, D; E}$
EP3	$0,53 \pm 0,008^{a; C}$	$0,53 \pm 0,01^{a; C, D}$	$0,54 \pm 0,01^{a; C}$	$0,54 \pm 0,01^{a; C, D}$
E1	$0,53 \pm 0,01^{a, b; C}$	$0,52 \pm 0,008^{a; B, C}$	$0,53 \pm 0,008^{a, b; C}$	$0,54 \pm 0,01^{b; C, D}$
E2	$0,53 \pm 0,007^{a; C}$	$0,52 \pm 0,008^{a; B, C}$	$0,53 \pm 0,008^{a; C}$	$0,55 \pm 0,01^{b; D, E}$
E3	$0,53 \pm 0,01^{a; C}$	$0,53 \pm 0,008^{a; B, C, D}$	$0,54 \pm 0,008^{a; C}$	$0,55 \pm 0,01^{b; D, E}$



Şekil 4.29. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik SOD enzim aktivitesi düzeyinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.10. Kan ve Dokuda Katalaz aktivitesi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca kandaki katalaz aktivitesi $81,85 \pm 0,73$ k/g hemoglobin ile $84,81 \pm 1,37$ k/g hemoglobin arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $51,31 \pm 0,77$ k/g hemoglobin ile $57,68 \pm 0,84$ k/g hemoglobin olarak belirlendi (Tablo 4.27, Şekil 4.30).

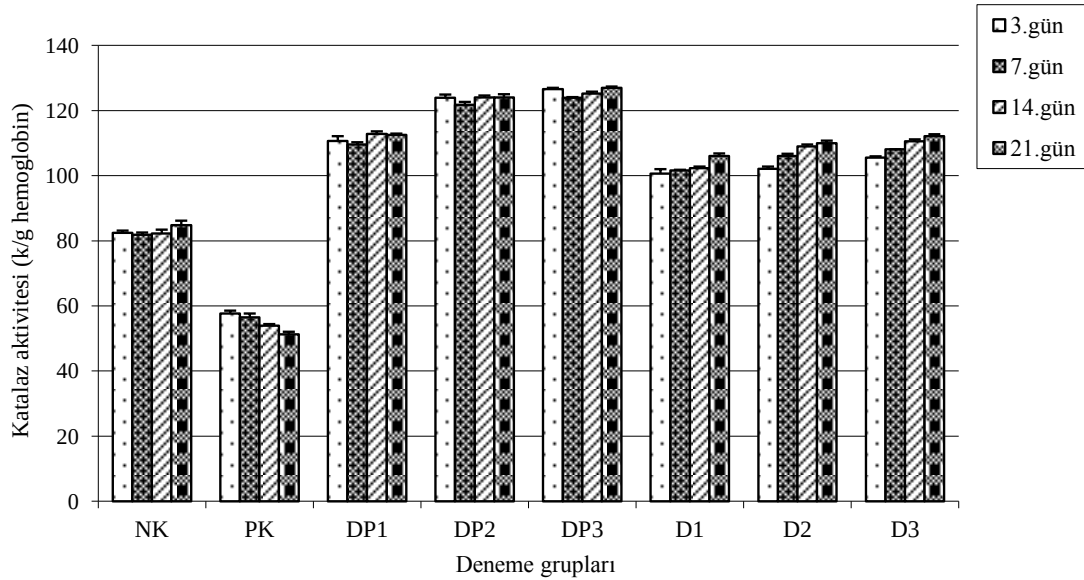
Balıkların kanlarındaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $110,69 \pm 1,50$ - $112,58 \pm 0,42$ k/g hemoglobin arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $123,94 \pm 0,97$ - $124,10 \pm 0,98$ k/g hemoglobin arasında, ve 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $126,64 \pm 0,35$ - $126,98 \pm 0,38$ k/g hemoglobin arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.27, Şekil 4.30).

Balıkların kanlarındaki katalaz aktivitesi 200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında kan glikoz düzeyleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $100,66 \pm 1,39$ - $106,06 \pm 0,81$ k/g hemoglobin arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda $102,14 \pm 0,68$ - $109,99 \pm 0,79$ k/g hemoglobin arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $105,53 \pm 0,46$ - $112,15 \pm 0,63$ k/g hemoglobin olduğu belirlendi (Tablo 4.27, Şekil 4.30).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların kanlarındaki katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.27, Şekil 4.30).

Tablo 4.27. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının kanındaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g hemoglobin, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	82,42 $\pm$ 0,71 ^{a; B}	81,85 $\pm$ 0,73 ^{a; B}	82,26 $\pm$ 1,18 ^{a; B}	84,81 $\pm$ 1,37 ^{b; B}
PK	57,68 $\pm$ 0,84 ^{d; A}	56,49 $\pm$ 1,24 ^{c; A}	53,91 $\pm$ 0,48 ^{b; A}	51,31 $\pm$ 0,77 ^{a; A}
DP1	110,69 $\pm$ 1,50 ^{a; F}	109,62 $\pm$ 0,63 ^{a; F}	112,86 $\pm$ 0,74 ^{b; F}	112,58 $\pm$ 0,42 ^{b; E}
DP2	123,94 $\pm$ 0,97 ^{b; G}	121,76 $\pm$ 0,91 ^{a; G}	124,09 $\pm$ 0,57 ^{b; G}	124,10 $\pm$ 0,98 ^{b; F}
DP3	126,64 $\pm$ 0,35 ^{c; H}	123,92 $\pm$ 0,21 ^{a; H}	125,23 $\pm$ 0,63 ^{b; H}	126,98 $\pm$ 0,38 ^{c; G}
D1	100,66 $\pm$ 1,39 ^{a; C}	101,63 $\pm$ 0,19 ^{a, b; C}	102,32 $\pm$ 0,52 ^{b; C}	106,06 $\pm$ 0,81 ^{c; C}
D2	102,14 $\pm$ 0,68 ^{a; D}	106,05 $\pm$ 0,73 ^{b; D}	109,05 $\pm$ 0,56 ^{c; D}	109,99 $\pm$ 0,79 ^{c; D}
D3	105,53 $\pm$ 0,46 ^{a; E}	108,14 $\pm$ 0,23 ^{b; E}	110,58 $\pm$ 0,56 ^{c; E}	112,15 $\pm$ 0,63 ^{d; E}



Şekil 4.30. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının kanındaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların kanlarındaki katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca balıkların kanlarında katalaz aktivitesi $81,50 \pm 1,01$ k/g hemoglobin ile $86,49 \pm 1,053$ k/g hemoglobin arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $83,85 \pm 0,32$ k/g hemoglobin ile $89,64 \pm 1,23$ k/g hemoglobin arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $59,85 \pm 1,49$ k/g hemoglobin ile $67,99 \pm 0,79$ k/g hemoglobin arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.28, Şekil 4.31).

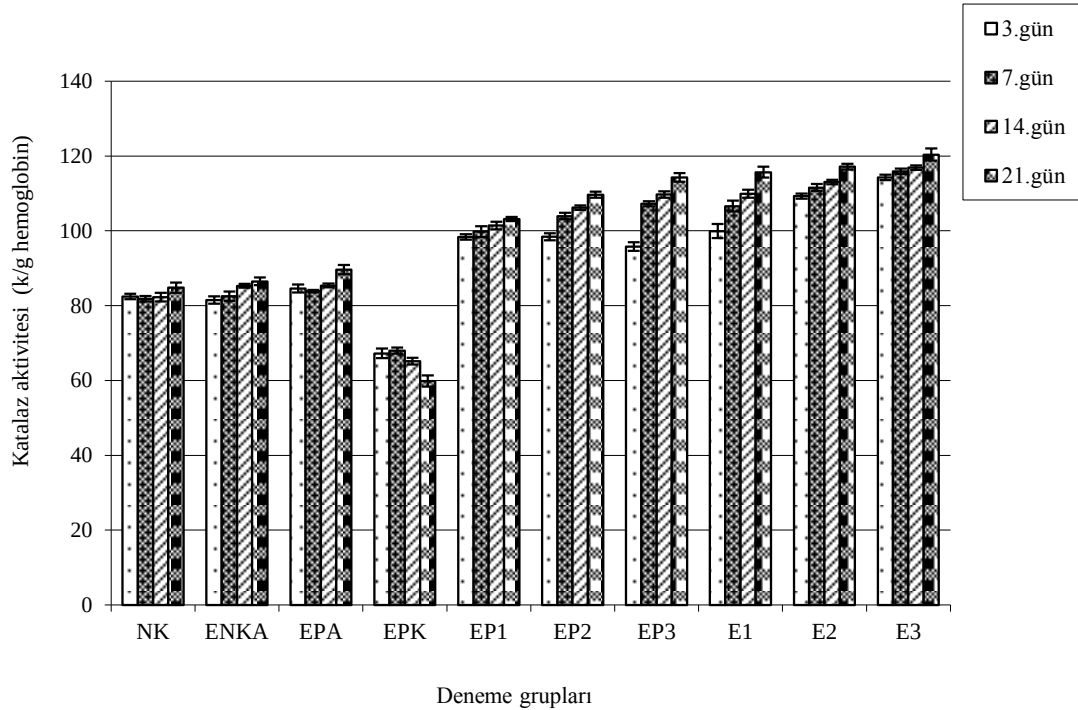
Balıkların kanlarında katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $98,34 \pm 0,71$ - $103,17 \pm 0,54$ k/g hemoglobin arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $98,40 \pm 0,97$ - $109,63 \pm 0,81$ k/g hemoglobin arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $95,79 \pm 1,14$ - $114,27 \pm 1,18$ k/g hemoglobin arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.28, Şekil 4.31).

Balıkların kanlarında katalaz aktivitesi düzeyleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $99,91 \pm 1,85$ - $115,66 \pm 1,45$ k/g hemoglobin arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $109,28 \pm 0,7$ - $117,14 \pm 0,73$ k/g hemoglobin arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $114,27 \pm 0,69$ - $120,38 \pm 1,61$ k/g hemoglobin arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.28, Şekil 4.31).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların kanlarındaki katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.28, Şekil 4.31).

Tablo 4.28. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının kandaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g hemoglobin, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	82,42 $\pm$ 0,71 ^{a; B}	81,85 $\pm$ 0,73 ^{a; B}	82,26 $\pm$ 1,18 ^{a; B}	84,81 $\pm$ 1,37 ^{a; B}
ENKA	81,50 $\pm$ 1,01 ^{a; B}	82,52 $\pm$ 1,22 ^{a; B}	85,3 $\pm$ 0,49 ^{b; C}	86,49 $\pm$ 1,053 ^{b; C}
EPA	84,60 $\pm$ 1,05 ^{a,b; C}	83,85 $\pm$ 0,32 ^{a; C}	85,39 $\pm$ 0,49 ^{b; C}	89,64 $\pm$ 1,23 ^{c; D}
EPK	67,25 $\pm$ 1,25 ^{c; A}	67,99 $\pm$ 0,79 ^{c; A}	65,14 $\pm$ 0,91 ^{b; A}	59,85 $\pm$ 1,49 ^{a; A}
EP1	98,34 $\pm$ 0,71 ^{a; E}	99,77 $\pm$ 1,423 ^{b; D}	101,41 $\pm$ 1,03 ^{c; D}	103,17 $\pm$ 0,54 ^{d; E}
EP2	98,40 $\pm$ 0,97 ^{a; E}	103,95 $\pm$ 0,82 ^{b; E}	106,19 $\pm$ 0,62 ^{c; E}	109,63 $\pm$ 0,81 ^{d; F}
EP3	95,79 $\pm$ 1,14 ^{a; D}	107,22 $\pm$ 0,67 ^{b; F}	109,69 $\pm$ 0,86 ^{c; F}	114,27 $\pm$ 1,18 ^{d; G}
E1	99,91 $\pm$ 1,85 ^{a; F}	106,58 $\pm$ 1,44 ^{b; F}	109,93 $\pm$ 1,06 ^{c; F}	115,66 $\pm$ 1,45 ^{d; G,H}
E2	109,28 $\pm$ 0,7 ^{a; G}	111,57 $\pm$ 0,93 ^{b; G}	113,03 $\pm$ 0,62 ^{c; G}	117,14 $\pm$ 0,73 ^{d; H}
E3	114,27 $\pm$ 0,69 ^{a; H}	115,86 $\pm$ 0,71 ^{b; H}	116,90 $\pm$ 0,59 ^{b; H}	120,38 $\pm$ 1,61 ^{c; I}



Şekil 4.31. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının kanındaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesi $220,83 \pm 2,10$ k/g protein ile $228,12 \pm 0,23$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $140,08 \pm 0,90$ k/g protein ile $166,39 \pm 1,81$ k/g protein olarak belirlendi (Tablo 4.29, Şekil 4.32).

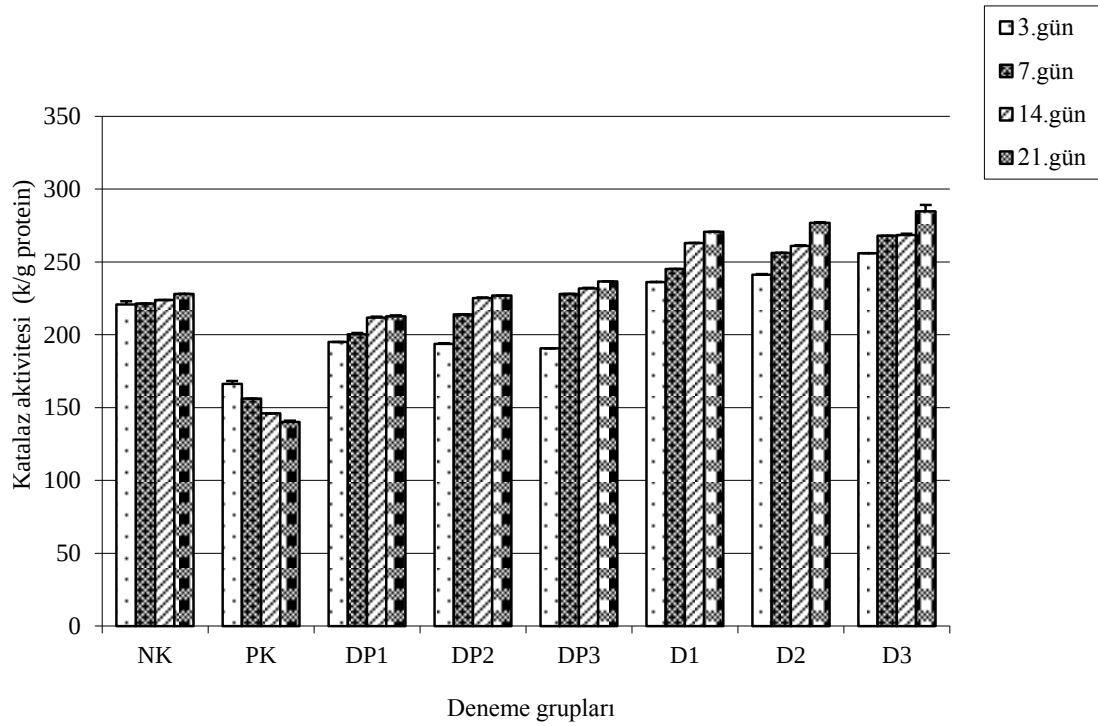
Balıkların karaciğer dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $195,07 \pm 0,19$ - $212,79 \pm 0,49$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $193,68 \pm 0,53$ - $226,92 \pm 0,12$ k/g protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $190,66 \pm 0,08$ - $236,74 \pm 0,23$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.29, Şekil 4.32).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarının karaciğer dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $236,29 \pm 0,42$ - $270,78 \pm 0,35$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $241,17 \pm 0,61$ k/g protein ile 21. günde $276,77 \pm 0,54$ k/g protein arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $256,06 \pm 0,24$ - $284,81 \pm 4,29$ k/g protein olduğu belirlendi (Tablo 4.29, Şekil 4.32).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesi değerleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.29, Şekil 4.32).

Tablo 4.29. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	220,83 $\pm$ 2,10 ^{a; E}	221,51 $\pm$ 0,43 ^{a; D}	223,91 $\pm$ 0,14 ^{b; C}	228,12 $\pm$ 0,23 ^{c; C}
PK	166,39 $\pm$ 1,81 ^{d; A}	156,21 $\pm$ 0,27 ^{c; A}	145,98 $\pm$ 0,14 ^{b; A}	140,08 $\pm$ 0,90 ^{a; A}
DP1	195,07 $\pm$ 0,19 ^{a; D}	200,39 $\pm$ 0,76 ^{b; B}	211,72 $\pm$ 0,67 ^{c; B}	212,79 $\pm$ 0,49 ^{d; B}
DP2	193,68 $\pm$ 0,53 ^{a; C}	214,00 $\pm$ 0,15 ^{b; C}	225,10 $\pm$ 0,54 ^{c; D}	226,92 $\pm$ 0,12 ^{d; C}
DP3	190,66 $\pm$ 0,08 ^{a; B}	228,08 $\pm$ 0,13 ^{b; E}	231,74 $\pm$ 0,56 ^{c; E}	236,74 $\pm$ 0,23 ^{d; D}
D1	236,29 $\pm$ 0,42 ^{a; F}	245,22 $\pm$ 0,18 ^{b; F}	263,07 $\pm$ 0,21 ^{c; G}	270,78 $\pm$ 0,35 ^{d; E}
D2	241,17 $\pm$ 0,61 ^{a; G}	256,31 $\pm$ 0,37 ^{b; G}	260,94 $\pm$ 0,55 ^{c; F}	276,77 $\pm$ 0,54 ^{d; F}
D3	256,06 $\pm$ 0,24 ^{a; H}	267,96 $\pm$ 0,17 ^{b; H}	268,46 $\pm$ 0,85 ^{b; H}	284,81 $\pm$ 4,29 ^{c; G}



Şekil 4.32. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca karaciğer dokusunda katalaz aktivitesi $159,40 \pm 1,28$ k/g protein ile $163,19 \pm 0,42$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $162,75 \pm 0,60$ k/g protein ile $165,18 \pm 0,43$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $79,03 \pm 0,79$ k/g protein ile $125,73 \pm 0,60$ k/g protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.30, Şekil 4.33).

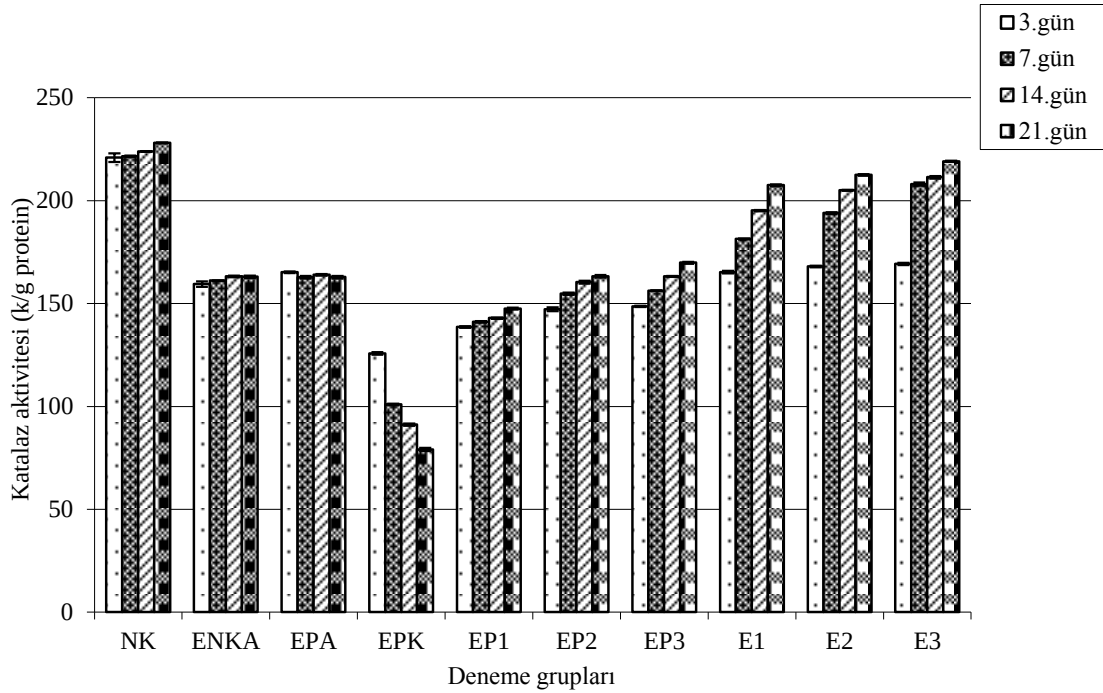
Karaciğer dokusunda katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $138,59 \pm 0,38$ - $147,51 \pm 0,46$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $147,20 \pm 0,87$ - $163,24 \pm 0,57$ k/g protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $148,60 \pm 0,36$ - $169,80 \pm 0,47$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.30, Şekil 4.33).

Karaciğer dokusunda katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $165,22 \pm 0,64$ - $207,46 \pm 0,48$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $168,01 \pm 0,44$ - $212,50 \pm 0,33$ k/g protein arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $169,25 \pm 0,58$ - $219,08 \pm 0,30$ k/g protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.30, Şekil 4.33).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların karaciğer dokusunda katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.30, Şekil 4.33).

Tablo 4.30. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	220,83 $\pm$ 2,10 ^{a; I}	221,51 $\pm$ 0,43 ^{a; J}	223,91 $\pm$ 0,14 ^{b; I}	228,12 $\pm$ 0,23 ^{c; H}
ENKA	159,40 $\pm$ 1,28 ^{a; E}	161,11 $\pm$ 0,15 ^{b; E}	163,19 $\pm$ 0,42 ^{c; D}	162,94 $\pm$ 0,67 ^{c; C}
EPA	165,18 $\pm$ 0,43 ^{c; F}	162,75 $\pm$ 0,60 ^{a; F}	163,90 $\pm$ 0,39 ^{b; E}	162,84 $\pm$ 0,62 ^{a; C}
EPK	125,73 $\pm$ 0,60 ^{d; A}	100,98 $\pm$ 0,40 ^{c; A}	91,09 $\pm$ 0,580 ^{b; A}	79,03 $\pm$ 0,79 ^{a; A}
EP1	138,59 $\pm$ 0,38 ^{a; B}	141,10 $\pm$ 0,43 ^{b; B}	142,92 $\pm$ 0,32 ^{c; B}	147,51 $\pm$ 0,46 ^{d; B}
EP2	147,20 $\pm$ 0,87 ^{a; C}	154,82 $\pm$ 0,56 ^{b; C}	160,39 $\pm$ 0,66 ^{c; C}	163,24 $\pm$ 0,57 ^{d; C}
EP3	148,60 $\pm$ 0,36 ^{a; D}	156,23 $\pm$ 0,11 ^{b; D}	163,16 $\pm$ 0,26 ^{c; D}	169,80 $\pm$ 0,47 ^{d; D}
E1	165,22 $\pm$ 0,64 ^{a; F}	181,36 $\pm$ 0,26 ^{b; F}	195,14 $\pm$ 0,34 ^{c; F}	207,46 $\pm$ 0,48 ^{d; E}
E2	168,01 $\pm$ 0,44 ^{a; G}	193,92 $\pm$ 0,46 ^{b; G}	205,02 $\pm$ 0,17 ^{c; G}	212,50 $\pm$ 0,33 ^{d; F}
E3	169,25 $\pm$ 0,58 ^{a; H}	208,04 $\pm$ 0,76 ^{b; H}	211,33 $\pm$ 0,66 ^{c; H}	219,08 $\pm$ 0,30 ^{d; G}



Şekil 4.33. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokusunda katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca böbrek dokusundaki katalaz aktivitesi $51,08 \pm 0,65$ k/g protein ile $53,41 \pm 0,56$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $27,96 \pm 0,99$ k/g protein ile $35,40 \pm 1,39$ k/g protein olarak belirlendi (Tablo 4.31, Şekil 4.34).

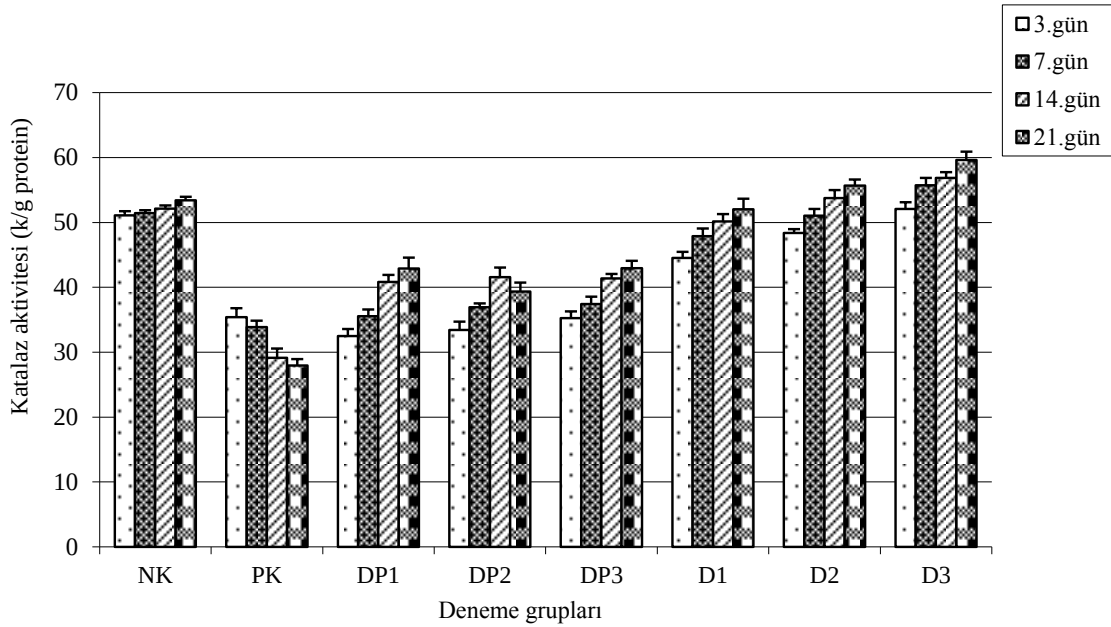
Balıkların böbrek dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $32,49 \pm 1,09$ - $42,92 \pm 1,66$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $33,45 \pm 1,26$ k/g - $39,33 \pm 1,41$ k/g protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $35,24 \pm 1,07$ - $42,95 \pm 1,13$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.31, Şekil 4.34).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında böbrek dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $44,52 \pm 0,93$ - $52,04 \pm 1,60$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $48,37 \pm 0,60$ - $55,70 \pm 0,91$ k/g protein arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $52,10 \pm 1,03$ - $59,61 \pm 1,29$ k/g protein olduğu belirlendi (Tablo 4.31, Şekil 4.34).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların böbrek dokusundaki katalaz aktivitesi değerleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.31, Şekil 4.34).

Tablo 4.31. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	51,08 $\pm$ 0,65 ^{a; E}	51,43 $\pm$ 0,48 ^{a, b; E}	52,13 $\pm$ 0,47 ^{b; D}	53,41 $\pm$ 0,56 ^{c; D}
PK	35,40 $\pm$ 1,39 ^{b; B}	33,90 $\pm$ 0,97 ^{b; A}	29,15 $\pm$ 1,42 ^{a; A}	27,96 $\pm$ 0,99 ^{a; A}
DP1	32,49 $\pm$ 1,09 ^{a; A}	35,54 $\pm$ 1,02 ^{b; B}	40,84 $\pm$ 1,08 ^{c; B}	42,92 $\pm$ 1,66 ^{d; C}
DP2	33,45 $\pm$ 1,26 ^{a; A}	36,94 $\pm$ 0,59 ^{b; C}	41,59 $\pm$ 1,46 ^{d; B}	39,33 $\pm$ 1,41 ^{c; B}
DP3	35,24 $\pm$ 1,07 ^{a; B}	37,41 $\pm$ 1,14 ^{b; C}	41,39 $\pm$ 0,68 ^{c; B}	42,95 $\pm$ 1,13 ^{d; C}
D1	44,52 $\pm$ 0,93 ^{a; C}	47,87 $\pm$ 1,18 ^{b; D}	50,15 $\pm$ 1,15 ^{c; C}	52,04 $\pm$ 1,60 ^{d; D}
D2	48,37 $\pm$ 0,60 ^{a; D}	51,04 $\pm$ 1,02 ^{b; E}	53,78 $\pm$ 1,21 ^{c; E}	55,70 $\pm$ 0,91 ^{d; E}
D3	52,10 $\pm$ 1,03 ^{a; E}	55,73 $\pm$ 1,13 ^{b; F}	56,88 $\pm$ 0,88 ^{b; F}	59,61 $\pm$ 1,29 ^{c; F}



Şekil 4.34. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokusunda katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca böbrek dokusunda katalaz aktivitesi $35,31 \pm 0,93$ k/g protein ile $37,40 \pm 0,78$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $26,98 \pm 0,51$ k/g protein ile $33,43 \pm 0,75$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $21,95 \pm 0,71$ k/g protein ile $28,63 \pm 0,69$ k/g protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.32, Şekil 4.35).

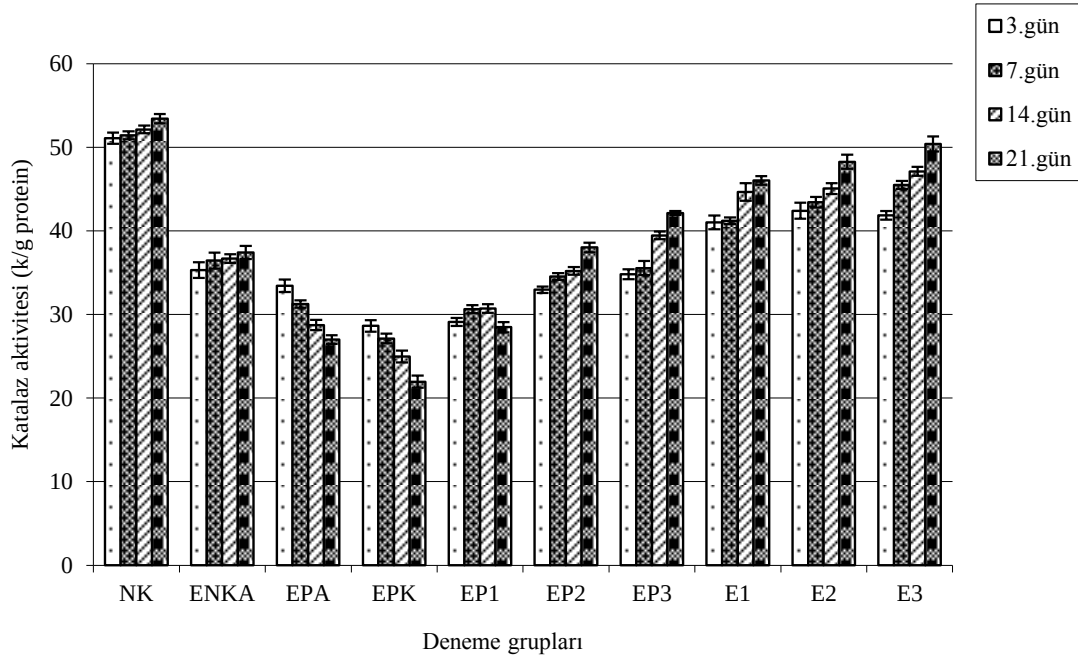
Böbrek dokusunda katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $29,11 \pm 0,47$ - $28,48 \pm 0,61$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $32,95 \pm 0,38$ - $38,01 \pm 0,58$ k/g protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $34,80 \pm 0,59$ - $42,13 \pm 0,23$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.32, Şekil 4.35).

Böbrek dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $41,01 \pm 0,82$ - $46,03 \pm 0,49$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $42,39 \pm 0,95$ - $48,26 \pm 0,82$ k/g protein arasında olduğu, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $41,84 \pm 0,52$ - $50,39 \pm 0,90$ k/g protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.32, Şekil 4.35).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların böbrek dokusunda katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.32, Şekil 4.35).

Tablo 4.32. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	51,08 $\pm$ 0,65 ^{a; F}	51,43 $\pm$ 0,48 ^{a; b; I}	52,13 $\pm$ 0,47 ^{b; I}	53,41 $\pm$ 0,56 ^{c; I}
ENKA	35,31 $\pm$ 0,93 ^{a; C}	36,44 $\pm$ 0,96 ^{b; E}	36,68 $\pm$ 0,50 ^{b; E}	37,40 $\pm$ 0,78 ^{b; D}
EPA	33,43 $\pm$ 0,75 ^{d; B}	31,25 $\pm$ 0,45 ^{c; B}	28,72 $\pm$ 0,60 ^{b; B}	26,98 $\pm$ 0,51 ^{a; B}
EPK	28,63 $\pm$ 0,69 ^{d; A}	27,12 $\pm$ 0,56 ^{c; A}	24,97 $\pm$ 0,69 ^{b; A}	21,95 $\pm$ 0,71 ^{a; A}
EP1	29,11 $\pm$ 0,47 ^{a; A}	30,64 $\pm$ 0,49 ^{b; B}	30,71 $\pm$ 0,50 ^{b; C}	28,48 $\pm$ 0,61 ^{a; C}
EP2	32,95 $\pm$ 0,38 ^{a; B}	34,55 $\pm$ 0,40 ^{b; C}	35,19 $\pm$ 0,46 ^{c; D}	38,01 $\pm$ 0,58 ^{d; D}
EP3	34,80 $\pm$ 0,59 ^{a; C}	35,54 $\pm$ 0,84 ^{a; D}	39,45 $\pm$ 0,46 ^{b; F}	42,13 $\pm$ 0,23 ^{c; E}
E1	41,01 $\pm$ 0,82 ^{a; D}	41,20 $\pm$ 0,40 ^{a; F}	44,64 $\pm$ 1,05 ^{b; G}	46,03 $\pm$ 0,49 ^{c; F}
E2	42,39 $\pm$ 0,95 ^{a; E}	43,41 $\pm$ 0,62 ^{a; G}	45,05 $\pm$ 0,65 ^{b; G}	48,26 $\pm$ 0,82 ^{c; G}
E3	41,84 $\pm$ 0,52 ^{a; D, E}	45,49 $\pm$ 0,48 ^{b; H}	47,11 $\pm$ 0,54 ^{c; H}	50,39 $\pm$ 0,90 ^{d; H}



Şekil 4.35. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokusundaki katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca dalak dokusundaki katalaz aktivitesi $26,04 \pm 0,61$ k/g protein ile $27,37 \pm 0,64$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $8,02 \pm 0,35$ k/g protein ile $11,72 \pm 0,56$ k/g protein olarak belirlendi (Tablo 4.33, Şekil 4.36).

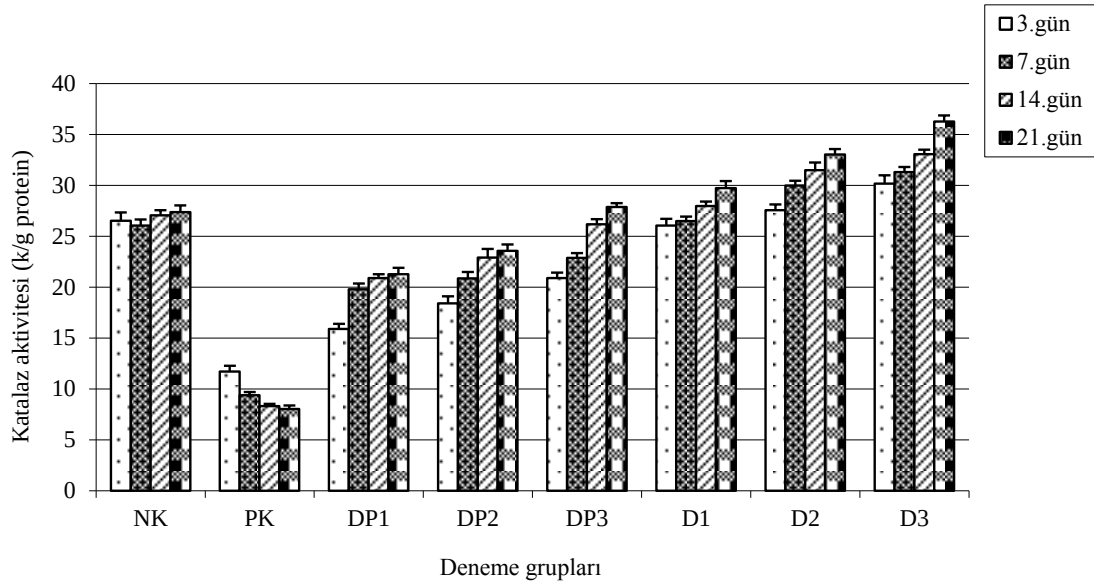
Balıkların dalak dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $15,88 \pm 0,52$ - $21,27 \pm 0,62$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarda $18,4 \pm 0,68$ - $23,55 \pm 0,63$ k/g protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $20,88 \pm 0,54$ - $27,86 \pm 0,39$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.33, Şekil 4.36).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında dalak dokusundaki katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $26,04 \pm 0,67$ - $29,71 \pm 0,70$ k/g protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $27,54 \pm 0,56$ - $33,03 \pm 0,52$ k/g protein arasında olduğu, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $30,14 \pm 0,82$ - $36,26 \pm 0,60$ k/g protein olduğu belirlendi (Tablo 4.33, Şekil 4.36).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların dalak dokusundaki katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.33, Şekil 4.36).

Tablo 4.33. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	26,52 $\pm$ 0,80 ^{a, b; E}	26,04 $\pm$ 0,61 ^{a; E}	27,04 $\pm$ 0,50 ^{b; E}	27,37 $\pm$ 0,64 ^{b; D}
PK	11,72 $\pm$ 0,56 ^{c; A}	9,38 $\pm$ 0,32 ^{b; A}	8,29 $\pm$ 0,23 ^{a; A}	8,02 $\pm$ 0,35 ^{a; A}
DP1	15,88 $\pm$ 0,52 ^{a; B}	19,8 $\pm$ 0,54 ^{b; B}	20,88 $\pm$ 0,37 ^{c; B}	21,27 $\pm$ 0,62 ^{c; B}
DP2	18,4 $\pm$ 0,68 ^{a; C}	20,84 $\pm$ 0,64 ^{b; C}	22,91 $\pm$ 0,84 ^{c; C}	23,55 $\pm$ 0,63 ^{c; C}
DP3	20,88 $\pm$ 0,54 ^{a; D}	22,87 $\pm$ 0,46 ^{b; D}	26,16 $\pm$ 0,51 ^{c; D}	27,86 $\pm$ 0,39 ^{d; D}
D1	26,04 $\pm$ 0,67 ^{a; E}	26,48 $\pm$ 0,45 ^{a; E}	27,95 $\pm$ 0,45 ^{b; F}	29,71 $\pm$ 0,70 ^{c; E}
D2	27,54 $\pm$ 0,56 ^{a; F}	29,98 $\pm$ 0,46 ^{b; F}	31,48 $\pm$ 0,75 ^{c; G}	33,03 $\pm$ 0,52 ^{d; F}
D3	30,14 $\pm$ 0,82 ^{a; G}	31,29 $\pm$ 0,51 ^{b; G}	33,05 $\pm$ 0,44 ^{c; H}	36,26 $\pm$ 0,60 ^{d; G}



Şekil 4.36. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokusundaki katalaz aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca balıkların dalak dokusunda katalaz aktivitesi $29,44 \pm 0,74$ k/g protein ile $36,36 \pm 0,33$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarda $29,96 \pm 0,63$ k/g protein ile $34,13 \pm 0,32$ k/g protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $8,76 \pm 0,19$ k/g protein ile $12,88 \pm 0,62$ k/g protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.34, Şekil 4.37).

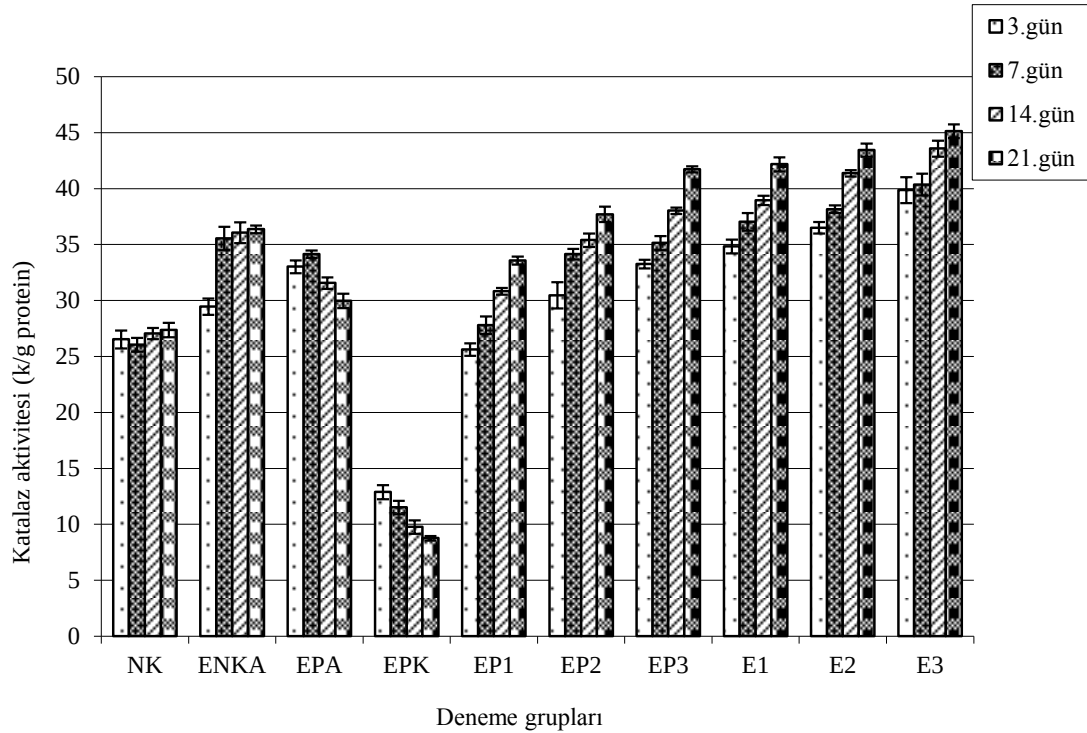
Dalak dokusunda katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $25,60 \pm 0,55$ - $33,56 \pm 0,34$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $30,45 \pm 1,17$ - $37,68 \pm 0,68$ k/g protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $33,24 \pm 0,38$ - $41,71 \pm 0,26$ k/g protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.34, Şekil 4.37).

Dalak dokusunda katalaz aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $34,82 \pm 0,62$ - $42,16 \pm 0,63$ k/g protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $36,49 \pm 0,52$ - $43,42 \pm 0,59$ k/g protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $39,85 \pm 1,15$ - $45,13 \pm 0,61$ k/g protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.34, Şekil 4.37).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların dalak dokusunda katalaz aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.34, Şekil 4.37).

Tablo 4.34. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (k/g protein, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	26,52 $\pm$ 0,80 ^{a,b; B}	26,04 $\pm$ 0,61 ^{a; B}	27,04 $\pm$ 0,50 ^{b; B}	27,37 $\pm$ 0,64 ^{b; B}
ENKA	29,44 $\pm$ 0,74 ^{a; C}	35,54 $\pm$ 1,04 ^{b; E}	36,04 $\pm$ 0,90 ^{b; E}	36,36 $\pm$ 0,33 ^{b; E}
EPA	33,02 $\pm$ 0,57 ^{c; E}	34,13 $\pm$ 0,32 ^{d; D}	31,55 $\pm$ 0,51 ^{b; D}	29,96 $\pm$ 0,63 ^{a; C}
EPK	12,88 $\pm$ 0,62 ^{d; A}	11,50 $\pm$ 0,59 ^{c; A}	9,76 $\pm$ 0,60 ^{b; C}	8,76 $\pm$ 0,19 ^{a; A}
EP1	25,60 $\pm$ 0,55 ^{a; B}	27,79 $\pm$ 0,78 ^{b; C}	30,82 $\pm$ 0,30 ^{c; E}	33,56 $\pm$ 0,34 ^{d; D}
EP2	30,45 $\pm$ 1,17 ^{a; D}	34,14 $\pm$ 0,47 ^{b; D}	35,38 $\pm$ 0,60 ^{c; E}	37,68 $\pm$ 0,68 ^{d; F}
EP3	33,24 $\pm$ 0,38 ^{a; E}	35,12 $\pm$ 0,61 ^{b; E}	38,01 $\pm$ 0,28 ^{c; F}	41,71 $\pm$ 0,26 ^{d; G}
E1	34,82 $\pm$ 0,62 ^{a; F}	37,03 $\pm$ 0,78 ^{b; F}	38,93 $\pm$ 0,41 ^{c; G}	42,16 $\pm$ 0,63 ^{d; G}
E2	36,49 $\pm$ 0,52 ^{a; G}	38,15 $\pm$ 0,35 ^{b; G}	41,37 $\pm$ 0,28 ^{c; H}	43,42 $\pm$ 0,59 ^{d; H}
E3	39,85 $\pm$ 1,15 ^{a; H}	40,35 $\pm$ 0,96 ^{a; H}	43,56 $\pm$ 0,70 ^{b; I}	45,13 $\pm$ 0,61 ^{c; I}



Şekil 4.37. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki katalaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

4.11. Dokuda Glutatyon-S transferaz (GST) Aktivitesi

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokularındaki GST enzim aktivitesi düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca karaciğer dokusundaki GST aktivitesi $2,68 \pm 0,04$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $3,16 \pm 0,12$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $2,86 \pm 0,07$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $3,31 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein olarak belirlendi (Tablo 4.35, Şekil 4.38).

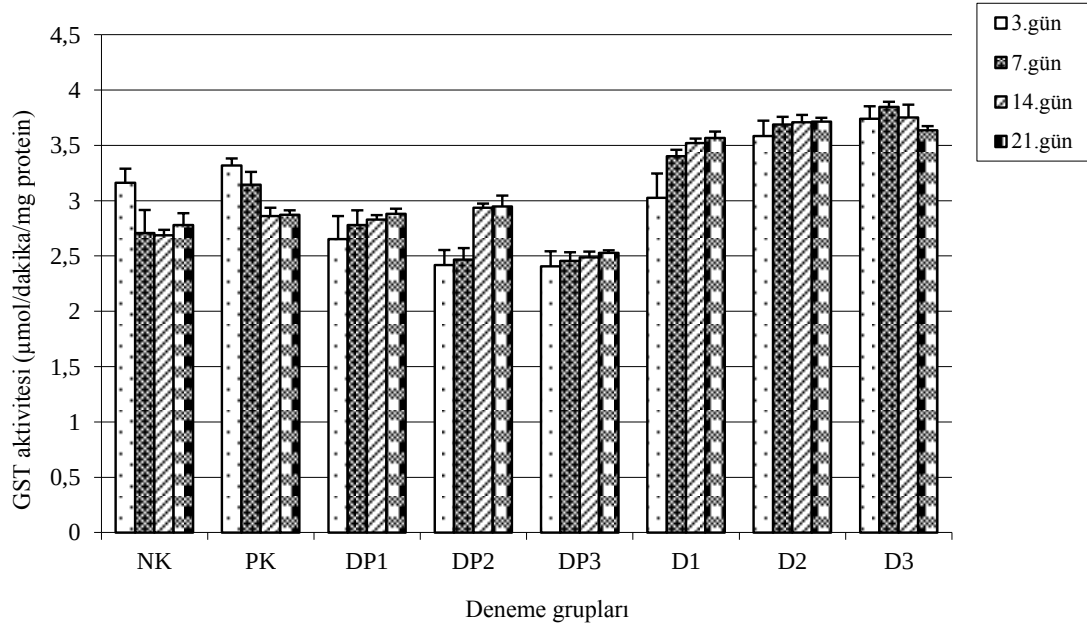
Karaciğer dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $2,65 \pm 0,20$ - $2,88 \pm 0,04$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $2,41 \pm 0,13$ - $2,94 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $2,40 \pm 0,13$ - $2,52 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.35, Şekil 4.38).

200 mg/kg yem oranında spirulina katılan deney grubu balıklarında karaciğer dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $3,02 \pm 0,21$ - $3,56 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $3,58 \pm 0,13$ - $3,71 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $3,74 \pm 0,11$ - $3,63 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein olduğu belirlendi (Tablo 4.35, Şekil 4.38).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların karaciğer dokusundaki GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.35, Şekil 4.38).

Tablo 4.35. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$3,16 \pm 0,12^{b; D, C}$	$2,70 \pm 0,20^{a; B}$	$2,68 \pm 0,04^{a; B}$	$2,78 \pm 0,10^{a; B}$
PK	$3,31 \pm 0,06^{c; D}$	$3,14 \pm 0,11^{b; C}$	$2,86 \pm 0,07^{a; C, D}$	$2,87 \pm 0,03^{a; C}$
DP1	$2,65 \pm 0,20^{a; B}$	$2,78 \pm 0,13^{a, b; B}$	$2,83 \pm 0,04^{a, b; C}$	$2,88 \pm 0,04^{b; C}$
DP2	$2,41 \pm 0,13^{a; A}$	$2,46 \pm 0,10^{a; A}$	$2,93 \pm 0,03^{b; D}$	$2,94 \pm 0,09^{b; C}$
DP3	$2,40 \pm 0,13^{a; A}$	$2,45 \pm 0,07^{a; A}$	$2,48 \pm 0,05^{a; A}$	$2,52 \pm 0,02^{a; A}$
D1	$3,02 \pm 0,21^{a; C}$	$3,40 \pm 0,05^{b; D}$	$3,52 \pm 0,04^{b; E}$	$3,56 \pm 0,05^{b; D}$
D2	$3,58 \pm 0,13^{a; E}$	$3,69 \pm 0,06^{a, b; E}$	$3,71 \pm 0,06^{b; F}$	$3,71 \pm 0,03^{b; E}$
D3	$3,74 \pm 0,11^{a, b; E}$	$3,85 \pm 0,04^{b; F}$	$3,75 \pm 0,11^{a, b; F}$	$3,63 \pm 0,03^{a; D, E}$



Şekil 4.38. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtetal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca karaciğer dokusunda GST aktiviteleri $2,43 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $2,72 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $2,61 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $2,70 \pm 0,04$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $2,80 \pm 0,04$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $2,95 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.36, Şekil 4.39).

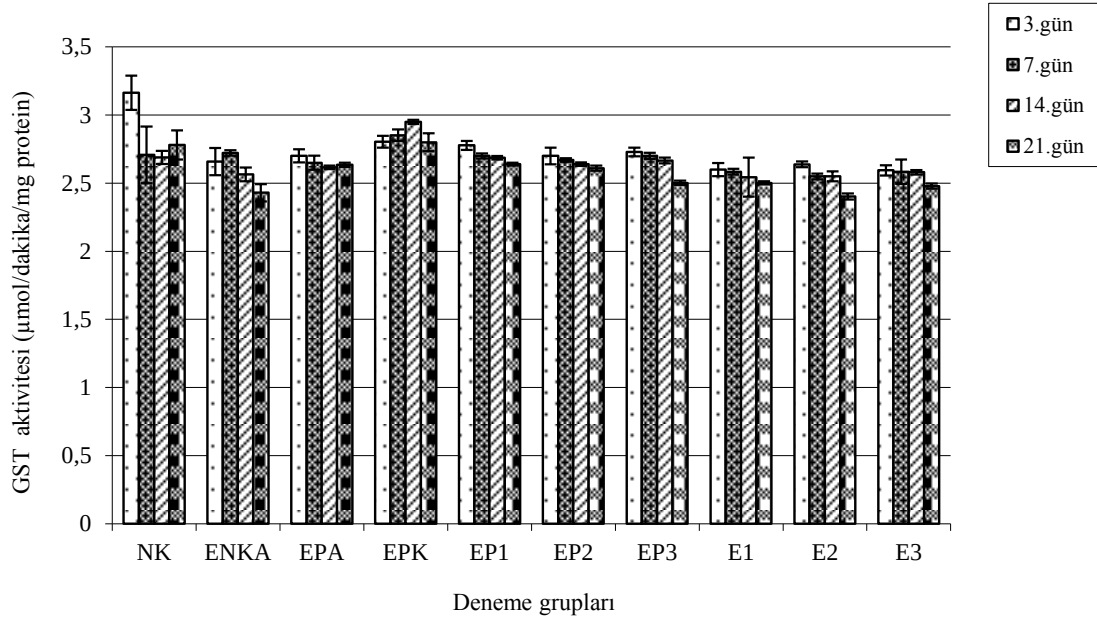
Karaciğer dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $2,77 \pm 0,03$ - $2,64 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $2,70 \pm 0,06$ - $2,61 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $2,73 \pm 0,03$ - $2,50 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.36, Şekil 4.39).

karaciğer dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $2,60 \pm 0,04$ - $2,50 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $2,63 \pm 0,02$ - $2,40 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $2,59 \pm 0,03$ - $2,47 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.36, Şekil 4.39).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların karaciğer dokusunda GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.36, Şekil 4.39).

Tablo 4.36. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$3,16 \pm 0,12^{b; F}$	$2,70 \pm 0,20^{a; C}$	$2,68 \pm 0,04^{a; C}$	$2,78 \pm 0,10^{a; E}$
ENKA	$2,65 \pm 0,09^{c; A,B,C}$	$2,72 \pm 0,01^{c; C}$	$2,56 \pm 0,05^{b; A}$	$2,43 \pm 0,06^{a; A,B}$
EPA	$2,70 \pm 0,04^{b; B,C,D}$	$2,65 \pm 0,05^{a; A,B,C}$	$2,61 \pm 0,01^{a; A,B,C}$	$2,63 \pm 0,01^{a; D}$
EPK	$2,80 \pm 0,04^{a; E}$	$2,85 \pm 0,04^{a; D}$	$2,95 \pm 0,01^{b; D}$	$2,80 \pm 0,06^{a; E}$
EP1	$2,77 \pm 0,03^{c; D,E}$	$2,70 \pm 0,01^{b; C}$	$2,68 \pm 0,01^{b; C}$	$2,64 \pm 0,01^{a; D}$
EP2	$2,70 \pm 0,06^{c; B,C,D}$	$2,67 \pm 0,01^{b,c; B,C}$	$2,64 \pm 0,01^{a,b; B,C}$	$2,61 \pm 0,01^{a; D}$
EP3	$2,73 \pm 0,03^{c; C,D,E}$	$2,70 \pm 0,02^{c; C}$	$2,66 \pm 0,02^{b; C}$	$2,50 \pm 0,01^{a; C}$
E1	$2,60 \pm 0,04^{a; A}$	$2,58 \pm 0,02^{a; A,B}$	$2,54 \pm 0,14^{a; A}$	$2,50 \pm 0,01^{a; C}$
E2	$2,63 \pm 0,02^{c; A,B}$	$2,55 \pm 0,02^{b; A}$	$2,55 \pm 0,03^{b; A}$	$2,40 \pm 0,02^{a; A}$
E3	$2,59 \pm 0,03^{b; A}$	$2,58 \pm 0,08^{b; A,B}$	$2,58 \pm 0,01^{b; A,B}$	$2,47 \pm 0,01^{a; B,C}$



Şekil 4.39. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının karaciğer dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokularındaki GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca böbrek dokusundaki spesifik GST enzim aktivitesi $1,51 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $1,91 \pm 0,15$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarda ise $2,06 \pm 0,08$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $2,13 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein olarak belirlendi (Tablo 4.37, Şekil 4.40).

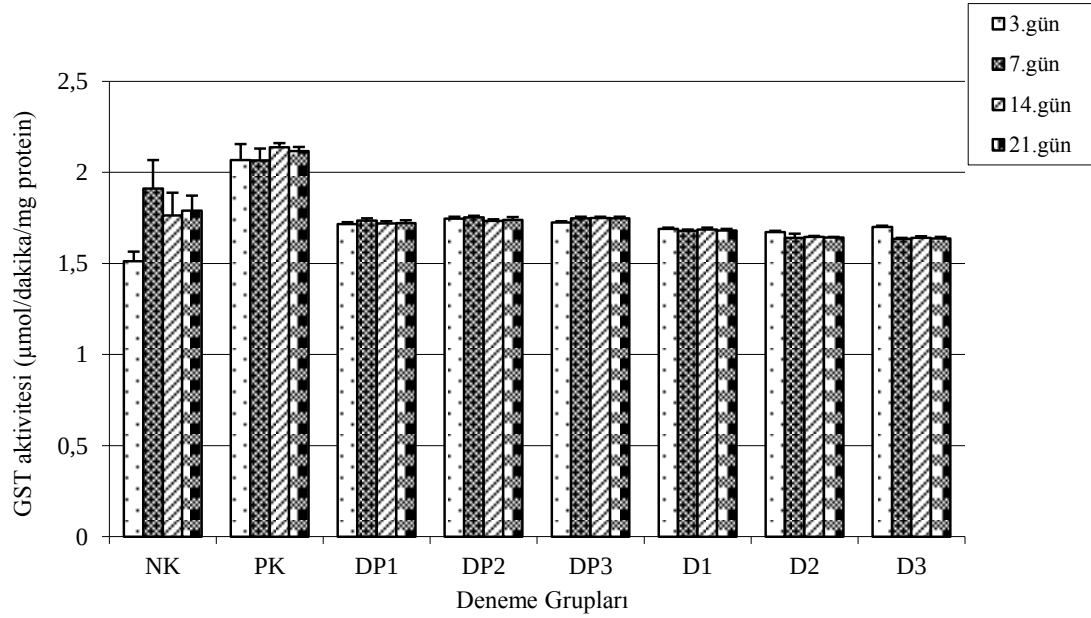
Böbrek dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $1,71 \pm 0,01$ - $1,72 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $1,74 \pm 0,01$ - $1,74 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $1,72 \pm 0,005$ - $1,74 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.37, Şekil 4.40).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında böbrek dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $1,69 \pm 0,007$ - $1,68 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $1,67 \pm 0,008$ - $1,64 \pm 0,004$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında ise $1,7 \pm 0,007$ - $1,63 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.37, Şekil 4.40).

Kontrol grubu balıklar ile farklı dozlarda spirulina içeren yemlerle beslenen balıkların böbrek dokusundaki GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.37. Şekil 4.40).

Tablo 4.37. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **•** a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **•** A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$1,51 \pm 0,05^a; A$	$1,91 \pm 0,15^b; C$	$1,76 \pm 0,12^b; C$	$1,79 \pm 0,08^b; E$
PK	$2,06 \pm 0,08^a; E$	$2,06 \pm 0,06^a; D$	$2,13 \pm 0,02^a; D$	$2,11 \pm 0,02^a; F$
DP1	$1,71 \pm 0,01^a; B, C, D$	$1,73 \pm 0,01^b; B$	$1,72 \pm 0,01^a; b; B, C$	$1,72 \pm 0,01^a; b; C, D$
DP2	$1,74 \pm 0,01^a; b; D$	$1,75 \pm 0,008^b; B$	$1,73 \pm 0,008^a; B, C$	$1,74 \pm 0,01^a; b; D$
DP3	$1,72 \pm 0,005^a; c; D$	$1,74 \pm 0,008^b; B$	$1,75 \pm 0,007^b; B, C$	$1,74 \pm 0,008^b; D$
D1	$1,69 \pm 0,007^a; B$	$1,68 \pm 0,007^a; A$	$1,68 \pm 0,01^a; A$	$1,68 \pm 0,008^a; B$
D2	$1,67 \pm 0,008^b; B$	$1,64 \pm 0,02^a; A$	$1,64 \pm 0,005^a; A$	$1,64 \pm 0,004^a; A, B$
D3	$1,7 \pm 0,007^b; B, C, D$	$1,63 \pm 0,005^a; A$	$1,64 \pm 0,01^a; A$	$1,63 \pm 0,008^a; A$



Şekil 4.40. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların böbrek dokusunda GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca böbrek dokusunda GST aktivitesi $1,93 \pm 0,37$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $1,93 \pm 0,37$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $1,86 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $1,98 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $1,97 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $2,04 \pm 0,07$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.38, Şekil 4.41).

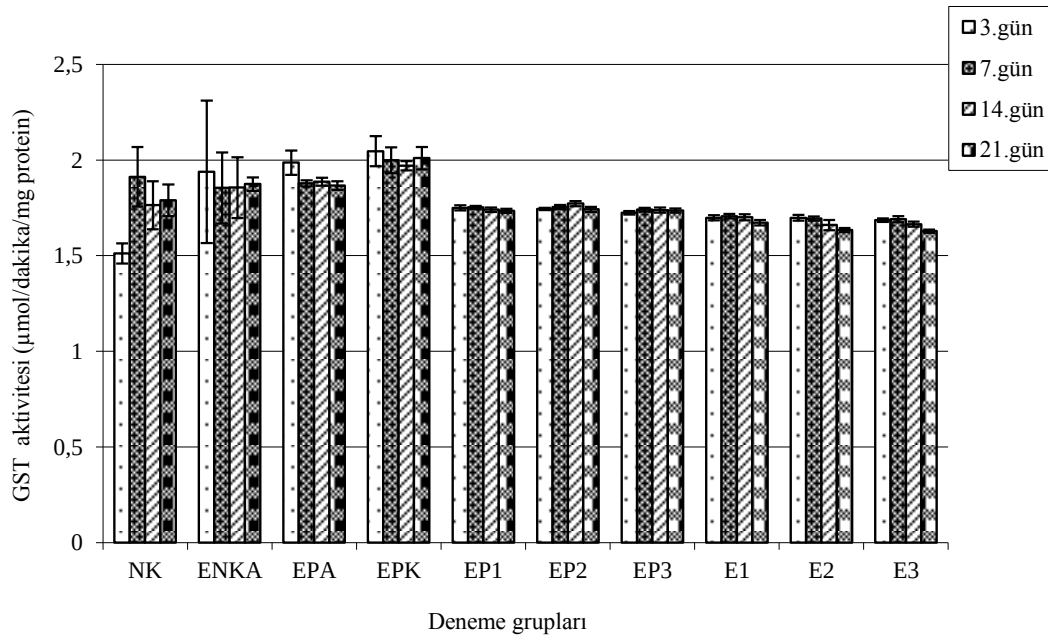
Böbrek dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $1,75 \pm 0,01$ - $1,73 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $1,74 \pm 0,005$ - $1,74 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $1,72 \pm 0,008$ - $1,73 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.38, Şekil 4.41).

Böbrek dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $1,69 \pm 0,01$ - $1,67 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarda $1,69 \pm 0,01$ - $1,63 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $1,68 \pm 0,008$ - $1,62 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.38, Şekil 4.41).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların böbrek dokusunda GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.38, Şekil 4.41).

Tablo 4.38. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$1,51 \pm 0,05^a; A$	$1,91 \pm 0,15^b; C,D$	$1,76 \pm 0,12^b; B$	$1,79 \pm 0,08^b; C$
ENKA	$1,93 \pm 0,37^a; C$	$1,85 \pm 0,18^a; B,C$	$1,85 \pm 0,15^a; C,D$	$1,87 \pm 0,03^a; D$
EPA	$1,98 \pm 0,06^b; C$	$1,87 \pm 0,01^a; C$	$1,88 \pm 0,02^a; D,E$	$1,86 \pm 0,02^a; D$
EPK	$2,04 \pm 0,07^a; C$	$1,99 \pm 0,06^a; D$	$1,97 \pm 0,02^a; E$	$2,01 \pm 0,05^a; E$
EP1	$1,75 \pm 0,01^{a,b; B}$	$1,75 \pm 0,008^b; A,B$	$1,74 \pm 0,01^{a,b; A,B}$	$1,73 \pm 0,01^a; B$
EP2	$1,74 \pm 0,005^a; B$	$1,75 \pm 0,01^a; A,B$	$1,77 \pm 0,01^b; B,C$	$1,74 \pm 0,01^a; B$
EP3	$1,72 \pm 0,008^a; B$	$1,74 \pm 0,01^b; A$	$1,73 \pm 0,01^{a,b; A,B}$	$1,73 \pm 0,01^{a,b; B}$
E1	$1,69 \pm 0,01^b; B$	$1,70 \pm 0,01^b; A$	$1,70 \pm 0,01^b; A,B$	$1,67 \pm 0,01^a; A$
E2	$1,69 \pm 0,01^c; B$	$1,69 \pm 0,01^c; A$	$1,66 \pm 0,02^b; A$	$1,63 \pm 0,01^a; A$
E3	$1,68 \pm 0,008^c; B$	$1,69 \pm 0,01^c; A$	$1,66 \pm 0,01^b; A$	$1,62 \pm 0,008^a; A$



Şekil 4.41. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının böbrek dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

Farklı dozlarda spirulina içeren yemlerin oral yolla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokularındaki GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesi $0,83 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $0,85 \pm 0,12$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,89 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $1,19 \pm 0,08$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein olarak belirlendi (Tablo 4.39, Şekil 4.42).

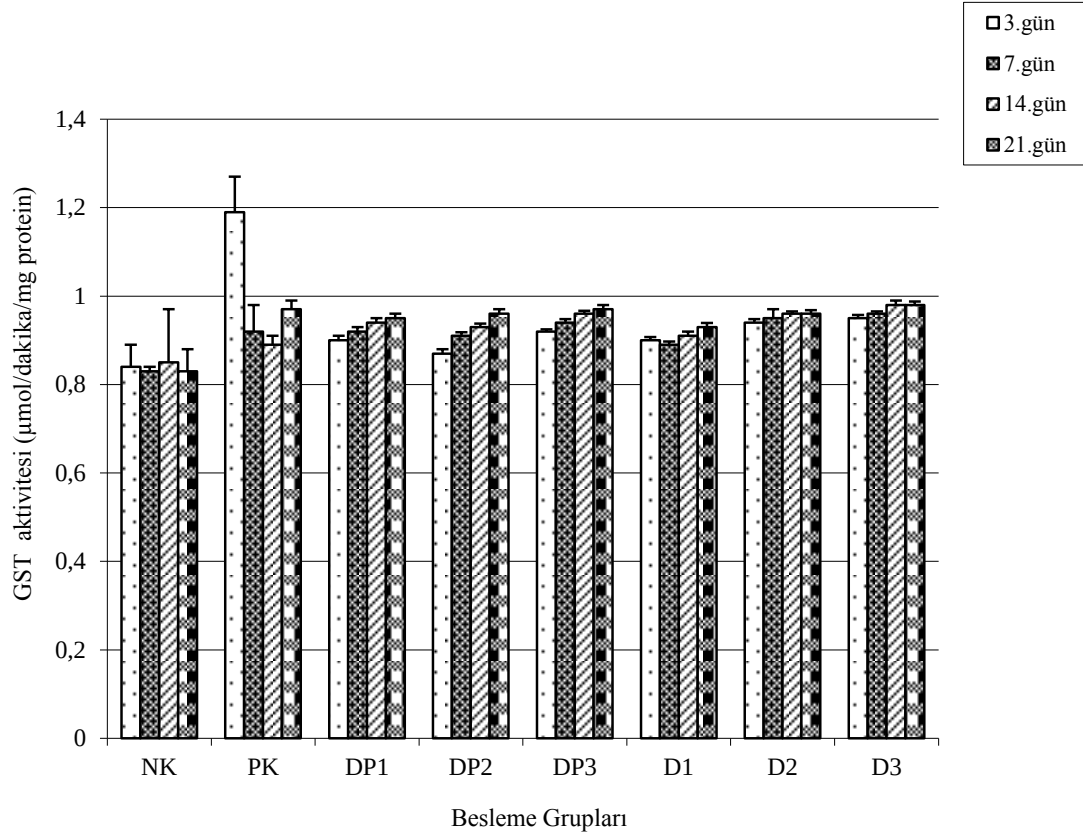
Dalak dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, yemlerine 200 mg/kg yem oranında spirulina katılan ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,90 \pm 0,01$ - $0,95 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,87 \pm 0,01$ - $0,96 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen ve sublethal dozda bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında $0,92 \pm 0,005$ - $0,97 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.39, Şekil 4.42).

200 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında dalak dokusundaki GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde sırasıyla $0,90 \pm 0,007$ - $0,93 \pm 0,009$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarında $0,94 \pm 0,008$ - $0,96 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg yem oranında spirulina verilen deney grubu balıklarda ise $0,95 \pm 0,007$ - $0,98 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein olduğu belirlendi (Tablo 4.39, Şekil 4.42).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların dalak dokusunda GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$, Tablo 4.39, Şekil 4.41).

Tablo 4.39. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata, **• a, b, c, d:** Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). **• A, B, C, D:** Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,84 \pm 0,05^{b;C}$	$0,83 \pm 0,01^{a;A}$	$0,85 \pm 0,12^{a;A}$	$0,83 \pm 0,05^{a;A}$
PK	$1,19 \pm 0,08^{c;D}$	$0,92 \pm 0,06^{a;C,D}$	$0,89 \pm 0,02^{a;B}$	$0,97 \pm 0,02^{b;E,F}$
DP1	$0,90 \pm 0,01^{a;B,C}$	$0,92 \pm 0,01^{a;D}$	$0,94 \pm 0,01^{a;D}$	$0,95 \pm 0,01^{a;C}$
DP2	$0,87 \pm 0,01^{a;A}$	$0,91 \pm 0,008^{b;C}$	$0,93 \pm 0,008^{c;D}$	$0,96 \pm 0,01^{d;C,D}$
DP3	$0,92 \pm 0,005^{a;A,B,C}$	$0,94 \pm 0,008^{c;E}$	$0,96 \pm 0,007^{d;E}$	$0,97 \pm 0,01^{b;B}$
D1	$0,90 \pm 0,007^{a;A,B}$	$0,89 \pm 0,007^{a;B}$	$0,91 \pm 0,01^{b;C}$	$0,93 \pm 0,009^{c;B}$
D2	$0,94 \pm 0,008^{a;A,B,C}$	$0,95 \pm 0,02^{b;E}$	$0,96 \pm 0,005^{c;E}$	$0,96 \pm 0,008^{c;D,E}$
D3	$0,95 \pm 0,007^{a;A,B,C}$	$0,96 \pm 0,005^{a;F}$	$0,98 \pm 0,01^{b;F}$	$0,98 \pm 0,008^{b;F}$



Şekil 4.42. Kontrol gruplarıyla oral yolla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış balıklar); **PK:** Pozitif kontrol (Subtethal dozda bakır sülfat uygulanan kontrol grubu); **DP1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **DP3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen ve bakır sülfat uygulanan deney grubu; **D1:** 200 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D2:** 400 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu; **D3:** 800 mg/ kg yem oranında spirulina verilen deney grubu).

Farklı dozlarda spirulinanın enjeksiyon yoluyla verildiği balıklar ile kontrol grubu ve bakır sülfatın sublethal dozunun banyo şeklinde uygulandığı balıkların dalak dokusunda GST enzim aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Enjeksiyon yoluyla alkol uygulanan negatif kontrol grubu balıklarında çalışma boyunca dalak dokusunda GST aktivitesi $0,84 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $0,86 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan ve alkol enjekte edilen pozitif kontrol grubu balıklarında $0,82 \pm 0,009$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $0,84 \pm 0,007$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında ise $0,95 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein ile $0,99 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği belirlendi (Tablo 4.40, Şekil 4.43).

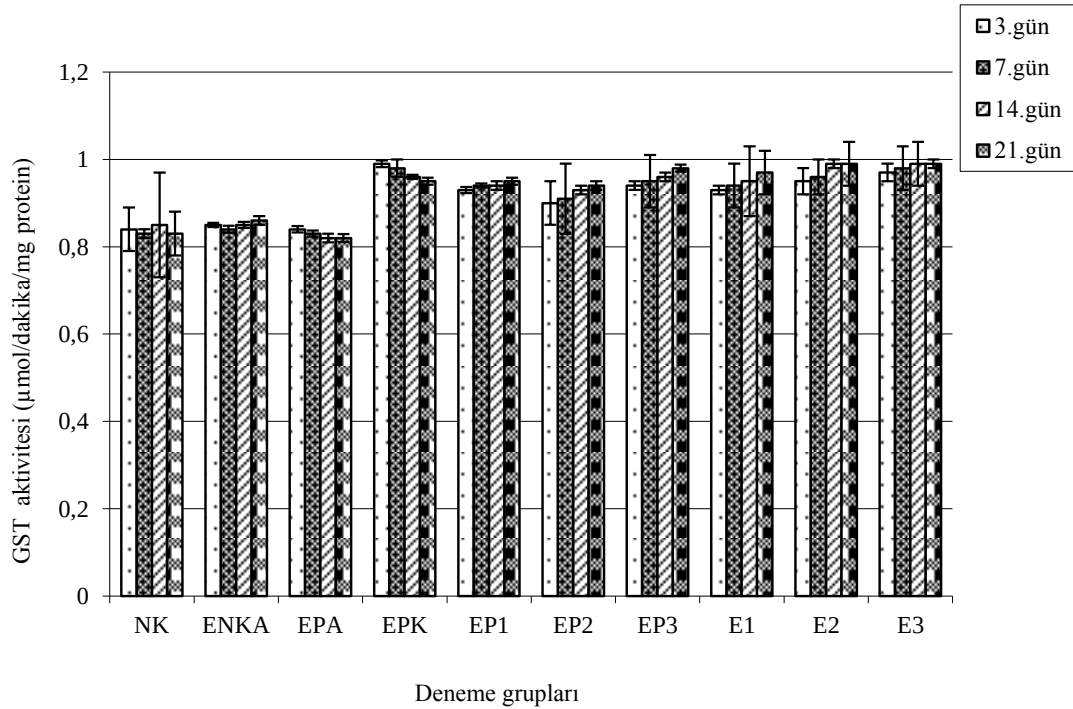
Dalak dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanmış ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında sırasıyla $0,93 \pm 0,007$ - $0,95 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı balıklarda $0,90 \pm 0,05$ - $0,94 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfatın banyo şeklinde uygulandığı deney grubu balıklarında ise $0,94 \pm 0,01$ - $0,98 \pm 0,008$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 4.40, Şekil 4.43).

Dalak dokusunda GST aktiviteleri 3. ve 21. günlerde, enjeksiyon yoluyla 200 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında sırasıyla $0,93 \pm 0,01$ - $0,97 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 400 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında $0,95 \pm 0,03$ - $0,99 \pm 0,05$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein, 800 mg/kg balık oranında spirulina uygulanan deney grubu balıklarında ise $0,97 \pm 0,02$ - $0,99 \pm 0,01$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein arasında olduğu belirlendi (Tablo 4.40, Şekil 4.43).

Kontrol grubu balıklar ile enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulina uygulanmış balıkların dalak dokusunda GST aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu belirlendi. ($p < 0.05$, Tablo 4.40, Şekil 4.43).

Tablo 4.40. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$, $\pm$ S.H.). **a:** 3. gün, **b:** 7. gün, **c:** 14. gün, **d:** 21. gün, **SH:** Standart Hata. • a, b, c, d: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). • A, B, C, D: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Gruplar	3. gün	7. gün	14. gün	21. gün
NK	$0,84 \pm 0,05^{b,D}$	$0,83 \pm 0,01^a; A$	$0,85 \pm 0,12^{a; B}$	$0,83 \pm 0,05^a; A$
ENKA	$0,85 \pm 0,005^a; A$	$0,84 \pm 0,008^{a,b; B}$	$0,85 \pm 0,007^{b; B}$	$0,86 \pm 0,01^c; B$
EPA	$0,84 \pm 0,007^a; A$	$0,83 \pm 0,007^a; A$	$0,82 \pm 0,01^a; A$	$0,82 \pm 0,009^a; A$
EPK	$0,99 \pm 0,008^{b; C,D}$	$0,98 \pm 0,02^{b; G}$	$0,96 \pm 0,005^{a; D}$	$0,95 \pm 0,008^a; C$
EP1	$0,93 \pm 0,007^{a; B,C,D}$	$0,94 \pm 0,005^{a; D,E}$	$0,94 \pm 0,01^a; C$	$0,95 \pm 0,008^{b; C}$
EP2	$0,90 \pm 0,05^{a; B}$	$0,91 \pm 0,08^{b; C}$	$0,93 \pm 0,01^c; C$	$0,94 \pm 0,01^c; C$
EP3	$0,94 \pm 0,01^{a; B,C,D}$	$0,95 \pm 0,06^{b; E}$	$0,96 \pm 0,01^{b; D}$	$0,98 \pm 0,008^c; E$
E1	$0,93 \pm 0,01^{a; B,C}$	$0,94 \pm 0,05^{a,b; D}$	$0,95 \pm 0,08^{b; C}$	$0,97 \pm 0,05^c; D$
E2	$0,95 \pm 0,03^{a; B,C,D}$	$0,96 \pm 0,04^{b; F}$	$0,99 \pm 0,01^c; E$	$0,99 \pm 0,05^c; E$
E3	$0,97 \pm 0,02^{a; C,D}$	$0,98 \pm 0,05^{a,b; G}$	$0,99 \pm 0,05^{b; E}$	$0,99 \pm 0,01^{a,b; E}$



Şekil 4.43. Kontrol gruplarıyla enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan deneme grubu balıklarının dalak dokusundaki spesifik GST aktivitesinin zamana bağlı değişimi (**NK:** Negatif kontrol (Hiçbir şey uygulanmamış kontrol grubu); **ENKA:** Etil alkol uygulanan negatif kontrol grubu; **EPA:** Etil alkol ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EPK:** Etil alkol uygulanmamış ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan pozitif kontrol grubu; **EP1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **EP3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan ve sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılan enjeksiyon grubu; **E1:** 200 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E2:** 400 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu; **E3:** 800 mg/ kg balık oranında spirulina uygulanan enjeksiyon grubu).

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Enfeksiyonlar, patojen mikroorganizmaların belirli bir yoğunluğa ulaşmasıyla açığa çıkmaktadır. Bağışıklık sistemi elemanlarının güçlü bir yapıya ve yoğunluğa sahip olmaları patojen mikroorganizmaların hastalık oluşturma seviyesine geçmelerine izin vermemektedir.

Antibiyotiklere alternatif olarak düşünülen yem katkı maddelerinden bitkisel ekstraktlar, antibiyotikler gibi bir direnç oluşturmaması, uygun miktarda kullanıldıklarında zararsız olmaları ve kalıntı riski taşımamaları nedeniyle spirulina gibi doğal ürünlerin önemini arttırmaktadır.

Düğenci vd., (2003) Gökkuşaağı alabalıklarının yemlerine ökse otu, ısırgan otu ve zencefilden elde edilen üç farklı bitkisel ekstrakt ilave edip balıkların immun sisteminde meydana gelen değişimleri ve bu maddelerin immunostimulan etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta bütün bitkisel maddelerin uygulandığı deneme balıklarının non-spesifik immun sisteminde, lökositlerin fagositozunda ve solunum patlaması aktivitesinde kontrol balıklarına göre istatistiksel açıdan önemli bir artış belirlenmiştir. Ragap vd., (2012) spirulina ile beslenen tilapialarda spirulinanın immunostimulan etkisini, bakterisidal, fagositik ve lizozom aktivitesi gibi immünolojik bazı parametreleri incelemişler ve spirulinanın immun sistem parametrelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Bai vd., (2014) yavru sazanları *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna maruz bırakmışlar ve spirulina ile 30 gün boyunca besleme yaparak bağışıklık sistemi ve büyüme üzerin olumlu etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde Macias-Sancho vd., (2014) beyaz karides (*Litopenaeus vannamei*)’e 50 gün boyunca spirulina vermiş; bazı immünolojik parametreler ve gelişme üzerinde spirulinanın etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sublethal dozda bakır sülfat uygulanarak stres oluşturularak spirulinanın hem oral hem de enjeksiyon yoluyla verildiği bu çalışmada bazı immun sistem parametrelerinde negatif kontrol grubuna oranla artışların istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0,05$) dikkat çekmektedir.

Balıklarda kan parametreleri üzerine etki eden birçok faktör bulunur. Bunlar çevresel (sıcaklık, fotoperyot, yoğunluk, tuzluluk, pH, oksijen gibi), fizyolojik (balık türü, üreme, yaş, cinsiyet), toksik ve kirletici maddeler (ağır metaller, pestisitler, deterjanlar) ve sosyal (sosyal hiyerarşi gibi) faktörler olabilir.

Kan glikozu balıkların karaciğerinde glikojen olarak depo edilip organizmanın gereksinimi olduğu zamanlarda glikoza çevrilerek kana verilir. Glikozun parçalanması ile yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesi için gerek duyulan enerji sağlanır (Girgin Başusta, 2005). Stres altında verilen ilk fizyolojik yanıt adrenal bezden kateşolaminlerin salgılanmasıdır. Bu hormonun ilk gözlenen etkisi kan glikoz seviyesinde artışın meydana gelmesidir. Kan glikoz seviyesinde meydana gelen bu artış, balığın acil enerji ihtiyacını karşılamak için verdiği bir tepkidir (Watts, vd., 2001; Çelik, vd., 2008). Aydın vd. (2001), yaptıkları çalışmada *Serratia liquefaciens* enfeksiyonuna yakalanan *O. mykiss* 'ın kanı ile sağlıklı balıkların kanı karşılaştırmış; enfekte balıkların kan serumundaki glikoz seviyesinin önemsiz bir düşüş ($p>0,05$) gösterdiğini bildirmişlerdir. Uçar, (2010) iki farklı alabalık türü üzerine yaptığı tez çalışmasında iki farklı aneztezik maddenin kan glikozunu düşürdüğünü bildirmiştir. Gökkuşuğu alabalığının hematolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine bir sentetik piretroit olan insektisit (Cypermethrin) subletal dozlarının etkilerini belirlemek amacıyla yapılan araştırmada (Atamanalp, 2000); kandaki glikoz seviyeleri en düşük ve orta düzeyde dozların verildiği gruplarda kontrol grubuna göre bir artış gözlenirken en yüksek dozun verildiği grupta kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Verilen sentetik piretroitin belli bir doza kadar glikoz seviyesini arttırdığı, letal dozun yarısı uygulandığında ise düşürdüğü bildirilmiştir. Belall vd., (2012) spirulina ile beslenen tilapialarda plazma glikoz ve protein düzeylerinin kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılarak stres oluşturulan ve hem oral hem de enjeksiyon yoluyla farklı dozlarda spirulinanın uygulandığı çalışmada da benzer bir durum söz konusudur. Yapılan çalışmada kan glikoz düzeyleri besleme yapılmış negatif kontrol grubunda değerler arasında farklılıklar olmasına rağmen gruplar kendi içerisinde kıyaslandığında istatistiksel olarak farkın önemli olmadığı söylenebilir ($p>0,05$), pozitif kontrol grubu balıklarında ise sadece 3. gün ile 7. günlerde farklılığın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Farklı oranlarda spirulina verilmiş deney grubu balıklarında 21 günlük deney süresi boyunca değişimlerin olduğu grup içi farklılıklar çok fazla olmasa da ($p>0,05$) gruplar arası farklılıkların önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Enjeksiyon uygulaması yapılan kontrol gruplarında ise gruplar içinde fark önemsizken ($p>0,05$), gruplar arasında 3. gün ile 21. günler arasında farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Bunun sebebinin 21 günlük deneme süresince farklı balıklardan kan örneklerinin alınmış olması gösterilebilir.

Sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında kan glikoz değerlerinin 21 gün boyunca düştüğü belirlenmiştir. Bu durum pestisit uygulanmış balıklar üzerinde yapılan çalışmalarla (Astzalos vd., 1990; Ahmad vd., 1995; Atamanalp, 2000) uyum göstermiştir.

Hemoglobin bileşik bir protein moleküldür. Kanda eritrosit hücrelerinde bulunur. Görevi vücudun neresinde ihtiyaç duyulursa oraya oksijen taşımaktır. Her bir kırmızı kan hücresinde 300 milyon hemoglobin molekülü mevcuttur. Siwicki ve Anderson (1993), immüностimulantların bazı hematolojik parametreler üzerine etkili olmadığını bildirmişlerdir. İmmüностimulan ve antioksidan özelliğe sahip olan spirulinanın kullanıldığı çalışmamızda kan hemoglobin değerlerinin değiştiği ve pozitif kontrol gruplarında deney gruplarına oranla düşük olması bu araştırmacıların çalışmalarıyla uyumsuz bulunmuştur. Malla Reddy ve Bashamohideen (1989), *Cyprinus carpio*'da Fenvalerate'nin hemoglobini 8.07 ± 0.86 g/100 ml' den, 3.70 ± 0.46 g/100 ml' ye ve Cypermethrin'in 8.37 ± 0.82 g/100 ml' den, 4.04 ± 0.51 g/100 ml' ye, Ahmad vd., (1995), Çin ot sazanı (*Ctenopharyngodon iddia*)'nda Danitol (Fenpropathrin)'in hemoglobin miktarını % 28 düşürdüğünü, Kumar vd., (1999) ise *Heteropneustes fossilis*'ta deltamethrin'in 14.5 ± 2.5 g/100 ml' den 13.5 ± 2.8 g/100 ml' ye düşürdüğünü bildirmişlerdir. Sublethal dozda bakır sülfata maruz bırakılarak stres oluşturulan gökkuşağı alabalıklarında pozitif kontrol grubunda kan hemoglobin değerlerinin deney gruplarına göre düşük olması bu çalışmalarla paralellik göstermektedir. James vd., (2009) bir sazan türü olan *Cirrhinus mrigala*' da yaptıkları çalışmada sublethal dozda bakır sülfatın toksisitesi üzerinde spirulinanın olumlu etkilerinin olduğunu buna karşılık bakır sülfat uygulanan deney grubu balıklarında kan hemoglobin değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda da benzer bir durum sözkonusudur. Çeşitli araştırmacılar balıklara uyguladıkları civa klorid (Shakoori vd., 1991), kadmiyum klorid (Aziz vd., 1993) ve cypermethrin (Atamanalp 2000) gibi kimyasalların kan hemoglobin miktarını yüksettiğini bildirmişlerdir. Saroch, (2012) civa kloride maruz bırakılarak spirulina ile beslenen *Clarias gariepinus*'da hemoglobin değerlerinin arttığı, spirulina verilmeyen gruplarda ise hemoglobin düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak sublethal dozda bakır sülfat uyguladığımız bu çalışmada araştırmacıların bildirdiklerinin aksine alabalıklarda hemoglobin miktarının önemli ölçüde ($p<0,05$) azaldığı tespit edildi. Bunun nedeni olarak bakır sülfata maruz kalan balıklarda oksijen tüketimine bağlı olarak hemoglobin değerinin düşmesi ya

da çalışmalarda farklı balık türleri ve farklı kimyasalların kullanılmış olması da gösterilebilir.

Nötrofillerin toplam fagositik aktivitesi (Nitro-Blue Tetrazolium; NBT aktivitesi), balıklarda bakteriler, virüsler ve parazitler gibi patojenik etkenlere karşı oluşan, spesifik olmayan immun yanıtın en önemli unsurlarından biridir. Bu aktivite kemotaksis, opzonizasyon, adezyon, absorbsiyon, intrasellüler yıkım ve sindirme aşamalarından oluşmaktadır. NBT testi, nötrofillerin fagositik aktivitesinin veya oksidatif radikal üretiminin belirlenmesinde kullanılan önemli testlerden biridir (Siwicki ve Studnicka, 1987; İspir vd., 2004). Siwicki vd., (1994) farklı immunostimulanlarla beslenen gökkuşağı alabalıklarının kanında nötrofillerin oksidatif radikal üretiminin tutarlı olarak arttığını bildirmişlerdir. İspir (2001) levamisol enjekte ettiği gökkuşağı alabalıklarının NBT aktivitesinde uygulamanın ilk gününden itibaren bir artış olduğunu tespit etmiştir. Kumari ve Sahoo (2006), besin yolu ile alınan levamisole'un *Clarias batrachus* üzerindeki etkilerini incelemiş ve balıklarda NBT aktivitesinin ve fagositik kapasitenin arttığını gözlemlemişlerdir. Yine İbrahim vd., (2013) nil tilapiasında bakteriyel enfeksiyonlara direnç, bağışıklık ve gelişme üzerine spirulinanın etkilerini araştırmışlar özellikle NBT aktivitesinin zamanla arttığını bildirmişlerdir. Yonar (2008) yaptığı tez çalışmasında LD₅₀ ve LD₇₅ oranında *Y.ruckeri* verilen enfekte balıkların NBT aktivitesinde azalmanın olduğunu, propolisin enjeksiyon ve oral yolla verildiği balıklarda NBT aktivitesinde anlamlı bir artış gerçekleştiğini bildirmiştir. Altıntirim (2010), çörekotu yağının gökkuşağı alabalığının immun sistemi üzerine etkisini araştırdığı çalışmada balıkların kan NBT aktivitesinin artırdığını bildirmiştir. İbrahim vd., (2013) nil tilapiasında bakteriyel enfeksiyonlara direnç, bağışıklık ve gelişme üzerine spirulinanın etkilerini araştırmışlar özellikle NBT aktivitesinin zamanla arttığını belirlemişlerdir. Watanuki vd., (2006) sazan (*Cyprinus carpio*)'da yaptıkları çalışmada spirulinanın immunostimulan etkisini araştırmışlar. Araştırmada fagositik aktivitenin, solunum patlaması aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Yine Krishnaveni vd., (2013) 105 gün boyunca spirulina ile beslenen *Catla catla*'da kan parametrelerinin ve özellikle de fagositik aktivitenin arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bu tez çalışmasında da NBT aktivitesinde dalgalanmalar olmasına rağmen bir artışın olduğu dikkat çekmektedir. NBT aktivitesinin artması yukarıda geçen araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Seruloplazmim hücrelere bakır taşınmasından sorumlu olan bir proteindir (Lin et al., 2008). Shao vd., (2010) *Carassius auratus*'ta farklı bakır sülfat kaynakları kullanarak

yaptıkları çalıřmalarında artan bakır konsantrasyonlarıyla seruloplazmin arasında pozitif bir iliřkinin olduėunu belirtmiřlerdir. Yapılan bu çalıřmada en dūřuk seruloplazmin aktivitesinin besleme gruplarından negatif kontrol grubunda % 13 mg olduėu en yūsek aktivitenin ise sublethal dozda bakır sūlfat uygulanan ve yemlerine 400 mg/kg yem oranında spirulina ilave edilmiř deney grubunda % 34 mg olduėu belirlenmiřtir.

Toplam plazma proteini non spesifik immün sistemin humoral unsuru olarak kabul edilmektedir (Jeney vd., 1997). Keleř vd. (2002), yapmıř oldukları çalıřmada α -tokoferolūn gōkkuřaėı alabalıėının spesifik ve spesifik olmayan immūn parametrelerindeki deėiřikliklerini incelemiřlerdir. Oral yolla verilen α -tokoferolūn spesifik immūn parametreleri etkilediėi ve spesifik olmayan parametrelerden toplam proteini ve toplam Ig miktarını artırdıėını tespit etmiřlerdir. Ali vd., (2003) *Oreochromis niloticus*'un būyūmesi ūzerine sublethal dozda bakır sūlfatın etkisini arařtırmıřlar. Sudaki artan bakır konsantrasyonlarıyla protein dūzeyleri arasında ters bir iliřkinin olduėunu saptamıřlardır. Vasudeva ve Rina (2005)'nın yapmıř oldukları çalıřmada *Achyranthes aspera* bitkisinin tohumlarının hint sazanında (*Catla catla*) yeme ilave edilerek verilmesi ile toplam protein seviyelerinde artıřların olduėunu gōzlemlenmiřtir. Misra vd., (2006) de yaptıkları çalıřmada sentetik bir immunostimulan olan β -glucan'u 100, 250 ve 500 mg/kg yem dozunda sazan balıklarına oral yolla vermiřler ve her ū dozun uygulandıėı balıkların serum protein dūzeyinin kontrol balıklarına gōre 28. gūnden itibaren arttıėını belirlemiřtir. Yuangsoi vd., (2010) farklı bitkisel karotenoid kaynaklarını kullanarak yaptıkları çalıřmada sazanlarda deri pigmentasyonunun arttıėını ve 8 haftalık çalıřma sūresi boyunca toplam plazma immonoglobulin dūzeyinin arttıėını bildirmiřlerdir. Yonar (2002), sulfamerazinin 100, 200 ve 400 mg/kg balık dozunu oral yolla 21 gūn sūreyle uyguladıėı çalıřmasında gōkkuřaėı alabalıklarının protein dūzeylerinin çalıřmanın ilk gūnlerinde azaldıėını çalıřmanın son gūnlerine doėru ise arttıėını ancak yinede kontrol balıklarından dūřuk olduėunu tespit etmiřtir. Andrews vd., (2011) Hint sazanında spirulinanın *Aeromonas hydrophila*'ya karřı hayatta kalma hemato-immunolojik direnç ūzerindeki etkilerini arařtırmıřlar; yemlere spirulina katkısının serum toplam protein dūzeylerinde, hemoglobin ve beyaz kan hūcrelerinde artıřa sebep olduėunu belirlemiřlerdir. Benzer bir çalıřmada ise (Krishnaveni vd., 2013) spirulina katkılı yemlerle beslenen *Catla catla* balıėında hemotolojik ve immūnolojik parametrelere etkisine baktıkları çalıřmalarında spirulinanın hemoglobin, fagositik aktivite, lizozim aktivitesi ve ūzellikle de toplam immonoglobulin dūzeylerini arttırdıėını bildirmiřlerdir. Singh vd., (2012) *Channa*

Punctatus' da metabolik enzimler oksidasyon üzerine bakır sülfatın etkisini araştırdıkları çalışmalarında; bakır sülfat uygulanan balıklarda 45 gün sonunda uygulama dozlarına paralel olarak plazma protein düzeylerinin düştüğünü belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada besleme grupları balıklarında toplam protein değerleri kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur. Enjeksiyon gruplarında tam tersi bir durum söz konusu olmasına rağmen 21 günlük uygulama süresi boyunca toplam protein düzeylerinde bir artışın olduğu dikkat çekmektedir. Bu çalışmada spirulinanın 800 mg/kg dozunun oral yolla uygulandığı grupta uygulamanın 3. Gününde artmaya başlamış ve çalışma sonuna kadar bu artışını devam ettirmiş olmasına rağmen diğer gruplarda bir dalgalanmanın olmasına rağmen çalışma sonunda kontrol grubundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Enjeksiyon ile uygulanan gruplarda plazma protein düzeyi bakır sülfat ve spirulinanın uygulandığı gruplarda ise kontrol grubundan daha az bulunmuştur. Bunun nedeni spirulinanın enjeksiyon sırasında oluşturduğu stresi bakır sülfat uygulaması sonrasında artması olarak düşünülebilir.

Siwicki vd., (1994) farklı immunostimulanları oral olarak uyguladıkları alabalıklarda antikor düzeyinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Cuesta vd., (2004) immunostimulanların dozu ve uygulama süresine bağlı olarak IgM düzeyinin kontrol balıklarına göre önemli oranda arttığını, aşırı stoklama ve hipoksia ile oluşturulan stres sonucunda balıkların IgM düzeyinin fazla değişmediğini, benzokain ve 2-fenoksietanol ile oluşturulan stres altındaki balıklarda toplam immunoglobulin düzeyinin kontrol balıklarına göre oldukça azaldığını saptamışlardır. Spirulinanın oral ve enjeksiyon yoluyla uygulandığı bu çalışmada da toplam immunoglobulin düzeyleri kontrol balıklarına göre tüm gruplarda artmıştır. Amar vd. (2004), doğal olarak *Dunaliella salina* alglerinden ve *Phaffia rhodozyma* mayasından elde edilen ve vitamin A içeren karotenoidleri 100 ve 200 mg/kg yem oranında oral yolla alabalıklara uygulayarak toplam immunoglobulin düzeyindeki değişimleri araştırmışlardır. Bu ürünlerin tek olarak ilave edildiği yemlerin uygulandığı gruplarda toplam immunoglobulin düzeyinin değişmediğini kombinasyon şeklinde uygulandığı gruplarda ise arttığını belirlemişlerdir. Bu araştırmada ise, hem oral hem de enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan pozitif kontrol gruplarında 21. gün sonunda toplam immunoglobulin değerlerinin azaldığı görülmektedir. Deney gruplarında ise bazı dalgalanmalar olmasına rağmen toplam immunoglobulin değerlerinin artması diğer çalışmaların sonuçları ile uyum içindedir. Bu araştırmada spirulinanın enjeksiyonla verildiği gruplardaki immunoglobulin düzeyi oral yolla verilen gruplara göre daha yüksek

bulunmuştur. Bunun nedeni maddenin daha hızlı bir şekilde emilerek fizyolojik olayları oral yolla yapılan uygulamalara göre daha çabuk başlatmaları olabilir. Doğal bir immunostimulan kullanılarak elde edilen bu çalışmadaki sonuçlar spirulinanın birçok sentetik immunostimulanın yerine kullanılabileceğini göstermektedir.

Çeşitli hastalıklar ile ilişkili olarak ortaya çıkan oksidatif zararın belirteci olarak kullanılan MDA çoklu doymamış yağ asiti peroksidasyonunun bir ürünüdür. Hastalık sırasında vücuttaki oksidatif stres dolayısıyla MDA düzeyi artmaktadır. Ayrıca birçok hastalığın oluşma nedeni de MDA'dır (Kannan ve Jain, 2000; Ritola vd., 2000; Gökhan, 2007). Karaciğerin detoksifasyonda ana organ olduğu ve antioksidanların oksidatif mücadelede böbreğin hassasiyetini azalttıkları bilinmektedir (Seth vd., 2001; Gad vd., 2011).

Bakır sülfatın karaciğerde metabolize olduğu ve böbrekler yoluyla dışarı atıldığı gözönünde bulundurulursa, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda karaciğer ve böbreklerde bazı hasarların oluşturabileceği muhakkaktır. Bu çalışmada da bakır sülfatın karaciğerde, dalak ve böbreklerde SOD ve katalaz enzim aktivitelerini azalttıkları ve MDA düzeyini yükselttiği saptanmıştır.

Yonar (2008) yaptığı tez çalışmasında sadece 2,5 mg, 5 mg ve 10 mg/kg balık ağırlığıyla 21 gün boyunca propolis verilen gruptaki balıkların karaciğer, böbrek, dalak, solungaç ve kanındaki katalaz aktivitesinin ve glutatyon düzeyinin arttığını ve MDA düzeyindeki azalmanın meydana geldiğini bildirmiştir. Yapılan çalışmada subletal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubunda MDA düzeyi yüksek iken spirulina verilen grupta ise MDA düzeyinin düşük olması bu çalışmayla paralellik göstermektedir. Radhakrishnan vd., (2014) *Macrobrachium rosenbergii*'yi; *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* ve *Azolla pinnata* gibi alg türleri kullanarak yapmış oldukları besleme çalışmasında MDA düzeyindeki artışın kontrol grubuna göre farklı olmadığını tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmada ise spirulinanın oralla yolla uygulandığı ve bakır sülfata maruz bırakılan balıklarda MDA düzeyi pozitif kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Aynı durum spirulinanın enjeksiyon ile uygulandığı balıklarda da görülmüştür. Bu durum da spirulinanın, bakır sülfat ile birlikte oluşan stresin azaltmasına yardımcı olduğu düşünülebilir.

Balıklarda Zn ve Cu gibi metallerle sahip metal enzimlerinden biri olan Süperoksit dismutaz (SOD) aşırı süperoksit radikallerini katalizlediğinden antioksidan savunmada

önemli bir işlevi vardır. Metalik bir antioksidan enzim olan SOD ağır metal toksisitesi nedeniyle meydana gelen stres esnasında önemli bir rol oynar (Sridevi vd., 1998).

Roche ve Boge (1996), metal ve organik bileşiklerin etkisine bırakılan *Dicentrarchus labrax*'da; Shao vd., (2010) *Carassius auratus*'ta artan bakır sülfat konsantrasyonlarına bağlı olarak SOD aktivitesinin de arttığını belirtilmiştir. Metallerin etkisinde dokularda SOD aktivitesindeki artışın nedeni, metallerin birikimi sonucunda oluşan serbest radikallerle mücadele sonucu olduğu düşünülmektedir. Abdel-Latif ve Khalil (2014) patojen bir etken olan *Vibrio alginolyticus*'un nil tilapiası (*Oreochromis niloticus*)'nın vücut direnci ve serum antioksidan enzim aktivitesi üzerine spirulinanın etkisini araştırdıkları çalışmalarında spirulina ekstraktının antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Varanka vd., (2001) CuSO₄ etkisine bırakılan *C. carpio*'nun karaciğerinde SOD aktivitesinin azaldığını ve bunun süperoksit radikallerinin artışından kaynaklandığını belirtilmiştir. Yine Oost vd., (1996) Kirlenmiş sulardan alınan *A. anguilla*'nın karaciğerinde SOD aktivitesinin önemli düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubu balıklarında karaciğerdeki SOD aktivitesinde 21 gün boyunca azalmanın görülmesi bu çalışmalarla paralellik göstermiştir.

Yüzereroğlu, (2011) Cu'nun etkisine 15 ve 30 gün sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un kas, böbrek ve solungaç dokularında SOD aktivitesi kontrol balıklarına göre artarken, aynı sürelerde Cd'un etkisine bırakılan balıklarda sadece böbrek dokusunda SOD aktivitesi arttığını bildirmiştir. Cu'nun etkisinde 30. gün sonunda *O. niloticus*'un dokularında SOD aktivitesinin, uygulanan en yüksek derişimde kontrole göre böbrek dokusunda %136, solungaç dokusunda ise %264 oranında arttığını saptamıştır. Cd'un etkisinde 30. gün sonunda böbrek SOD aktivitesinin uygulanan en yüksek derişimde kontrole göre %123 oranında artış gösterdiğini belirlemiştir. Metallerin etkisinde dokularda SOD aktivitesindeki artışın, metallerin birikimi esnasında oluşan serbest radikallerle mücadele sonucu olduğunu savunmuştur. Choudhary, vd., (2007) kurşun, bakır ve çinkonun toksik etkilerini araştırdıkları bir çalışmada MDA ve SOD'un arttığını bildirmiştir. Yapılan tez çalışmasında da besleme gruplarında karaciğer dokusu SOD aktivitesi pozitif kontrol grubunda diğer gruplara oranla yüksek bulunmasına karşılık böbrek ve dalak dokularında daha düşük bulunmuştur. Araştırmada SOD aktivitesindeki azalmanın, bakırın SOD enziminde metal iyonlarının yerine geçerek enzim aktivitesini inhibe etmesi sonucu olduğu tahmin edilmektedir.

Çeşitli balık türlerinde bakır sülfatın katalaz aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Paris-Palacios vd., 2000; Dautremepuits vd., 2004). Romeo vd., (2000) bakıra maruz bırakılan *Dicentrarchus labrax*'ın dokularında katalaz aktivitesinin önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada sadece bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubunda katalaz aktivitesinin önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Bu bakımdan araştırmanın bulguları diğer araştırma verileri ile paralellik göstermektedir. Bakır sülfatın uygulandığı ve spirulina oral ve enjeksiyon ile verildiği gruplarda ise katalaz aktivitesinin pozitif kontrol grubuna göre artış gösterdiği ve istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). *Labeo rohita*'da kurşun asetat toksisitesine karşı spirulinanın tedavi edici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (200 vd., 2014) balığın karaciğer dokusunda katalaz aktivitesinin arttığı, solungaçlarda ise azaldığı bildirilmiştir.

Çalışmada kan katalaz aktivitesinin spirulinanın enjeksiyon yoluyla uygulandığı balıklarda pozitif kontrol grubu hariç diğer gruplarda çalışma süresi boyunca arttığı görülürken, besleme yoluyla spirulina uygulanan gökkuşağı alabalıklarında sublethal dozda bakır sülfat uygulanan pozitif kontrol grubunda kandaki katalaz aktivitesinin zamanla düştüğü belirlenmiştir. Bu düşüşün sebebi olarak bakır sülfat uygulanan balıklarda stresin oluştuğunu buna bağlı olarak antioksidan bir enzim olan katalaz aktivitesinde azalmaya neden olduğu düşünülebilir. Enjeksiyon yoluyla spirulina uygulanan balıklarda katalaz aktivitesinin artmasını spirulinanın antioksidan etkisine bağlayabiliriz.

Detoksikasyon genel olarak karaciğerde bulunan enzimler aracılığıyla yapılmaktadır. Bu tür enzimlerden bir tanesi de Gultatayon-S transferazdır (GST). GST oksidatif strese neden olan organik ksenobiyotiklerin etkilerinin değerlendirilmesinde biyomarker olarak kullanılmaktadır. Karsinojenlerin, çevresel kirleticilerin, ilaçların ve diğer birçok elektrofilik ksenobiyotiklerin ve bunların yanında lipid peroksidasyon ürünlerinin GSH-aracılıklı detoksikasyonunda görev almaktadır. (Ahmad vd., 2000; Cnubben vd., 2001; Morrow, 2003; Rao, 2006).

Rao, (2006) yaptığı çalışmada *O. mossambicus*'da karaciğer dokusunda OP monocrotophosun 30 gün etkisinde artan GST aktivitesinin ve azalan GSH miktarının 7 gün depurasyon süresi sonunda kontrol düzeylerine ulaştığı bildirilmiştir. Bu çalışmada sublethal dozda bakır sülfatla muamele ettirilen pozitif kontrol grubu balıklarının karaciğer, böbrek ve dalak dokularında GST aktivitesinin deney gruplarına oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır ve Rao (2006)'nın çalışma sonucuyla paralellik göstermiştir.

Sevgiler (2007), Fenthion etkisinde karaciğer dokusunda etki süresi sonunda gözlenen tGSH ve GSH azalması ile birlikte GSSG miktarında meydana gelen azalmanın GST aktivite artışı ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Karaciğer dokusunda fenthion etkisinde GSH azalması ile GST aktivitesinin artmasına karşın, böbrek dokusunda orta süreli etkide GSH azalması ile GST aktivitesinde azalma meydana geldiğini saptamıştır. Bizim çalışmamızda sublethal dozda bakır sülfat uygulanmış pozitif kontrol grubu balıklarda karaciğer GST aktivitesi hem karaciğer hem de böbrek dokusunda diğer deney gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada dokulardaki glutatyon-S-transferaz aktivitesinin kontrol gruplarında 21 gün boyunca düştüğü gözlenirken deney grubu balıklarının dokularında ise glutatyon-S-transferaz aktivitesinin arttığı dikkat çekmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları *O. mykiss*'da karaciğer, böbrek ve dalakta bakır sülfatın detoksifikasyonunda spirulinanın önemli bir rol oynadığını göstermesi açısından önemlidir.

6. ÖNERİLER

Başarılı bir balık sağlığı yönetiminde balıkların tedavisinden ziyade, onları hastalıktan korumaya yönelik önlemler ön planda olmalıdır. Balıkları hastalıktan korumak ise uygun su kalitesi, besleme ve ileri sanitasyon teknikleri gibi uygulamalar ile sağlanabilmektedir.

İmmunostimulanın besin yolu ile de verilebilmesi ve yine etkin bir koruma sağlaması gerekir. Genel olarak en iyi sonuçların enjeksiyonla alındığı bildirilmesine rağmen bu pratikte çok kullanışlı değildir ve 15 gram altındaki balıklara uygulamak zordur. Oral yoldan uygulama, balıklarda enjeksiyona oranla daha az stres yaratır. Yaptığımız çalışmada ortalama 100 gramlık balıklar kullanıldığı için enjeksiyon uygulamalarında bir sorunla karşılaşılmamıştır.

Uygulanacak dozun seçimi çok dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Zira düşük dozlarda istenen etki gözlenmeyebilir, yüksek dozlar ise beklenenin aksine immunosupresyona yol açabilir.

İmmunostimulanlar su ürünleri yetiştiriciliği açısından oldukça umut vericidir ancak bu konuda daha fazla çalışma yapılmalı ve kültürü yapılan balık türleri için optimum immunostimulasyon sağlayan spirulina gibi doğal immunostimulanlar araştırılmalıdır.

Bu çalışmayla elde edilen veriler doğrultusunda spirulinanın hem oral hem de enjeksiyon yoluyla uygulanmasının gökkuşağı alabalıklarının bazı hematolojik (kan glikozu) ve immun sistem parametreleri (hemoglobin, nitroblue tetrazolium aktivitesi, seruloplazmin aktivitesi, toplam protein ve toplam immunoglobulin değerleri) üzerinde olumlu bir etkisinin olduğu söylenebilir.

Tüm organizmalar gibi balıklar da devamlı ve kaçınılmaz bir şekilde doğal veya üretilmiş yabancı kimyasal veya ksenobiyotiklerle (ilaçlar, endüstriyel kimyasal maddeler, pestisidler ve toksinler) karşı karşıya kalmaktadır. Ksenobiyotiklerin eliminasyonu ise, suda çözünebilir kimyasal maddelere çevrilmelerine bağlıdır. Toksik maddeleri elimine eden/uzaklaştıran veya toksik madde oluşumundan koruyan olaylar biyotransformasyon veya detoksikasyon olarak özetlenebilir. Yıllardır bu konu üzerinde yapılan çalışmalarda, sağlıklı bir bağışıklık sisteminin ve bununla beraber doğru çalışan eliminasyon sistemlerinin dışarıdan gelen toksinlere karşı daha dayanıklı olduğunu ortaya konmuştur. Dolayısıyla sağlık için balığa dışarıdan bilinçli bir şekilde yardım etmek ve

organizmadan toksinlerin atılmasını sağlamak gerekir. Bu çalışmanın sonuçları; doğal bir antioksidan ve immunostimulan olan spirulinanın non-spesifik savunma mekanizmalarını artırmasıyla balık hastalıklarının önlenmesinde ve bakır sülfatın toksik etkisinin giderilmesinde koruyucu bir madde olarak kullanılabileceği fikrini desteklemiştir.

Toksikolojik çalışmalarda oksidatif stres parametreleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan SOD, GST, MDA ve katalaz oksidatif stresi uygun şekilde ifade eden parametreler olarak değerlendirilebilir.

Spirulinanın gökkuşağı alabalığında farklı yöntemler ile bazı immünolojik ve antioksidan sistem parametrelerinde oluşan farklılıklar belirlenmiş böylece benzer diğer çalışmalara öncülük etmiştir.

7. KAYNAKLAR

- Abdel-Latif, H.M.R., and Khalil, R.H.,** 2014. Evaluation of two Phytobiotics, *Spirulina platensis* and *Origanum vulgare* extract on Growth, Serum antioxidant activities and Resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to pathogenic *Vibrio alginolyticus*, *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1(5): 250-255.
- Abele, D., and Puntarulo, S.,** 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 138; 405– 415.
- Aebi, H.,** 1984. Catalase. *In vitro. Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Ahmad, F., Ali, S.S., and Shakoori, A.R.,** 1995. Sublethal effects of Danitol (Fenpropathrin), a synthetic pyrethroid, on freshwater Chinese grass carp. *Ctenopharyngodon iciella. Folia Biologica. (Krakow)* 43: 151-159.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jam, S.K., Athar, M., and Raisuddin, S.,** 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1523: 37-48.
- Akarçay, H.,** 2004. Hidrojen Peroksit Verilen Sıçanların, Doku ve Kan Serumundaki Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Ubiquinon -10'un Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Akkuş, İ.,** 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları., Konya.
- Alak, G., and Hisar, O.,** 2008. Effect of cadmium on some antioxidant enzymes in liver and kidney tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Üniversite Öğrencileri III. Çevre Sorunları Kongresi, İstanbul.
- Ali, A., Al-Ogaily, S.M., Al-Asgah, N.A., and Gropp, J.,** 2003. Effect of sublethal concentrations of copper on the growth performance of *Oreochromis niloticus*, *Journal of Apply Ichthyology*. 19: 183–188.
- Altınışık, M.,** 2006. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, A.D.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Eğitim Semineri, Aydın.

- Altınterim, B.**, 2010. Çörekotu (*Nigella sativa*, L.) yağının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'nın immün sistemine etkisinin araştırılması, *Doktora tezi*. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ.
- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., and Watanabe, T.**, 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products, *Fish and Shellfish Immunology*, 16, 527-537.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K., and Hagen, T.M.**, 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 90 (17): 7915-22.
- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Mukherjee, S.C., and Kumar, S.**, 2011. Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haemato-immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge, *Research in Veterinary Science* 91: 103–109.
- Anonim**, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20. Edition, *American Public Health Association (APHA)*, Baltimore.
- Aoki, T.**, 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan. *Diseases in Asian Aquaculture*, vol. 1. Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 519 – 529 p.
- Arda, M., Mimbay, A., Aydın, N., İzgür, M. ve Diker, S.**, 1994. İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M.**, 2005. Balık Hastalıkları. Medisan Yayınevi. Ankara.
- Arillo, A., Calamari, D., Margiocco, C., Melodia, F., and Mensi, P.**, 1984. Biochemical effects of long-term exposure to cadmium and copper on rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Validation of water quality criteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 8: 106-117.
- Ariza, A.R., Ahlma, J., Diaz-Mendez, F.M., and Lopez-Barea, J.**, 1999. Content of 8-oxodG in chromosomal DNA of *Sparus aurata* fish as biomarker of oxidative stress and environmental pollution, *Mutation Research*, 438: 97-107.

- Astzalos, B., Nemcsok, J., Benedeczy, I., Gabriel, R., Szabo, A., and Refaie, O.J.,** 1990. The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio*). *Arch..Environ..Toxicol.* 19: 275-282.
- Atamanalp, M.,** 2000. Bir sentetik piretroit insektisitini (Cypermethrin) subletal dozlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na makroskopik, histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri, *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Atif, F., Kaur, M., Yousuf, S., and Raisuddin, S.,** 2006. *In vitro* free radical scavenging activity of hepatic metallothionein induced in an Indian fresh-water fish, *Channa punctata* Bloch, *Chemico-Biological Interactions*, 162: 172-180.
- Augustin, W., Wiswedel, I., Noack, H., Reinheckel, T., and Reichelt, O.,** 1997. Role of endogenous and exogenous antioxidants in the defence against functional damage and lipid peroxidation in rat liver mitochondria. *Molecular Cell Biochemistry*. 174: 199–205.
- Avcı, A.,** 2001. Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri. Ankara Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, *Uzmanlık Tezi*, Ankara.
- Avcı, A., Kaçmaz, M., and Durak, İ.,** 2005. Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 101–105.
- Aydın, S., Çiltaş A., ve Bilgin, Ö.C.,** 2001. Investigations of *Serratia liquefaciens* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* ,Walbaum,1792), *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25 643.
- Aziz, F., Amin, M., and Shakoori, A.R.,** 1993. Toxic effects of cadmium chloride on the haematology of fish, *Tilapia mossambica*. *Proc. Pakistan Congr. Zool.*, 13: 141-154.
- Babior, B.M.,** 2000. Phagocytes and oxidative stress (Physiology in medicine), *American. Journal of Medicine*, 109: 33–44.
- Bai, S.D., Reddy, D.C., and Kalarani, V.,** 2014. Influence of Spirulina on Growth and Immunity of the Fingerlings common carp, (*Cyprinus carpio*, L.1758),

challenged with Pathogenic *Aeromonas hydrophila*, *International Journal Of Pharmacy & Life Sciences*. 5(6): 3590- 3602.

Bangeppagari, M., Gooty, J.M., Tirado, J.O., Mariadoss, S., Thangaswamy, S., Maddela, N.R, and Ortiz, D.R., 2014. Therapeutic efficiency of Spirulina against lead acetate toxicity on the fresh water fish *Labeo rohita*, *American Journal of Life Sciences*, 2(6): 389- 394.

Belal1, E.B., Khalafalla, M.M.E., and El-Hais, A.M.A., 2012. Use of spirulina (*Arthrospira fusiformis*) for promoting growth of Nile Tilapia fingerlings, *African Journal of Microbiology Research*, 6(35): 6423-6431.

Bilgehan, H., 1999. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Şafak Matbaası., Ankara, 622s.

Blanc, A., Vivien-Roels, B., Pevet, P., Attia, J., and Buisson, B., 2003. Melatonin and 5- methoxytryptophol (5-ML) in nervous and for neurosensory structures of a gastropod mollusc (*Helix aspersa maxima*); synthesis and diurnal rhythms, *General and Comparative Endocrinology*, 131: 168-175.

Borazan-Özkurt, G., 2006. Balıklarda deniz kirliliğinin biyobelirteçleri, *Türk Veteriner Hekimler Birliği Dergisi*, 1 -2: 71–76.

Bragadottir, M., 2001. Endogenous antioxidants in fish, master of science in food science, Department of Food Science University of Iceland.

Bulut, C., Çetinkaya, O., ve Kubilay, A., 2014. Bakırın (Cu^{+2}) Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* ,Walbaum,1792) Üzerine Akut Toksisitesi, *Yunus Araştırma Bülteni*, 1: 31-39.

Chamorro, G., Salazar, M., Araujo, K.G., dos Santos C.P., Ceballos, G., and Castillo, L.F., 2002. Update on the pharmacology of Spirulina (*Arthrospira*), an unconventional food, *Arch Latinoam Nutr.*, 52(3): 232-40.

Chen, H.W., Yang, T.S., Chen, M.J., Chang, Y.C., Chen, W.E.I., Ho, C.L., Lai, Y.J., Yu, C.C., Chou, J.C., Chao, L.K.P., and Liao, P.C., 2014. Purification and immunomodulating activity of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas, *Process Biochemistry* 49: 1337–1344.

Cheung, C., Zheng, G.J., Richardson, B.J. and Lam, P.K.S., 2001. Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and

- antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*, *Aquatic Toxicology*. 52: 189–203.
- Choudhary, M., Jetley, U.K., Khan, M.A., Zutshi, and S., Fatma, T.** 2007. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66. 204–209.
- Chuttani, H.K., Gupta, P.S., Gulati, S., and Gupta, D.N.,** 1965. Acute copper sulfate poisoning, *The American Journal of Medicine.*, 39: 849-54.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., van Zanden, J., and van Bladeren P.J.,** 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10: 141-152.
- Combs, G.F, Noguchi T., and Scott, M.L.,** 1975. Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membranes. *Federation Proceedings*. 34: 11- 17.
- Cousins, R.J.,** 1985. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Phys. Rev.*65: 238–309.
- Cravedi, J.P., Choubert G. and Delous G.,** 1987. Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. *Aquaculture* 60, 133–141.
- Cuesta, A., Meseguer, J. and Esteban, M.A.,** 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.), *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 101, 203-210.
- Çelik, E.Ş., Aslan, A., ve Alparslan, M.,** 2008. Balıklarda Kan Glukozunu Etkileyen Başlıca Faktörler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 24 (1-2), 364 – 379.
- Dalmo, R.A., Ingebrigtsen, K. and Bqgwald, 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 Standardization* 49, 307 – 319.

- Dash, S.C.**, 1989. Copper sulphate poisoning and acute renal failure, *Int. J. Artif Organs*, 12: 610.
- Dautremepuits, C., Betoulle, S., Paris-Palacios, S., and Vernet, G.**, 2004. Humoral immune factors modulated by copper and chitosan in healthy or parasitised carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda), *Aquatic Toxicology*, 68 (2004) 325–338.
- Demirel, G. ve Özpınar H.**, 2003. Yosunlar ve Hayvan Beslemede Kullanımları, Uludağ Üniversitesi. *J. Fac. Vet. Med.* 22, 1–2-3: 103-108.
- Dethloff, G.M., and Bailey, H.C.**, 2009. Effects of copper on immune system parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(9):1807-1814.
- Dick, P.T. and Dixon, D.G.**, 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper, *J. Fish. Biol.*, 26: 475-481.
- Dikici, İ.**, 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, *Uzmanlık Tezi*, Konya, 73s.
- Diler, G, Tekinay, A.A., Güroy D., Güroy, B., and Soyutürk, M.**, 2007. Effects of *Ulva rigida* on the Growth, Feed Intake and Body Composition of Common Carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Biological Science*, 7: 305-308.
- Düğenci, S.K., Arda, N., and Candan, A.**, 2003. Some medical plants as immunostimulants for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 99 – 106.
- Ellis, A.E.**, 1981. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes. *Developmental Biological Standardization* 49, 337 – 352.
- Ellis, A.E.**, 1988. Fish Vaccination, Academic Press Ltd., London, 162–171 p.
- El Nabawi, A., Hemzow, B., and Kruse, H.**, 1987. As, Cd, Cu, Pb, Hg and Zn in Fish from the Alexandria Region, Egypt. *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 889 – 897.
- Erdem, C., ve Kargın, F.**, 1990. Farklı Ortam Derişimlerinde *Tilapia nilotica* (L.)’nin Doku ve Organlarında Bakır Birikimi, *Turkish Journal of Zoology*, 14: 173-178
- Ergün, S., Soyutürk, M., Güroy, B., Güroy, D., and Merrifield, D.**, 2009. Influence of *Ulva* Meal on Growth, Feed Utilization and Body Composition of Juvenile

- Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) at Two Levels of Dietary Lipid. *Aquacult. Int.*, 17 (4): 355-361.
- Evelson, P., Ordóñez, C.P., Llesuy, S., and Boveris, A.,** 1997. Oxidative stress and in vivo chemiluminescence in mouse skin exposed to UVA radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, part B;38: 215–219.
- European Inland Fisheries Advisory Commission (EIFAC)** 1976. Report on fish toxicity testing procedures. Rome, FAO.
- Feredoon, S., Janitha, P.K., and Wanasundara, P.D.,** 1992. Phenolic antioxidants, *Crit Rev Food Sci Nutr.* 32(1):67-103.
- Filho, H.W.,** 1996. Fish antioxidant defenses-A comparative approach. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 29: 1735-1742.
- Franke, S.I.R., Pra, D., Da Silva, J., Erdtmann, B., and Henriques, J.A.P.,** 2005. Possible repair of action of vitamin C on DNA damage induced by metyl methanesulfonate, cyclophamide, FeSO₄ and CuSO₄ in mouse blood cells *in vivo*, *Mutation Research*, 583: 75-84.
- Frei, B.,** 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action, *The American Journal of Medicine*, 97 (Suppl 3A), 26,3A-5S-3A-12S.
- Gad, A.S., Khadrawy, Y.A., El-Nekeety, A.A., Mohamed, S.R., Hassan, N.S., Abdel-Wahhab M.A.,** 2011. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats, *Nutrition*, 27: 582–589.
- Gannam, A.L., and Schrock R.M.,** 1999. Immunostimulants in Fish Diets, *Journal of Applied Aquaculture*, Vol. 9(4) :53 – 89.
- Girgin Başusta, A.,** 2005. Balık Hematolojisi ve Hematolojik Metotlar, Mehmet Karataş (Editör), *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri (Research Techniques in Fish Biology)*, Ankara. Nobel Yayınları, 275–300.
- Gökhan, H.B.,** 2007. Balıklarda Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi, Doktora Semineri, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ, 53s.
- Grondel, J.L., and Boesten H.J.A.M.,** 1982. The influence of antibiotics on the immun system. Inhibition of the mitogenic leukocyte responses in culture. *Development and Comparative Immunology* 2, 211-216.

- Grondel J.L., Nouws., J.F.M. and Van Muiswinkel W.B.,** 1987. The influence of antibiotics on the immun system: immunopharmakokinetic investigations on the primary anti-SRBC response in carp *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. *Journal Fish Diseases*. 10, 35-43.
- Gürer, R.,** 2005. Idiopatik Parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazminin yeri ve proton MR spektroskopi ile verifikasyonu, *Uzmanlık Tezi*, T.C.Sağlık Bakanlığı, Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul, 74s
- Güroy, D., Deveciler, E., Güroy, B.K., ve Tekinay, A.A.,** 2006. Influence of Feeding Frequency on Feed Intake, Growth Performance and Nutrient Utilization in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fed Pelleted or Extruded Diets. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30 (2): 171-177.
- Güroy, B., ve Ergün, S.,** 2009. Spirulina'nın Gökkuşluğu Alabalığı Yeminde Kullanımı, XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu 2009, Rize.
- 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.
- Haegle, A.D., Gillette, C., O'Neill, C., Wolfe, P., Heimendinger, J., Sedlacek, S. and Thompson, H.J.,** 2000. Plasma xanthophyll carotenoids correlate inversely with with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxydation, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 9: 421-425.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C.,** 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford University Press. Inc, London.
- Halliwell, B.,** 2001. Vitamin C and genomic stability (Review), *Mutation Research*, 475: 29-35.
- Handy, R.D.,** 1992. The assessment of episodic metal pollution. I. Uses and limitations of tissue contaminant analysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after short waterborne exposure to cadmium or copper, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22: 74-81.
- Ianas, O., Olinescu, R., and Badescu, I.,** 1991. Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie*, 29, 1472153.

- Ibrahim, M.D. Mohamed F.M., and Ibrahim, M.A.,** 2013. The Role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in Growth and Immunity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Its Resistance to Bacterial Infection, *Journal of Agricultural Science*, 5(6): 1916-9760.
- Ihara, Y., Nobukuni,K., Takata, H. and Hayabara, T.,** 2005.Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation, *Neurological Research*, vol:27: 105-108.
- Işık, O., Hızarcı, L., Sayın S., Gökpınar, Ş., Durmaz, Y., and Göksan, T.,** 2006. The Effect of the Environmental Factors on the Vitamin C (Ascorbic Acid), E (Alpha-tocopherol), β -carotene Contents and the Fatty Acid Composition of *Spirulina platensis*, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences Cilt/Volume 23, Sayı/Issue (3-4):* 257–261
- İspir, Ü.,** 2001. Levamisol'ün Gökkuşığı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) İmmun Sistemine Etkisinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ, 44s.
- İspir Ü., Seker E. ve Sarıeyyüpoğlu M.,** 2004. *Yersinia ruckeri* ile infekte gökkuşığı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) oluşan immunolojik değişimlerin araştırılması. *F. Ü. Fen ve Müh. Bil. Derg.*, 16 (2), 393 – 400.
- İstanbulluoğlu, E.,** 1978. Enterik İnfeksiyonlarda Yerel Bağışıklığın Rolü. *A.Ü.Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22 (1-2), 72 – 76.
- James, R., Sampath, K., Thangarathinam R., and Vasudevan I.,** 2006. Effect Of Dietary *Spirulina* Level on Growth, Fertility, Coloration and Leucocyte Count in Red Swordtail, *Xiphophorus helleri*, The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah 58(2), 97-104.
- James R., Sampath K., Nagarajan R., Vellaisamy P., and Maripandi M.M.,** 2009. Effect of dietary *Spirulina* on reduction of copper toxicity and improvement of growth, blood parameters and phosphatases activities in carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822), *Indian Journal of Experimental Biology* Vol. 47, pp. 754-759.

- 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.
- Jyothi, B., and Narayan, G.,** 1999. Certain Pesticide-induced Carbohydrate Metabolic Disorders in the Serum of Freshwater Fish *Clarias batrachus* (Linn.), *Food and Chemical Toxicology*, 37: 417 – 421.
- Kamrin, M.A.,** 1997. Pesticide Profiles, Toxicity Environmental Impact, and Fate, *CRC- Lewis Publishers*, Florida, 421-578.
- Kannan, K., Jain, S.K.,** 2000. Oxidative stress and apoptosis, *Pathophysiology*, 7(3): 153-163.
- Keleş, O., Candan A., Bakırel, T., and Karataş Düğenci, S.,** 2002. The Investigation of the Anabolic Efficiency and Effect on the Nonspecific Immune System of Zeranol in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26, 925-931.
- Khangarot, B.S., and Tripathi, D.M.,** 1991. Changes in humoral and cell-mediated immune responses and in skin and respiratory surfaces of catfish, *Saccobranhus fossilis*, following copper exposure, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 22: 291-308.
- Kılıç, C., Göksan T., Ak İ., ve Gökpinar Ş.,** 2006. İki Farklı *Spirulina platensis* Suşunun Büyüme Özelliklerinin Karşılaştırılması, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, Cilt/Volume 23, Sayı/Issue (1-2): 189–192.
- Kırşan, İ.,** 2002. Serbest radikalleri ve antioksidanlar, *Bitirme Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 17s., Elazığ.
- Kim, S.S., Rahimnejad, S., Kim, K.W., Lee, B.J., Lee, K.J.,** 2013. Effects of Dietary Supplementation of Spirulina and Quercetin on Growth, Innate Immune Responses, Disease Resistance Against *Edwardsiella tarda*, and Dietary Antioxidant Capacity in the Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*, *The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science*, 16(1), 1-8.
- Kinnear, P.R., and Gray, C.D.,** 1995. SPSS for Windows Made Simple. Lawrence Erlbaum Associates, East Sussex, UK, 275s.
- Klebanoff, S.J.,** 1998. Microbicidal mechanism: oxygen-dependent, *Encyclopedia of Immunology*, 1713-1718.

- Kolaylı, S., and Keha, E.,** 1999. A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities in Freshwater and Seawater-Adapted Rainbow Trout, *Journal of Biochemistry and Molecular Toxicology*, 13: 334-337.
- Krishnaveni, R., Palanivelu, K., and Velavan S.,** 2013. Effects of Probiotics and Spirulina Supplementation On Haemato-Immunological Function Of *Catla catla*, *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 3(4): 176-181.
- Kumar, S., Lata., and Gopal, K.,** 1999. Deltamethrin induced physiplogical changes in freshwater Cat fish *Heteropneustes fossilis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62: 254- 258.
- Kumari, J., and Sahoo, P.K.,** 2006. Non-specific immune response of healthy and immuno-compromised Asian catfish (*Clarias batrac-hus*) to several immunostimulants, *Aqua-culture*, 255: 133-141.
- Kwapinski, J.B.,** 1965. Methods of Serological Research. John Wiley & Sons Inc., New York, 526 p.
- Lauren, D.J., and McDonald, D.G.,** 1986. Influence of water hardness, pH and alkalinity on the mechanisms of copper toxicity in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 1488-1496.
- Layam, A., Lekha C. and Reddy, K.,** 2007. Antidiabetic Property of Spirulina Department of Food Science and Nutrition, SPMVV, Tirupati, India.
- Leknes, I.L.,** 2001. Endocytosis of ferritin and hemoglobin by the trabecular endocardium in swordtail, *Xiphophorus helleri* L. and platy, *Xiphophorus maculatus* L.(Poecilidae: Teleostei), *Annals of Anatomy*, 183: 251-254.
- Lin, Y.C., Tayag, C.M., Huang, C.L., Tsui, W.C., and Chen J.C.,** 2010. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that had received the hot-water extract of *Spirulina platensis* showed earlier recovery in immunity and up-regulation of gene expressions after pH stress, *Fish & Shellfish Immunology* 29:1092-1098.
- 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.,** 2006. Effect of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish, *Comparative Biochemistry and phyiology*, part B 144: 283–289.

- Macias-Sancho, J., Poersch, L.H., Bauer, W., Romano, L.A., Wasielesky, W., and Tesser, M.B.,** 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters, *Aquaculture* 426–427:120–125.
- Malla Reddy, P., and Bashamohideen, M.,** 1989. Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta. Hydrochim. Hydrobiol.* 17,1: 101-107.
- McKim, J.M., Christensen, G.M. and Hunt, E.P.,** 1970. Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term and long-term exposure to copper, *J. Fish. Res. Board Can.*, 27: 1883-1889.
- McSorley, S.J.,** 1998. Nitric oxide, Encyclopedia of Immunology, 1859–1861.
- Mercan, U.,** 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (1–2):91–96.
- Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C., and Pattnaik, P.,** 2006. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings, *Aquaculture*, 255, 82-94.
- Miller, P.A., Munkittrick, K.R., and Dixon, D.G.,** 1992. Relationship between Concentrations of Copper and Zinc in Water Sediment, Benthic Invertebrates and Tissues of White Sucker (*Catostomus commersoni*) at Metal Contaminated Sites. *Can.J.Fish Aquat. Sci.*, 49, 978 – 984.
- Mital, V.P., Wahal, P.K., and Bansal, O.P.,** 1966. A study of erythrocytic glutathione in acute copper sulphate poisoning, *Indian J Pathol Bacteriol.* 9: 155-62.
- Morrow, M.D.,** 2003. The effects of diet composition and ration on biotransformation enzymes and stress parameters rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Master of Environmental Toxicology*, Simon Fraser University, Canada 87p.
- Mulder, I.E., Wadsworth, S. and Secombes, C.J.,** 2007. Cytokine expression in the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during infection with *Aeromonas salmonicida*, *Fish & Shellfish Immunology* 1-13.
- Mulero, V., Estaban, M.A., and Mesenguer J.,** 1998. Effects of *in vitro* addition of exogenous vitamins C and E on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) phagocytes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 399 – 407.

- Muller-Feuga, A.,** 2000. The Role of Microalgae in Aquaculture: Situation and Trends. *J. Appl. Phycol.*, 12 (3-5): 527–534.
- Mustafa, M.G., Umino, T., and Nakagawa, H.,** 1997. Limited synergistic effect of dietary Spirulina on vitamin C nutrition of red sea bream *Pagrus major*, *Journal of Marine Biotechnology*, 5: 129-132
- Narbonne, J.F., Aarab, N., Clerandeau, C., Daubeze, M., Narbonne, J., Champeau, O. and Garrigues, P.,** 2005. Scale of elassification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends. *Biomarkers*, 10 (1): 58-71.
- Nemcsok, J.G., and Hughes, G.M.,** 1988. The effect of copper sulphate on some biochemical parameters of rainbow trout, *Environ Pollut.*, 49: 77-85.
- Oost, R., Goksoyr, A., Celander, M., Heida, H., and Vermeulen, N.P.E.,** 1996. Biomonitoring of Aquatic Pollution with Feral Eel (*Anguilla anguilla*). *Aquatic Toxicology*, 36: 189-222.
- Oruç, E.Ö., and Üner, N.,** 2000. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 127: 291–296.
- Öğüt, H.,** 2005. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri (*Research Techniques in Fish Biology*), s. 377–394, Editör Mehmet Karataş, Nobel Yayınları, Ankara.
- Öner, Ö.İ.,** 2004. Deneysel Diyabetik Retinopati Oluşturulmuş Sıçanlarda Çeşitli Antioksidanların Koruyucu Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, 40s.
- Öz, A.,** 2006. Bakır sülfat pentahidrat pestisitinin lebistes balıkları (*Poecilia reticulata*) üzerindeki akut toksik etkisinin araştırılması ve davranış değişimlerinin incelenmesi, *Yüksek lisans tezi*, , Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre bilimleri, Ankara, 91p
- Özen, M.R., Kubilay, A., ve Aybal, N.Ö.,** 2003. Gökkuşluğu alabalıklarında immunostimulantların kullanılması ile spesifik olmayan savunma mekanizmasının artırılması ve lizozim aktivitesinin belirlenmesi. *S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 8, (2001-2002), 80-93.

- Pahkla, R., Zilmer, M., Kullisaar, T., and Rago L.,** 1998. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline *in vitro*. *Journal of Pineal Research*, 24: 96-101.
- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., and Vernet, G.,** 2000. Biochemical and (ultra) structural Hepatic Perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) Exposed to Two Sublethal Concentrations of Copper Sulfate. *Aquatic Toxicology*, 50: 109-124.
- Perez, D.D., Strobel, P., Foncea, R., Diez, M.S., Vasquez, L., Urquiaga, İ., Castillo, O., Cuevas, A., Sanmartin, A., and Leighton, F.,** 2002. Wine, Diet, Antioxidant Defenses, and Oxidative Damage, *Annals New York Academy of sciences*, 957: 136-145.
- Piner, P.,** 2005. Fenthion içeren ortamda BSO ve NAC'nin *Oreochromis niloticus*'da beyin dokusunda glutatyon metabolizması, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Biyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. 112 s.
- Placer, Z.A., Cushman, L., and Johnson, B.C.,** 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids. *Anal. Biochem.* 16: 359–364.
- Polat, A. ve Tokur, B.,** 2000. Balıklarda Prooksidan ve Antioksidanların Lipit Oksidasyonuna Etkileri, *Su Ürünleri Dergisi*, Cilt No: 3–4, 4299–310, Bornova, İzmir.
- Promya, J. and Chitmanat, C.,** 2011. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* Algae on the Growth Performance, Meat Quality and Immunity Stimulating Capacity of the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*), *International Journal of Agriculture & Biology*, 13: 77–82.
- Radhakrishnan, S., Saravana, Bhavan, P. Seenivasan, C. Shanthi, R. Muralisankar, T.,** 2014. Replacement of fishmeal with *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Azolla pinnata* on non-enzymatic and enzymatic antioxidant activities of *Macrobrachium rosenbergii*, *The Journal of Basic & Applied Zoology* 67: 25 –33.

- Ragap, H.M. Khalil, R.H., and Mutawie H.H.,** 2012. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on tilapia *Oreochromis niloticus*, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2 (2): 26-31.
- Rao, J.V.,** 2006. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 78-84.
- Rath, R.K.,** 1993. *Freshwater Aquaculture*. Scientific Publishers, Jodhpur, India: 282–312 pp.
- Reid, S.D., and McDonald, D.G.,** 1988. Effects of cadmium, copper, and low pH on ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 244-253.
- Rice-Evans, C.A., Diplock, AT., and Symons, M.C.R.,** 1991. Techniques in free radicals research. Elsevier, Amsterdam, vol: 22.
- Richmond, A.,** 1992. Mass culture of cyanobacteria. In: Mann, N., Carr, N., Eds. Photosynthetic prokaryotes. 2.ed. Plenum Press, New York and London. pp. 181–210.
- Ritola, O., Lyytikäinen, T., Pylkkö, P., Mölsä, H., and Lindström-Seppä, P.,** 2000. Glutathione-dependent defence system and monooxygenase enzyme activities in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) exposed to ozone, *Aquaculture*, 185, 219-233.
- 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.
- Romeo, M., Bennani, N., Gnassia-Barelli, M., Lafaurie, M., Girard, J.P.,** 2000. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Toxicol.* 48, 185–194.
- Rosety, M., Rosety-Rodrigue, M., Ordonez, F.J., and Rosety, I.,** 2005. Time course variations of antioxidant enzyme activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion. *Histol Histopathol.* (4): 1017–1020.
- Salehi-Farsani, A., Soltani, M., Kamali, A., and Shamsaie M.,** 2014. Effect of immune motivator Macrogard and *Spirulina platensis* on some growth, carcass

- and biochemical indices of stellate sturgeon *Acipenser stellatus*, *International Journal of the Bioflux Society*, Volume: 7, Issue 3, 137-147.
- Sarı, M. ve Çakmak, M.N.**, 1996. *Balık Besleme*. Fırat Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 37, Elazığ.
- Sarkar, B.**, 1989. Metal-Protein interactions in transport, accumulation, and excretion of metals. *Biological Trace Element Research*, 21: 137-144.
- Sarkar, A., Ray, D., and Shrivastava-Amulya, N.**, 2006. Molecular Biomarkers: Their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*. 15 (4): 333-340.
- Saroeh, J.D., Nisar, H., Shrivastav, R., Qureshi, T.A., and Manohar, S.**, 2012. Haematological Studies of Mercuric Chloride Affected Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* Fed with Spirulina, *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 2(4): 1862-1869.
- Sarumathi, A., Sethupathy, S., and Saravanan, N.**, 2014. The protective efficacy of spirulina against bacterial endotoxin potentiated alcoholic liver disease, *Journal of Functional Foods*, 9: 254 – 263.
- Sayed, A.E.H., and Fawzy, M.A.**, 2014. Effect of Dietary Supplementation of *Spirulina platensis* on the Growth and Haematology of the Catfish *Clarias gariepinus*, *Journal Of Advances In Biology*, 5(2): 625-635.
- Sayer, M.D.J., Reader, J.P., and Morris, R.**, 1989. The effect of calcium concentration on the toxicity of copper, lead and zinc to yolk-sac fry of Brown trout, *Salmo trutta* L., in soft acid water, *J. Fish Biol.*, 35: 323-332.
- Schiffrin, E., Brassart, D., Servin, A., Rochat, F., and Donnet-Hughes, A.**, 1997. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *American Journal of Clinical. Nutrition*. 66: 515-520.
- Sellers, C.M. Jr., Heath, A.G., and Bass, M.L.**, 1975. The effect of sublethal concentrations of copper and zinc on ventilatory activity, blood oxygen and pH in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Water Res.*, 9: 401-408.
- Sevgiler, Y.**, 2007. *Oreochromis niloticus*'da Karaciğer ve Böbrek Dokularında Fenthionun NAC ve BSO Modülatörlüğünde Glutasyon Metabolizmasına

Oksidatif Etkileri, *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 109s.

Seth, V., Banerjee, B.D., Chakravorty, A.K., 2001. Lipid Peroxidation, Free Radical Scavenging Enzymes, and Glutathione Redox System in Blood of Rats Exposed to Propoxur, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 133–139.

Shakoori, A.R., Iqbal, M. J., Mughal, A.L., and Ali, S. S., 1991. Drastic biochemical changes following 48 hours of exposure of Chinese grass carp *Ctenopharyngodon idella*, to sublethal doses of mercuric chloride. *Proc 1. Symp. Fish & Fisheries*, Pakistan., 81-98.

Shao, X., Liu, W., Xu, W., Lu, K., Xia, W., and Jiang, Y., 2010. Effects of dietary copper sources and levels on performance, copper status, plasma antioxidant activities and relative copper bioavailability in *Carassius auratus gibelio*, *Aquaculture* 308: 60–65.

Siemering, G., David, N., Hay worth, J. and Franz, A., 2005. Aquatic Pesticides Monitoring Program Literature Review, *San Francisco Estuary Institute*, California, 10-20, 35-45.

Singh, S., . Kate, B.N., and Banerjee U.C., 2005. Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview, *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol. 25, No: 3, 73-95.

Singh, D., Katiyar, S., and Verma, A., 2012. Role of Copper Sulphate on Oxidative and Metabolic Enzymes of Freshwater Fish; *Channa Punctatus*, *Environmental & Analytical Toxicology*, 2: 1.

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 (Supplement A), 57-60.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Dixon O. W., 1989. Comparisom of non-specific and specific immunomodulation by oxolinic acid, oxtetracycline and levamisole in salmonids., *Veterinary Immunology and Immunopathology* 14, 231-237.

Siwicki, A.K., and Anderson, D.P., 1993. Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Symposium on Fish Immunology Lysekil, Sweden, 24 p.

- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Rumsey, G.L.,** 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 41, 125 – 139.
- Siemering, G., David, N., Hay worth, J. and Franz, A.,** 2005. Aquatic Pesticides Monitoring Program Literature Review, *San Francisco Estuary Institute*, California, 10-20, 35-45.
- Sridevi, B., Reddy, K.V., and Reddy, S.L.N.,** 1998. Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in a Freshwater Field Crab, *Barytelphusa guerini*. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 61: 384-390.
- Steinebach, O. M., and Wolterbeek, H.,** 1994. Role of cytosolic copper, metallothionein and glutathione in copper toxicity in rat hepatoma tissue culture cells, *Toxicology*, 92: 75-90.
- Stratton, S.P., and Liebler, D.C.,** 1997. Determination of singled oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: Effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochemistry*, 36: 12911–12920.
- Sun, Y., Oberley, L.W., and Li, Y.,** 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 34(3):497–500.
- Svobodova, Z., Vykusova B. and Machova, J.,** 1994. The Effects of Pollutants on Selected Haematological and Biochemical Parameters in Fish, eds. *R Muller and R. Lloyd, FAO, Blackwell*, 39-52.
- Şahan, A., Kurutaş, E. ve Dikel, S.,** 2003. Tatlı Suyu Adapte Edilmiş Levrek (*Dicentrarchus labrax*)’lerde Karaciğer Antioksidan Sistemler ve Lipid Peroksidasyonu, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 27: 1261–1267.
- Şanlı, Y.,** 1995. Özel Toksikoloji, Veteriner Klinik Toksikoloji, Editör Prof.Dr. Sezai Kaya, Medisan Yayınevi, Ankara, 21: 67-69.
- Tan, D.X., Chen, L.D., Poeggeler, B., Manchester, L.C., and Reiter, R.J.,** 1993. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrinology* 57–60.

- Tekkeş, Y.,** 2006. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, 66s.
- Thompson, H.J.,** 2004. DNA oxidation products, Antioxidant status, and cancer prevention, American Society for Nutritional Sciences, *Journal of Nutrition.*, 134: 3186-3187.
- Tiano, L., Fedeli, D., Santoni, G., Davies, I., Wakabayashi, T. and Falcioni, G.,** 2003. Ebselen prevents mitochondrial ageing due to oxidative stress: in vitro study of fish erythrocytes, *Mitochondrion* 2: 428 –436.
- Tizard, I.,** 1992. Veterinary Immunology: an Introduction, W. B. Saunders Company, Mexico, 498 p.
- Tomlin, C.D.S,** 2000. The Pesticide Manual, *British Crop Protection Council*, Fanham, UK, 203.
- Uçar, A.,** 2010. Doğal (Karanfil Yağı) Ve Sentetik (2-Fenoksietanol) Anestezik Maddelerinin Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) ve Kahverengi alabalığın (*Salmo trutta fario* Linnaeus, 1758) kan biyokimyası ve hematolojik parametreleri ile bazı enzim (G6PD, 6-PGD, GR, Katalaz) Aktiviteleri Üzerine Etkileri, *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- URL-1,** <http://aquatic.forum.st/t42-spyrulyna-yetitiriciloi> Spirulina (*Spirulina platensis*) Yetiştiriciliği. 10.Haziran.2012.
- URL-2,** http://www.algbiotek.com/spirulina_besin_degerleri.html Spirulinanın besin değerleri. 10 Haziran 2012.
- Üner, N., Oruç, E. ve Sevgiler, Y.,** 2004. Oxidative stres- related and ATPase effects of etoxazole in different tissues of *Oreochromis niloticus* ,*Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20 (1), 99-106.
- Valente, L.M.P., Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E.F. ve Pinto, I.S.,** 2006. Evaluation of Three Seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 252 (1): 85-91.

- van Muiswinkel, W.B.**, 1992. Fish immunology and fish health, *Netherlands Journal of Zoology*, 42 (2-3): 494 – 499.
- Varanka Z. Rojik, I., Varanka I., Nemcsók J., and Ábrahám M.**, 2001. Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio*L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 128 (3): 467–477.
- Vasudeva, R.Y., and Rina, C.**, 2005. Stimulation of immunity in Indian major carp *Catla catla* with herbal feed ingredients. *Fish & Shellfish Immunology*. 18, 327-334 pp.
- Vera, M.P. and Pocsidio G.N.**, 1998. Potential protective effect of calcium carbonate as liming agent against copper toxicity in the African tilapia *Oreochromis mossambicus*, *The Science of the Total Environment*, 214: 193–202.
- Watanuki, H., Ota K., Tassakka A.C., Kato T. and Sakai M.**, 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*, *Aquaculture*, 258 (1-4): 157–163.
- Watts, M., Munday, B.L., and Burke, C.M.**, 2001. Immune responses of teleost fish, *Australian Veterinary Journal*, 79: 570-574.
- Wilson, R.W. and Taylor, E.W.**, 1993. The physiological responses of freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure, *Journal of Comparative Physiology B*, 163: 38-47.
- Wise, D.J., Tomasso, J.R., Gatlin, D.M., Bai, S.C., and Blazer, V.S.**, 1993. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel cat fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5: 177 – 182.
- Wishkowsky, A., Roberson B.S., and Hetrick F.M.**, 1987, *In vitro* suppression of the phagocytic response of fish macrophages by tetracyclines. *Journal of Fish Biology* 31(A), 61-65.
- World Health Organization (WHO)**, 1984. Guidelines for Drinking Water Quality, *Health Criteria and Other Supporting Information*, Vol.1-2.

- Yamamoto, HA, and Tang, H.W.,** 1996. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *Journal of Pineal Research*. 21: 108-113.
- Yanbeyi, S.** 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üniv. Biyoloji Anabilim Dalı, *Doktora Tezi*, Samsun, 88s.
- Yazıcı, C. ve Köse, K.,** 2004. Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü Melatonin (The Antioxidant Power Of Darkness), *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü. Journal of Health Sciences)* 13(2): 56-65.
- Yeşilayer, N., Doğan, G. ve Erdem, M.,** 2008. Balık Yemlerinde Doğal Karotenoid kaynaklarının Kullanımı, *Journal of Fisheries Sciences*, 2(3): 241-251.
- Yıldız, M.,** 2001. Serbest radikaller oksidatif hasar ve antioksidan savunma, Yüksek Lisans Semineri, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Elazığ, 42s.
- Yıldız, M., Gürkan, O., ve Turgut, C.,** 2005. Tarımsal Savasımda Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları, *TMMOB Ziraat Mühendisleri 6. Teknik Kongresi*, Ankara, 1-22.
- Yılmaz, H.K.,** 2006. Mikroalg Üretimi İçin Fotobiyoreaktör Tasarımları, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/2): 327–332.
- Yılmaz, H.R., Türköz, Y., Yüksel E., and Örün, İ.,** 2006. An Investigation of Antioxidant Enzymes Activities in Liver of *Cyprinus carpio* Taken from Different Stations in the Karakaya Dam Lake, *International Journal of Science & Technology*, 1(1), 1-6.
- Yonar, M.E.,** 2002. Sulfamerazinin Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*, W.) İmmun Sistemine Etkisinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ, 38s.
- Yonar, M.E.,** 2008. *Yersinia ruckeri* İle Enfekte Edilen Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*)'nın Tedavisinde Propolisin Kullanılması, *Doktora tezi*,

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Elazığ, 186s.

Yuangsoi, B., Jintasataporn, O., Areechon N., and Tabthipwon, P., 2010. The Use of Natural Carotenoids and Growth Performance, Skin Pigmentation, and Immune Response in Fancy Carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Applied Aquaculture*, 22:267–283.

Yüksek, E., 2006. 2-Aminoimidazolin'in Ratların (Wistar) Bazı Kan Parametrelerine (A, E, C vitaminleri ve MDA) Etkilerinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Elazığ.

Yüzereroğlu, T.A, 2011. *Oreochromis niloticus'* da Bakır, Kadmiyum ve Bakır-Kadmiyum Etkileşiminde Metallerin Doku ve Organlarda Birikimi, Aliminasyonu ve Antioksidant enzim Aktivitelerine Etkileri, *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 150s.

Zoriia, I., Stroglyoudi, E., Buxens, A., Mazon, L.I., Papathanassfoo, E., Soto, M., and Cajaraville, M.P., 2005. Application of two SH-based methods for metallothionein determination in mussels and intercalibration of the spectrophotometric method: laboratory and field studies in the Mediterranean Sea, *Biomarkers*, 5: 342-359.

ÖZGEÇMİŞ

Malatya’da 20.02.1974 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Malatya’da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ni 1996 yılında kazandım. Bu fakülteden 2000 yılında mezun oldum. 2002 yılı güz döneminde Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans yapmaya hak kazandım. 2005 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladıktan sonra 2005-2006 eğitim yılının güz döneminde Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı’nın Hastalıklar Bilim Dalı’nda doktora yapmaya başladım. Halen doktora öğrenimime devam etmekteyim.

Hacı Bayram GÖKHAN