

155599

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Y. Lisans Tezi

SAPONİN' İN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Onchorhynchus mykiss*) KAN
PARAMETRELERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehtap CENGİZ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2004

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Muhammed ATAMANALP'ın danışmanlığında Mehtap CENGİZ tarafından hazırlanan bu çalışma 27.08.2004 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :Prof. Dr. M. Sıtkı ARAS

İmza



Üye :Doç. Dr. Muhammed ATAMANALP

İmza



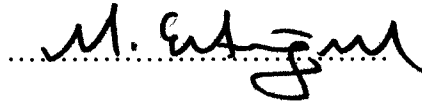
Üye :Yrd. Doç. Dr. Abdulkadir ÇILTAŞ

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Mehmet ERTUĞRUL
(imza)



Enstitü Müdürü

ÖZET

Y. Lisans Tezi

SAPONİN' İN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) KAN PARAMETRELERİ VE ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehtap CENGİZ

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Muhammed ATAMANALP

Balıklarda anestezi etkisi olan saponinin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda kan biyokimyası, canlı ağırlık artışı, hepatosomatik index (HSİ), bazı hematolojik parametreler ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve Glutasyon Redüktaz (GR) enzim aktivitelerine etkilerini belirlemek için balıklar saponinin iki farklı dozuyla (150 mg/kg ve 300 mg/kg) 44 boyunca beslenmişlerdir. Deney sonunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

1. GR enzim aktivitesi istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulunmuş ($P < 0.05$), fakat G6PD enzim aktivitesi gruplar arasında farklı bulunmamıştır. En yüksek enzim aktivitesi hem GR'de hem de G6PD'de kontrol grubunda bulunurken en düşük aktivite S300 grubunda tespit edilmiştir.

2. Hematolojik parametrelerden sadece hemoglobin değeri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). En yüksek hemoglobin değeri S150 grubunda, en düşük değer ise kontrol grubunda bulunmuştur. Hemoglobinin aksine hematokrit değeri deney gruplarında düşük bulunmuştur. Eritrosit sedimentasyon oranı (ESR)'ndeki değişiklikler oldukça azdır.

3. HSİ ve canlı ağırlık artışı parametrelerinde en yüksek değer kontrol grubunda ortaya çıkarken, S150 grubundaki büyüme oranı S300 grubundan daha yüksek olarak bulunmuştur.

4. Deney gruplarının besin maddesi kompozisyonları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Çalışma sonucunda verilen saponin miktarı ile sadece GR enzim aktivitesi, hemoglobin değeri ve canlı ağırlık artışı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) diyetlerine saponin katılmasıyla çalışılan diğer parametrelerdeki değişiklikler istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır.

2004, 50 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşuğu Alabalığı, Enzim Aktivitesi, Saponin, Kan Biyokimyası, Ağırlık Kazancı

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS OF SAPONIN ON BLOOD PARAMETERS AND ENZYME ACTIVITIES IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Mehtap CENGİZ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Fisheries

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Fish were fed with two different doses (150 mg/kg and 300 mg/kg) of saponin which have anesthetic effects on fish in order to determine the effect of saponin on blood biochemistry, weight gain, hepato-somatic index (HSI), proximate composition, some haematological parameters and glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and glutathione reductase (GR) enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). At the end of the experiment following results were obtained:

1. GR enzyme activity was statistically different from control group ($P < 0.05$), but G6PD enzyme activity was not statistically different among groups. The highest enzyme activities in both GR and G6PD were in the control group and the lowest activity was in S300 group.
 2. Only haemoglobin values in haematological parameters were statistically different at $P < 0.05$ level. The highest haemoglobin value was in S150 group and the lowest ratio was in control group. By contrast haemoglobin, haematocrit values fell in treatment groups. The changes of erythrocyte sedimentation rate (ESR) values were too small.
 3. In the parameters of HSI and initial weight gain the highest value in control groups and growth rate of S150 was higher than S300 group.
 4. The changes of proximate composition of treatment groups were not statistically different.
- At the end of this study we have concluded that amount of saponin amount in diet affects only GR enzyme activity, haemoglobin value and initial weight gain. Studied other parameters were not statistically affected by dietary saponin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

2004, 50 Pages

Key Words: Rainbow trout, Enzyme Activity, Saponin, Blood Biochemistry, Weight Gain

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın yürütülmesi esnasında yardımlarını gördüğüm, Sayın Tez Danışman Hocam Doç. Dr. Muhammed ATAMANALP'e teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma sırasında verdiği kaynaklarla destek olan Sayın Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Sıtkı ARAS Hocamıza, yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Uzman İsmail ÖZMEN, Sayın Doç. Dr. Nurinisa ESENBUĞA ve Sayın Doç. Dr. Muhlis MACİT'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Tez çalışmam esnasında bana değerli vaktini ayırarak, ilmi ve pratik bilgileriyle tezimin her aşamasında bana sürekli destek olup, yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Abdulkadir BAYIR'a ve her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında da sürekli yanımda olan arkadaşım Sayın Y. Lisans Öğr. Hilal ÇANAKÇI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bana uzakta olan ailemi aratmayan arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Mehtap YILMAZ'a, Sayın Arş Gör. Hatice YILMAZ'a ve her zaman manevi destek veren arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Birsen KIRIM ve Sayın Arş. Gör. Necdet SİRKECİOĞLU'na, tezimin düzeltmelerinde yardımlarını gördüğüm arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Pınar OĞUZHAN'a ve Sayın Y. Lisans Öğr. Simay ANGIŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezi hazırlama süresinin her aşamasında kilometrelerce uzaktan beni daima destekleyen aileme ve özellikle ablama sonsuz teşekkür ederim.

Mehtap CENGİZ

Ağustos 2004

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	11
3. MATERYAL VE METOT.....	16
3.1. Materyal	16
3.1.1. Deneme Süresi.....	16
3.1.2. Araştırma Yeri.....	16
3.1.3. Su Materyali	16
3.1.4. Araştırma Tankları	17
3.1.5. Balık Materyali.....	18
3.1.6. Kimyasal Materyali.....	19
3.1.7. Kullanılan Laboratuvar Alet ve Ekipmanları	20
3.2. Metot	22
3.2.1. Suyun Filtrasyon Sistemi	22
3.2.2. Su Dağıtım Düzenegi	23
3.2.3. Deney Balıklarının Seçilmesi ve Yerleştirilmesi	23
3.2.4. Yemlerin Hazırlanması ve Balıkların Beslenmesi	24
3.2.5. Su Sıcaklıklarının Ölçülmesi.....	24
3.2.6. Kan Örneklerinin Alınması	24
3.2.7. Hemolizat Hazırlanması.....	25
3.2.8. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	26
3.2.9. Glukoz 6 fosfat Dehidrogenaz (G6PD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	27
3.2.10. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	29
3.2.11. Hemoglobin Miktarının Tayini	30
3.2.12. Hematokrit Tayini	30
3.2.13. Eritrosit - Sedimantasyon Oranı (ESR).....	30
3.2.14. Biyokimyasal Kan Analizleri	30
3.2.15. HSI Hesaplanması	31
3.2.16. Canlı Ağırlık Artışının Hesaplanması	31
3.2.17. İstatistik Analizler	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	32
4.1. Enzim Aktiviteleri	32
4.2. Hematolojik Parametreler	33
4.3. Canlı Ağırlık Artışı.....	34
4.4. Besin Maddesi Kompozisyonu.....	34
4.5. Kan Biyokimyası.....	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	37
5.1. Enzim Aktiviteleri.....	37

5.1.1. G6PD Enzim Aktivitesi.....	37
5.1.2. GR Enzim Aktivitesi.....	38
5.2. Hematolojik Parametreler	38
5.2.1. Hematokrit.....	39
5.2.2. Hemoglobin.....	39
5.2.3. Eritrosit Sedimantasyon Oranı (ESR)	40
5.3. Hepatosomatik İndeks (HSİ) Değeri	40
5.4. Canlı Ağırlık Artışı.....	41
5.5. Besin Madde Kompozisyonu	41
5.6. Biyokimyasal Parametreler	42
5.6.1. Glutamik Oksaloasetik Transaminaz (GOT).....	42
5.6.2. Aspartat Aminotransferaz (GPT)	42
5.6.3. Trigliserid (TG).....	42
5.6.4. Kolesterol (CHOL).....	43
KAYNAKLAR.....	45



SİMGELER DİZİNİ

APEs	Alkali poliethoksilate
CHOL	Kolesterol
Cl	Klorür
DHNQ	Nafthazarin
DNA	Deoksiribonükleikasit
FSD	Fransız Sertlik Derecesi
GOT	Glutamic oksaloacetic transaminase
GPT	Aspartat Aminotransferase
GPX	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon reduktaz
GSSG	Okside Glutasyon
G6PD	Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz
Hb	Hemoglobin
HSI	Hepatosomatik İndex
IDH	İzositrat dehidrojenaz
KCl	Potasyum Klorür
LC	Letal Konsantrasyon
LDH	Laktat dehidrojenaz
MD	Menadione
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamidadenin Dinükleotidfosfat
NO ₃ ⁻	Nitrat
NO ₂ ⁻	Nitrit
NP	Nonilfenol

PGDH	Fosfoglukonat dehidrogenaz
PQ	Parakuat
pH	Asitlik Özelliği
PO ₄ ⁻³	Fosfat
PPP	Pentoz fosfat yolu
SO ₄ ⁻²	Sülfat
SBV	Asit Bağlama Gücü
TG	Trigliserit
6PGDH	6-fosfoglukonat dehidrogenaz
β-NF	β-nafthoflavon



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. β -amirenot'un Açık Formülü	7
Şekil 3.1. Çalışmanın Yürütüldüğü Tanklar.....	18
Şekil 3.2. Araştırmada Kullanılan Tankların Kesiti (Orijinal).....	18
Şekil 3.3. Denemede Markalanan Balıklardan Örnek.....	19
Şekil 3.4. Araştırmada Kullanılan Suyun Klorunu Gidermekte Kullanılan Filtrenin Kesiti.....	23
Şekil 3.5. Balıklardan Kanın Alındığı Bölge	25



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Saponin İçeren Bazı Bitkiler	5
Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Suyun Kimyasal Özellikleri.....	17
Çizelge 3.2. Balıkların Beslenmesinde Kullanılan Yemin Besin Madde Kompozisyonu (Etiketten alınmıştır).....	22
Çizelge 4.1. Çalışma Sonunda Deneme Gruplarında Elde Edilen GR ve G6PD Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiki Analiz Sonuçları.....	32
Çizelge 4.2. Deneme Sonunda Gruplardaki Hemoglobin Değerleri... ..	33
Çizelge 4.3. Deneme Sonunda Gruplardaki Hematokrit ve ESR Değerleri ve İstatistik Analiz Sonuçları.....	33
Çizelge 4.4. Deneme Gruplarına Ait HSI ve Canlı Ağırlık Artışı Değerleri ve Bu Değerlerin İstatistiki Analiz Sonuçları.....	34
Çizelge 4.5. Çalışma Sonunda Balıklarda Yapılan Proximate Analiz Sonuçları	35
Çizelge 4.6. Çalışma Sonunda Deneme Gruplarının Kan Biyokimya Değerleri ve İstatistiki Analiz Sonuçları.....	36

1. GİRİŞ

Su ürünleri avcılığı ilk çağlardan günümüze kadar insanların uğraş verdiği, gıda temini ve geçim kaynağı olarak çaba gösterdiği bir üretim sektörü olarak yerleşmiş ve gelişme süreci göstermiştir. Gerek denizlerde ve gerekse iç su kaynaklarında en ilkel şekilden günümüz teknik düzeyine gelinceye kadar teknolojiye paralel olarak gelişim kazanmış, sonuçta bir sanayi sektörü olarak yer almıştır (Hoşsucu 1998).

Günümüzde en son gelişmiş teknoloji ürünleri balıkçılıkta kullanılmaktadır. Gerek elektronik ve mekanik cihazlar ve gerekse denize elverişli uygun tekneler balıkçılıkta yerini almıştır. Bugün balıkçılıkta en son model araçlar kullanılırken, yüzlerce yıl önce kullanılan araçlar da terk edilmemiştir. Çünkü her av aracının, farklı su ürünlerinin avlanmasında ayrı bir yeri ve önemi vardır (Çelikkale 1993).

Çeşitli avlanma araçlarının yanı sıra halkın geliştirdiği bir takım avlama metotları da mevcuttur. Bunlardan biride sığır kuyruğu bitkisinin suya vurularak köpük oluşturmasından kaynaklanan anestezi etkisiyle balıkların bayıltılıp su yüzünden toplanmasıdır.

Sığır kuyruğu iki yıllık bir bitkidir. İlk yılda geniş rozet şeklinde, kalın, mat ve oval yaprakları çıkar. Bu yapraklar kışın kar altında da canlılıklarını sürdürürler. İkinci yıl dallanma olur. Gövdede çiçeklenme başlar. Daha küçük, mat, oval dallanmamış diğer yapraklarda çıkar. Kurak yerlerde, boş arazilerde, ağaç kenarlarında bulunur. İyi drenajlı alkali toprakları tercih eder. Fakir topraklarda yetişmez. Ayrıca güneşi seven bir bitkidir. Ana gövdeye yapışık yoğun şekilde stoklanmış sarı çiçekleri ve beş erkek, bir dişi organı vardır. İçerdiği kumarin nedeniyle memelilere toksik olmayan sığır kuyruğu, doğal bir insektisittir ve balıklar için zehirleyici etkiye sahiptir. Etkili maddesi saponindir (Schwartz 2000).

Sığır kuyruğu ilk olarak 1700'lü yılların ortalarında Amerika'da Virjinya'da balık zehri olarak kullanılmış ve 1839'da Michigon'da tıbbi bir bitki olarak tanımlanmıştır. Bu bitki; astım, spazmodik öksürük, diyare ve akciğer problemleri gibi ateşli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Türker ve Camper 2002).

Tek bir bitkiden 100.000-180.000 tohum çıkar ve bu tohumlar 100 yıldan daha fazla canlılıklarını koruyabilirler. Aktif bileşenleri %3 zank ile saponin ve tanindir. Sığır kuyruğu; astım, bronşit, soğuk algınlığı ve diş ağrısı tedavisinde kullanılmaktadır. Yaraya dıştan sürüldüğü takdirde bazı yaraları iyileştirme özelliği vardır. Bunların yanı sıra çiçeklerinin yağ ekstraktı kulak ağrısının tedavisinde kullanılmaktadır. Kumarin içeriğinden dolayı karaciğere toksik etki yapmaktadır. İçerdiği rotenon dolayısıyla insektisit olarak kullanılmakta ve yine aynı madde balıklarda zehirlenme etkisi yapmaktadır (Johnson 2000).

Sığır kuyruğu yaprakları yaklaşık %3 suda çözülebilir polisakkaritleri, %47 D-galaktoz, %25 arabinoz, %14 D-glikoz, %6 D-ksiloz, %4 L-rhamnoz, %2 D-mannoz, %1 L-fukoz, %12,5 uronik asitler, %1,5-4 flavonoidler, apigenein, luteolin, 7-O-glukozitler, kaempferol ve rutin, kafeik asit, kafeik, ferulik, ve verbaskoside iridoid monoterenler; aucubin, triterpen saponin (verbascosaponin) Steroller, %11 fructose+glucose (Klimek 1996) içerir. Ayrıca Verbascum türleri saponin glikozitlerini içerir ki bunlar eritrositleri parçalamalarıyla tanınırlar (Warashina *et al.* 1992).

Verbascum nigrum çiçeklerinden izole edilen iki tür saponin vardır. Bunlar: 3-O-([alpha-L-rhamnosyl-(1→4)-(beta-D-glucopyranosyl-(1→3)]-beta-D-glucopyranosyl]- (1→2)-beta-ucopyranosyl)-13 beta, 28-epoxyolean-11-ene-3 beta, 23-diol ve 3-O-([alpha-L-rhamnosyl-(1→4)-(beta-D-glucopyranosyl-(1→3)-beta-D-glucopyranosyl]- (1→2)-beta fucopyranosyl)-11-methoxy-olean-12-ene-3 beta, 23, 28-triol'dür (Klimek ve Lavaud Massiot 1996).

Saponinler genellikle sindirim sisteminde parçalanırlar ve kan dolaşımına geçerek toksik olurlar. Bunun yanında balıklar saponini direk solungaçlarından dolaşım sistemine de alabilirler. Toksin balığın solunum organlarında etkili olur, balıkların yenilebilirliğini etkilemez. Saponinler aynı zamanda eritrositlerin parçalanmasına neden olarak toksinin hızlı yayılmasına yol açarlar. Zehrin etkisi güçlü olmasına rağmen genellikle öldürücü değildir. Balıklar zehir bulunmayan sulara konulduğunda zehirlenme öncesi şartlarına geri dönebilirler. Bu yüzden balıklar sersemleyip yüzeye çıkan balıkları kısa sürede toplarlar. Saponinler glikozit (glikoz üreten) grubu olup suya karıştırıldıklarında köpürme özelliği göstermeleriyle bilinirler. Saponinler suyun yüzey geriliminden daha düşük olduklarından küçük stabil baloncuklar formunda bulunurlar. Bitki suya çarpılıp daha sonra su çalkalandığında oluşan köpüğün miktarı, bulunan saponin miktarının iyi bir göstergesidir. Saponinler endüstride, yangın söndürme tüplerinde, diş macunlarında, sıvı sabunlarda, şampuanlarda, kozmetik sanayiinde, bira ve diğer bazı içkilerin yapımında kullanılırlar. Saponin ihtiva eden bitki familyaları; *Amaryllidaceae*, *Convolvulaceae*, *Dioscoreaceae*, *Lamiaceae*, *Lecythidaceae*, *Liliaceae*, *Loganiaceae*, *Meliaceae*, *Menispermaceae*, *Papilionaceae*, *Sapindaceae*, *Sapotaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Verbenaceae*'dir (Kritzon 2003).

Zengin (1999), Reznicek *et al.* 1989, Çalış *et al.* 1997'a atfen; *Cyclamen L.* ailesinin kimyasal bileşenleri üzerinde yapılan araştırmalarda genelde saponin türü maddeler olduğunu bildirmiştir. Fakat *C. coum* Miller türünde yapılan daha önceki araştırmada bazı bilinen ve bilinmeyen apolar maddelere rastlanmıştır (Baltacı 1996, Yaylı ve Baltacı 1996, Yaylı ve Baltacı 1997). *C. coum* Miller bitkisinin polar fraksiyonu bu araştırmada çalışılmış olup, üç adet triterpen saponin türü ve bir adet karbonhidrat türü madde kromatografik olarak izole edilmiştir (Babadjamian *et al.* 1988, Reznicek *et al.* 1989, Çalış *et al.* 1997, Yaylı *et al.* 1998). Saponin adı verilen maddeler karbonhidrat zincirinin triterpene glikosidik bağlanması sonucu oluşan büyük molekül yapıları maddelerdir. Çok sayıda polar fonksiyonel grupları bulunduğundan sulu çözeltilerde çok iyi derecede çözünen doğal bileşiklerdir (Reznicek *et al.* 1989, Yaylı 1992, Çalış *et al.* 1997, Yaylı *et al.* 1998). Saponinler biyolojik açıdan çeşitli virüslere karşı oldukça

aktif özellik göstermektedir (Bikas ve Mahato 1987, Ahmad *et al.* 1990, Shao *et al.* 1996).

Yücekutlu (2000), Kırk-Otmer 1985, Çalış *et al.* 1997'e atfen; saponinlerin amorf, renksiz ve kokusuz özellikte maddeler olduğunu, su, etanol ve metanol gibi polar çözücülerde çözünüp, apolar çözücülerde çözünmediğini ve saponinlerin suyla çalkalandığında kalıcı köpük oluşturan glikozitler olduğunu bildirmiştir.

Yücekutlu (2000) Özek 1987'e atfen; saponinlerin yüzey gerilimini azalttığı için çok iyi emülsiyon yapıcı maddeler olduğunu, bazı tip saponinlerin, özellikle sabun yerine deterjan yapıcı olarak geniş oranda kullanılmakta olduğunu ve nötral-hafif asit karakterde olup, kanı hemoliz etme etkisine sahiptir olduğunu bildirmiştir. Saponinlerin çoğu toksik olduğundan kana doğrudan verildiğinde çok zehirli olmasına karşılık, ağızdan alındığında bağırsaklardan içeri nüfuz etmediği için memeliler için zararsızdır. Ancak fazla alındığında bulantı ve kusma meydana getirmektedir. Saf halde elde edilmeleri oldukça zor olan saponinler geniş bir bitki topluluğunda bulunmaktadır.

Çizelge 1.1. Saponin İçeren Diğer Bitkiler (Yücekutlu 2000)

Saponin Adı	Saponin Tipi	Bulunduğu Bitki
Digitonin	Steroidal	<i>Digitalis purpurea</i> (Mayasil otu)
	Steroidal	<i>Digitalis lanata</i> (Yüksük otu)
Dioscin	Steroidal	<i>Dioscorea turteri</i> (Sarmaşık)
Sarsaponin	Steroidal	<i>Smilax</i> spp. (Silcan)
Yucconin	Triterpenik	<i>Yucca schottii</i>
Aescin	Triterpenik	<i>Aesculum hippocastanum</i> (At kestanesi)
Glycyrrhizin	Triterpenik	<i>Glycyrrhiza</i> spp. (Meyan)
Gypsophila saponin	Triterpenik	<i>Gypsophila</i> spp. (Çöven otu)
Primula saponin	Triterpenik	<i>Primula</i> spp. (Çuha Çiçeği)
<i>Quillaja</i> saponin	Triterpenik	<i>Quillaja</i> saponin
Saporubin	Triterpenik	<i>Saponarie officinalis</i> (Sabun otu)

Bitkilerde bulunan bazı heterozitlerin sudaki çözeltileri çalkalanınca kalıcı köpük meydana getirir. Bu tip heterozitlere saponozit adı verilmektedir. Hetrozitler şeker olarak genellikle glukoz, bazen galaktoz, arabinoz, ksiloz, ramnoz ve hatta bir üronik asit (glukuronik asit) taşırlar. Saponozitlerin aglikonuna sapogenol denir. Saponozitler bitkiler aleminde çok yaygın maddelerdir. Bazı saponozitler kalp ve dolaşım sistemi üzerine etki etmektedir. Bir deniz hayvanı olan *Asteria vulgaris*'ten elde edilen tetrasiklik triterpen yapısındaki saponozit, hipotansör etkisi göstermektedir (Yücekutlu 2000).

Steroidall Saponinler

Liliceae, *Dioscoreacea* ve *Amaryllidaceae* gibi bitkilerin bulunduğu familyalarda yaygındır. Aglikonlarına göre başlıca dört grupta incelenirler.

a-Spirostanol Saponinler

Bilinen aglikonlar arasında doksandan fazla spirostanol türü vardır. Bazı glikozitlerde üçüncü karbondaki “-OH” dan başka 1, 2, 5, 6, 7 veya 11. karbonda bulunan -OH grupları üzerinden şekerler bağlanır (Çalış 1997).

b-Frastanol Saponinler

Spirostanollerin “F” halkasının açılmasıyla meydana gelir. Spirostanollerin farklı olarak 26. karbonda bir şeker grubu bulunur. Yapılan araştırmalar bu şekerin genellikle D-glukoz olduğunu göstermiştir. Asidik veya enzimatik hidrolizle D-glikoz aglikondan ayrılırsa halka kapanır.

c-Nugatigenin Saponinler

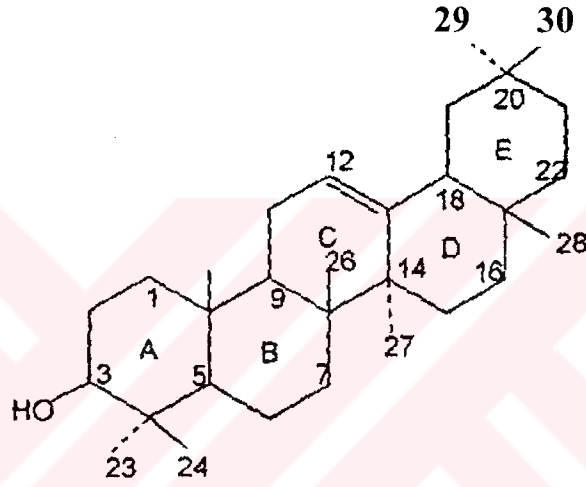
Bu saponinlerde “F” halkası beşlidir. 26. karbonda bir hidroksil grubu 5 ve 6 no’lu karbonlar arasında çift bağ vardır.

d-Polipodo Saponinler

İlk olarak “*Polipodium vulgare*” rizomlarından elde edilmiştir. Yeni bir saponin türü olarak kabul edilen yapı kolesterolün 8 karbon atomlu yan zincirinin siklo-yarıasetal altılı halka meydana getirmesiyle oluşmuştur.

Triterpenik Saponinler

Tabiatta günümüze kadar bulunan saponinlerin daha çok triterpenik yapıda aglikon ihtiva ettiği tespit edilmiştir (Çalış 1997). Bugüne kadar 115'ten fazla triterpenik saponin ve prosapogenolun yapısı açıklanabilmiştir. Triterpenik saponinler pek çok bitkide rastlanmış olan β -amirenol ile aynı iskeleti taşırlar. Bu tip triterpenler 3. karbondaki bir "-OH" grubu taşırlar.



Şekil 1.1. β -amirenol'ün açık formülü

a-Monodesmozidik Saponinler

i-Nötral saponinler

Nötral saponinlerde şeker kısmı aglikonun 3. karbonundaki "-OH" grubuna bağlıdır. Bu tip saponinlere tabiatta az rastlanır. Kolesterol ile çok güç çözünen kompleks oluştururlar. Kuvvetli hemolitik etkiye sahiptirler.

ii-Ester saponinler

Ester saponinler yapı bakımından en karışık gruplardan birini oluştururlar. Bu saponinlerin yapıları tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu tür saponinler fizyolojik etkilerinin öneminden dolayı eczacılık alanında kullanılmaktadır. Ülkemizde süs ağacı olarak yetişen “*Aesculus hippocastanum*” (At kestanesi)’un tohumundan elde edilen “Eskin” ester türü bir saponindir. Eskinin yapısı üzerinde yapılan çalışmalarda şeker kısmının D-glukoz, D-ksiloz ve D-galaktoz oluştuğu bulunmuştur.

iii-Asidik saponinler

Asit aglikonlu saponinler triterpenik saponinlerin en yaygın olan ve en iyi bilinen grubudur. Aglikona bağlı bulunan bir karboksil grubu saponine bir asidik özellik kazandırır. Ursolik asit bu tip saponinlere örnek olarak verilebilir.

iv-Açıl saponinler

Az bulunan saponinlerdir. Aglikonun 17. karbonundaki karboksil grubuna şekerlerin bağlanmasıyla meydana gelir. Açıl saponinler, monodesmozidik saponinlerin karakteristik özelliklerini taşımazlar. Aglikonun karboksil grubunda bulunan kuvvetli bir polarlaşmanın karakteristik saponin özelliğini azalttığı görülür.

b-Bisdesmozidik Saponinler

i-Nötral bisdesmodik saponinler

Bu türün aglikonu asidik karakter gösterir. Bu özelliği veren aglikonuna şekerlerin bağlanması ile nötral özellikteki bisdesmozidik saponinler meydana gelirler.

ii-Asidik bisdesmozidik saponinler

Çok polar saponinlerdir. Aglikona çok sayıda şeker bağlanmıştır. Yıkama sularında deterjan, yangın söndürücülerde köpük oluşturuçu olarak, ayrıca film sanayinde ışığa karşı duyarlı tabakaların yapılmasında kullanılır.

c-Hayvansal Saponinler

Son zamanlarda bazı deniz hayvanlarından elde edilen heterozitlerin saponinlerle aynı özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir (Yücekutlu 2000).

Saponinler kolesterol ve safra asidi gibi steroller ile miselleslerden oluşurlar. Saponinin hidrofobik kısmı, toplanmış bir yığın miseller içindeki hidrofobik sterol nükleus ile ilgilidir. Kolesterol ve diğer steroller ile saponin arasındaki etkileşim saponinin biyolojik etkileri ve bunların membran aktiviteleri ile açıklanmaktadır (Cheeke 2000).

Oakenfull ve Sidhu (1989), kümes hayvanlarında kan ve doku kolesterol seviyelerinde diyet saponinlerinin etkilerini araştırmışlardır. Tavukların diyetlerinde bulunan saponinin kan kolesterol seviyesini azalttığını tespit etmişlerdir. Bu etkiler benzer şekilde bağırsak ve safrada kolesterol bağlayan saponinlerin bir sonucu olduğunu ve reabsorbsiyonu engellediğini bildirmişlerdir.

Arslan (1995), Kocaçalışkan 1994'e atfen; saponinlerin antifungal etkisinin, ilk olarak 1963 yılında avakado bitkisinde kök çürüklüğüne sebep olan *Phytophthora cinnamoni* mantarı üzerindeki etkisiyle ortaya çıktığını bildirmiştir.

Enzimler bir kimyasal reaksiyonun hızını artıran ve katalizledikleri reaksiyon sırasında tüketilmeyen protein katalizörleridir. Vücuttaki tüm reaksiyonlar enzimler tarafından yürütülür. Enerji açısından mümkün olan bir çok biyolojik reaksiyon arasında, enzimler substratları kullanışlı yollara seçici olarak kanalize ederler (Champe ve Harvey 1997).

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49) enziminin temel görevi NADPH üretmek olan pentoz fosfat yolunun ilk basamağını katalizlemektir. Dolayısıyla bu enzim pentoz fosfat yolunun ilk ve kilit enzimidir (Lehninger *et al.* 1993, Slenzka *et al.* 1994, Keha ve Küfrevioğlu 1997). Bu yolla üretilen NADPH'lar genel olarak; yağ asitlerinin, steroidlerin, bazı aminoasitlerin, indirgenmiş glutatyonun ve DNA'nın sentezinde kullanılırlar (Bonsignore *et al.* 1966, Bonsignore ve Flora 1972).

Glutatyon ve glutatyon türevleri balıklarda oksidatif strese karşı savunma görevi yapan önemli bileşiklerdir (Stephensen *et al.* 2002).

Balıklarda G6PD enzim aktivitesi özellikle beslenme ve çevre şartlarına göre değişiklik göstermektedir. Oysa CA enzim aktivitesi ile beslenme ve diğer şartlar arasında bir ilişkinin varlığına karşın etkileşme sınırları ve bu sınırların interaksiyonlarının boyutları tam olarak netleşmemiştir (Bayır 2002).

Vücut radikallere karşı kendi savunma sistemini kurar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik oksijen radikali yakalayıcıları, askorbat (C vitamini), ürat ve redükte glutatyon gibi hidrofilik radikal tutucular, tokoferoller (E vitamini), flavonoidler, karotenoidler (A vitamini) ve ubikuinol gibi lipofilik radikal tutucular, glutatyon redüktaz, dehidroaskorbat reduktaz ve tiyoredüksin redüktaz gibi antioksidanları yenileyen enzimler ve diğer indirgenleri yenileyen hücresel mekanizmalar vardır (Doğan 2002).

Bu çalışmanın amacı; balıklara anestezi etkisi olan sığır kuyruğu (*Verbascum spp.*) bitkisinden elde edilen ticari saponinin 150 mg/kg (S150) ve 300 mg/kg (S300) dozlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda büyüme, kan parametreleri, hepatosomatik indeks ve eritrositlerdeki GR ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktiviteleri üzerine etkilerini belirlemektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Francis *et al.* (2001) Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larının diyetlerine 0, 150 ve 300 mg/kg dozlarında *Quillaja* saponin ilave etmişler ve çalışma sonucunda kg'ında 150 mg saponin içeren rasyonla beslenen gruptaki balıkların büyüme oranlarının diğer iki gruptakilerden (S300 ve kontrol grubu) daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca deneme sonucunda S300 grubunun ortalama enerji tutma, yağ dönüşümü, karkas yağı ve enerji bakımından diğerlerinden önemli derecede yüksek değerler gösterdiğini ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında enerji değerinin önemli derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. S300 grubunun, kontrol ve S150 grubu değerlerinin arasında bir değer gösterdiğini ve S300 grubunda kolesterol seviyesinin, kontrol grubundan önemli derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Siddhuraju ve Becker (2003) Nil tilapia diyetlerine saponin içeren başka bir bitki olan mucuna (*Mucuna pruriens* (L.)) tohumları ilave ederek 8 haftalık bir deneme yapmışlardır. Ham mucuna tohumlarıyla beslenen balıkların plazma kolesterol seviyesi diğerlerine oranla önemli ölçüde düşük olarak tespit edilmiştir. Bununla beraber kas kolesterolünde gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığı görülmüştür. Hepatosomatik indeks (HSI) değerinin, suda ıslanmış, %0.07'lik sodyum bikarbonatta ıslanmış, %0.1'lik askorbik asit solusyonunda ıslanmış, %3 oranında moringa yaprakları tozu içeren suda ıslanmış mucuna tohumlarıyla beslenenlerinki kontrol grubundan önemli derecede düşük, ham mucuna tohumuyla beslenenlerinkinden ise oldukça yüksek bulunmuştur.

Türker ve Camper (2002) tıbbi bir bitki olan sığır kuyruğunun, suda, etanol ve metanolda ekstraktları hazırlamış; su ekstraktında antibakteriyal aktivite (*Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Escherichia coli*) olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca sığır kuyruğunun bütün ekstraktlarda patates dokularında *Agrobacterium tumefaciens*'in neden olduğu tümörleri inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Ekstraktların yüksek konsantrasyonlarının deniz karideslerine toksik

olduğunu ve turpların tohumlanması ve büyümesi üzerine olumsuz etki yaptığını bildirmişlerdir.

Bureau *et al.* (1998) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve chinook salmonları (*Oncorhynchus tshawytscha*)'nda arındırılmış alkol ekstraktının soya fasüyesinden (PAES I) ve soya proteininin izole edilmesinden (PAES II), büyüme ve bağırsak mukozasında etkilerini belirlemek için iki çalışma yürütmüşlerdir. PAES soya saponinin izolasyonu planlanarak yapılan bir ekstraksiyon şeklidir. İlk çalışmadaki diyet yarısı balık yeminden gelen, yarısı da soyadan gelen proteinden ayarlanmıştır. Kontrol diyeti %32 soya proteini (SPC) ve %44 soya fasüyesi (SBM) içermektedir. SBM diyetinde saponin seviyesi beklenen değerde bulunmuştur. SPC diyeti PAES I diyetine ilave edilmiş ve SBM diyetinde saponin seviyesi beklenen değerde olmuştur. SPC diyeti %0.15 *Quillaja bark* saponin (QBS15) ve %0.30 (QBS30) ile karıştırılmıştır. SBM ve PAES I diyetleriyle beslenme chinook salmonlarında besin alımını dramatik olarak düşürdüğünden büyümenin tamamen durduğunu bildirmişlerdir. PAES I diyetinin gökkuşuğu alabalıklarında da büyümeyi durdurduğunu tespit etmişlerdir. Gökkuşuğu alabalığında ve chinook salmonlarında QBS30 diyeti büyümeyi istatistiki olarak önemli ölçüde engellerken QBS15 diyetinin engellemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca her iki diyetinde önemli bağırsak zararlarına yol açtığını tespit etmişlerdir. PAES I diyeti gökkuşuğu alabalığında bağırsak mukozasında minimum bir etki yapmaktadır. İkinci çalışmada gökkuşuğu alabalığı ve chinook salmonlarının diyetlerine %0.3 PAES II ilave edilmiştir. PAES II diyeti chinook salmonlarının büyümesine ve besin alımına önemli derecede etki yapmıştır. Chinook salmonlarında PAES II diyetiyle beslemenin 3. gününde besin alımında istatistiksel olarak önemli derecede artış olmuştur. PAES'in etkilerinin soya saponininden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Mitra ve Dungan (2001) sulu solüsyonlarda *Quillaja* saponinin oda sıcaklığında kolesterol çözünürlüğünü 10^3 kat artırdığını ve 298 K'de pH 4.6'da sıcaklık ve NaCl artırıldığında kolesterol çözünürlüğünü yine yükselttiğini bildirmişlerdir.

Nagesh *et al.* (1999) saponin içerikli toksik bitkilerin karides juvenillerinin kabuk kalitesi ve hayatta kalmaları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, kabuk yumuşaklığının saponinin dozuna ve maruz kalma süresine göre değiştiğini; yumuşak kabuklu karideslerin hepatopankreaslarında en önemli değişikliğin hepatopankreatik boruların dejenerasyonu olduğunu bildirmişlerdir.

Barroso *et al.* (1999) farklı sıklıklarda çeşitli aminoasitlerin ilave edildiği diyetlerle beslemenin gökkuşağı alabalıklarında büyüme ve NADPH sistemlerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma neticesinde G6PD, 6PGDH, malik enzim (ME) ve NADP temelli izositrat dehidrogenazın kinetik davranışlarının karaciğer, böbrek ve adipoz dokularında arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca hem yemleme sıklığının hem de serbest aminoasitlerin en önemli sitosolik NADPH retim sistemleri aktivitelerini etkilediğini ve balıklarda NADP ile ilgili enzimlerin beslenme ve metabolik faktörler tarafından etkilendiğini bildirmişlerdir.

Van Noorden *et al.* (1997) yaptıkları bir çalışmada kirlenmemiş açık denizden ve çok kirlenmiş nehir ağızlarından yakaladıkları dil balıklarında G6PD ve fosfoglukonat dehidrogenaz (PGDH) aktivitelerindeki farklılıklara bakmışlar ve çalışma neticesinde su kirliliğinin PGDH aktivitesini önemli ölçüde etkilediğini, fakat G6PD aktivitesi üzerine çok fazla bir etki göstermediğini belirlemişlerdir.

Bayır (2002) belirli aralıklarla canlı ve yaş yemlerle beslemenin, gökkuşağı alabalığı frylarının eritrositlerindeki G6PD ve plazmalarındaki karbonik anhidraz (CA) enzim aktiviteleri üzerine etkilerini incelemiş ve canlı yemle beslenen gruptaki G6PD enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre %21 oranında artış gösterdiğini saptamıştır.

Barroso *et al.* (2001) gökkuşağı alabalığı diyetlerinde lipid metabolizması için esansiyel olan karbonhidratın balıkların karaciğer ve adipoz dokularında dört hücresel NADPH retim sisteminin [G6PD, 6PGDH, malik enzim (ME) ve NADP'ye bağımlı izositrat dehidrogenaz (NADP-IDH)] moleküler davranışını araştırmak için bir çalışma yapmışlar ve bu çalışma sonucunda, karbonhidrat yokluğunun alabalık karaciğerindeki

G6PD, ME ve NADPH-IDH konsantrasyonlarını ve enzim aktivitelerini önemli ölçüde azalttığını, fakat dokuda bu değişikliklerin meydana gelmediğini tespit etmişlerdir.

Köhler *et al.* (1998), çevresel faktörlerin dil balığında G6PD ve diğer bazı enzimlerin aktiviteleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada su kirliliğinin dil balığı karaciğerindeki G6PD aktivitesini durdurma noktasına getirdiğini saptamışlardır.

Gül *et al.* (2004) Seyhan Baraj Gölü'nün temiz ve kirli bölgelerinden 10'ar tane tatlı su balığı (*Cyprinidae*) almış ve bu balıkların karaciğer örneklerinde glutatyon-S-transferaz (GST), laktat dehidrogenaz (LDH), CAT, G6PD, SOD ve malondialdehit (MDA)'i incelemişler;. kirli bölgelerde yaşayan balıkların karaciğerlerinde yapılan mikroskopik deneylerle kısmi dejenerasyon ile mikro ve makrovasküler yağ dejenerasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca kirli bölgelerde yaşayan balıkların karaciğer metabolizmalarının, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik gözlemler için hassas belirleyiciler olduğunu bildirmişlerdir.

Stephensen *et al.* (2002) yapmış oldukları çalışmada gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'ni 5 gün boyunca parakuat, menadione, naftazarin ve β -naftoflavon (β -NF) kimyasallarına maruz bırakmışlar ve bu kimyasalların GR aktivitesini artırdığını tespit etmişlerdir. β -NF hariç diğer kimyasalların GST aktivitesini yükselttiğininide bildirmişlerdir.

Kolaylı (1996) yapmış olduğu çalışmada yaş, boy ve ağırlıkları yaklaşık aynı olan ve bir kısmı belli bir süre tatlı suda yetiştirildikten sonra deniz suyunda yaşamaya adapte edilmiş, diğeri ise tamamen tatlı suda yaşayan gökkuşağı alabalıklarının (*Salmo gairdnerii*) karaciğer ve eritrositlerindeki SOD, CAT, GPx, GST ve GR antioksidan enzim aktiviteleriyle total glutatyon (GSH) ile lipid peroksidasyon miktarları incelemiştir. Çalışmanın sonucunda tatlı sudan deniz suyuna geçişe bağlı olarak hem karaciğer hem de eritrositlerde SOD ve GR aktivitelerinde önemli seviyede azalmaya karşılık CAT, GPx, GST enzim aktiviteleriyle glutatyon konsantrasyonlarında önemli

artışlar olduğunu belirlemiştir. Deniz suyuna adapte edilmiş balıklardaki lipit peroksidasyon değerleri tatlı suda yaşayan balıklardakinden daha yüksek bulmuştur.



3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneme Süresi

Denemede kullanılacak kimyasal, tank, su taşıma sistemi, filtre sistemi ve balık materyalinin temini 03.10.2003–03.11.2003 tarihleri arasında yapılmıştır. 03.11.2003–24.11.2003 tarihleri arasında 21 gün adaptasyon için beklenmiştir. Balıklar markalandıktan sonra markalama işlemi sırasında ortaya çıkan stresin ortadan kalkması için 14 gün daha beklenmiştir. Deneme 08.12.2003–23.01.2004 tarihleri arasında deneme gerçekleşmiş ve 45 gün sürmüştür.

3.1.2. Araştırma Yeri

Araştırma, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Akvaryum Balığı Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür.

3.1.3. Su Materyali

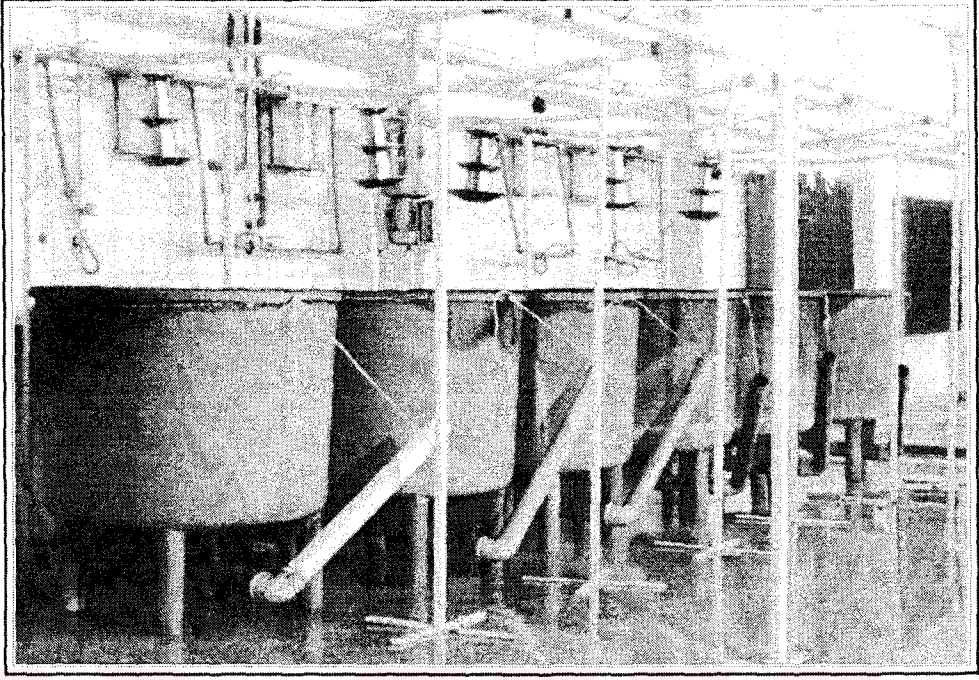
Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Akvaryum Balıkları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'ndeki mevcut şebeke suyu aktif karbonlu filtre sistemleriyle klordan arındırıldıktan sonra kullanılmıştır. Araştırma süresince günlük yapılan ölçümlerde su sıcaklığı $11,5 \pm 2,5$ °C olarak ölçülmüştür. Araştırmada kullanılan suyun kimyasal özellikleri çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Suyun Kimyasal Özellikleri

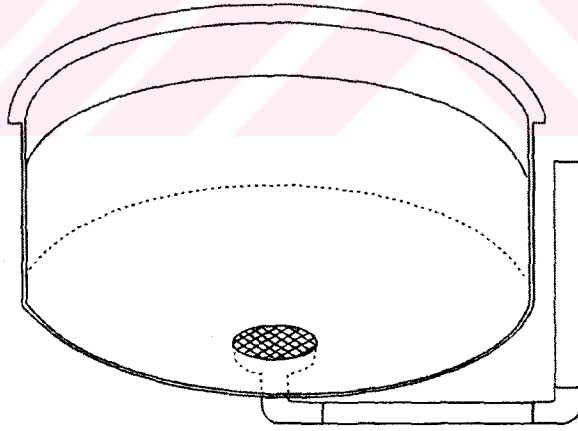
Parametre	Değer
Oksijen	6.7-8.8 ppm
pH	8.1
SO ₄ ⁻² (S)	0.33 mg/l
PO ₄ ⁻ (P)	Eser
NO ₃ ⁻	3.54 mg/l
NO ₂ ⁻	Eser
Sertlik	10 FSD
SBV	2.24
Klorür (Cl ⁻)	11,70 mg/l

3.1.4. Araştırma Tankları

Araştırmada 1 m çap ve 1 m derinliği olan, taze su girişi ve su tahliyesi bulunan fiberglas tanklar kullanılmıştır. Balıkların dışarıya sıçramalarını engellemek için tankların üzerleri ağlarla örtülmüştür. Su dağıtım sistemi şekil 3.1'de, araştırmada kullanılan tankların kesiti şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmanın Yürütüldüğü Tanklar



Şekil 3.2. Araştırmada kullanılan tankların kesiti (orijinal)

3.1.5. Balık Materyali

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Alabalık Yavru Üretim ve Yetiştirme Merkezi'nden temin edilen, 2 yaşlı ve ortalama ağırlıkları $227,37 \pm 13,18$ gr olan, her bir tankta 7'şer balık olmak üzere 5 tankta toplam 35 adet

gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) kullanılmıştır. Çıkış kayıtları mevcut olduğu için balıklarda yaş tayinine gerek duyulmamıştır.



Şekil 3.3. Denemede Markalanan Balık Örneği

3.1.6. Kimyasal Materyali

Araştırmada kimyasal materyali olarak SIGMA-ALDRICH firmasından temin edilen 10 g'lık ticari ambalajındaki saponin (S-4521) kullanılmıştır. *Quillaja* saponinin kimyasal ağırlığı 1650'dir (Mitra ve Dungan 2001).

3.1.7. Kullanılan Laboratuar Alet ve Ekipmanları

a-Cerrahi Aletler

Balıklarda HSI hesaplaması için karaciğerlerin çıkarılmasında ve farklı doku örneklerinin alınmasında sterilize edilmiş cerrahi makaslar, pensetler, pensler ve bisturi uçları kullanılmıştır.

b- Hematokrit Santrifüjü

Hematokrit tayini için 10500 sabit devirli 24 örnek kapasiteli ve zaman ayarlı Elektromag marka hematokrit santrifüj kullanılmıştır (Blaxhall ve Daisley 1973).

c- Mikrohematokrit Tüpleri

Hematokrit ve ESR tayininde 1.1 mm çaplı 75 mm uzunlukta mikrohematokrit tüpleri kullanılmıştır (Blaxhall ve Daisley 1973, Schreck ve Moyle 1990).

d- Kan Tüpleri

Balıklardan alınan kan örneklerinin muhafazasında vakumlu ve standart kan tüpleri kullanılmıştır (Azizoğlu ve Cengizler 1996, Pottinger ve Carrick 1999).

e- Enjektörler

Kan örneklerinin alınmasında 10 ml'lik plastik enjektörler kullanılmıştır (Mawdesley-Thomas 1972, Blaxhall ve Daisley 1973, Bridges *et al.* 1976, Clarence ve Hickey 1982, Satake *et al.* 1986, Hughes ve Hebert 1991).

f- Thoma Lamı

Total eritrosit ve lökosit sayımları için Neubeuer tipi Thoma lamı kullanılmıştır (Neumann *et al.* 1975, Kocabatmaz ve Ekingen 1984, Schreck ve Moyle 1990, Sharma ve Gupta 1994, Azizoğlu ve Cengizer 1996).

g- Jelli Kan Tüpleri

Biyokimyasal analizlerde kullanılan kanların serumunun ayrılmasında jel ilaveli kan tüpleri (Vacutaineer) kullanılmıştır.

h- Santrifüj

Kan örneklerinden serumu ayırmada zaman ve devir ayarlı standart santrifüjler kullanılmıştır.

ı- Otoanalizör

Araştırmamızda kullandığımız biyokimyasal parametreler (GOT, GPT, TG, CHOL) Merck – Mega / Toshiba – Japan cihazında okutulmuştur.

i- Kontrol Grubu Yem Materyali

Balıkların beslenmesinde %45 proteinli, 6 numara ticari pelet yem bazal yem olarak kullanılmıştır. Kullanılan yemin besin madde kompozisyonu çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Balıkların Beslenmesinde Kullanılan Yemin Besin Madde Kompozisyonu (Yem etiketinden alınmıştır).

Madde	Miktar (%)
Kuru Madde	88,0
Ham Protein	45,0
Ham Selüloz	3,0
Ham Kül	14,0
Kalsiyum	2,0
Fosfor	1,3
Ham Yağ	7,0

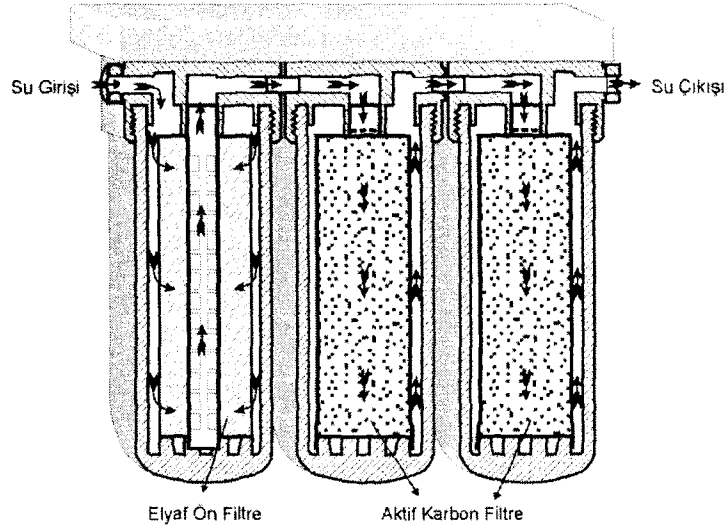
j- Kimyasal Katkılı Yem Materyali

Balıklar deneme süresince saponinin farklı dozlarıyla (0, 150, 300 mg/kg) hazırlanan üç grup yem ile beslenmişlerdir. Birinci gruptaki balıklar bazal yemle, ikinci gruptaki balıklar 150 mg/kg (S150) ,üçüncü gruptaki balıklar ise 300 mg/kg dozundaki saponinli yemle(S300) beslenmişlerdir.

3.2. Metot

3.2.1. Suyun Filtrasyon Sistemi

Araştırmada kullanılan suyun filtrasyonu amacıyla 1 lt/dk kapasiteli üç kartuşlu, aktif karbonlu 5 adet filtre kullanılmıştır (Martinez *et al.* 1994). Filtrelerin ticari şekli olan elyaf + reçine + aktif karbon kartuşlu düzeneği modifiye edilmiş ve sudaki mineral kaybını önlemek için reçine kartuşu aktif karbon kartuşuyla değiştirilmiştir. Böylece kullanılan su iki kez aktif karbon filtrasyonuna tabi tutularak klorun giderilmesi garantilenmiştir. Kullanılan filtrelerin kesiti şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Araştırmada Kullanılan Suyun Klorunu Gidermekte Kullanılan Filtrenin Kesiti

3.2.2. Su Dağıtım Düzenegi

Tesiste kullanılan su, normal şebeke suyu olup, filtre işleminden sonra suda bulunabilecek muhtemel gazları (Çolak 1982) uçurabilmek ve oksijen muhtevasını artırmak için 30 metrelik, içeresinde engeller bulunan kanallardan geçirilerek giriş ve çıkışları kontrol edilmiş olan plastik borulara aktarılmıştır. Aynı amaçla su, şelale sisteminden geçirilerek tanklara verilmiştir.

3.2.3. Deney Balıklarının Seçilmesi ve Yerleştirilmesi

Çalışmada kullanılan balıklar, Su Ürünleri Bölümü Alabalık Yavru Üretim ve Araştırma Merkezi tesislerinden, daha önce enfeksiyon geçirmemiş ve herhangi bir toksik maddeye maruz kalmamış iki yaşlı gökkuşuğu alabalıklarından (*O. mykiss*) seçilmiştir. Her bir araştırma tankına 7'şer adet balık olacak şekilde 5 tanka toplam 35 balık konmuştur. Birinci gruba S300 grubu, ikinci gruba S150 grubu ve üçüncü gruba da kontrol grubundaki balıklar konmuştur.

3.2.4. Yemlerin Hazırlanması ve Balıkların Beslenmesi

Birinci grupta 300 mg, ikinci grupta ise 150 mg saponin 1250'şer ml su ile karıştırıldıktan sonra 1'er kg çekilmiş yem ile homojen bir şekilde karıştırılmışlardır. Yaş iken peletlenen yemler steril bir folyo üzerine serilerek kurutulduktan sonra balıklara vermeye başlanmıştır (Francis *et al.* 2002).

Kontrol grubu balıklarına ticari alabalık yeminden; birinci grup balıklara 300 mg/kg dozundaki saponinli yemden, ikinci grup balıklara 150 mg/kg dozundaki saponinli yemden günlük olarak canlı ağırlığın %1.5'u oranında verilmiştir. Yemleme günde 2 öğünde (8 ve 18 saatlerinde) eşit bölünerek yapılmıştır. Yem atığı ve dışkının birikerek problemlere yol açmasını önlemek için tahliye boruları, tahliye borularının yeterli olmadığı durumlarda da dışardan hortum yardımıyla tanklar her gün sifonlanmıştır.

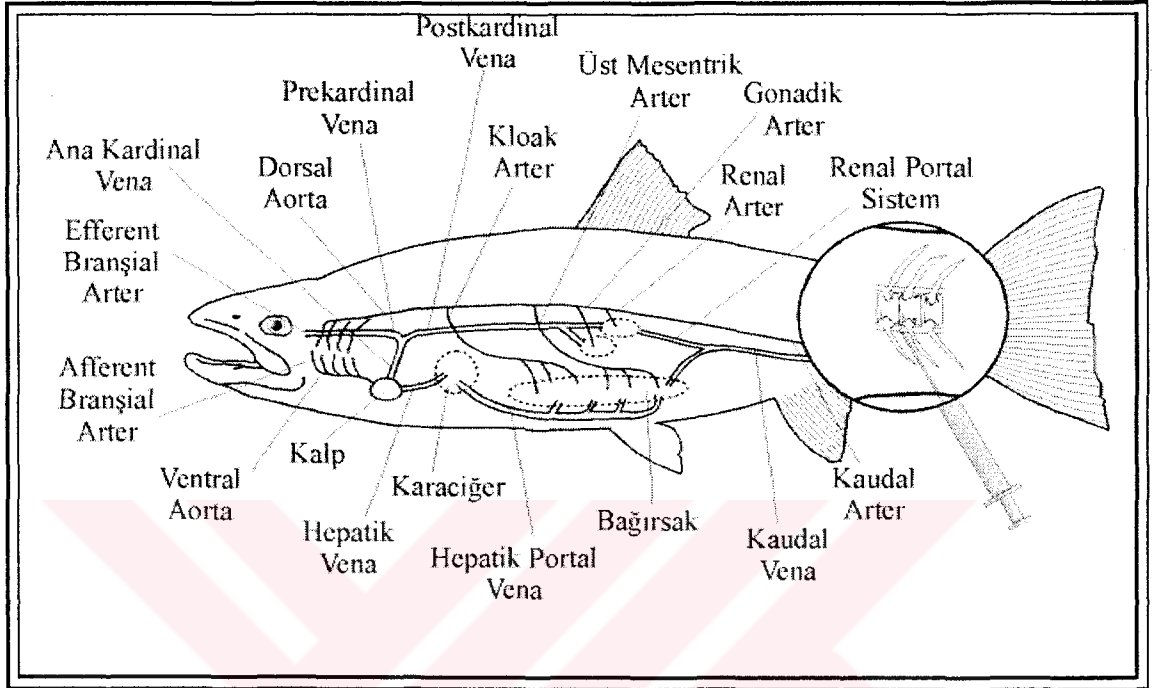
3.2.5. Su Sıcaklıklarının Ölçülmesi

Su sıcaklıkları günde 2 kez (8 ve 18 saatlerinde) 0,1 °C'ye hassas dijital termometre ile ölçülerek kaydedilmiş ve günlük ortalamaları hesaplanmıştır.

3.2.6. Kan Örneklerinin Alınması

Balıkların kan örnekleri, anüs yüzgecinin hemen arka kısmından, kana mukoza karışmaması için iyice kurulandıktan sonra 21 numara iğneli plastik enjektörle kaudal venadan girilerek alınmıştır (Knoph ve Thorud 1996, Val *et al.* 1998). Balıklardan kanın alındığı bölge şekil 3.5'de gösterilmiştir. Her balıktan aynı anda iki defa kan örnekleme yapılmıştır. Kan örneklerinden ilk kısmı heparinli enjektörlerle alınmış, hematolojik parametrelerin belirlenmesi ve enzim aktivitelerinin ölçülmesi için iki kısma ayrılarak heparinli tüplere yerleştirilmişlerdir. İkinci grup örneklemede ise biyokimyasal parametrelerin tespiti için kan alınırken antikoagülant madde kullanılmamış ve jelli kan tüplerine konulmuştur.

Enzim ve biyokimya analizleri için alınan kan örnekleri aynı gün ilgili laboratuarlara taşınarak gerekli analizler yapılmıştır.



Şekil 3.5. Balıklardan Kanın Alındığı Bölge (Schreck ve Moyle 1990, Brown 1993’ den modifiye edilmiştir)

3.2.7. Hemolizat Hazırlanması

Kan örnekleri balıkların kaudal venalarından heparinli 2,5-5 veya 10 ml’ lik plastik enjektörler vasıtasıyla alınarak tüplere konulmuş, daha sonra 15 dk 2500 rpm’ de santrifüj edilerek tüplerin üst kısmında kalan plazma ve lökosit tabakaları damlalıklarla alınmış ve ardından 0,16 M’ lik KCL çözeltisi ile üç defa yıkanmıştır. Eritrositler hacimlerinin 10 katı buzlu su ile hemoliz edildikten sonra hücre zarlarını uzaklaştırmak için +4 °C’ de 10000 devirde 20-30 dk. santrifüj yapılmış ve ardından damlalıklarla süpernatantlar uzaklaştırılarak hemolizatlar hazırlanmıştır (Ninfali *et al.* 1990).

3.2.8. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

GR enzim aktivitesinin belirlenmesi için hazırlanan hemolizatın 340 nm' deki absorbans değeri okunmuştur. Bu işlemde her bir mol okside glutasyon (GSSG) redüksiyonu için 1 mol NADPH harcanmıştır. GR aktivitesi, gr hemoglobin (Hb) başına internasyonal enzim ünitesi, 1 dakikada 1 μ mol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak hesaplanmıştır (Beutler 1983).

	NUMUNE	KÖR
Tris-HCl	820 μ L	820 μ L
1:10 Hemolizat	30 μ L	-
Distile Su	-	30 μ L
GSSG	100 μ L	100 μ L

Yukarıdaki kimyasallar küvetlere konduktan sonra 37 °C'de 5 dk inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra numune ve köre 50'şer μ L NADPH ilave edilmiş ve 340 nm'de 2 dk absorbans değerleri ölçülmüş ve absorbans değerlerindeki düşüş kaydedilmiştir.

$$E \text{ (mu/ml)} = \frac{100 \times V}{t. \epsilon. D. v} \times \Delta A$$

V: deney çözeltisinin toplam hacmi (ml)

v: Deneyde numune olarak kullanılan hemolizatın hacmi

D: Işık yolu, optik yol uzunluğu (1 cm)

ϵ : NADPH' ın 340 nm' deki molar absorpsiyon sabitesi (6,22 cm²/mmol)

t: Reaksiyon süresi (dk)

ΔA : Optik dansite değişimi ($\Delta A_{\text{numue}} - \Delta A_{\text{kör}}$)

Yukarıdaki formülden 5 dk' daki optik dansite değişimi bulunarak mu/ml cinsinden enzim aktivitesi hesaplanmıştır. Daha sonra enzim aktivitesi her numune için hemoglobinin gramı başına düşen enzim ünitesi olarak aşağıdaki formülden hesaplanır.

Enzim Aktivitesi (U/grHb)= $100A/C_{\text{Hb}}$

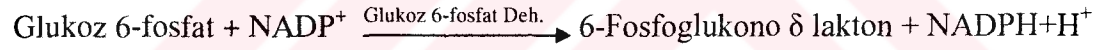
Burada;

A: Her ml hemolizattaki enzimin ünite olarak aktivitesi

C_{Hb} : Her 100 ml hemolizattaki gram olarak hemoglobin konsantrasyonudur (Beutler, 1983).

3.2.9. Glukoz 6 fosfat Dehidrogenaz (G6PD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim aktivitesinin hesaplanmasında spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADP^+ miktarındaki azalışın belirlenmesi kullanılmıştır.



G6PD enziminin aktivitesinin tayini için yukarıdaki reaksiyon sonunda oluşan NADPH göz önüne alınmıştır. NADPH 340 nm'de absorpsiyon verir. Dolayısıyla enzimin aktivitesi 37°C'de NADP^+ 'nin indirgenmesi sonucu oluşan NADPH'ın 340 nm'de absorpsiyon artışı sonucu ölçülmüştür. 1 mM NADP^+ indirgendiğinde (1ml hacimde ve 1 cm ışık yolunda), spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda okunduğunda 6,22 OD (optik dansite) verir. G6PD enziminin katalizlediği yukarıdaki reaksiyonda 1 mol substrat (G6P) reaksiyona girdiğinde 1 mol NADPH oluşur (Beutler 1983).

G6PDH enzim aktivitesi ölçümü için şu prosedür uygulanmıştır:

	Numune	Kör
Tris-HCl	100 µL	100 µL
MgCl ₂	100 µL	100 µL
Saf Su	550 µL	600 µL
NADP+	100 µL	100 µL
Hemolizat (1/20)	50 µL	-
Distile su	-	50 µL

Yukarıdaki kimyasallar küvetlere konduktan sonra 37 °C' de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Sonra numune ve köre 100 µL G6P ilave edilmiş ve ardından kontrole karşı numunenin absorbans artışları 340 nm'de 2 dk süreyle kaydedilmiştir (Beutler 1983). Daha sonra ise aşağıdaki formüle dayanarak ml başına enzim ünitesi hesaplanmıştır.

$$A = \frac{\Delta OD \times V_c}{6,22 \times V_E} \times f$$

Formülde;

A : ml başına enzim ünitesi (EU) sayısı

ΔOD : 340 nm'de optik dansitenin dakika başına değişimi

V_c : Küvet hacmi

V_E : Küvetteki saf enzim çözeltisinin hacmi

6.22 : 1 mM NADP⁺'nin indirgendiği farz edildiğinde kullanılan katsayı (milimolar ekstinksiyon katsayısı)

f : Seyreltme faktörü

G6PD enzimi için spesifik enzim aktiviteleri (EU/ml)/(mg hemoglobin/ml) eşitliğinden hesaplanmıştır. Bu eşitlikteki proteinin belirlenmesinde; sığır serum albuminin standart olarak kullanıldığı ve spektrofotometrede 595 nm'deki absorbansın ölçüldüğü Bradford metodundan yararlanılmıştır.

3.2.10. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Çalışma esnasında kullanılan çözeltiler ve bu çözeltilerin hazırlanması aşağıdaki gibidir:

1. 1 M Tris-HCl / 5 mM EDTA (pH=8): Enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan bu tampon çözeltiyi hazırlamak için 6,05 g (0,05 mol) Tris ve 0,0605 g EDTA ($2,5 \times 10^{-4}$ mol) alınarak bir miktar distile suda çözülür. pH, HCl yardımı ile 8'e ayarlanır ve daha sonra toplam hacim distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.
2. 0.1 M MgCl₂ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan aktivatör çözelti): 0,475 g MgCl₂ (5×10^{-3} mol) alınıp hacmi distile suyla 50 ml'ye tamamlanır.
3. 2 mM NADP⁺ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan çözelti): 0,0765 g NADP⁺ (1×10^{-4} mol) alınıp hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.
4. 6 mM G6P (Enzimin aktivite ölçümünde kullanılan substrat çözelti): 0,091 g G6P (3×10^{-4} mol) alınıp hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.
5. 0.16 M KCl: Kanın yıkanmasında kullanılan bu çözelti için 1,192 g ve 0,016 mol KCl alınıp hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
6. GSSG Çözeltisi: 0.2 g GSSG alınarak 10 ml'ye tamamlanır.

3.2.11. Hemoglobin Miktarının Tayini

Hemoglobin miktarının tayininde cyanomethemoglobin metodu kullanılmıştır. Bu metotta 0,02 ml kan örneği 4 ml drapkin solusyonu ile homojen bir şekilde karıştırılmıştır. 10 dk beklendikten sonra dipte biriken çökelti çıkartılıp spektrofotometrede 540 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür. Elde edilen değer in Çizelgeden karşılığı bulunarak g/cm^3 cinsinden kaydedilmiştir.

3.2.12. Hematokrit Tayini

Hematokrit tayininde mikrohematokrit metodu uygulanmıştır. Kan örnekleri mikrohematokrit tüplerine alındıktan sonra tüpün bir ucu cam macunıyla kapatılmıştır. Hematokrit santrifüjünde 10500 devirde 5 dk çevrildikten sonra bulunan değer skaladan okunmuş ve toplam kanın %'si olarak kaydedilmiştir (Blaxhall ve Daisley 1973, Aziz *et. al.* 1993).

3.2.13. Eritrosit - Sedimentasyon Oranı (ESR)

ESR'nin tespitinde mikro-wintrobe metodu uygulanmıştır. Hemotokrit pipetlerine çekilen heparinli kan örnekleri zemine dik pozisyonda 1 saat süreyle beklenmiştir. Süre sonunda ayrışan serum miktarı mm/saat cinsinden kaydedilmiştir (Blaxhall ve Daisley 1973).

3.2.14. Biyokimyasal Kan Analizleri

Biyokimyasal kan analizleri için alınan kanlar 4000 rpm devirde 10 dk santrifüj edilip kan serumu ayırıldıktan sonra (Bricknell *et al.* 1999) çıkartılan serumlar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'na götürülerek analizler yaptırılmıştır.

3.2.15. HSi Hesaplanması

Balıklar ferdi olarak tartılmış ve ağırlıkları kaydedildikten sonra makas, pens ve bisturi kullanılarak balıkların karaciğerleri çıkartılmıştır. Hepatosomatik indeksleri tek tek hesaplanmıştır.

$$\text{HSI} = \frac{\text{Karaciğer Ağırlığı}}{\text{Vücut Ağırlığı}} \times 100$$

3.2.16. Canlı Ağırlık Artışının Hesaplanması

$$\text{Canlı Ağırlık Artışı (\%)} = \frac{\text{Deneme Sonu Ort. Ağ. (g)} - \text{Denem Başlangıcı Ort. Ağ. (g)}}{\text{Deneme Başlangıcı Ort. Ağ (g) (Siddhuraju ve Becker, 2003)}} \times 100$$

3.2.17. İstatistiki Analizler

SAS (1996) paket programının GLM prosedürü ile varyans analizi yapılarak muamele grupları arası farklar istatistiksel olarak test edilmiştir. Ayrıca gruplara ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir (Yıldız ve Bircan 1991).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Enzim Aktiviteleri

Çalışma sonunda ölçülen G6PD ve GR enzim aktivitelerine ait bulgular ve istatistiki analiz sonuçları çizelge 4.1de verilmiştir. Çizelgeden de görülebileceği gibi deneme sonunda gerek GR gerekse G6PD enzim aktiviteleri hem S150 hem de S300 grubunda kontrol grubuna nazaran düşüş göstermiştir. Ancak bu düşüş sadece GR enzim aktivitesinde istatistiki olarak önem taşımaktadır ($p<0,05$). G6PD enzim aktivitesi ise gruplar arasında istatistiki olarak farksızdır.

Çizelge 4.1. Çalışma sonunda deneme gruplarında elde edilen GR ve G6PD enzim aktivitesine ait bulgular ve istatistiki analiz sonuçları

Deneme Grupları	n	Glutatyon Redüktaz (EU/ gr Hb) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi	Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz (EU/ gr Hb) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi
Kontrol	5	3,67±0,58 ^a	*	19,72±2,86	Önemsiz
S150	5	2,62±0,27 ^b	*	15,86±3,19	Önemsiz
S300	5	1,49±1,55 ^{ab}	*	13,34±8,79	Önemsiz

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. (a-b): Farklı harfler istatistiki olarak birbirinden farklı grupları göstermektedir. Önemsiz: $P>0.05$, *: $P<0.05$.

4.2. Hematolojik Parametreler

Hemoglobin, hematokrit ve ESR değerlerinden sadece hemoglobin deneme sonunda gruplar arasında farklı bulunmuştur ($p<0,05$) (çizelge 4.2 ve 4.3).

Çizelge 4.2. Deneme Sonunda Gruplardaki Hemoglobin Değerleri

Hemoglobin (g/100 ml)			
Deneme Grupları	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi
Kontrol	7	2,84±0,65 ^b	*
S150	7	4,74±1,34 ^a	*
S300	7	4.42±0,83 ^a	*

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. (a-b): Farklı harfler istatistiki olarak birbirinden farklı grupları göstermektedir. *: $P<0.05$.

Çizelge 4.3. Deneme Sonunda Gruplardaki Hematokrit ve ESR Değerleri ve İstatistik Analiz Sonuçları

Deneme Grupları	Hematokrit		ESR		Önem Seviyesi
	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	
Kontrol	4	46,75±1,5	4	0,90±0,12	Önemsiz
S150	8	43,63±4,03	8	0,91±0,18	Önemsiz
S300	8	43,75±2,92	8	0,91±0,24	Önemsiz

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. Önemsiz: $P>0.05$

4.3. Canlı Ağırlık Artışı

HSİ ve % canlı ağırlık artışına ait sonuçlar çizelge 4.4' de verilmiştir. HSİ değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık çıkmazken canlı ağırlık artış değerleri bakımından deneme grupları birbirinden farklı bulunmuştur ($p<0,05$). Hem HSİ hem de canlı ağırlık artışı parametrelerinde en yüksek değer kontrol grubunda bulunmuştur. S150 grubundaki büyüme oranı S300 grubundan daha yüksektir. Bu rakamlara göre saponinin büyümeye olumsuz etkileri olduğu görülmektedir. Ancak HSİ S300 grubundaki HSİ'nin S150 grubundan daha yüksek olduğu da çalışmanın başka bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çizelge 4.4. Deneme gruplarına ait HSİ ve canlı ağırlık artışı değerleri ve bu değerlerin istatistiki analiz sonuçları

Deneme Grupları	n	HSİ $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi	n	Canlı Ağırlık Artışı (%) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi
Kontrol	5	1,32±0,39	Önemsiz	7	48,29±11,40 ^a	*
S150	5	1,23±0,21	Önemsiz	14	31,24±17,94 ^b	*
S300	5	1,16±0,29	Önemsiz	14	27,61±16,97 ^b	*

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. (a-b): Farklı harfler istatistiki olarak birbirinden farklı grupları göstermektedir. *: $P<0,05$

4.4. Besin Maddesi Kompozisyonu

Araştırma sonunda yapılan proximate analiz sonuçlarının istatistiki analizi neticesinde gruplar arasında herhangi bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. çizelge 4.5'de de görülebileceği gibi deneme gruplarının besin madde kompozisyonları birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Çalışma Sonunda Balıklarda Yapılan Proximate Analiz Sonuçları (%)

Deneme Grupları	n	Ham Protein(%) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Kuru Madde (%) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Ham Kül (%) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Ham Yağ (%) $\bar{X} \pm S \bar{X}$	Önem Seviyesi
Kontrol	4	19,51±1,97	23,22±2,02	1,11±0,12	2,39±0,22	Önemsiz
S150	4	18,90±1,72	23,22±1,33	0,99±0,11	3,20±0,81	Önemsiz
S300	4	19,40±0,92	23,19±1,22	1,01±0,10	2,60±0,61	Önemsiz

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. Önemsiz: $P > 0.05$.

4.5. Kan Biyokimyası

Çalışma neticesinde çalışılan tüm biyokimya değerleri ile saponinin yeme katılan dozu arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir (çizelge 4.6). Yani yeme katılan saponinin miktarı arttıkça biyokimyasal değerlerde de artış gözlenmiştir. Ancak bu artışların istatistiki olarak herhangi bir anlamı olmayıp gruplar arasında istatistiki açıdan bir farklılık söz konusu değildir.

Çizelge 4.6. Çalışma Sonunda Deneme Gruplarının Kan Biyokimya Değerleri ve İstatistiki Analiz Sonuçları

Gruplar	GOT (U/l)		GPT (U/l)		TG (U/l)		CHOL (U/l)		Önem Seviyesi
	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	n	Değer $\bar{X} \pm S \bar{X}$	
Kontrol	7	10,25 ± 8,77	4	10,25 ± 13,20	4	91,75 ± 17,00	4	256,75 ± 37,21	Önemsiz
S150	7	13,75 ± 2,43	8	13,75 ± 2,05	8	97,38 ± 28,25	8	257,87 ± 50,49	Önemsiz
S300	7	13,83 ± 23,08	8	17,88 ± 27,24	8	106,38 ± 16,97	8	267,12 ± 27,95	Önemsiz

$\bar{X} \pm SD$ = Ortalama \pm Standart Sapma. Önemsiz: $P > 0.05$.

GOT: Glutamik Oksaloasetik Transaminaz; GPT: Aspartat Aminotransferaz; TG: Trigliserid; CHOL: Kolesterol.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Enzim Aktiviteleri

5.1.1. G6PD Enzim Aktivitesi

Daha önce yapılan pekçok araştırma çeşitli toksik kimyasalların balıklardaki enzim aktivitelerini önemli derecede etkilediğini göstermiştir (Otto *et al.* 1996, Kolaylı ve Keha 1999, Lopes *et al.* 2001, Oruç ve Üner 2002, Erdoğan vd 2004). Yapmış olduğumuz çalışmada saponin içerikli yemlerle beslenen her iki grubun balıklarında da (S150 ve S300) G6PD enzim aktivitesi kontrol grubuna oranla düşük çıkmış; fakat bu düşüş önemli bulunmamıştır (çizelge 4.1).

G6PD pentoz fosfat yolunun ilk basamağını katalizleyen anahtar enzimdir (Pilz *et al.* 1984, Lehninger 2000). Pentoz fosfat yolunun temel görevi NADPH üretmektir (Keha ve Küfrevioğlu 1997). Bu yolla üretilen NADPH'lar genel olarak; yağ asitlerinin, steroidlerin, bazı aminoasitlerin, indirgenmiş glutatyonun ve DNA'nın sentezinde kullanılmaktadır (Bonsignore *et al.* 1966, Bonsignore ve Flora 1972). NADPH ayrıca büyüme ve üreme proseslerinde esansiyel olup bu proseslerde elektron ve hidrojen kaynağı olarak görev yapar (Kan *et al.* 1988). G6PD aktivitesinde meydana gelebilecek aksaklıklar balık metabolizmasında çok önemli hasarlara yol açabilir.

Saponinin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) diyetlerinde G6PD aktivitesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu fakat çok önemli aktivite kayıplarının yaşanmadığı çalışma sonucunda belirlenmiştir.

5.1.2. GR Enzim Aktivitesi

Kontrol grubunun GR deęeri $3,67 \pm 0,58$ EU/g Hb iken dięer iki grup dūřuř gōstermiř ve S150 $2,62 \pm 0,27$ EU/g Hb deęerini S300 grubu ise $1,49 \pm 1,55$ EU/g Hb almıřtır (çizelge 4.1). Gruplar arasındaki bu fark önemli bulunmuřtur ($P < 0,05$).

Akuatik organizmaların sağlığı çeşitli toksikantların neden olduğu oksidatif streten dolayı tehlikeye girebilmektedir. Pentoz fosfat yolu (PPP) eritrositlerdeki NADPH'ın tek kaynağıdır. NADPH ise proteinler, nükleik asitler ve membran lipidlerini içeren hücrelerin bir kısmındaki serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif streten hücreleri korur (Özmen 2004). GR enzim aktivitesindeki azalma muhtemelen *in vivo* şartlarda PPP'de ki G6PD aktivitesinden kaynaklanan NADPH uygunluğunun değişiminden kaynaklanmaktadır. Çünkü GR aktivitesi NADPH'ın kullanılabilirliğine bağlıdır (Halliwell 1991).

5.2. Hematolojik Parametreler

Hematolojik parametreler balıklarda hastalık veya uygun olmayan çevre şartlarının araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Dörücü ve Girgin 2001). Bu parametreler balıklar kendileri için uygun olmayan bir ortamda bulduklarında diğer parametrelerden çok daha çabuk tepki verirler (Atamanalp *et al.* 2002). Kültürü yapılan balıklarda beslenme özellikleri, beslenme şekli ve stok düzeylerinin hematolojik parametreler üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir (Blaxhall 1972, Martinez *et al.* 1994, Hamre *et al.* 1994, Haliloğlu 1996). Dolayısıyla diyete katılan saponinin gökkuşağı alabalığının hematolojisinde bir değişiklik yapıp yapmayacağı oldukça önemlidir. Bu nedenle önemli bazı hematolojik parametreler çalışma sonunda ölçülerek değerlendirilmiştir.

5.2.1. Hematokrit

Kontrol grubu balıklarda hematokrit yüzdeleri ortalaması $46,75 \pm 1,5$ bulunurken S150 grubu ve S300 grubu balıklarında bu değerler sırayla $43,63 \pm 4,03$ ile $43,75 \pm 2,92$ değerlerini göstermektedir. Yani küçükte olsa bir düşüş mevzu bahistir. Ancak aradaki bu farkın istatistiki olarak bir önemi yoktur (çizelge 4.3).

5.2.2. Hemoglobin

Hemoglobin değerleri ile hematokrit değerleri arasında ters bir orantı bulunmuştur. Şöyle ki hemoglobin değerleri kontrol $2,84 \pm 0,65$ bulunurken S150 grubunda $4,74 \pm 1,34$ ve S300 grubunun ise $4,42 \pm 0,38$ olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Çizelge 4.2'nin bulgularıyla, Aziz vd (1993), Shakoori *et al.* (1996) ile Atamanlp vd (2003) benzerlik göstermektedir. Fakat Reddy ve Bashamohideen (1989), *Cyprinus carpio*'da fenvalarate ve cypermethrinin; Ahmad *et al.* (1995)'nin çin ot sazani (*Heteropneustes fossilis*)'nda danitolün hemoglobin miktarını düşürdüğünü bildirdiği literatürler ile çelişmektedir. Bu farklılığın iki önemli nedeninin olduğu düşünülmektedir. Yukarıda adı geçen araştırmacılar çeşitli pestisitleri araştırmışlardır; oysa saponin burada araştırılan pestisitlerle kıyaslandığında çok daha az zararlı/toksik olan bir kimyasaldır. Ayrıca saponin diyete katılarak balıklara verilmiştir. İkinci neden ise çalışmalarda kullanılan balık türlerinin farklı oluşudur. Hemoglobin miktarının saponin gruplarında artış göstermesinin nedeni olarak balıkların oksijen taşıma kapasitesinin düşmesi ve bunun sonucu olarak balıklardaki solunum sayısında bir artışın meydana gelmesi gösterilmiştir (Atamanalp vd 2002). Hemoglobin değerleri hematokrit değerlerinin aksine saponinin metabolizmayı sekteye uğratarak solunum sayısını artırdığını göstermektedir.

5.2.3. Eritrosit Sedimentasyon Oranı (ESR)

Çeşitli araştırmacılar kimyasala maruz bırakılan balıklarda sedimentasyon oranının yükseldiğini göstermiştir (Kumar *et al.* 1999, Atamanalp vd 2003). Yapılan çalışmada kontrol grubu eritrosit sedimentasyon oranı $0,90\pm0,12$ mm/h iken, S150 ve S300 grubunun değerleri sırayla $0,91\pm0,18$ mm/h $0,91\pm0,24$ mm/h olarak bulunmuştur. S150 ve S300 grubunun kontrol grubuna oranla göstermiş olduğu artış, önemli çıkmamıştır (çizelge 4.3).

Hematolojik parametreler bütün olarak değerlendirildiğinde sadece hemoglobindeki değişimlerin istatistiki olarak bir anlam ifade ettiği görülmektedir (çizelge 4.2 ve 4.3). Hematolojik parametrelerin balıkların saponin diyetlerinden etkilendiği ancak etkileşimin pestisitlerdeki kadar kuvvetli olmadığı çalışmamızın başka bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır.

5.3. Hepatosomatik İndeks (HSİ) Değeri

Çalışma neticesinde HSİ değeri ile diyetteki saponin miktarı arasında olumsuz bir etkileşimin olduğu ancak etkileşimin önemli olmadığı belirlenmiştir (çizelge 4.4). Bu sonuçlar Siddhuraju ve Becker (2003)'in Nil tilapiası'nda yapmış olduğu çalışma ile paralellik göstermektedir. Ayrıca, HSİ değeri ile karkasta belirlenen ham yağ değerleri arasında olumlu bir ilişkinin varlığı da ortaya çıkmaktadır. Hem ham yağ hem de HSİ değeri diyetteki saponin ile ters orantılıdır (çizelge 4.4 ve 4.5). Daha önce yapılan çalışmalar bu durumun sindirilemeyen karbonhidratlardan kaynaklandığını göstermektedir (Siddhuraju ve Becker 2001, 2003).

5.4. Canlı Ağırlık Artışı

Farklı bitkilerden elde edilen saponinler salmonlarda yem değerlendirme oranını düşürmekte ve bu nedenle de balıkların ağırlık artış hızlarının önemli derecede azalmasına neden olmaktadır (Bureau *et al.* 1998). Aynı durum diğer bazı balık türleri içinde geçerlidir (Alonso *et al.* 1998, 2000, Francis *et al.* 2001, 2002, Hossain *et al.* 2001). Fakat yapılan literatür taramalarında gökkuşuğu alabalıklarında böyle bir bilgiye rastlanamamıştır.

Kontrol grubunun canlı ağırlık artışı S300 grubundan yüksek bulunurken S150 grubu bu iki grup arasında bir değer almıştır. Gruplar arasındaki bu farklılık önemli bulunmuştur (çizelge 4.4). Bu sonuç diğer salmonlarda elde edilen sonuçlarla paralellik göstermekte olup, diyetle bulunan saponinin miktarı arttıkça balıklardaki canlı ağırlık artışı düşmektedir. Bu durum ise muhtemelen saponinin anti-nütrient etkisinden kaynaklanmaktadır (Hossain *et al.* 2001).

5.5. Besin Madde Kompozisyonu

Çizelge 4.5’de de görülebileceği gibi balıkların besin madde kompozisyonlarının karşılaştırılması neticesinde gruplar arasında istatistiksel bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç Francis *et al.* (2002)’nin aynalı sazanlarda ve Siddhuraju ve Becker (2003)’in Nil tilapialarında yaptığı çalışmalar ile örtüşmektedir. Çalışma neticesinde gökkuşuğu alabalıklarında saponinlerin besin madde kompozisyonu üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin mevcut olmadığı ve bu durumun literatürlerle uyduğu saptanmıştır.

5.6. Biyokimyasal Parametreler

5.6.1. Glutamik Oksaloasetik Transaminaz (GOT)

GOT değerleri kontrol, S150, S300 grupları için $10,25 \pm 8,77$ U/l, $13,75 \pm 2,43$ U/l ve $13,83 \pm 23,08$ U/l olarak bulunmuştur. Bu rakamlar incelendiğinde saponine maruz bırakmanın balıklarda GOT seviyesini yükselttiği görülmüştür. Gruplar arasındaki bu fark önemli bulunmamıştır (çizelge 4.6). Bu duruma göre kimyasal uygulaması ile kanda GOT seviyesinin düştüğünü belirten Shakoori *et al.* (1991), Mughal *et al.* (1993), Shakoori *et al.* (1994), Jeney *et al.* (1996) ile Shakoori *et al.* (1996)'nın literatürleri ile bu çalışma sonuçları örtüşmemektedir. Bunu kullanılan kimyasalın ve balık türlerinin farklı oluşuna bağlayabiliriz.

5.6.2. Aspartat Aminotransferaz (GPT)

Çalışmada kontrol, S150 ve S300 grupları için GPT değerleri sırayla $10,25 \pm 13,20$ U/l, $13,75 \pm 2,05$ ve $17,88 \pm 27,24$ U/l olarak ölçülmüştür. Bu çalışma kimyasal uygulamalarının balıklarda GPT değerini düşürdüğünü bildiren Shakoori *et al.* (1991), Shakoori *et al.* (1994), Ahmad *et al.* (1995), Shakoori *et al.* (1996) ile paralellik arz etmemiştir. Bu farkın kullanılan kimyasalın farklı oluşundan ve kimyasalın yeme katılarak verilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır (çizelge 4.6).

5.6.3. Trigliserid (TG)

TG'in diyete bağlı olarak değişim gösterdiği saptanmıştır (Luizi *et al.* 1997). Handy *et al.* (1999) diyete bakır ilavesi ile gökkuşaağı alabalığı plazmasında TG'lerin arttığını belirtirken, Kavadias *et al.* (2003) deniz levrekleri (*Dicentrarchus labrax*)'nde TG'lerin çevre şartlarına bağlı olarak değişim gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre TG saponin gruplarında yükselme göstermiştir. Kontrol grubu TG değeri

91,75±17,00 U/l iken S150 ve S300 gruplarında bu değer sırasıyla 97,38±28,25 U/l ve 106,38±16,97 U/l olarak belirlenmiştir (çizelge 4.6). Yapılan istatistiksel analizlerde bu artışın önemli olmadığı saptanmıştır. Dolayısıyla saponinin göökuşağı alabalığında TG değerleri üzerinde kısmi bir olumsuz etkiye sahip olduğu ancak etkinin metabolizma için çok önemli olmadığı saptanmıştır.

5.6.4. Kolesterol (CHOL)

Kolesterol ve diğer steroller ile saponin arasındaki etkileşim saponinin biyolojik etkileri ve bunların membran aktiviteleri ile açıklanmaktadır (Cheeke 1999). Hossain *et al.* (2001) *Cyprinus carpio*'ları *Sesbania* kökü unu ile besledikleri çalışma neticesinde diyetteki doz arttıkça plazma kolesterol seviyesinin önemli miktarlarda azaldığını bildirmiştir. Benzer şekilde Refstie *et al.* (1999) soya ununun Atlantik salmonlarında plazma kolesterolünde azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Bu azalmanın iki nedeninin olabileceği düşünülmektedir. Bunlar; a) saponinler b) proteinlerinin kendi yapılarıdır (Potter *et al.* 1993). Hossain *et al.* (2001) ise kolesteroldeki bu düşüşe fitokimyasallar olarak bilinen, bitki proteinlerinde bulunan fakat hayvansal proteinlerde bulunmayan ve protein olmayan bileşiklerin neden olabileceğini ileri sürmüştür. Çalışmada elde edilen sonuçlar ile daha önce yapılan çalışmalar arasında çok önemli benzerlikler bulunmaktadır. Sadece S300 grubundaki kolesterol değerlerinde beklenilmeyen bir artış söz konusudur (çizelge 4.6). Bu durumun ya kullanılan saponinin sentetik oluşundan ya da çeşitli çevresel faktörlerden (deneme tanklarının büyüklüğü, su akış hızı ve kan alımındaki etkileşimler gibi) kaynaklanmış olabilir.

Elde edilen sonuçlar ışığında;

- Aynı kimyasalın gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*)'nın farklı hayat evrelerindeki etkilerinin araştırılması,
- Su ürünleri yetiştiricilik sistemlerinde, özellikle nakil sırasında kullanılan anestezi kimyasalların yerine ikamesinin araştırılması,
- Bölgedeki mevcut sığırkuyruğu bitkisinin alt türlerinin balıklara etkilerinin araştırılması ve denenmesi hedeflenmektedir.



KAYNAKLAR

- Ahmad, F., Ali, S. S., and Shakoori, A. R., 1995. Sublethal effects of Danitol (fenpropathrin), a synthetic pyrethroid, on freshwater Chinese grass carp, *Cytenopharyngodon idella*. Folia. Biol. (Krakow) 43,151-159.
- Alonso, R., Oreue, E., Marzo, F., 1998. Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and anti-nutritional factor contents in pea seeds. Food Chem. 63, 505-512.
- Alonso, R., Aguirre, A., Marzo, F., 2000. Effect of extrusion and traditional processing methods on antinutritional and in vitro digestibility of protein and starch in faba beans and kidney beans. Food Chem.68, 159-165.
- Arslan, M., Sığır kuyruğu bitkisi ve balıklara toksik etkisi. Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü. Fen Bilimleri Ens. Erzurum.
- Atamanalp, M., Yanık, T., Haliloğlu, H.İ. ve Aras, S., 2002. Alteration in the haematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cypermethrin. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 54,3, 99-103.
- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, A.N., Cengiz, M., 2003. Diazinon'un gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) hematolojik parametreleri üzerine etkileri.
- Aydın, F., Polatsü, S. ve Yıldız, H., 1995. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan yapıcı organ ağırlıkları ile hematokrit ve lökokrit ilişkisi. Ege Üni. Su Ürünleri Fak. Derg.
- 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.
- Azizoğlu, A., Cengizler, İ., 1996. Sağlıklı *Oreochromis niloticus* (L.) bireylerinde bazı hematolojik parametrelerin saptanması üzerine bir araştırma . Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. 20, 425-431.
- Babadjamian, A., Elias, R., Faure, R., Vidal-Oliver, E. and Balansard, G., 1988. Two-dimensional Nmr studies of glycosides, Spectroscopy Letters. 21, 565-573.
- Barroso, J.B., Peragón, J., García-Salguero, L., de la Higuera, M., Lupiáñez, J.A., 1999. Variations in the kinetic behaviour of the NADPH-production systems in different tissues of the trout when fed on an amino-acid-acid-based diet at different frequencies. The Int. J. Bioche.& Cell Bio., 31, 277-290.
- Barroso, J. B., Peragón, J.,García-Salguero, L., de la Higuera, M., Lupiáñez, J.A., 2001. Carbohydrate deprivation reduces NADPH-production in fish liver but not in adipose tissue. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 33,785-796.
- Bayır, A., 2002. Canlı (*Gammarus pulex*) ve yaş (sığır dalağı) yemin gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularına belirli aralıklarla verilmesinin glukoz 6 fosfat dehidrogenaz ve karbonik anhidraz enzim aktiviteleri ile büyüme, yem değerlendirme ve yaşama gücü üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Beutler, E., 1983. Glucose 6-phosphate dehydrogenase, The metabolic Basis of the Inherited disease. McGraw-Hill book company, New York, 1629-1659.
- Blaxhall, P.S., 1972. The haematological assesment of the healt of freshwater fish, a reiew of selected literatüre. J.Fish Biol., 4, 593-604.

- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use fish with blood. *J. Fish Biol.*, 5, 771-781.
- Bonsignore, A., De Flora, A., 1972. Regulatory properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Curr. Top. Cell.*, 6, 21-62.
- Bonsignore, A., Fornaini G., Leoncini, G., Fontani, A., Segni, P., 1966. Characterization of leucocyte glucose 6 phosphate dehydrogenase in Sardinian Mutants. *J. Clin. Invest.*, 45, 12-16.
- Bricknel, I.R., Bowden, T.Ş., Bruno, D.W., MacLachlan, P., Johnstone, R. and Ellis, A.E., 1999. Susceptibility of Atlantic halibut, *hippoglossus hippoglossus* (L). To infection with tipical anda atipical *aeromonas salmonicida*, *Aquaculture*, 175, 1-13.
- Bridges, D.W., Cech, J.J., and Pedro, D. N., 1976. Seasonal haematological changes in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* No. 5, 596-599.
- Brown, L., 1993. *Aquaculture for Veterinarians, Fish Husbandry and Medicine*. Pergamon Press, Oxford- New York-Seoul- Tokyo, 72.
- Bureau, D.P., Horria, A.M., Cho, C.Y., 1998. The effect of purified alcohol extracts from soy product on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture* 161: 27-43.
- Champe P. C. and Harvey R. A.: *Biyokimya* (Tokullugil A., Dirican M. ve Ulukaya E. çev.), 1997. Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya ABD. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul, 48-54.
- Cheeke, P.R., 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition, *American Society of Animal Science*.
- Clarance, R., and Hickey, JR., 1982, Comparative haematology of Wild and captive cunnerss. *The American Fisheries Society*, 111, 242-249.
- Çelikkale, M. S., Düzgüneş, E., Candeğer, A. F., 1993. Av araçları ve avlanma teknolojisi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi.
- Çolak, A., 1982. *Balık Hastalıkları El Kitabı*. Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları Sivas 1, 103.
- Doğan, M., 2002. Sağlıklı yaşamın kimyası. *Popüler Bilim Dergisi Ocak 2002*, s 32-36 .
- Dörücü, M. ve Girgin, A., 2001. The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Aquaculture International* 9, 183-187.
- Erdoğan, O., Çiftçi, M., Çiltaş, A., ve Hisar, O., 2004. Inhibition Effects of Some Antibiotics on the Activity of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*Walbaum, 1792) Erythrocytes. *Turk J Vet Anim Sci.* 28, 675-681.
- Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2001. Effect of *Quillaja* saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 129, 105-114
- Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2002. Dietary supplementation with a *Quillaja* saponin mixture improves growth performance and metabolic efficiency in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Aquaculture*, 203, 311-320.

- Gül, Ş., Belge-Kurtaş,E., Yıldız,E., Şahan, A.ve Doran,H., 2004, Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (*Cyprinidae*) living in Seyhan Dam Lake, Turkey Environment International 30, 605– 609.
- Haliloğlu, H.İ., 1996. Çoruh Irmağı'nda yaşayan *Barbus plebejus escherichi* alt türünün bazı kan parametrelerinin mevsimsel değişiminin araştırılması. Y. Lisans Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı. Erzurum.
- Halliwell B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am. J. Med. 91 Ek 3C, 14C–22C.
- Hamre, K., Hjeltnes, B., Kryvi, H., Sandberg, S., Lorentzen, M., Lie, Q., 1994. Decreased concentration of hemoglobin, accumulation of lipid oxidation products and unchanged skeletal muscle in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed low dietary vitamin E. Fish physiology and biochemistry, 12, 421-429.
- Handy,R.D., Sims, D.W., Giles, A., Cambell, H.A., Musonda, M.M., 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. Aquatic Toxicology. 47, 23-41
- Hughes, J.B. and Hebert, A.T., 1991. Erythrocyte Micronuclei in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) ; Result of field surveys during 1980-1988 from Virginia to Nova Scotia and in Long Island Sound. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 20, 474-479.
- Hoşsucu, H., 1998. Avlamaaraçları ve teknolojisi, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi.
- Johnson, K., 2000, <http://www.zianet.com/desertbloom/monographs/mullein.html>.
- Kan, B., London, I.M., Levin, D.H. 1988. Role of reversing factor in the inhibition of protein synthesis initiation by oxidized glutathione. J. Biol. Chem. 263,15652-15656.
- Kavadias, B.S., Castritsi-Catharios, J. and Dessyrpris, A., 2003. Annual cycles of growth rate, feeding rate, food conversion, plasma glucose and plasma lipids in population of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) farmed in floating marine cages. J.Appl. Ichthyol. 19, 29-34.
- Keha,E.ve Küfrevioğlu, Ö.İ., 1997. Biyokimya, Şafak Yayınevi, Erzurum
- Klimek, B., 1996. Hydroxycinnamoyl esterglycosides and saponins from flowers of *verbascum phlomoides*. Phytochemist, 43, 6, 1281-1284.
- Klimek, B., Lavaud Massiot, G., 1996. Saponins from *Verbascum nigrum*. Phytochemistry, 31,12,4368-70 ISSN,0031-9422.
- Knoph, M.B. and Thorud, K., 1996, Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater-effects on plasma osmolality, ion, ammonia, ürea and glukaoze levels and hematological parameters. Comp. Biochem. Psiol. 113a,4, 375-381.
- Knoph, M.B. and Thourd, K., 1996, Toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater-effects on plasma osmolality, ion, ammonia, urea and glucose levels and hematological parameters. Comp. Biochem. Physiol. 113 A, 4,375-381
- Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G., 1977. Preliminary investigation on some haematological norms in five fish species. Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg. 4. 1-2, 28-40.

- Kocabatmaz, M.ve Ekingen, G., 1984. Değişik tür balıklardan kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. Doğa Bilim Dergisi, D1, 8, 2, 149-159.
- Kolaylı, S., 1996, Tatlı Su ve Deniz Suyunda Yetişen Gökkuşuğu (*Salmo gairdneri*) Türü Alabalıklarda Bazı Antioksidan Enzim Aktiviteleriyle Lipit Peroksidasyon Seviyeleri. Doktora Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı.
- Kolaylı S. and Keha E. A., 1999. Comparative study of antioxidant enzyme activities in freshwater and seawater-adapted rainbow trout. J. Biochem. Molecular Toxicology 13 6, 334-337.
- Köhler, A., Bahns, S. and Van Norrden, C.J.F., 1998. Determination of Kinetic Properties of G6PDH and PGDH and the Expression of PCNA during Liver Carcinogenesis in Coastal Flounder. Marine Environmental Research, 46,179-183.
- Kritzon, C., 2003. Fish poisson. chuckk@petroglyphics.com
- Kumar, S., Lata, K. and Gopal, K., 1999. Deltamehrin induced physiological changes in freshwater Cat fish *Heteropneustes fossilis*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 62, 254-258.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M., 1993. Principles of Biochemistry, Worth Publishers, Inc, New York, Second Edition.
- Lehninger, A.L, Nelson D.L, Cox, M.M. 2000. Principles of Biochemistry. 2nd ed., Worth Publishers Inc. New York, 558-560.
- Lopes, P. A., Pinheiro, T., Santos, M. C., Mathiasa, M. da L., Collares-Pereira, M. J., Viegas-Crespoa, A. M., 2001. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. The Science of the Total Environment, 280: 153-163.
- Luizi, F., Korsgagard, B. and Petersen, I.M., 1997. Plasma lipoproteins in European eels (*Anguilla anguilla*): effect of estradiol. Fish Physiology and Biochem. 16, 273-280.
- Malla Reddy, P., and Bashamohideen, M., 1989, Fenvalarate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta . Hydrochim. Hydrobiol. 17, 1,101-107.
- Martinez, F.J., Garcia-Riera, M.P., Canteras, M., De Costa, J. and Zamora, S., 1994, Blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Simultaneous influence of various factors. Comp. Biochem. Physiol., 107A,1,95-100.
- Mawdsley- Thomas, L.E., 1972. (ed.) Disease of Fis, Symposia of the Zoological Society of London, 30, 104.
- Metcalf, V.J., Brennan, S.O., George, P.M., 1999. The Antarctic toothfish (*Dissostichus mawsoni*) lack plasma albumin and utilises high density lipoprotein as its major palmitate binding protein. Comparative Bioc. and Physiology Part B 124, 147-155.
- Mitra, S. and Dungan, S.R., 2001. Cholesterol Solubilization in Aqueous Micellar Solutions of Quillaja Saponin, Bile Salts, or Nonionic Surfactants, J. Agric. Food Chem. 49, 38-394.
- Nagesh, T.S., Jayabalan, N., Mohan, C.V., Annappaswamy, T.S. and Anil, T.M., 1999, Survival and histological alterations in juvenile tigershrimp exposed to saponin, Aquaculture International 7,159-167.
- Neumann, D.A., O'Connor, J.M., Sherk, J.A. and Wood, K.V., 1975. Trans, A. Fish. Soc. 4, 775-781.

- Ninfali P, Orsenigo T, Barociani SR., 1990. Rapid purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from mammal's erythrocytes. *Preparative Biochemistry* 20, 297-309.
- Oakenful, D. and Sidhu, G.S., 1989. Saponins. In: Cheeke (Ed) *Toxicant of Plant Origin*. 2, 97-141. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Oruç, E. Ö. and Üner, N., 2002. Marker enzyme assessment in the liver of *Cyprinus carpio* (L.) exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *J. Biochem Molecular Toxicology*, 16 (4), 182-188.
- Otto, M. E. D., Buttner, K. J., Arquette, D. M. and Moon, T. W., 1996. Impaired inducibility of xenobiotic and antioxidant responses in rainbow trout exposed to polychlorinated biphenyl contaminated sediments in the ST. Lawrence river. *Chemosphere*, 33 (10), 2021-2032.
- Özmen İ. 2004. Evaluation of effect of some corticosteroids on glucose 6-Phosphate Dehydrogenase and comparative study of antioxidant enzyme activities. *J. of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. (In press).
- Peterson B. C., Small B. C., Bosworth B. G. 2004. Effects of bovine growth hormone on growth performance, body composition, and IGFs in two strains of channel catfish. *Aquaculture* 232, 651-663.
- Pickering, A.D., Griffiths, R. and Pottinger, T.G., 1987. A comparison of the effect of overhead cover on the growth, survival and haematology of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. and rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Aquaculture*, 66, 109-124.
- Pilz, R.B., Willis, R.C., Boss, G.R. . 1984. The influence of ribose-5-phosphate availability on purine synthesis of cultured human lymphoblasts and mitogen-stimulated lymphocytes. *J. Biol. Chem* 259, 2927-2935.
- Potter, S.M., Jimenez-Flores, R., Pollack, J., Lone, T.A., Berber-Jimenez, M.D., 1993. Protein-saponin interaction and its influence on blood lipids. *J. Agric. Food Chem.* 41, 1287-1291.
- Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., 1999. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout. 175, 351-363.
- Refstie, S., Svihus, B., Shear, K.D. and Storebakken, T., 1999. Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soybean product. *Animal Feed Science and Technology* 79, 331-345.
- Reznicek, G., Jurerenitsch, J. Robien, W., and Kubelka, W., 1989; Saponins in *Cyclamen* Species, *Phytochemistry*, 28, 825-828.
- Satake, T., Nuti-Sobrinho, A., Paula-Lopes, O.V., Lopes, R.A., Leme Dos Santos, H.S., 1986. Haematological study of Brazilian fish. III. Blood parameters in armored catfish *Hypostomus paulinus* IHERING 1905 (Pisces, Loricariidae). *Ars Veterinaria, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Campus" de Jabotical Unesp*, 2 (2), Jaboticabal-SB-Brasil, 179-183.
- Schreck, C.B. and Moyle, P.B., 1990. (ed.) *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA. 285-334.
- Schwartz, D., 2000. Common Mullein *Verbascum thapsus* Snapdragon or Figwort Family: Scrophulariaceae djeans@cloudnet.com.

- Sharma, J.P. and Gupta, V.K., 1994. Morphological and haematological alterations in urea exposed fish, *Puntinus sophore*. *Curr. Agric.* 18, 1-2, 45-48.
- 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
- Shakoori, A. R., Iqbal, M. J., Mughal, A.L. and Ali, S.S., 1994. Biochemical changes induced by inorganic mercury on the blood, liver and muscles of freshwater Chinese grass carp (*ctenopharyngodon idella*). *J. Ecotoxicool. Environ. Monit.* 4(2), 81-92.
- Shakoori, A. R., Mughal, A.L and Iqbal, M. J., 1996. Effect of sublethal doses of fenvalarate (a synthetic pyretroid) administered countinously for 4 weeks on the blood, liver and muscles of a fresh water fish, *ctenopharyngodon idella* . *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 487-494.
- Siddhuraju, P. and Becker, K., 2003. Comparative nutritional evaluation of differentially processed mucuna seeds [*Mucuna pruriens* (L.) DC.var. utilis (Wall ex Wight) Baker ex Burck] on growth performance ,feed utilization and body compozition in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*,34, 6, 487-500.
- Slenzka, K., Appel, R. and Rahmann, H., 1994. Development and altered gravity dependent changes in glukose 6-phosphate dehydrogenase activity in the brain of the cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*. *Neurochem. Int.*, 26,579-585.
- Stephensen, E.,Sturve, J.and Förlin, L., 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 133, 435-442.
- Türker, A.U. and Camper, N.D. 2002. Biological activity of common mullein, a medicinal plant, *Journal of Ethnnopharmacology* 82, 117-125.
- Val, A.L., De Menezes,G.C., and Wood, C.M., 1998. Red blood cell adrenerjic responses in amazonian teleost. *Journal of Fish Biology*, 52, 83-93.
- Van Noorden, C.J.F., Bahns, S. and Köhler, A., 1997. Adaptational changes in kinetic parameters of G6PDH but not of PGDH during contamination induced carcinogenesis in livers of North Sea flatfish. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 134, 141–148.
- Warashina , T., T. Miyase, and A. Ueno A. 1992. Phenylethanoid and lignan glycosides from *Verbascum thapsus*. *Phytochemistry.* 31,961-965.
- Yaylı, N., 1992. Part I: Isolation and structure elucidation of polar metabolites from sea cucumber *Cucumaria frondasa*, Part II: Isolation and synthesis of polyaromatic compounds, Ph.D. Thesis, University of New Brunswinck, Frederiction, Canada.
- Yıldız, N., ve Bircan, H., 1991. Araştırma ve Deneme Metotları. Atatürk Üniversitesi Yayınları No, 697, Ziraat Fak. No: 30, Ders Kitapları Serisi No: 57, Erzurum.
- Yücekutlu, A. N., 2000. Çöven (*Gypsophila simonii* hub. mor.) kökünden saponin saflaştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Zengin, A., 1999. *Cyclamen coum* Miller bitkisinden saponin ve karbonhidrat türü maddelerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.Yüksek Lisans Tezi Trabzon.

ÖZGEÇMİŞ

Erzurum'da 1979 yılında doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 1997 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu. Ekim 2001 tarihinde, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nde 2003 yılından beri Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

