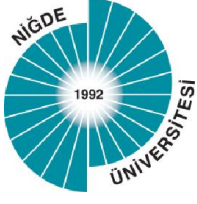


H. DOĞAN, 2015



T.C
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

SİPERMETRİN UYGULANMIŞ BALIK DOKULARINDA
PROPOLİS İLE MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSNÜ DOĞAN

NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2015

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİPERMETRİN UYGULANMIŞ BALIK DOKULARINDA
PROPOLİS İLE MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

HÜSNÜ DOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU

Şubat 2015

Hüsnü DOĞAN tarafından **Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU** danışmanlığında hazırlanan “**Sipermetrin Uygulanmış Balık Dokularında Propolis ile Meydana Gelen Biyokimyasal Değişimler**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Osman Selçuk ALDEMİR (Adnan Menderes Üniversitesi)



Üye : Doç. Dr. Ethem AKYOL (Niğde Üniversitesi)



Üye : Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU (Niğde Üniversitesi)



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/....../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/....../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

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



Hüsnü DOĞAN

ÖZET

SİPERMETRİN UYGULANMIŞ BALIK DOKULARINDA PROPOLİS İLE MEYDANA GELEN BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

DOĞAN, Hüsnü
Niğde Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji AnaBilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU

Şubat 2015, 44 sayfa

Bu çalışmada, sipermetrine maruz bırakılmış gökkuşuğu alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) dokularında propolisin tedavi edici etkileri incelenmiştir. Sipermetrin, sucul organizmalarda ve çevrede toksik etkilere neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalar neticesinde sipermetrinin subletal dozu 0,082 ppm olarak belirlenmiştir. Bal arıları tarafından üretilen propolis, polifenolik bileşikler, kafeik asit türevleri ve flavonoidleri içeren doğal bir üründür ve içeriğine bağlı olarak antioksidan özellik gösterebilmektedir. Propolisin tedavi edici konsantrasyonu 10 ppm olarak belirlenmiştir. Sipermetrine maruz bırakılmış gökkuşuğu alabalıklarının kalp ve dalak dokularında katalaz (CAT) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeylerini belirledik. Sonuç olarak sipermetrin uygulanmış balık dokularında CAT aktiviteleri ve MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır ($P \leq 0.001$). Sipermetrin+propolis uygulanan balık dokularında CAT aktiviteleri ve MDA düzeyleri sipermetrin grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azalmıştır ($P \leq 0.001$). Propolis gökkuşuğu alabalık dokularında terapötik etki göstermiştir. Bu özelliğine bağlı olarak propolis sucul organizmalarda pestisit toksisitesine karşı antioksidan ajan olarak kullanılabilir.

Anahtar Sözcükler: Dalak, kalp, katalaz, malondialdehit, *Oncorhynchus mykiss*, propolis, sipermetrin.

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE BIOCHEMICAL EFFECTS OF PROPOLIS ON FISH TISSUES EXPOSED TO CYPERMETHRIN

DOGAN, Hüsnü

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Zeliha SELAMOGLU

February 2015, 44 pages

The aim of this study was to investigate the therapeutic effects of propolis on biochemical parameters in tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to cypermethrin. Cypermethrin is a potential toxic pollutant that directly threatens the aquatic ecosystems and environment. Sublethal cypermethrin concentration of 0.0082 ppm was applied to the fish for 96 h. Propolis is a natural product collected from plants by honey bees. Its polyphenolic components, caffeic acid derivatives and flavonoids in particular, are matter of interest because of their strong antioxidant properties. Therapeutic concentration of propolis has been determined as 10 ppm in a previous study. Herein, catalase (CAT) activities and malondialdehyde (MDA) levels were determined in spleen and heart tissues of rainbow trouts. Results showed that CAT activities and MDA levels increased ($P \leq 0.001$) in tissues of fish exposed to cypermethrin compared to control group. CAT activities and MDA levels in the tissues of fish decreased in cypermethrin+propolis group ($P \leq 0.001$) compared to cypermethrin group. Propolis (10 ppm) on the tissues of the rainbow trout showed significant therapeutic effects. Propolis may serve as an antitoxic agent against pesticide toxicity to aquatic animals.

Keywords: Catalase, cypermethrin, heart, malondialdehyde, *Oncorhynchus mykiss*, propolis, spleen.

ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, sipermetrine maruz bırakılmış gökkuşuğu alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) dokularında propolisin tedavi edici özelliğini inceleyebilmek amacıyla katalaz (CAT) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) değerleri belirlendi. Sipermetrin uygulanan balık dokularında CAT aktiviteleri ve MDA düzeyleri kontrol grubuna göre artmıştır. Ancak sipermetrin+propolis uygulanan balık dokularında CAT aktiviteleri ve MDA düzeylerinde sipermetrin uygulanan balık dokularının CAT aktiviteleri ve MDA düzeylerine göre azalma gözlenmiştir. Propolis sipermetrinin toksik etkisini inhibe etmiştir. Buna bağlı olarak propolisin sipermetrine toksik etkilerine karşı sucul organizmaları koruyabilen antioksidan ajan olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında bana her türlü desteği sağlayan danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Zeliha SELAMOĞLU'na, deneysel çalışmalar boyunca yardımlarını esirgemeyen İnönü Üniversitesi'nden Doç. Dr. İlknur ÖZDEMİR'e, Aksaray Üniversitesi'nden Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fuat GÜLHAN'a, Dicle Üniversitesi'nden Arş. Gör. Oğuz ÇAKIR'a ve Niğde Üniversitesi'nden Yüksek Lisans Öğrencisi Cihan DÜŞGÜN'e teşekkürlerimi sunarım. Her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen eşim Hamide DOĞAN'a ve aileme çok teşekkür ediyorum. Bu çalışmaya FEB 2007/13 numaralı proje ile destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR	xi
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	3
2.1 Pestisitler ve Özellikleri	3
2.1.1 Sipermetrin	5
2.2 Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri	7
2.3 Antioksidanlar ve Antioksidan Savunma Sistemleri	8
2.3.1 Enzimatik antioksidanlar	8
2.3.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar	9
2.4 Propolis	10
2.4.1 Propolisin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri	10
2.5 Çalışılan Deney Hayvanı Hakkında Genel Bilgiler	12
2.6 Tez Kapsamında Çalışılan Dokular	14
2.6.1 Kalp doku	14
2.6.2 Dalak doku	14
2.7 Dokularda Çalışılan Parametreler	15
2.7.1 Malondialdehit (MDA)	15
2.7.2 Katalaz (CAT)	15
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT	16
3.1 Materyal	16
3.1.1 Propolis ekstraktının hazırlanması	16
3.1.2 Deneyde kullanılan kimyasal maddeler	16
3.1.3 Deneyde kullanılan aletler	16
3.1.4 Balıkların temini ve deney gruplarının hazırlanması	17

3.2 Metotlar.....	18
3.2.1 Diseksiyon işlemi.....	18
3.2.2 Biyokimyasal çalışmalar için doku numunelerinin hazırlanması	18
3.3 Biyokimyasal Analizler	19
3.3.1 Toplam protein tayini.....	19
3.3.2 Malondialdehit (MDA) düzeyinin hesaplanması.....	19
3.3.3 Katalaz (CAT) düzeyinin hesaplanması	19
3.4 İstatistiksel Analizler	20
BÖLÜM IV BULGULAR.....	21
4.1 Alabalık Kalp Dokusunda Biyokimyasal Analiz Bulguları.....	21
4.1.1 Malondialdehit (MDA) analiz bulguları	21
4.1.2 Katalaz (CAT) analiz bulguları.....	22
4.2 Alabalık Dalak Dokusunda Biyokimyasal Analiz Bulguları	22
4.2.1 Malondialdehit (MDA) analiz bulguları	22
4.2.2 Katalaz (CAT) analiz bulguları.....	23
BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ.....	25
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	43
TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan suyun bazı parametreleri.....	17
Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının kalp dokularında belirlenen MDA düzeyleri	21
Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının kalp dokularında belirlenen CAT aktiviteleri	22
Çizelge 4.3. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının dalak dokularında belirlenen MDA düzeyleri	23
Çizelge 4.4. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının dalak dokularında belirlenen CAT aktiviteleri	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Pestisitlerin doğadaki hareketleri.....	4
Şekil 2.2. Alfa ve beta sipermetrinin kimyasal yapısı	5
Şekil 2.3. Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları	10
Şekil 2.4. <i>Oncorhynchus mykiss</i> 'in morfolojisi	13

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

μ

α

β

Φ

Açıklama

Mikron

Alfa

Beta

Delta

Kısaltmalar

CAPE

CAT

GPX

H_2O_2

HO^\bullet

MDA

O_2

$O_2^{\bullet-}$

OSİ

SOD

TAS

TOS

Açıklama

Kafeik asit fenil etil ester

Katalaz

Glutasyon peroksidaz

Hidrojen Peroksit

Hidroksil radikal

Malondialdehit

Oksijen

Süperoksit radikali

Oksidatif stres indeksi

Süperoksit dizmutaz

Total antioksidan seviye

Total oksidan seviye

BÖLÜM I

GİRİŞ

Endüstrinin gelişmesiyle beraber zararlı maddelerin bilinçsiz olarak doğaya verilmesi su, toprak ve havanın zararlı madde içeriğinin artmasına yol açarken bu ortamlarda bulunan canlıların toksik ajanlardan çeşitli şekillerde etkilenmesine sebep olmaktadır (Sayılı ve Akman, 1994; Özmen, 1998; Murphy, 2001). Çevre kirliliğine yol açabilen maddelerden biri olan pestisitler; kullanım kolaylığı ve ucuz maliyetinden ötürü böcekler, yabancı otlar, bazı haşereler ve hastalık faktörlerine karşı mücadelede oldukça geniş yer tutmaktadır (Begum ve Vijayaraghavan, 1999). Tarımda yaygın bir şekilde kullanılan ve kullanıldığında kalıntıları suya kolayca geçebilen pestisitler besin zinciri boyunca sucul organizmalar ve insanlara kadar ulaşabilmektedir (Das ve Murkherjee, 2003; Borges vd., 2007). Etki ettikleri canlı gruplarına göre pekçok alt gruba ayrılabilen pestisitlerden sipermetrin; endüstride, tarımda ve ev haşereleriyle mücadelede oldukça yaygın olarak kullanılan böcek öldürücü maddedir (Çalışkan vd., 2003; Yılmaz vd., 2004). Sentetik piretroit olan sipermetrinin bilinçsiz bir şekilde kullanımı toprak ve su kirliliğine sebep olmakla beraber içeriğinde mevcut olan kimyasal maddeler bu ortamlarda bulunan canlılar için toksik etki oluşturabilmektedir (El Sayed vd., 2007). Çevresel faktörler ile canlı organizmalarda da birçok olumsuz etkiler gösterebilen bu toksik ürünlerin uzaklaştırılması enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar aracılığıyla sağlanabilmektedir. Hücrelerde oksidan üretimindeki artış ve antioksidanlardaki azalma ile ortaya çıkabilen oksidatif strese bağlı olarak kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, artritler ve nörodejeneratif bozukluklar oluşabilmektedir (Son vd., 2007; Kishikawa vd., 2010). Endojen ve ekzojen faktörlerle oluşturulan oksidatif stresin gideriminde kullanılan antioksidanlar arasında sıklıkla kullanılan ve etkili olan birçok doğal ürün yer almaktadır. Özellikle bu doğal ürünler arasında son yıllarda sıklıkla kullanılan arı ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Bal arıları tarafından üretilen ve doğal bir ürün olan propolis; doku ve hücrelerde toksik olabilen kimyasal maddeler arasındaki dengenin sağlanabilmesi amacıyla antioksidan olarak kullanılabilir (Şimşek vd., 2009). Bal arıları tarafından belirli ağaç ve bitki türlerinin tomurcuk ve reçinelerinden toplanan propolis; kimyasal

kompozisyonunda 210'dan fazla bileşik içermesinden dolayı antimikrobiyal, antioksidan, antimutajenik, immünomodulator ve sitotoksik etkiler gösterebilmektedir (Cuesta vd., 2005; Buratti vd., 2007; Estevinho vd., 2008; Miguel vd., 2010).

Suya kolayca geçebilen sipermetrin sucul ortamlarda yaşayan organizmalardan olan balıkların dokularında birikim yaparak toksik etki oluşturabileceği gibi besin zinciri yoluyla da insanlara ulaşarak olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bu bilgiler ışığında belli konsantrasyonda sipermetrin uygulanmış gökkuşuğu alabalıklarına propolis uygulanması sonucu kalp ve dalak dokularında bazı biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerin incelenmesi yoluyla bu maddelerin alabalık dokuları üzerine etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Pestisitler ve Özellikleri

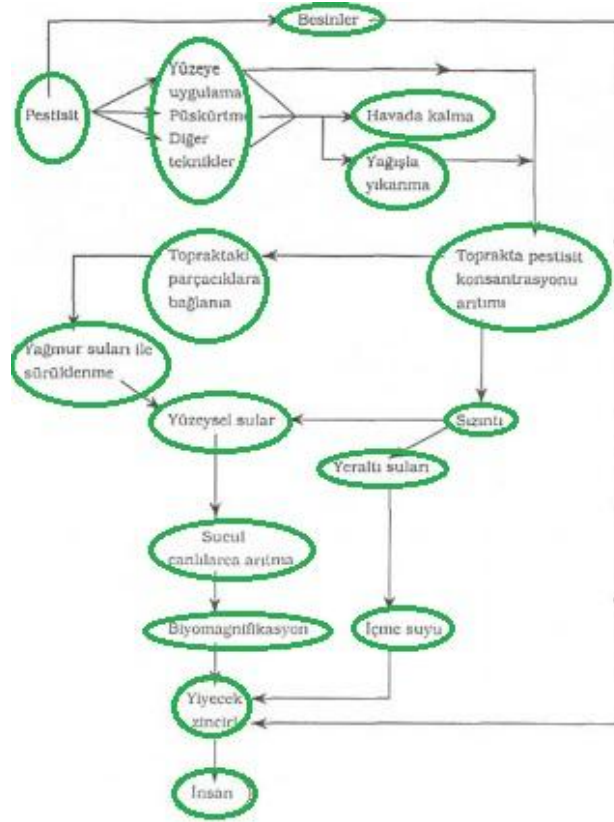
Zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını indirmek amacıyla kullanılan ve bileşimi kimyasal madde, virüs ya da bakteri gibi biyolojik bir ajan, antimikrobik, dezenfektan olabilen pestisitler, zirai mücadele araştırma ve uygulamalarında oldukça yaygın olarak kullanılan preparatlardır (Delen vd., 2005). İnsanların besin kaynaklarına ve tarımsal alanlara zarar verebilen böcekler, bitki patojenleri, yabancı otlar, yumuşakçalar, solucanlar ve mikroorganizmalar başlıca zararlı organizmalar olarak düşünülebilmektedir (Durmuşoğlu vd., 2010). Pestisit benzeri maddeler, pestisit gibi kullanılan ya da bu alana dahil edilebilen biyopreparatlar, böcek ve bitki gelişim düzenleyicileri, feromonlar ve diğer cezbediciler, beslenmeyi engelleyiciler, repellentler, bitki aktivatörleri, fizyolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan preparatlar ve benzeri maddeler; her ne kadar yararlı gibi gözükse de pestisitler insanlar ve diğer hedef dışı organizmalar için toksik etkilere yol açabilmektedir (Delen vd., 2005; Durmuşoğlu vd., 2010).

Fiziksel yapılarına, formulasyon şekillerine, etkiledikleri zararlılara (insektisit, fungusit, fungostatik, herbisit, rodentisit, vb.) ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif maddenin cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre pestisitler sınıflandırılabilirler ve klorlandırılmış hidrokarbonlar, organik fosforlu pestisitler, karbamatlı insektisitler, piretroit insektisitler olarak da çok değişik şekillerde yer alabilmektedirler (Yamanel vd., 2004; Yıldız vd., 2005; Delen, 2008). Piretroit insektisitler; Piretrum cinsine ait belirli türlerin çiçeklerinden elde edilebilmekte ve doğal piretrumların insektisit olarak pekçok avantajı bulunmaktadır (Polat vd., 2002; Pimpao vd., 2007). Geniş spektrumlu, memelilere karşı toksisitesi oldukça düşük ve normal şartlar altında kısa sürede parçalanabilen piretroit insektisitler üretim maliyetinin oldukça yüksek olması ve üretiminin sürekliliğinin olmaması sebebi ile de dezavantajlıdır. Işığa dayanıklı ve kalıntı etkisi yüksek insektisitler olarak

tarımda geniş kullanım alanı bulan sentetik piretroitlerin insanlar üzerinde sistemik ve akut toksisiteleri düşüktür (Atamanalp vd., 2002; Borges vd., 2007; Durmuşoğlu vd., 2010).

Pestisitler yalnızca toprak kirliliğine yol açmakla kalmaz, aynı zamanda topraktan havaya buharlaşıp yer altı kaynaklarına sızarak veya akarak da su ve hava kirliliğine sebep olabilmektedirler. Toprak vasıtasıyla bitkilere geçebilen pestisitler toksik düzeyde birikim yapabilmektedirler (Atasoy, 2007).

Dünyada ve ülkemizde zararlıları yok etmek, daha rahat bir yaşam ve kaliteli ürünler elde etmek amacıyla kullanılmakta olan pestisitler, hedef organizmaları yok ettiği gibi hedef dışı canlılara da zarar verebilmektedirler (Şekil 2.1.). Bu maddeler hedef dışı organizmaları başlıca sinir sistemi, endokrin sistem, immün sistem, karaciğer, kas, kalp, kan, boşaltım ve diğer sistemler üzerinden etkileyebilmektedirler (Tarakçı ve Türel, 2009).

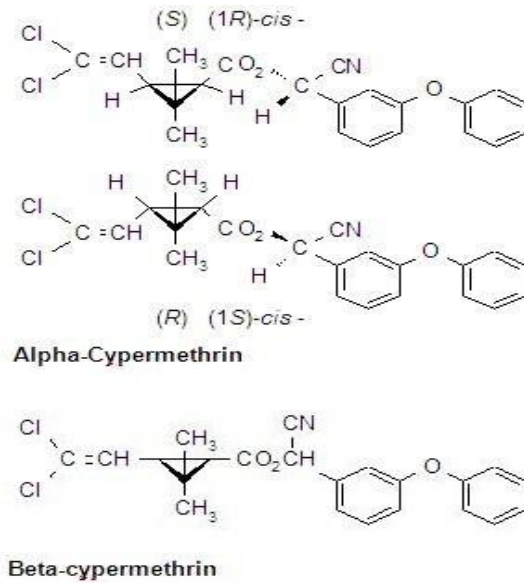


Şekil 2.1. Pestisitlerin doğadaki hareketleri (Güler ve Çobanoğlu, 1997)

2.1.1 Sipermetrin

Sentetik piretroit insektisit olan sipermetrin, bir süs bitkisi (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) tarafından üretilen doğal pretrinlerin sentetik analogu olup 1970'li yılların sonundan bu yana tarım ürünlerini haşerelere karşı korumak amacıyla kullanımı giderek yaygınlaşan toksik bir maddedir (Polat vd., 2002; David, 2004; Yılmaz vd., 2004; Dobsikova vd., 2006; Jaensson vd., 2007). İyi bir insektisit olan sipermetrin memelilere ve kuşlara karşı düşük toksisiteye sahip iken suda yaşayan canlılara karşı toksik etkisi oldukça yüksektir (Dobsikova vd., 2006).

$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$ ([R,S] α -cyano-3-phenoxybenzyl-2,2-dimetyl(1R,1S)-cis,trans-3-(2,2-dichlorovinly) cyclopropanecarboxylate) yapısında ve molekül ağırlığı 416.30 olan sipermetrinin α , β ve Φ olmak üzere 3 farklı izomeri bulunmaktadır (Şekil 2.2.). Kuşlar ve memeliler için oldukça zayıf toksisite gösteren, ancak sucul canlılar için oldukça toksik olabilen sipermetrinin aktif izomerini içeren α - sipermetrin; sinekler, sivrisinekler ve diğer haşerelere karşı da oldukça etkilidir. Sipermetrinin vücutta kalma süresi toksisitesini etkilemekte olup balıklarda kuş ve memelilere göre daha yavaş metabolize olarak daha geç atılmaktadır (Yılmaz vd., 2004).



Şekil 2.2. Alfa ve beta sipermetrinin kimyasal yapısı

(<http://www.skybluepestcontrol.com.tr>)

Sipermetrinin çevreye olan ekotoksikolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalarda hedef dışı organizmalar olarak balıklar da dikkat çekmektedir. Sığır, koyun ve kümes hayvanlarında bulunabilen ektoparazitlerin kontrol altında tutulması için yaygın olarak kullanılan sipermetrin ektoparazitlere karşı kemoterapötik bir ajan olarak da etki göstermiştir (Velisek vd., 2006). Tarımda, veteriner hekimlikte, ormancılıkta, çevre sağlığında, depolanmış ürünlerin muhafaza edilmesinde, haşerelerle mücadelede yaygın olarak kullanılan ve oldukça geniş spektrumlu olan sipermetrin, dolaylı olarak ulaştığı balık dokularında metabolizma ve enzim aktiviteleri üzerine olumsuz etkiler göstererek fizyolojik ve biyokimyasal süreci de olumsuz yönde etkilemektedirler (Yavuz vd., 1996; Kamalaveni vd., 2001). Sucul alanlarda yalnızca balıklara değil eklembacaklılara ve zooplanktonlara da toksik etki gösterebilen sipermetrinin stereokimyasal yapısına bağlı olarak toksik düzeyi değişiklik gösterebilmektedir (Ural ve Sağlam, 2005).

Sıcaklıkla sipermetrinin toksisite oranı ters orantılıdır, dolayısıyla kuzey iklim bölgelerinde kullanımı avantaj teşkil etmektedir. Piretroitlerin besin zinciri boyunca biyolojik birikimi fazla olmamakla beraber hedef dışı organizmalarda toksik etkiye sebep olabilen konsantrasyon düzeyi ppb (μg çözünen/ kg veya litre çözelti) seviyelerindedir. Buna bağlı olarak sipermetrinin organizmalar üzerinde toksik etkiye sebep olabildiği durumlarda iyileşme hızlı bir şekilde gerçekleşebilmektedir (Polat vd., 2002). Ancak balık solungaçlarından sipermetrin lipofilik yapısı sayesinde büyük oranda absorbe edilmektedir. Sipermetrinin sebep olabileceği bu tip toksik etkilere maruz kalma sonucunda, balıklarda enzim sistemlerinin yetersiz olmasına paralel olarak oksidatif stres gelişebilmektedir (Atamanalp vd., 2002; Gowland vd., 2002; Borges vd., 2007).

Sentetik piretroitlerin aşırı kullanılmasıyla beraber sipermetrin yeraltı suları ve sellerle göl ve nehirlere taşınarak çevre ve su kaynaklarında fizikokimyasal olarak kirlenmelere yol açmaktadır. Suya karışan pestisitler, suda oksijenin azalmasına bağlı olarak zehirlenmeye ve balıklarda kitlesel ölümlere sebep olabilmektedir (Atamanalp vd., 2002). Balıklarda piretroit toksisitesinden etkilenme durumları su sıcaklığı ve vücut ağırlığı ile ters orantılı olarak gerçekleşmektedir. Küçük balıklar (1g) büyük balıklara (200g) göre toksik etkiye karşı yaklaşık olarak 100 kat daha fazla tolerans göstermektedirler (Yılmaz vd., 2004).

Pestisitler balıkları doğrudan öldürebileceği gibi, yumurta üretimini engelleyerek ve üremeyi durdurarak da balık popülasyonları üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedirler. Yavru balıklar erginlere göre daha hassastırlar. Pestisitlerin su ile çözdürülerek hazırlanan preparatları sucul ortamlarda daha kısa zaman içerisinde etkisini gösterebilmektedir. Toz ve granül halinde kullanılan pestisilerin su içerisinde askıda kalmalarına bağlı olarak aktif maddelerinin dağılımı daha uzun zaman almaktadır. Balıklar askıda kalan bu pestisitleri aldıklarında zehirlenebilmektedirler (Atamanalp vd., 2002). Pestisitlerin organofosforlu bileşikler içermesine bağlı olarak balıklarda asetilkolinesteraz aktivitesinin engellenmesi ve nörotoksik etkiler ortaya çıkabilmektedir (Begum ve Vijayaraghavan, 1999). Sipermetrin *in vivo* ve *in vitro* olarak birçok doku ve eritrositlerde serbest radikal üreterek oksidatif strese sebep olabilmektedir (Yu-Tao vd., 2008).

2.2 Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri

Solunum, enzim reaksiyonları, otooksidasyon reaksiyonları gibi vücut içerisinde gerçekleşen metabolik ve fizyolojik faaliyetler ile sigara dumanı, hava kirliliği, iyonize radyasyon gibi dış etmenlerin etkisiyle reaktif oksijen türleri oluşabilmektedir (Young ve Woodside, 2001). Organizmada reaktif oksijen türleri ile antioksidanlar arasındaki doğal dengenin oksidanlar lehine bozulması durumunda oksidatif stres meydana gelebilmektedir (Abja ve Albertini, 2001; Mayne, 2003). Oksidatif stres oksidatif lezyonlara, doku hasarlarına, mutasyonlara ve hücre ölümlerine sebep olabilmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002). Oksijenli solunum yapan canlıların kullanmak zorunda olduğu O_2 tam indirgenerek suya dönüşürken tek elektron alarak indirgendiğinde süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)'ne, iki elektron alarak indirgendiğinde ise hidrojen peroksit (H_2O_2)'e dönüşmektedir. Elektron taşıma zinciri ve sitokrom P450 sistemi gibi çeşitli biyolojik reaksiyonlar sonucunda oluşan süperoksit radikalinin temel kaynağı elektronların transferi sırasında meydana gelen elektron kaçaklarıdır (Beyer, 1990; David ve McCord, 1999). Su hücre için toksik değil iken süperoksit radikali, hidroksil radikali (HO^{\cdot}) ve hidrojen peroksit hücreler için toksik etkiler göstermektedir. Reaktivitesi oldukça düşük olan süperoksit radikali; hidrojen peroksit ve geçiş metallerinin iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturmaktadır (Mathes ve Nahai, 1997). Hidrojen peroksit; süperoksit radikalinin bir elektron alarak indirgenmesi ya da

moleküler oksijenin iki elektron almasıyla oluşurken bu reaksiyonlar biyolojik sistemlerde genel olarak kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz aktivitesi ile gerçekleşebilmektedir (Mathes ve Nahai, 1997). Bu molekül, yapısında paylaşılmamış elektron bulunmadığı için radikal özelliği göstermez ancak biyolojik zarları kolayca geçebildiği için tehlike arz edebilir (Kılınç ve Kılınç, 2002). Hidroksil radikali; hidrojen peroksitin Fenton ve Haber-Weiss tepkimeleri ile oluşturulur. Hidroksil radikali bilinen güçlü ve en reaktif oksijen türevidir. Tekil oksijen ise ortaklanmamış elektronu olmamasına rağmen serbest radikal reaksiyonlarına sebep olduğundan oldukça tehlikelidir (Mathes ve Nahai, 1997; Kılınç ve Kılınç, 2002).

2.3 Antioksidanlar ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu engelleyerek ya da canlıda bulunan radikalleri süpürerek hücreleri korumaktadırlar. Antioksidanlar; enzimatik ve enzimatik olmayanlar şeklinde iki grupta incelenebilir (Nagai vd., 2005; Ardağ, 2008).

2.3.1 Enzimatik antioksidanlar

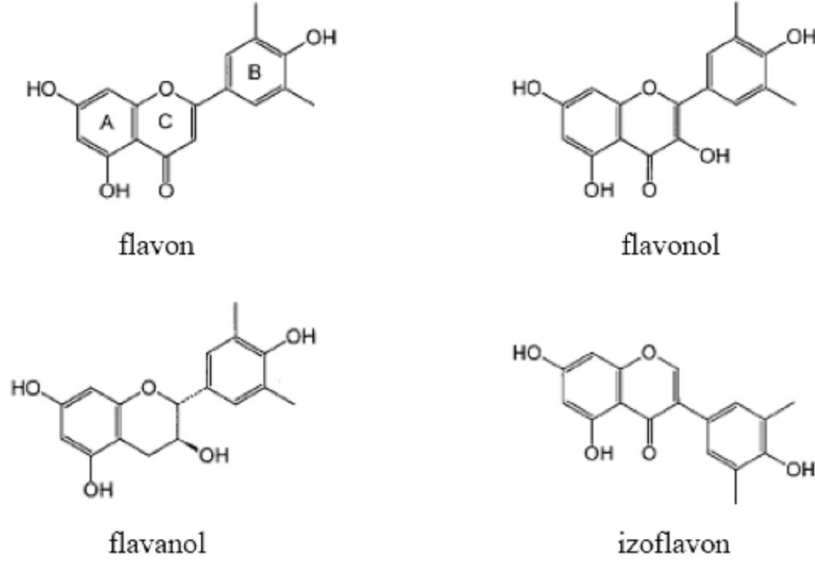
Süperoksit dismutaz (SOD); süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene indirgeyen enzimdir. Süperoksit dismutaz, süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının başlatıcısı olan süperoksiti indirgediğinden oksidatif strese karşı ilk savunma aşaması olarak düşünülmektedir (Ardağ, 2008). Katalaz; hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayan, peroksizomlarda lokalize olmuş, yapısında 4 “HEM” grubu bulunduran bir hemoproteindir (Ardağ, 2008). Glutatyon peroksidaz (GPX); hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerin nötralize edilmesinden sorumlu enzimdir. Yüksek miktarda hidrojen peroksit varlığında ise redükte glutatyonun okside glutatyona dönüşümünü katalizlerken hidrojen peroksiti suya dönüştürmektedir (Demirsoy vd., 2003). Glutatyon-S-transferaz; lipit hidroperoksitlere karşı Se-bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösteren enzimdir (Ardağ, 2008).

2.3.2 Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar sentetik ve sentetik olmayanlar şeklinde iki grupta incelenebilir (Çakmakçı ve Çelik, 2000). Tersiyer bütillhidrokinon, gallatlar, nordihidroguareyetik asit, bütillenmiş hidroksianisol ve bütillenmiş hidroksitoluen sentetik antioksidanlar sınıfındadırlar (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

Doğal antioksidanlar olarak vitaminler oldukça önemli bir yer tutmaktadır. C vitamini; yeşil sebze, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunan ve suda çözünebilir çok güçlü bir indirgeyici ajandır. C vitamini süperoksit ve hidroksil radikalleriyle kimyasal aktiviteye girerek onları temizler (Gardner vd., 2000). E vitamini; α -, β -, δ -, γ - tokoferoller ve tokotrienollerin oluşturduğu 8 farklı izomerik yapıya sahiptir. Kimyasal olarak aktif kısmını oluşturan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka sayesinde antioksidan özellik gösterebilir ve $O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , tekil oksijen, lipid peroksil radikallerini ve diğer radikalleri temizleyen güçlü bir antioksidandır (Landvik vd., 1998; Ardağ, 2008). Karotenoidler; sarı, turuncu veya kırmızı renkte olabilen, yapısında konjuge çift bağ bulunduran, pek çok bitki, alg ve küçük organizmalarda yer alan, yağda çözünebilir doğal antioksidanlardır (Ardağ, 2008).

Polifenolik bileşikler; fenolik bileşikler, metillenmiş veya glikozillenmiş birden fazla hidroksil grubu içeren aromatik bileşiklerdir ve yaklaşık 5000 üyesiyle fenolik bileşiklerin en büyük grubunu flavanoidler oluşturmaktadır (Şekil 2.3.). Polifenollerin serbest radikal süpürme (antioksidan) aktivitelerinin en büyük göstergesi ise hidrojen veya elektron verici ajanlar olarak indirgen özelliğe sahip olmalarıdır (Ardağ, 2008).



Şekil 2.3. Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları (Ardağ, 2008)

2.4 Propolis

Propolis; bal arıları (*Apis mellifera* L.)'nin ağaçların yaprak ve kabuklarından, bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden topladıkları özel reçine ve mumlu maddeleri tükürük enzimleriyle biyokimyasal olarak değişikliğe uğratarak oluşturduğu ve içeriği toplandığı vejetasyona bağlı olarak değişebilen arı ürünüdür. Arılar tarafından propolis kovan iç yüzeyinin kaplanması, yarık ve çatlakların kapatılması, peteklerin kenarlarının sertleştirilip onarılması, yaz sonunda çerçevelerin bağlanması, kovan giriş deliğinin küçültülmesi, ana arı yumurtlamadan önce petek gözlerinin cilalanmasını sağlamak için üretilmektedir (Kumazawa vd., 2004; Kutluca vd., 2006; Silici ve Güçlü, 2010).

2.4.1 Propolisin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri

Elde edildiği kaynağa ve depolanma süresine bağlı olarak rengi sarı-yeşilden koyu kahverengiye kadar değişen propolis yapışkan ve reçineli bir maddedir (Silici, 2003; Silici ve Güçlü, 2010). Güneş ışınlarının etkisiyle elastikiyetini kaybedebilen propolis, ortamın sıcaklığı 15°C'nin altına düştüğünde sertleşip kolayca kırılabilen gevrek bir hal almaktadır. Genellikle alkolde (etanol, metanol) çözünen propolis suda ve hidrokarbonlarda çok az miktarda çözünürken, eter veya kloroformda ise tamamen

çözünebilmekte ve erime sıcaklığı 80°C ile 105°C arasında değişebilmektedir (Schmidt, 1997).

Propolisin kimyasal bileşimi elde edildiği bitkiye, toplandığı bölgeye, koloniye ve mevsime göre değişiklik gösterebilmektedir. Yapısında %50 reçine ve balsam, %30 balmumu, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik madde içerdiği kaydedilmiştir (Silici ve Güçlü, 2010). Propolisin içeriğinde; prenillenmiş p-kumarik asitler, asetofenon türevleri, lignanlar, diterpenik asitler, triterpenler, uçucu bileşenler, monoterpenler, seskiterpenler, aromatik bileşenler (ksiloz, galaktoz, mannoz, glukoronik asit, laktoz, maltoz, melibioz, eritritol, ksilitol) bulunmaktadır (Bankova vd., 2000). Ayrıca propolis; polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehitler, alkoller ve ketonlar, kumarinler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli bileşikler de içermektedir. Propolisin yapısında polifenollerden; pinosembrin, pinobanksin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kampferol, apigenin, mirsetin, kuarsetin gibi flavonoidlerin yanı sıra 9-hekzadekanoik asit, kafeik asit, sinnamik asit, ve ferulik asit gibi fenolik asitler de bulunmaktadır (Marucci vd., 2001; Silici, 2003). Propolisin içerdiği enzimlere ise süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenzin trifosfataz ve asit fosfataz örnek gösterilebilir (Silici, 2003).

Propoliste mangan, çinko, barit, titan, bakır, kurşun, nikel, kobalt, vanadyum, krom, kalay (0-110,60 mg/100g), kalsiyum, fosfor, potasyum, kükürt, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum, civa, selenyum, zirkonyum, flor ve antimon minarelleri bulunmaktadır (Özan, 2006; Cantarelli vd., 2011). B1, B2, B6, C ve E vitamini ile nikotik ve pantotenik asiti içerebilen propolis (Özan, 2006) serin, glikol, asparajin, glutamik asit, alanin, triptofan, fenilalanin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, trionin olmak üzere 8–17 kadar aminositi barındırmaktadır (Bankova vd., 2000).

Propolis; antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiparaziter, antioksidan, immunostimülatör etkileri ile tıpta, apiterapide ve biyokozmetikte kullanılmaktadır. İçerdiği flavonoidler, aromatik asitler, fenolik asitler ve esterlerinin farmakolojik aktiviteleri sayesinde biyolojik polimerlere bağlanma, ağır metal iyonlarına bağlanma, elektron taşınmasını hızlandırma ve serbest radikalleri tutma gibi aktivite

gösterebilmektedirler (Gulcin vd., 2010; Silici ve Güçlü, 2010). Propolisin kimyasal içeriği ve biyolojik aktivitesi elde edildiği bitkiye, coğrafik bölgeye, mevsime ve arı türüne bağlı olarak farklılık göstermektedir (Kaya vd., 2012). Propolis antimikrobiyal etki gösterebilen pinosembrin, galangin, kafeik asit fenil ester ve ferulik asiti içermektedir. Antifungal özellik gösterebilen bileşikleri pinosembrin, pinobanksin, kafeik asit fenil ester, benzil ester, sakuranetin ve pterostilben iken antiviral özellik gösterebilen yapıları kafeik asit fenil ester, luteolin ve kuersetindir (Banskota vd., 2001; Coşkun, 2006).

Propolisin antioksidan aktivite göstermesinde yapısında bol bulunan flavonoidler, kampferol ve fenetil kafeat gibi maddelerin etkili olduğu belirlenmiştir (Kumazawa vd., 2004). Serbest radikal temizleme etkisine sahip olan ve propolisin antioksidan etkinliğinde oldukça önemli olan kafeik asit fenetil ester (CAPE); ksantin oksidaz aktivitesini belirgin biçimde inhibe eder ve antilipoperoksidatif aktivite gösterir (Russo vd., 2002). Serbest radikal temizleme etkisinin yanı sıra propolis prostoglandinlerin sentezinin inhibe edilmesinde, timus bezinin aktive edilmesinde, hücrel bağışıklığın sağlanmasında ve epitelyal dokularda iyileşmenin olumlu yönde etkilenmesinde antiinflamatuvar bir ajan olarak aktivite gösterebilmektedir (Borelli vd., 2002; Russo vd., 2002; Cardile vd., 2003; Mohammadzadeh vd., 2007).

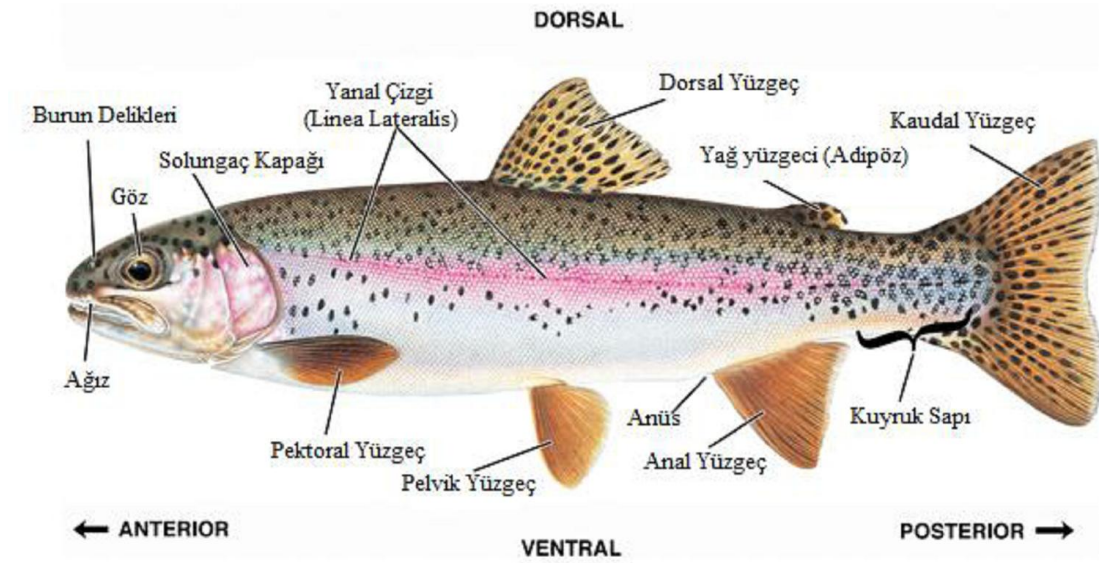
Kardiyovasküler ve dolaşım sistemi hastalıklarında, kanser tedavisinde, immun sistem ve sindirim sistemi hastalıklarında tedavi edici, karaciğer rahatsızlıklarına karşı ise koruyucu olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Şahinler, 2000; Song vd., 2002; Kutluca vd., 2006).

2.5 Çalışılan Deney Hayvanı Hakkında Genel Bilgiler

Salmonidae familyasına dahil olan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) pasifik som balık cinsi içerisinde (Yanık, 2009).

Alem: Animalia (Hayvanlar)
Şube: Chordata (Kordalılar)
Sınıf: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)
Takım: Salmoniformes
Familiya: Salmonidae (Somongiller)
Cins: *Oncorhynchus*
Tür: *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Alabalıkların en ayırt edici özellikleri sırt yüzgeci ile kuyruk yüzgeci arasında yağ yüzgeci bulunmasıdır. Vücudu uzamış ve az basık olan gökkuşağı alabalığının, sırt yüzgecinde 10-12 yumuşak ışın bulunurken anal yüzgecinde 8-12 yumuşak ışın bulunmaktadır. Gökkuşağı alabalıklarının dorsal kısmı metalik mavi diğer kısımlar gümüşü renkte olup yanıl çizgi boyunca parlak ve gökkuşağı renklerinde bantlar ve sırt ve kuyruk yüzgeçleri ile yanıl çizgi üzerinde siyah benekler bulunmaktadır (Şekil 2.4.) (Ade, 1982; Stickney, 2000; Emre, 2004; Arabacı, 2007; Yanık, 2009).



Şekil 2.4. *Oncorhynchus mykiss* 'in morfolojisi (<http://aquaticpath.php.ufl.edu>)

Neredeyse dünyanın her bölgesinde yayılış gösteren gökkuşağı alabalıkları çözünmüş oksijence zengin, soğuk ve berrak sularda yaşamaktadırlar. Adaptasyon kabiliyeti oldukça yüksek ve hızlı büyüeyebilen bir balık türü olan gökkuşağı alabalıkları kolay döl alınması, kısa kuluçka süresine sahip olması ve hastalıklara karşı yüksek direnç gösterebilmesi açısından kültür balıkçılığında yaygın olarak kullanılmaktadırlar

(Çelikkale, 1994; Aras vd., 2000). 1874 yılında Kuzey Amerika'da yetiştirilmeye başlanan gökkuşağı alabalığı, kültürü yapılan en önemli balık türüdür. Buna bağlı olarak ekonomik değerinin yüksek olması ve zengin besin içeriğinden dolayı da en fazla araştırma yapılan balık türüdür (Sirkecioğlu, 2011).

2.6 Tez Kapsamında Çalışılan Dokular

2.6.1 Kalp doku

Enerji üretebilmek amacıyla besin ve oksijenin vücut hücrelerine kadar taşınmasından sorumlu olan dolaşım sistemi, hormonal mesajların ve materyallerin transferi gibi farklı vücut fonksiyonlarının tamamlayıcısıdır. Kalp, kalbin pompalama fonksiyonu için gerekli olan niteliklerin tümünün sistemli bir şekilde olmasını sağlayan çoklu dokuların oluşturduğu karmaşık bir organdır. Buna ek olarak kardiyak miyositlerin metabolik mekanizmaları ve kasılmaları, hücre dışı sıvının miktarı ve kalitesi de muskular pompa olarak kalbin özelliklerine katkı sağlamaktadır (Vornanen vd., 2005).

2.6.2 Dalak doku

Midenin kaudo-ventralinde bulunan ve koyu kırmızı siyah renkte olan dalak, teleostlarda fibroz bir kapsüle ve parankiması içine uzanan trabeküllere sahip olup kırmızı ve beyaz pulpalara bölünür. Makrofajları ve lenfositleri de içeren çok farklı hücre popülasyonlarını barındıran kanla dolu sinuzoitleri besleyen dalağın büyük bir kısmını kırmızı pulpa oluşturur. Dalağın beyaz pulpa bölümü; melanomakrofaj merkezleri (antijenleri immün kompleksler halinde, uzun süre muhafaza etmelerinden dolayı bu merkezler yüksek omurgalılardaki germinal merkezlerle benzeşmektedir) ve elipsoidler (özel bir fonksiyona sahip olan bu yapılar yaşlı hücreleri, patojenleri, protein agregatlarını ve lipopolisakkaritleri özellikle immün kompleksler halinde yakalamaktadırlar) olmak üzere iki kısım halinde incelenmektedir (Channonachookhin vd., 1991; Clem vd., 1996; Pastoret vd., 1998; Magnadottir vd., 2005).

2.7 Dokularda Çalışılan Parametreler

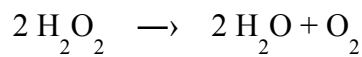
2.7.1 Malondialdehit (MDA)

Serbest radikaller aşırı derecede üretildiklerinde metabolizma üzerinde çeşitli zararlı reaksiyonlara sebep olabilmektedirler (Çelikezen ve Ertekin, 2008). Hücrede lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en önemli zararlı metabolit ise MDA'dır. Doymamış yağ asitlerinin çift bağlarının oksidasyonu sonucu meydana gelebilen ve üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, metabolik koşullarda olağan bir süreç içerisinde asetat ve malonata ve ardından krebs döngüsü ile CO₂'e indirgenir (Murray vd., 1996). Hücre zarlarında oluşan MDA; membran akışkanlığını bozarak madde alışverişinde düzensizliklere, membran geçirgenliğinde azalmalara, transmembran iyon gradientinde bozulmalara ve enzim aktivitesinde dejenerasyonlara sebep olabilmektedir (Moslen, 1994; Çelikezen ve Ertekin, 2008)

2.7.2 Katalaz (CAT)

Memeli eritrositlerinde bol miktarda bulunan ve peroksizomlarda lokalize olan katalaz tetramerik yapıya sahip, molekül ağırlığı 240.000 gr/mol olan aktif merkezinde 4 adet "ferrihem" içeren bir hemoproteindir. CAT'ın somatik oksidan koruyucu aktivitesi H₂O₂'i su ve oksijene parçalamasıyla gerçekleşir ve affinitesi GPX' e göre daha fazladır. CAT'ın indirgeyici aktivitesi, büyük moleküllü hidroperoksitlere etki etmez iken hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşı oldukça etkilidir. Hidrojen peroksit gibi toksik potansiyelli süperoksit iyonlarını hücrelerden uzaklaştırmada önemli bir rol oynayan bu enzim, hidrojen peroksiti suya ve oksijene indirgeyerek bu aktivitesini gerçekleştirir (Karabulut vd., 2002).

Katalaz



BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Propolis ekstraktının hazırlanması

Balıkesir İli'nin Kocaavşar Köyü'ndeki bir arı çiftliğinden elde edilen propolis örneklerinin etanolik ekstraksiyonu; 30g propolis örneğine %70'lik 100 mL etil alkol ilave edilerek hazırlandı (Mani vd., 2006; Mohammadzadeh vd., 2007). Elde edilen karışım 48 saat boyunca oda sıcaklığında ışıktan korunmak koşuluyla karıştırıcı tabla yardımıyla homojen olana kadar karıştırıldı. Ardından elde edilen homojen karışımdan, evaporasyon ile etil alkol uzaklaştırıldı ve kurutulan propolis kullanılabilece kadar koyu renkli şişelerde 4°C'de bekletildi.

3.1.2 Deneyde kullanılan kimyasal maddeler

Deneysel çalışmalarda; HCl (%37) (Merck), Na₂CO₃ (Merck), NaOH (Merck), Na,K-tartarat çözeltisi (Merck), KH₂PO₄ (Merck), K₂HPO₂ (Merck), KCl (Merck), CuSO₄ (Merck), Folin Fenol Belirteci (Merck), BSA (Bovine Serum Albumin) (Sigma), H₂O₂ (Sigma), TCA (Trichloroacetic acid) (Merck), HCl (Merck), 2-thiobarbütirik asit (TBA) (Sigma), H₃SO₄ (Merck), NaCl (Merck), NaH₂PO₄ (Merck), Na₂HPO₄ (Merck), C₂H₅OH (Merck) kullanılmıştır.

3.1.3 Deneyde kullanılan aletler

Tez çalışmaları boyunca; otomatik pipetler, hassas terazi, diseksiyon seti, waring blender, vortex, soğutmalı santrifüj (Nuve NF-800-R), spektrofotometre (Shimadzu UV-1601-UV), pH metre (PH 1000-masa tipi), derin dondurucu (-80°C), manyetik karıştırıcı, homojenizatör (Ultra- Turrax T 25), su banyosu (Crifton) kullanılmıştır.

3.1.4 Balıkların temini ve deney gruplarının hazırlanması

Bu çalışma 03.11.2011 tarihli ve B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/95 sayılı Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirilmiştir. Gökkuşığı alabalıklarında sipermetrin toksisitesinin oluşturabileceği hasarlara karşı, propolis uygulaması sonucu biyokimyasal değişimleri gözlemlemek amacıyla; 7 hayvan içeren 4 farklı deney grubuna ait toplam 28 adet alabalık kullanılmıştır. Çamardı Ecemiş alabalık üretim tesislerinden temin edilen alabalıklar, laboratuvar ortamında 60x50x100 boyutlu akvaryumlarda 15 gün boyunca adaptasyonları tamamlanana kadar Excel Pond marka pelet yemle beslenmiştir. Adaptasyonları sağlanan alabalıklar; kontrol, propolis, sipermetrin ve sipermetrin+propolis şeklinde gruplara ayrılmışlardır.

Alabalıklara uygulanacak propolisin konsantrasyonu literatür taraması yapılarak 10 ppm (mg çözünen/ kg veya litre çözelti) olarak (Talas ve Gulhan, 2009), sipermetrinin 96 saatteki subletal konsantrasyonu ise 0,0082 ppm olarak belirlendi (Atamanalp vd., 2002; Polat vd., 2002). Kullanılan alabalıkların ortalama uzunlukları 29.71 ± 4.22 cm, ortalama ağırlıkları ise 248.42 ± 5.18 g olarak tesbit edilmiştir. Deneyde alabalıkları muhafaza ettiğimiz suyun fizyokimyasal özellikleri çalışmamız açısından oldukça önemli olduğundan, suyun sıcaklığı ($12 \pm 0.7^\circ\text{C}$) ve pH seviyesi (7.74 ± 0.08) belirli değerlerde tutulmaya çalışılmıştır. Uygulama yapılmadan önce ve sonra suyun özellikleri çizelge 3.1.'de verildiği gibidir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan suyun bazı parametreleri

Kriterler (ppm)	Uygulama öncesi	Uygulama sonrası
Biyolojik oksijen düzeyi	7.82 ± 0.22	7.62 ± 0.18
Kimyasal oksijen düzeyi	15.14 ± 0.17	16.25 ± 0.21
Süspanse maddeler	36.75 ± 1.20	40.15 ± 1.74
Kalsiyum	126.05 ± 1.54	114.07 ± 1.15
Sodyum	16.40 ± 0.85	19.68 ± 0.71
Klor	27.45 ± 0.63	25.20 ± 0.52
Toplam nitrojen	5.80 ± 0.22	6.74 ± 0.26
Sertlik (CaCO ₃)	174.30 ± 3.14	168.20 ± 2.81

3.2 Metotlar

3.2.1 Diseksiyon işlemi

Deneysel uygulama işlemleri tamamlandıktan sonra karanfil yağı (40 mg/L) (Hoskonen ve Pirhonen, 2004) uygulaması ile alabalıklara anestezi işlemi gerçekleştirildi. Balıkların vücutları bir havlu içerisinde kurutularak kuyruk venalarından kesim işlemi yapıldı ve vücuttan kan uzaklaştırıldıktan sonra diseksiyon seti kullanılarak dokulara zarar verilmeden kalp ve dalak dokuları çıkarıldı.

3.2.2 Biyokimyasal çalışmalar için doku numunelerinin hazırlanması

Alabalıklardan diseksiyon işlemiyle oldukça dikkatli bir şekilde çıkarılan kalp ve dalak dokuları çalışılana kadar derin dondurucuda (-80°C) bekletildi. MDA düzeyleri ve CAT aktivitesini belirlemek için alabalık kalp ve dalak dokuları iki parçaya ayrıldı. İlk parça lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinin analizinde, ikinci parça ise toplam protein düzeyleri ve CAT aktivitesinin saptanmasında kullanıldı. MDA düzeylerinin belirlenmesinde kullanılacak dokular hassas terazide tartıldıktan sonra buz izolasyonu altında 1/10 w/v oranında % 1,15'lik KCI çözeltisinde homojenize edildi. Doku homojenatları analiz edilinceye kadar -80°C'de derin dondurucuda tutuldu.

Dokuların ikinci parçalarında ise buz izolasyonu altında 1/5 w/v oranında PBS (fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi) tamponu ile homojenizasyon işlemi yapıldı. Doku homojenatları Nuve NF-800-R soğutmalı santrifüjde 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar toplam protein düzeyleri ve CAT aktivitesinin analizleri yapılmaya kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

Alabalık kalp ve dalak dokularında propolis ve sipermetrinin meydana getirebileceği lipit peroksidasyonu (MDA) düzeyleri ve katalaz (CAT) aktivitesindeki değişimler istatistiksel analizler yapılarak belirlendi.

3.3 Biyokimyasal Analizler

3.3.1 Toplam protein tayini

Toplam protein düzeylerini belirlemek için alabalık kalp ve dalak dokularından elde edilen süpernatantların 1 mL'sinde bulunan protein miktarının analizi Lowry yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (Lowry vd., 1951). Bu metot, alkali koşullarda fosfomolibdik/fosfotungistik asit çözeltisinin proteinlerdeki fenolik aminoasitlerle verdiği tepkimelere dayalı çalışmaktadır.

3.3.2 Malondialdehit (MDA) düzeyinin analizi

Serbest radikaller hücre zarında bulunan lipidlerin yapısını bozarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin tayini ise Beuge yöntemine göre yapıldı (Beuge ve Aust, 1978). Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi amacıyla; 2 hacim %10'luk TCA çözeltisi, 2 hacim %0,67'lik TBA çözeltisi ve 1 hacim %0,25 N'lik HCl çözeltisi karıştırılarak bir çözelti hazırlandı. Hazırlanan çözülden 10 mL'lik santrifüj tüplerine 4 mL ilave edildi ve kör tüpleri hariç diğer örnek tüplerine 1 mL homojenat eklendi. Kuvvetli bir şekilde 1 defa karıştırıldı ve 15 dakika boyunca kaynar suda (95-100°C'de) bekletildi. Soğutulan tüpler 13500 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanın 535 nm'deki absorbansı spektrofotometrede okundu. Kaydedilen veriler şu şekilde hesaplanır:

MDA-TBA kompleksi için molar absorptivite katsayısı: $\epsilon: 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$C = OD / 1.56 \times \text{Total Hacim} / \text{Numune Hacmi}$

3.3.3 Katalaz aktivitesinin analizi

Katalaz enziminin seviyesinin belirlenmesi Luck yöntemine göre yapılmıştır (Luck, 1963). Katalaz tayininde kullanılan reaktifler; 1/15 M Na-K-fosfat tamponu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$) pH: 7 ve konsantre H_2O_2 çözeltisidir. 100 mL Na, K-fosfat tampon çözeltisine 160 μL H_2O_2 çözeltisi eklenerek bir çözelti hazırlanmıştır. Doku örneklerindeki katalaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan çözülden 1000 μL alınıp küvete konuldu

ve çalışma aralığına uygun olarak 30 µL'den başlayıp artan konsantrasyonlarda süpernatant ilave edilip bir kez karıştırıldı ve 240 nm dalga boyunda 30 saniye spektrofotometre ile absorbansında meydana gelen değişimler ölçüldü. Kaydedilen absorbans değerleri aşağıda bulunan formüle göre belirlendi.

$$C = \frac{\Delta OD \times 1 \text{ dk} \times 1000}{0,036 \times \mu\text{L süpernatant}}$$

3.4 İstatistiksel Analizler

Biyokimyasal veriler kullanılarak Windows SPSS V.16 hazır paket programı ile ANOVA (one-way analyses of variance) kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel hesaplamalar ise anlamlılık düzeyi $P \leq 0.001$ olarak belirlenen Duncan's çoklu karşılaştırma testi kullanılarak tespit edilmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Alabalık Kalp Dokusunda Biyokimyasal Analiz Bulguları

Gökkuşığı alabalıklarının kalp dokularında propolis ve sipermetrin uygulamasına bağlı olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri ve katalaz (CAT) aktivitesinde meydana gelen değişimleri tespit edebilmek amacıyla oluşturulan kontrol, propolis, sipermetrin ve sipermetrin+propolis gruplarında toplam 28 adet alabalık kullanılmıştır. Gökkuşığı alabalıklarına 10 ppm konsantrasyonda propolis ve 0,0082 ppm konsantrasyonunda da sipermetrin uygulanarak biyokimyasal değişimler gözlenmiştir.

4.1.1 Malondialdehit (MDA) düzeyleri

Adaptasyonları sağlanan alabalıklara belirlenen konsantrasyonlarda propolis ve sipermetrin uygulanarak balıkların kalp dokularının tiyobarbitürik asit miktarına bağlı olarak değişen MDA değerlerindeki değişimler çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan gökkuşığı alabalıklarının kalp dokularında belirlenen MDA düzeyleri

GRUPLAR	MDA düzeyleri (nmol/g doku)
Kontrol	11,93 ± 0,67 ^b
Propolis	11,33 ± 0,56 ^b
Sipermetrin	15,84 ± 1,28 ^a
Sipermetrin+Propolis	12,65 ± 0,43 ^b

Farklı harflerle (a ve b) gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P \leq 0,001$). Tabloda verilen değerler ± standart hata değeri olarak ifade edilmektedir.

Gökkuşığı alabalıklarının kalp dokularında MDA düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubu, propolis uygulama grubu ve sipermetrin+propolis uygulanan grupta elde edilen MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($P \geq 0,001$). Sipermetrin uygulanmış alabalık kalp dokularında MDA düzeyleri diğer üç gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($P \leq 0,001$). Sipermetrin+propolis uygulanan alabalıkların kalp MDA düzeyleri sipermetrin grubuna göre istatistiksel

olarak önemli bir şekilde azalmıştır ($P \leq 0,001$). Sipermetrinin yol açtığı MDA değerlerindeki artış propolis uygulaması ile azalmıştır.

4.1.2 Katalaz (CAT) aktivitesi

Gökkuşığı alabalıklarının kalp dokularında katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimler çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Kalp dokularının CAT aktivite değerleri incelendiğinde; sipermetrin uygulanan grubun değerleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksektir ($P \leq 0,001$). Kontrol, propolis ve sipermetrin+propolis gruplarında bulunan alabalık kalp dokularındaki CAT verilerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P \geq 0,001$).

Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan gökkuşığı alabalıklarının kalp dokularında belirlenen CAT aktiviteleri

GRUPLAR	CAT aktiviteleri (kU/g protein)
Kontrol	1,21 ± 0,088 ^b
Propolis	1,28 ± 0,175 ^b
Sipermetrin	1,98 ± 0,093 ^a
Sipermetrin+Propolis	1,43 ± 0,084 ^b

Farklı harflerle (a ve b) gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P \leq 0,001$). Tabloda verilen değerler ± standart hata değeri olarak ifade edilmektedir.

4.2 Alabalık Dalak Dokusunda Biyokimyasal Analiz Bulguları

Propolis ve sipermetrin uygulaması sonucu gökkuşığı alabalıklarının dalak dokularında saptanan malondialdehit (MDA) düzeyleri ve katalaz (CAT) aktivitesindeki değişimleri tespit edebilmek amacıyla kontrol, propolis, sipermetrin ve sipermetrin+propolis olmak üzere toplam 4 grupta 28 adet alabalık kullanılmıştır. Gökkuşığı alabalıklarına 10 ppm konsantrasyonda propolis ve 0,0082 ppm konsantrasyonda da sipermetrin uygulanarak biyokimyasal değişimler belirlenmiştir.

4.2.1 Malondialdehit (MDA) düzeyleri

Çalışma gruplarında yer alan gökkuşığı alabalıklarının dalak dokularında malondialdehit (MDA) seviyelerinde meydana gelen değişimler çizelge 4.3.'de gösterilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde; istatistiksel olarak en yüksek ($P \leq 0,001$)

MDA değerine sipermetrin uygulanmış grup sahip iken kontrol ve propolis gruplarının dalak dokularında MDA düzeylerinin istatistiksel olarak en düşük ($P \leq 0,001$) değerlerde olduğu saptanmıştır. Sipermetrin+propolis uygulanmış grupta bulunan alabalık dalak dokularında MDA düzeyleri, sipermetrin uygulanmış dalak dokularındaki MDA düzeylerinden istatistiksel olarak daha düşüktür ($P \leq 0,001$).

Çizelge 4.3. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının dalak dokularında belirlenen MDA düzeyleri

GRUPLAR	MDA düzeyleri (nmol/g doku)
Kontrol	8,27 ± 0,52 ^c
Propolis	9,15 ± 0,57 ^c
Sipermetrin	15,04 ± 0,34 ^a
Sipermetrin+Propolis	13,09 ± 0,64 ^b

Farklı harflerle (a, b ve c) gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P \leq 0,001$). Tabloda verilen değerler ± standart hata değeri olarak ifade edilmektedir.

4.2.2 Katalaz (CAT) aktivitesi

Gökkuşuğu alabalıklarının dalak dokularında farklı gruplarda katalaz (CAT) değerlerinde meydana gelen biyokimyasal değişimler çizelge 4.4.'de gösterilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda istatistiksel olarak en yüksek ($P \leq 0,001$) katalaz aktivitesi sipermetrin uygulanmış grupta saptanmıştır. Kontrol grubu ve propolis grupları verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış ($P \geq 0,001$) ve sipermetrin+propolis grubu değerlerinin sipermetrin uygulama grubu değerlerine göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,001$).

Çizelge 4.4. Deneyde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının dalak dokularında belirlenen CAT aktiviteleri

GRUPLAR	CAT aktiviteleri (kU/g protein)
Kontrol	1,00 ± 0,033 ^b
Propolis	0,91 ± 0,156 ^b
Sipermetrin	1,66 ± 0,095 ^a
Sipermetrin+propolis	1,21 ± 0,090 ^b

Farklı harflerle (a ve b) gösterilen rakamlar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P \leq 0,001$). Tabloda verilen değerler \pm standart hata değeri olarak ifade edilmektedir.

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma ile sipermetrin (0,0082 ppm) ve propolis (10 ppm) uygulamasına maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıklarının kalp ve dalak dokularında malondialdehit ve katalaz düzeylerinde meydana gelen değişimler belirlenmiş ve elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Nüfus artışıyla beraber kaliteli ve miktar olarak daha fazla ürün elde etmeye yönelik çalışmalar artış göstermiş, buna bağlı olarak da kimyasal gübre ve ilaç kullanımında artış meydana gelmiştir. Kimyasal gübre kullanımı sulama suları ile akarsular ve yeraltı sularına karışarak çevre kirliliğine neden olabilmektedir (Karaer ve Gürlük, 2003; Kumbur vd., 2008). Tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan toksik ajanlardan biri olan pestisitler suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek su kirliliğine sebep olabilmektedir (Özmen, 1998). Suya ulaşabilen pestisitler sucul organizmalar ile besin zinciri yoluyla diğer canlılara da ulaşabilmektedir (Adhikari vd., 2004). Önemli bir sentetik piretroit pestisit olan sipermetrin ev hayvanları, sinekler, sivrisinekler ve haşerelere karşı da oldukça etkilidir. Kuşlar ve memeliler için çok etkili olmayan sipermetrin balıklar ve diğer sucul organizmalar için oldukça toksik etkiye sahiptir (Yılmaz ve ark., 2004). Buna bağlı olarak yaptığımız çalışmada sipermetrinin alabalık dokularında belirlenen 0.0082 ppm'lik LC₅₀'deki konsantrasyonunu kullandık (Atamanalp ve Cengiz, 2002; Atamanalp vd., 2002). Protein, yağ, karbonhidrat, vitaminler ve mineral bakımından değerli olan su ürünleri arasında önceliği balıklar almaktadır. Sularda meydana gelen kirlilik sebebiyle balık yetiştiriciliği ile ilgili birçok sorun ortaya çıkabilmekte ve bu tür sorunları indirgemek ve balık gibi protein ve omega-3 deposu olan besinlerden daha fazla faydalanmak amacıyla balıklara antioksidan olarak ifade edilebilen maddeler verilebilmektedir (Konar vd., 1999; Turan vd., 2006). Balıklara uygulanacak bu maddelerde oran çok önemlidir ve doğal antioksidan özelliklere sahip olan bu maddelerden propolis bu çalışmada 10 ppm konsantrasyonda kullanıldı (Talas ve Gulhan, 2009). İçerisinde çok sayıda flavanoid bulunduran propolisin antimikrobiyal, antioksidan, anestezik, antiinflamatuvar, antiviral ve daha pek çok biyolojik özellikleri bulunmaktadır (Almeida ve Menezes, 2002; Nirala

ve Bhadauria, 2008). Yaptığımız çalışma sonucunda insan diyetinde önemli bir yeri olan balık gibi sucul organizmalara pestisitlerin kolayca ulaşması sonucu et kalitesi ve besinsel değerinde düşüşler olacağı düşünülmektedir. Oldukça yaygın olarak kullanılan pestisitlerden sipermetrine maruz bırakılmış alabalıklara antioksidan bir madde olan propolisin uygulanmasıyla alabalık dokularındaki biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri gözlemek amacıyla MDA ve CAT değerleri analiz edilmiştir.

Balık dokularında antioksidan enzimler, karotenoidler ve vitaminler gibi lipid peroksidasyonunu engelleyici ajanlar bulunabilmektedir (Matkovics vd., 1977). Katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimler özellikle balıklarda belirlenmiştir. Balıkların hem oksidatif göstergeleri ve hem de antioksidan kapasiteleri türlerin habitatlarına ve beslenme şekillerine göre farklılıklar gösterebilmektedir (Winston ve Di Giulio, 1991). Farklı dokularda oksidatif strese antioksidan sistemin cevabı, antioksidan potansiyelin dokuya özgü oluşundan dolayı farklılık gösterebilmektedir (Ahmad vd., 2000). Çalışmamızda da farklı balık dokularında antioksidan durumun ve oksidatif yanıtların farklı olabileceği belirlendi. Serbest radikal üretiminin farklı oranlarda olmasından kaynaklanan bu farklılıklar dokuların farklı antioksidan kapasiteleri veya oksidatif hasar duyarlılık farklılıklarından kaynaklanabilmekte, ancak dokulardaki pestisit toksisitesine karşı oksidatif duyarlılığı propolis değiştirebilmektedir. Pestisit ve diğer ksenobiyotikler tarafından uyarılan hücre zarı hasarının en önemli adımlardan biri olan lipid peroksidasyonu (Yonar ve Sakin, 2011) hücrel formların oksidatif hasarı için bir belirteç olabilmektedir. Hücre bileşenlerinin ve fonksiyonlarının önemli bir parçası, muhtemelen oksidatif hasarın önemli bir amacı ve oto-oksidasyon için en hassas substrat hücre zarının çoklu doymamış yağ asitleridir. 0.0082 ppm konsantrasyondaki sipermetrine maruz bırakılan balığın kalp ve dalak dokularında MDA düzeyinde artış gözlenmiştir. MDA düzeyindeki bu artışın sipermetrin toksisitesine bağlı olarak antioksidan enzim eksikliği ve ROS'un aşırı üretiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada, gökkuşuğu alabalıklarının sipermetrine maruz bırakılması durumunda kalp ve dalak dokularında MDA değerlerindeki artış ve antioksidan savunma sistemindeki aksaklıklar sebebiyle oksidatif stresin oluşabileceği gözlenmiştir. Kalp ve dalak gibi çeşitli dokularda önemli bir şekilde lipid peroksidasyonuna yol açması açısından toksik madde uygulamaları ile yapılan çalışmaların sonuçları ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları paralellik göstermektedir (Kavitha ve Rao, 2008; Oruç, 2010; Sharbidre vd., 2011).

Propolis içeriğinde bulunan fenolik bileşikler sayesinde antioksidan özellik gösterebilmekte ve bu özelliği sayesinde serbest radikal üretimini baskılayabilmektedir (Castaldo ve Capasso, 2002). Sipermetrin+propolis uygulanan grupta balıkların kalp ve dalak dokularında MDA düzeyleri sipermetrin grubu MDA düzeylerine göre azalmıştır. Bu değerlere bağlı olarak oksidatif stresin azaldığı sonucuna ulaşılabilmektedir. Bu veriler, pestisit toksisitesine karşı antioksidan savunma sisteminde tedavi edici özellikleri ile propolisin koruyucu rolünün doğrudan kanıtı olabilmektedir.

Örün ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada gökkuşağı alabalıklarının Cd^{2+} ve Cr^{3+} gibi ağır metallere maruz bırakılması durumunda, hayvanların biyokimyasal parametrelerinde değişimleri içeren biyolojik organizasyonlarının birçok değerinde, kalp ve dalak dokularında oksidatif etki meydana geldiği rapor edilmiştir. Ağır metal uygulamasının ardından balıklara selenyum uygulanması yapılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir seviyede antioksidan enzim inhibisyonu engellenmiştir (Orun vd., 2008). Benzer bulgular pek çok çalışmada rapor edilmiştir (Yonar vd., 2011; Yonar, 2012; Ural, 2013).

Canlılar stres faktörlerine maruz kaldıklarında doku ve hücrelerinde; fizyolojik, biyokimyasal ve histolojik değişiklikler olabilmektedir (Das ve Murkherjee, 2003; Dobsikova vd., 2006). Vücut içerisinde meydana gelebilen bu değişimlerin yol açtığı hasarlar ve bütün biyolojik zarları kolayca geçip serbest radikal oluşumuna sebep olabilen hidrojen peroksiti su ve oksijen parçalayan CAT mücadele edebilmektedir (Atli vd., 2006). CAT aktivitesinin azalması durumunda bulunduğu ortamdaki H_2O_2 düzeyi artış gösterip oluşan reaktif oksijen türleri de hücre ve dokularda hasarlara yol açabilmektedir (Atli vd., 2000). Peroksizomlarda yer alan ve H_2O_2 'yi moleküler oksijen ve suya dönüştüren CAT antioksidan bir enzimdir (Yılmaz vd., 2006). Balık dokularında pestisitlerin CAT aktivitesinin inhibisyonuna neden olduğunu belirleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Hai ve arkadaşları oksidatif bir organofosfat insektisit olarak bilinen diclorvosa maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio* L.) ve yayın balığında (*Ictalurus nebulosus*) CAT aktivitelerinin azaldığını saptamışlardır (Hai vd., 1995). Oruç ve Usta sazan balıklarının kas dokularında diazinonun CAT aktivitesini indirgediğini belirtmişlerdir (Oruç ve Usta, 2007). Balık türlerinde yapılan çeşitli çalışmalarda pestisit maruziyetinin CAT aktivitesini düşürdüğü gözlenmiştir (Atli vd.,

2006; Orun vd., 2008). Sonuç olarak, bu çalışmada sipermetrine maruz bırakılmış balık dokularında CAT aktivitesi propolis uygulamasından sonra azalmıştır. CAT aktivitesinin azalması; propolisin serbest radikalleri süpürme özelliği sonucu endojen antioksidan sistemin aktivitelerini azaltmasından kaynaklanabilmektedir. Ekzojen antioksidan takviyeleri organizmada endojen antioksidan sistemlerin çalışmalarında aktivite yüklerinde azalmalar meydana getirebilmektedirler.

Mevcut çalışmanın sonuçları incelendiğinde; sipermetrin uygulaması ile artan oksidatif strese paralel olarak CAT aktivitesinde artışlar gözlenmiştir. Alabalık kalp ve dalak dokularına oksidan etkili toksik ajanların girişi ile oluşturulan oksidatif stresin inhibe edilebilmesi için endojen antioksidan savunma sisteminin bir parçası olan CAT aktivitelerinde artışlar meydana gelmiştir. Ekzojen antioksidan ajan olarak propolis uygulaması sonucu alabalık kalp ve dalak dokularında CAT aktivitelerinde azalmalar saptanmıştır. Dışarıdan organizmaya alınan ekzojen antioksidanlar, endojen antioksidan sistemin çalışma yükünde azalmalara yol açmıştır. Bu durumda endojen antioksidan sistemin aktivitelerinde düşüşler meydana gelebildiği gözlenmiştir. Sonuç olarak ekzojen olarak antioksidan etkili koruyucu ajanlar, endojen antioksidan savunma sistemlerine etki ederek bu sistemlerin aktivitelerinde azalmalara yol açabilmektedirler. Dışarıdan vücuda alınan ek doğal antioksidan ajanlar savunma sistemlerinin iş yükünü azaltarak bu yapıyı destekleyebilmektedirler.

Doğal antioksidanlar birçok biyolojik sistemlerde homeostasis için çok önemlidir. Propolis antioksidan ve koruyucu özellikler göstermesinden dolayı bazı sucul canlıların fizyolojik fonksiyonlarının sürdürülmesine ve tüketici sucul organizmaların sağlıklı beslenmesine katkı sağlamaktadır. Gökkuşluğu alabalıklarına propolis uygulanması sipermetrinin toksik etkisini ve antioksidan enzimlerinin inhibisyonunu önemli bir şekilde önlemiştir. Bu çalışmanın verileri gözönünde bulundurularak pestisit toksisitesine karşı antioksidan savunma sisteminin bir parçası olarak propolisin, koruyucu rol üstlenebileceğini düşünmekteyiz. Böylece, propolis, balığın kalp ve dalak dokularında sipermetrin kaynaklı lipid peroksidasyonunun ve antioksidan savunma sistemlerinin değişmesiyle oluşabilen oksidatif stresi tedavi edebilmektedir.

KAYNAKLAR

Abja, P.M. and Albertini, R., “Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins”, *Clinica Chemia Acta* 306, 1-17, 2001.

Ade, R., The Salmon Handbook, *Andre Deutsch*, 1982.

Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T. and Ayyappan, S., “Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost *Labeo rohita* (Hamilton)”, *Ecotox. Environ. Safe* 58, 220-226, 2004.

Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jain, S.K., Athar, M. and Raisuddin, S., “Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure”, *Biochim. Biophys. Acta.* 1519, 37-48, 2000.

Almeida, E.C. and Menezes, H., “Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review”, *J. Venom. Anim. Toxins* 8(2), Botucatu, 2002.

Arabacı, M., Gökkuşığı Alabalığı Yetiştiriciliği, *Doğu Anadolu Kalkınma Programı Tarım ve Kırsal Kalkınma Bileşeni Yayınları*, 2007.

Aras, N., Kocaman E.M. and Aras, M.S., “Genel Su Ürünleri ve Kültür Balıkçılığı Temel Esasları”, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Su Ürünleri Bölümü*, Erzurum Yayın No:216, 2000.

Ardağ, A., Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açından karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Analitik Anabilim Dalı*, Aydın, 2008.

Atamanalp, M. ve Cengiz, M., “Bir sentetik pretroit insektisit (cypermethrin)’in sublethal dozlarının *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)’da hemoglobin, hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi”, ***E.Ü Su Ürünleri Dergisi*** 19(1-2), 169-175, 2002.

Atamanalp, M., Keleş, M.S., Haliloğlu, H.İ. and Aras, M.S., “The effects of cypermethrin (A Synthetic Pyretroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na ve TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, ***Turk. J. Vet. Sci.*** 26, 1157-1160, 2002.

Atasoy, A.D., Harran toprak serisinde endosulfanın adsorpsiyon ve desorpsiyonu, ***Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı***, Şanlıurfa, 2007.

Atli, G., Alptekin, Ö., Tükel, S. and Canli, M., “The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey; A review”, ***Food Chemistry*** 71, 235-239, 2000.

Atli, G., Alptekin, Ö., Tükel, S. and Canli, M., “Response of catalase activity to Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*”, ***Comparative Biochemistry and physiology*** 143, 218-224, 2006.

Bankova, V., Marcucci, M. and Castro, S., “Propolis recent advances in chemistry and plant origin”, ***Apidologie*** 31, 3-15, 2000.

Banskota, A.H., Tezuka, Y. and Kadota, S., “Recent progress in pharmacological research of propolis”, ***Phytother Res.*** 15, 561–571, 2001.

Begum, G. and Vijayaraghavan, S., “Effect of acute exposure of the organophosphate insecticide ragor on some biochemical aspects of *Clarias batrachus* (Linnaeus)”, ***Environ. Res. section A*** 80, 80-83, 1999.

Beuge, J.A. and Aust, S.D., “Microsomal lipid peroxidation”, *Methods in Enzimology* 52, 302-310, 1978.

Beyer, R.E., “The participation of coenzyme Q in free radical production and antioxidation”, *Free Radic. Biol. Med.* 8, 545-565, 1990.

Borelli, F., Maffia, P. and Pinto, L., “Phytochemical compounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract”, *Fitoterapia* 73, S53-S63, 2002.

Borges, A., Scotti, V.L., Siqueira, D.R., Zanini, R., Amaral, do F., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., “Changes in hematological and serum biochemical values in jundia *Rhamdia quelen* due to sublethal toxicity of cypermethrin”, *Chemosphere* 69, 920–926, 2007.

Buratti, S., Benedetti, S. and Cosio, M.S. “Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis”, *Talanta* 71, 1387–1392, 2007.

Cantarelli, M.A., Camina, J.M., Pettenati, E.M., Marchevsky, E.J. and Pellerano, R.G., “Trace mineral content of Argentinean raw propolis by neutron activation analysis (NAA): Assessment of geographical provenance by chemometrics”, *LWT - Food Science and Technology* 44, 256-260, 2011.

Cardile, V., Panico, A., Gentile, B., Borrelli, F. and Russo, A., “Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes”, *Life Sciences* 73, 1027–1035, 2003.

Castaldo, S. and Capasso, F., “Propolis, an old remedy used in modern medicine”, *Fitoterapia* 73, 1–6, 2002.

Channonachookhin, C., Seiaki, T. And Tonaka, M., “Comparative study of the lymphoid organs in three species of marine fish”, *Aquaculture* 99, 143-155, 1991.

Clem, L.W., Bly, J.E., Wilson, M., Chinchar, W.G., Barker, K., Stuge, T., Luft, C., Rheyzyn, M., Hogan, R.J., Van, Lopik, T. and Miller, N.W., “Fish immunology: The utility of immortalised lymphoid cells- a mini review”, *Vet Immunol Immunopathol* 54, 137-144, 1996.

Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M.A. and Meseguer, j., “In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses”, *Fish. Shellfish. Immun.* 18, 71-80, 2005.

Çakmakçı, S. ve Çelik, I., Gıda Katkı Maddeleri, *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi* Ders Notu, 249 s., Erzurum 2000.

Çalışkan, M., Erkmen, B. and Yerli, S.V., “The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulatus*”, *Environ. Toxicol. Phar.* 14, 117-120, 2003.

Çelikezen, F.Ç. ve Ertekin, A., “Ratlarda akciğer fibrozisinde lipid peroksidasyonu (mda), antioksidan madde (glutasyon, seruloplazmin) ve bazı antioksidan vitamin (β -karoten, retinol) düzeylerinin incelenmesi”, *Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2, 17-20, 2008.

Çelikkale, S., İç Su Balıkları Yetiştiriciliği Cilt 1(2), Trabzon. 1994.

Das, K.B. and Murkherjee, C., “Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences”, *Comp. Biochem. Phys. part C*. 134, 109-121, 2003.

David, M.G. and McCord, J.M., Walking a tightrope: The balance between mitochondrial generation and scavenging of superoxide anion. Understanding the process of aging, ed.by/ Cadenas E., Packer L., 1st. Ed., p.19. New York, 1999.

David, M., Mushigeri, S.B., Shivakumar, R. and Philip, G.H., “Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles”, *Chemosphere*. 56, 347-352, 2004.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., “Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları”, *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre*, 3-7 Ocak, 2005.

Delen. N., Fungisitler, *Nobel Yayınevi*, İzmir., 2008.

Demirsoy, A., Türkan, İ. ve Gündüz, G., Genel Biyoloji, 5. baskı: 382-383. 2003.

Dobsikova, R., Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z. and Novotny, L., “Effects of cypermethrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.)”, *Neuro. Endocrinol. Lett.* 27(suppl.2), 91-95, 2006.

Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O. ve Canhilal, R., “Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları”, *Türkiye Ziraat Mühendisliği 7. Teknik Kongresi*, Ankara, bildiri kitabı 2, 589-607, 11-15 Ocak 2010.

El-Sayed, Y.S., Saad, T.T. and El-Bahr, Y.S., “Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and hematological effects”, *Environ. Toxicol. Phar.* 24, 212-217, 2007.

Emre, Y., T.C. Başbakanlık Güneydoğu Anadolu projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı alabalık yetiştiriciliği, 2004.

Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G. and Pereira, E., “Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey”, *Food and Chemical Toxicology* 46, 3774–3779, 2008.

Gardner, P.T., White, T.A.C., Mcphail, D.B. and Duthie, G.G., “The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to antioxidant potential of fruit juices”, *Food Chemistry* 68, 471-474, 2000.

Gowland, B.T.G., Moffat, C.F., Stagg, R.M., Houlihan, D.F. and Davies, I.M., “Cypermethrin induces glutathione S-transferase activity in the shore crab, *Carcinus maenas*”, *Mar. Environ. Res.* 54, 169-177, 2002.

Gulcin, İ., Bursal, E., M. Şehitoğlu, H., Bilsel, M. and Goren, A.C., “Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey”, *Food and Chemical Toxicology* 48, 2227–2238, 2010.

Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., Pestisitler, *T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü*, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara, 1997.

Hai, D.Q., Varga, I.S. and Matkovic, B., “Effects of an organophosphate on the antioxidant system in fish tissues”, *Acta Biol. Hung.* 46, 39–50, 1995.

Hoskonen, P. and Pirhonen, J., “The effect of Clove oil sedation on oxygen consumption of six temperate-zone fish species”. *Aquaculture Research* 35;1002-1005, 2004.

<http://aquaticpath.phhp.ufl.edu/lesionguide/>

<http://www.skybluepestcontrol.com/tr/alpha-cypermethrin--propoxur-31.html>

<http://www.skybluepestcontrol.com/tr/beta-cypermethrin--propoxur-33.html>

Jaensson, A., Scott, A.P., Moore, A., Kylin, H. and Olsen, K.H., “Effects of a pyrethroid pesticide on endocrine responses to female odours and reproductive behaviour in male parr of brown trout (*Salmo trutta* L.)”, *Aquat. Toxicol.* 81, 1-9, 2007.

Kamalaveni, K., Gopal, V., Sampson, U. and Aruna, D., “Effect of pretroids on carbonhydrate metabolic pathways in common carp, *Cyprinus carpio*”, ***Pest. Management. Sci.*** 57, 1151-1154, 2001.

Karabulut, A.B., Özerol, E., Temel, İ., Gözükara, E.M. ve Akyol, Ö. “Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi”, ***İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*** 9(2), 85-88, 2002.

Karaer, F. ve Gürlük, S., “Gelişmekte olan Ülkelerde Tarım-Çevre-Ekonomi Etkileşimi”, ***Doğuş Üniversitesi Dergisi*** 4(2), 197-206, 2003.

Kavitha, P. and Rao, J.V., “Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*”, ***Environ. Toxicol. Pharmacol.*** 26, 192–198, 2008.

Kaya, E.G., Özbilge, H. ve Albayrak, S., “Kayseri Propolisinin Etanolik Ekstraktının Antimikrobiyal Aktivitesi”, ***Selçuk Tıp Derg.*** 28(4), 209-212, 2012.

Kılınç, K. ve Kılınç, A., “Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri”, ***Hacettepe Tıp Dergisi*** 33(2), 110-118, 2002.

Kishikawa, N., Ohyama, K., Yao, J., Miyamoto, A., Imazato, T., Ueki, Y., Nakashima, K., Maehata, E. and Kuroda, N., “Automated analysis of the serum antioxidative activities against five different reactive oxygen species by sequential injection system with a chemiluminescence detector”, ***Clinica Chimica Acta*** 411, 1111–1115, 2010.

Konar, V., Canpolat, A., Yılmaz, Ö., Gürsu, F., “Capoeta trutta ve Barbus rajanorum mystaceus ‘un Kas Dokularındaki Total Lipit ve Yağ Asidi Miktar ve Bileşimlerinin Üreme Periyodu Süresince Değişimi”, ***Tr. J. of Biology*** 23, 319–330, 1999.

Kumazawa, S., Hamasaka, T. and Nakayama, T., “Antioxidant activity of propolis of various geographic origins”, *Food Chemistry* 84, 329–339, 2004.

Kumbur, H., Özsoy, H.D. ve Özer, Z., “Mersin İlinde Tarımsal Alanlarda Kullanılan Kimyasalların Su Kalitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi”, *Ekoloji* 17 68, 54-58, 2008.

Kutluca, S., Genç, F. ve Korkmaz, A., Propolis, *T.C. SAMSUN VALİLİĞİ İl Tarım Müdürlüğü*, Samsun, 2006.

Landvik, S.V., Diplock, A.T. and Packer, L., “Efficacy of α -tokoferol in human health and disease”, *Journal of Clinical Pathology* 121, 1123-1137, 1998.

Lowry, O. H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. ve Randall, R.J., “Protein measurement with the Folin phenol reagent”, *J. Biol. Chem.* 193:265, 1951.

Luck, H., Catalase, *Methods of enzymatic Analysis*, 885-888, 1963.

Magnadottir, B., Lange, S., Gudmundsdotti, S., Bagwald, J. and Dalmo, R.A., “Ontogeny of humoral immune parameters in fish” *Fish and Shellfish Immunol* 429-439, 2005.

Mani, F., Damasceno, H.C.R., Novelli, E.L.B., Martins, E.A.M. and Sforcin, J.M., “Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables”, *J. Ethnopharmacol.* 105, 95–98, 2006.

Marcucci, M.C., “Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity”, *Apilodogie.* 26, 83-89, 1995.

Marcucci, M.C., Ferreres, F. and Bankova, V.S., “Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities”, *J. Ethnopharmacol* 74, 105–112, 2001.

Mathes, S.J. and Nahai, F., “Reconstructive Surgery”, *Principles, Anatomy and Technique* Volume 1, 39-46, 1997.

Mayne, S.T., “Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiological research”, *J. Nutr* 133, 933- 940, 2003.

Mc Even, F.L., Stephenson, G.L., The use and significance of pesticides in the environment, *John Wiley & Sons Pub*, New York, 1989.

Miguel, M.G., Nunes, S., Dandlen, S.A., Cavaco, A.M. and Antunes, M.D., “Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal”, *Food and Chemical Toxicology* 48, 3418–3423, 2010.

Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S.E.S. and Ostad, S.N., “Antioxidant power of Iranian propolis extract”, *Food Chemistry* 103, 729–733, 2007.

Moslen, M.T., Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis, *Free Radicals in Diagnostic Medicine, Ed. D Armstrong*, 1–15, Plenum Press, New York, 1994

Murphy, R.C., “Free-radical-induced oxidation of arachidonoyl plasmalogen phospholipids: □ antioxidant mechanism and precursor pathway for bioactive eicosanoids”, *Chem. Res. Toxicol.* 14(5), 463-472, 2001.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, R.A. and Rodwell, V.W., Harper’s biochemistry, *McGraw-Hill Medical* U.S.A., 1996.

Nagai, T., Myoda, T. and Nagashima, T., “Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*”, *Food Chemistry* 91, 389-394, 2005.

Nirala, S.K and Bhadauria, M. “Propolis Reverses Acetaminophen Induced Acute Hepatorenal Alterations: A Biochemical and Histopathological Approach”, *Arch. Pharm. Res.* 31(4), 451-461. 2008.

Oruç, E.Ö., “Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos”, *Pestic. Biochem. Physiol.* 96, 160–166, 2010.

Oruc, E.Ö., and Usta, D., “Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*” *Environ. Toxicol. Phar.* 23(1), 48–55, 2007.

Orun, I., Talas, Z.S., Ozdemir, I., Alkan, A. and Erdogan, K., “Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd^{2+} , Cr^{3+}) induced rainbow trout”, *Ecotox. Environ. Safe.* 71, 71–75, 2008.

Özan, F., Propolisin kırık iyileşmesi üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi, Doktora Tezi, *T.C. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş, Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı*, Sivas, 2006.

Özmen, H., Su kirliliğini kimyasal olarak belirleme yöntemleri ve kirlilik parametreleri, *Tarım Ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma Ve Kontrol Genel Müdürlüğü Su Kirliliği Hizmet İçi Eğitim Semineri Notları*, Elazığ, 175-182, (12-14 Mayıs) 1998.

Pastoret, P.P., Griebel, P., Bazin, H. and Govaerts A, 1998. Handbook of Vertebrate Immunology, *Academic Pres, London* pp. 3-62.

Pimpao, C.T., Zampronia, A.R. and Silva de Assis, H.C., “Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei)”, *Pestic. Biochem. Phys.* 88, 122-127, 2007.

Polat, H., Erkoç, F.Ü., Viran, R. ve Koçak, O., “Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*”, *Chemosphere.* 49, 39-44, 2002.

Russo, A., Longo, R. and Vanella, A., “Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin”, *Fitoterapia* 73(1), 21-29, 2002.

Sayılı, M. ve Akman, Z., “Tarımsal uygulamalar ve çevreye olan etkileri”, *Çevre Dergisi*, Temmuz-Ağustos-Eylül, Sayı:12, 1994.

Schmidt, J.O., “Bee Product Chemical Composition and Application”, *International Conference on: Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy*, Israel, P:15, 1997.

Sharbidre, A.A., Metkari, V. and Patode, P. “Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*”, *Pestic. Biochem. Physiol.* 101, 132–141, 2011.

Silici, S. ve Güçlü, B.K., “Yumurtacı damızlık japon bildircin (*Coturnix Coturnix Japonica*) rasyonlarına propolis ve kafeik asit katılmasının verim ve kuluçka performansı ile yumurta kalitesi ve bazı serum parametrelerine etkisi”, *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 19(2), 140-150, 2010.

Silici, S., Propolisin bazı antimikrobiyal ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma, *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim dalı*, Adana, 2003.

Sirkecioğlu, A.N., Farklı yağ kaynakları ve su sıcaklığının gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularının büyüme performansı, lipid metabolizması ve bazı genlerin mrna ekspresyonu üzerine etkisi, *Doktora Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* Erzurum, 2011.

Son, D.J., Lee, J.W., Lee, Y.H., Song, H.S., Lee, C.K. and Hong, J.T., “Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds”, *Pharmacology & Therapeutics* 115, 246–270, 2007.

Song, S.Y., Jin, C., Jung, K.J. and Park, E., “Estrogenic effects of ethanol and ether extracts of propolis”, *Journal of Ethnopharmacology* 82, 89–95, 2002.

Stickney, R.R., Culture of Salmonid Fishes. *Boca Raton Ann Arbor*; Boston London. 2000.

Şahinler, N., “Arı Ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi”, *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* 5(1-2), 139-148, 2000.

Şimşek, N., Karadeniz, A. ve Bayraktaroğlu, A.G., “Ratlarda periferik kan hücreleri üzerine L-karnitin, arı sütü ve nar çekirdeğinin etkileri”, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 15(1), 63-69, 2009.

Talas, Z.S. and Gülhan, M.F., “Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 72:1994-1998, 2009.

Tarakçı, Ü. ve Türel, İ., “Halk sağlığı amaçlı kullanılan pestisitlerin (Biyosidal) güvenilirlik standartlarının karşılaştırılması”, *Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi* 20 (1) 11–18, 2009.

Turan H., Kaya Y., Sönmez G., “Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri, E.Ü”, *Su Ürünleri Dergisi*, Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/3): 505-508. 2006.

Ural, M.Ş. ve Sağlam, N., “A study the acute toxicity of pyrethroid deltamethrin on the fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1972*)”, *Pestic. Biochem. Phys.* 83, 124-131, 2005.

Ural, M.S., “Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio carpio*: Ameliorative effect of lycopene”. *Chemosphere* 90, 2059–2064, 2013.

Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L. and Dudzik, M., Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Vet. Med-Us.* 51:(10), 469-476, 2006.

Vornanen, M., Hassinen, M., Koskinen, H. and Krasnov, A. “Steady-state effects of temperature acclimation on the transcriptome of the rainbow trout heart”, *AJP-Regul Integr Comp Physiol* 289; R1177–R1184, 2005.

Winston, G.W. and Di Giulio, R.T., “Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms”, *Aquat. Toxicol.* 19, 137–161, 1991.

Yamanel, Ş. ve Çakır, Ş., “Türkiye’nin bazı karasinek (*Musca domestica* L.) populasyonlarında organofosfatlı insektisidlerden Metil Paration ve Diazinona karşı gelişmiş direnç”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 28(4), 210-214, 2004.

Yanık, T., “Gökkuşuğu Alabalığı ve Alabalıkgillerin Morfolojik Özellikleri Arazi Çalışmaları”. *Doğal Alabalık Çalıştayı: Sürdürülebilir Yetiştiricilik, Koruma ve Balıklandırma*, Trabzon, 22-23 Ekim 2009.

Yavuz, H., Sekin, S., Filazi, A, Özdemir, M., Kum, C., Bilgili, A. ve Kutlu, İ., “Siflutrin'in immunotoksikolojik etkilerinin araştırılması”, *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 43, 209-213, 1996.

Yıldız, M., Gürkan, M.O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G., “Tarımsal savaşta kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları”, *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, 2. Cilt, 649 – 666, 2005.

Yılmaz, S., Atessahin, A., Sahna, E., Karahan, I. and Ozer, S., “Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity”, *Toxicology* 218, 164–171, 2006.

Yılmaz, M., Gül, A. and Erbaşlı, K., “Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859)”, *Chemosphere.* 56, 381–385, 2004.

Yonar, E.M. and Sakin, F., “Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure”. *Pestic. Biochem. Physiol.* 99, 226–231, 2011.

Yonar, M.E., Yonar, S.M. and Silici, S., “Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.)”, *Fish Shellfish Immun.* 31, 318-325, 2011.

Yonar, M.E., “The effect of lycopene on oxytetracycline-induced oxidative stress and immunosuppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.)”, *Fish Shellfish Immun.* 32, 994-1001, 2012.

Young, I.S. and Woodside, J.V., “Antioxidants in Health and Disease”, *Journal of Clinical Pathology* 54, 176-186, 2001.

Yu-Tao, T., Zhao-Wei, L., Yang, Y., Tao, Z. and Zhuo, Y.,” Effects of alpha- and theta cypermethrin insecticide on transient outward potassium current in rat hippocampal CA3 neurons”, *Pestic. Biochem. Phys.* 90, 1-7, 2008.

ÖZ GEÇMİŞ

19.06.1985 tarihinde Kayseri’de doğan Hüsnü Doğan ilkokul eğitimini Sivas’ta ve lise öğretimini Mersin’de tamamladı. 2004 yılında girdiği Niğde Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden Temmuz 2008’de mezun oldu. 2009 yılında Niğde Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.

TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER

Bu tez çalışmasından üretilen ulusal bir kongrede sunulmuş bir adet sözlü sunum ve uluslararası bir dergide yayımlanmış bir adet makale bulunmaktadır.

Doğan, H., Talas, Z.S., Gülhan, M.F., Çakır, O., Durna, S., Özdemir,İ. ve Çiftçi, O., “Pestisite Maruz Bırakılan Gökkuşaağı Alabalıklarında Biyokimyasal Parametreler Üzerine Propolisin Etkileri”, *İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi*, 2-4 Ekim, Niğde, 2013.

Aldemir, O.S., Talas, Z.S., Gulhan, M.F., Cakır, O., Ozdemir, I., Dastan, S.D. and Dogan, H., “Role of propolis on oxidative stress in various tissues of fish”, *Fresenius Environmental Bulletin* Volume 23, No:12, 2014.