

Pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)'da ellajik asidin büyüme ve bazı antioksidan parametrelere etkisi

Effect of ellagic acid on growth and some antioxidant parameters in scaly carp (*Cyprinus carpio*)

Tuncay Eksen¹ • Serpil Mişe Yonar^{2*}

¹ Trabzon Havalimanı Meteoroloji Müdürlüğü, Ortahisar, Trabzon, Turkey

² Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ, Turkey

 <https://orcid.org/0000-0001-6181-1593>

 <https://orcid.org/0000-0003-2736-5731>

*Corresponding author: serpilmise@gmail.com

Received date: 22.02.2021

Accepted date: 10.05.2021

How to cite this paper:

Eksen, T. & Mişe Yonar, S. (2021). Effect of ellagic acid on growth and some antioxidant parameters in scaly carp (*Cyprinus carpio*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(3), 337-343. DOI: [10.12714/egejfas.38.3.10](https://doi.org/10.12714/egejfas.38.3.10)

Öz: Bu çalışmada, farklı oranlarda yeme katılan ellajik asidin pullu sazanda (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı ve antioksidan durum üzerine etkisi araştırıldı. Balıklar, bir kontrol ve üç farklı düzeyde ellajik asit içeren (50, 100 ve 200 mg/kg yem) yemlerle 60 gün süresince beslendi. Çalışmanın 30. ve 60. günlerinde büyüme performansı [canlı ağırlık artışı, oransal büyüme ve spesifik büyüme oranı] ve oksidan/antioksidan parametreler [malondialdehit düzeyi, katalaz ve glutatyon S-transferaz aktivitesi ile redükte glutatyon düzeyi] analiz edildi. Kontrol ve ellajik asit uygulanan grupların canlı ağırlık artışları, oransal büyüme ve spesifik büyüme oranlarında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$). Ellajik asit uygulanan grupların karaciğer ve böbrek malondialdehit düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldı ($p < 0,05$). Ellajik asit uygulanan grupların karaciğer ve böbrek katalaz ve glutatyon S-transferaz aktiviteleri ile redükte glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttı ($p < 0,05$). Ellajik asidin balıklarda antioksidan olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, büyüme parametreleri, ellajik asit, oksidatif stres, sazan

Abstract: In the present study, it was investigated the effects of various levels of dietary ellagic acid on growth performance and antioxidant status in scaly carp (*Cyprinus carpio*). Fish were fed with the control diet and three different experimental diets containing three graded levels of ellagic acid (50, 100 and 200 mg kg⁻¹ diet) for 60 days. On 30th and 60th days of experiment, the growth performance [live weight gain, relative growth and specific growth rate] and oxidant/antioxidant parameters [malondialdehyde level, catalase and glutathione-S-transferase activities and reduced glutathione level] were analysed. There was no statistically significant difference in the live weight gain, relative growth and specific growth rates of the control and ellagic acid treated groups ($p > 0.05$). When compared to the control group, the liver and kidney malondialdehyde levels of ellagic acid treated groups were significantly decreased ($p < 0.05$). The liver and kidney catalase and glutathione-S-transferase activities and reduced glutathione levels of ellagic acid treated groups were significantly increased when compared to the control group ($p < 0.05$). It was concluded that ellagic acid can be used as an antioxidant in fish.

Keywords: Antioxidant, growth parameters, ellagic acid, oxidative stress, carp

GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de su ürünleri üretimi her yıl ciddi bir büyüme göstererek gelişimini devam ettirmektedir. Sürdürülebilir yetiştiricilik açısından balıkların uygun koşullarda yetiştirilmesi ve hastalıklardan korunması büyük önem taşımaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde meydana gelen ekonomik kayıpların hemen hemen yarısı hastalıklardan kaynaklanmakta ve ekonomik kayıplara neden olan faktörlerin başında hastalıklara bağlı sorunlar gelmektedir (Arda vd., 2005). Buna karşın günümüzde balık hastalıklarının birçoğunun tedavisi için halen etkin bir çözümün geliştirilememesi ve var olan tedavi yöntemlerinin de balıklar için ekstra bir stres oluşturması bilim insanlarını balık sağlığını arttırmaya yönelik çalışmalara yöneltmiştir (Talpur ve Ikhwanuddin, 2013; Mişe Yonar, 2019; Yonar vd., 2019; Yousefi vd., 2019). Diğer taraftan balıklarda görülen hastalıkların tedavisinde kemoterapötik maddeler kullanılmaktadır. Ancak balıkların karaciğer, böbrek, bağırsak, deri gibi organlarına zarar vermesi, kas dokusunda birikerek insanlara geçmesi, mikroorganizmaların kemoterapötiklere

direnç kazanması, sedimentasyon oluşturması, bağırsıklık sistemini olumsuz yönde etkilemesi, etkisinin kısa süreli olması, oksidatif strese neden olması ve antioksidan mekanizmayı baskılaması, tüm enfeksiyonlara karşı etkili olmaması kemoterapötik ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır (Sağlam ve Yonar, 2009; Yonar vd., 2011; Yonar, 2012). Bu sebeple son zamanlarda hastalığın çıkmasını engelleyecek koruma önlemlerinin alınması oldukça önem kazanmıştır. Koruma önlemleri içerisinde aşılama, doğal ya da sentetik immunostimulanlar ile balıkların direncini azaltarak hastalıkların oluşumuna sebep olan stres faktörlerine karşı antioksidanların kullanılabilirliği konusu da son yıllarda bir hayli dikkat çekmektedir. Immunostimulan ve antioksidan özelliğe sahip maddelerin kullanılması bu bağlamda önemli bir çözüm olarak görülmektedir (Yonar vd., 2019; Mişe Yonar, 2019).

Ellajik asit, doğada böğürtlen, çilek, nar, ahududu, kırmızı üzüm, badem ve ceviz gibi birçok bitkide serbest ve

ellajitanen glikozitleri halinde bulunan fenolik karakterde antioksidan bileşiklerdir. Ellajik asit, ellajitaninlerin bazı kimyasal işlemler geçirmesi sonucunda oluşur. Ellajik asit [2,3,7,8-tetrahidroksi(1)benzopirano (5,4,3-cde)(1)benzopiran-5,10 dion]'in kimyasal formülü $C_{14}H_6O_8$ ve molekül ağırlığı 302,197 g/mol'dür. Genellikle açık sarı renkte ve toz halinde bulunur. Doğada zayıf bir asit olan ellajik asit, 360 °C' nin üzerinde yüksek erime noktasında çok kararlı bir bileşik olur. Yapısında bulunan dört fenolik grup, ellajik asidin kalsiyum ve magnezyum gibi metal iyonları ile kompleks form oluşturmasını sağlar (Erenoğlu, 2012; Diop, 2013; Seyhan, 2013; Tıkırdık, 2019). Ellajik asit serbest radikallerin olumsuz etkilerini bloke edici özelliği olan bir antioksidandır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen süperoksit ve hidroksil anyonları gibi reaktif oksijen türevlerini güçlü bir şekilde temizlediği bildirilmektedir (Losso vd., 2004; Landete, 2011; Çeribaşı vd., 2012).

Lipid peroksidasyon, hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü olan malondialdehit (MDA), iyon alışverişini değiştirerek hücre membranındaki bileşenlerin çapraz bağlanmasına, enzim aktivitesi ve iyon geçirgenliğinin değişmesine neden olur. MDA, lipid peroksid düzeyinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Morales vd., 2004). Serbest oksijen radikallerinin oluşmasını engellemek ve bu radikallerin yol açtığı oksidatif hasardan korunmak için vücutta katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimler bulunmaktadır (Droge, 2002; Storey, 1996).

Bu araştırmada, yeme farklı oranlarda katılan ellajik asidin pullu sazanda büyüme ve oksidan/antioksidan parametrelere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için balıklara ellajik asidin farklı dozları uygulanmış, büyüme, oksidatif stres ve antioksidan parametrelerdeki değişimler incelenmiştir. İncelenen parametreler ışığında ellajik asidin pullu sazandaki antioksidan potansiyeli ortaya konulmuştur.

MATERYAL VE METOT

Başlangıç ağırlığı yaklaşık 50 ± 5 g olan 240 adet canlı pullu sazan (*Cyprinus carpio*) 33 x 100 x 60 cm boyutlarındaki 12 farklı cam akvaryum (3 tekrar ve her bir tekrar için 4 akvaryum, her akvaryum için 20 ve toplamda 240 balık) içerisine yerleştirildi. Deneysel çalışma başlamadan önce balıklar bu ortama 15 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon süresince balıklara günde iki kere alabildikleri kadar ticari balık yemi verildi.

Çalışmada kullanılan ellajik asit Sigma-Aldrich' den (katalog no: E2250), laboratuvar analizleri sırasında kullanılan kimyasallar ise Sigma-Aldrich, Merck, Serva, Isolab, VWR Chemicals, Fluka, AppliChem, ABCR firmalarından elde edildi.

Deneme yemlerinin hazırlanması için ellajik asit 50, 100 ve 200 mg/kg yem oranında tartıldı. Daha sonra özel bir firmadan alınan ve toz haline getirilen pelet yemlerle karıştırıldı. Hamur haline getirilen karışım kıyma makinesinden geçirilerek tekrar pelet haline dönüştürüldü. Hazırlanan peletler tepsilere yerleştirilip yem fırınında oda ısısında kurutuldu. Yemler kullanılıncaya kadar koyu renkli cam muhafaza kapları içerisinde ve 4 °C' de muhafaza edildi.

Adaptasyon süresi sonunda balıklar aşağıdaki gibi dört grubu ayrıldı.

K: Kontrol grubu,

EA-50: 60 gün için 50 mg/kg yem ellajik asit uygulanan grup,

EA-100: 60 gün için 100 mg/kg yem ellajik asit uygulanan grup,

EA-200: 60 gün için 200 mg/kg yem ellajik asit uygulanan grup.

Yemler balıklara sabah ve akşam olmak üzere iki defa ve doyuncaya kadar verildi. Ellajik asidin uygulanan dozları için Mişe Yonar vd. (2014) ve Mişe Yonar (2019)'ın çalışmaları referans alındı. Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Protokol No: 2019/62).

Araştırmanın 30. ve 60. günlerinde her bir tekrardan 10 balık alınarak 25 mg/L konsantrasyonundaki benzokain (25 mg/l) yardımıyla anestezi edildi (San ve Yonar, 2017). Anestezi altındaki balıklar büyüme parametrelerinin belirlenmesi amacıyla tartıldı. Daha sonra usulüne uygun bir şekilde otopsi yapılan (Arda vd., 2005) balıkların karaciğer ve böbreği çıkarılarak folyolara sarıldı ve -20°C' de derin dondurucuda saklandı. Karaciğer ve böbrek örnekleri 30 gün içerisinde işlendi.

Büyüme oranının belirlenmesi için canlı ağırlık artışı (CAA) (Çelikkale, 1988), oransal büyüme (OB) (Çelikkale, 1988) ve spesifik büyüme oranı (SBO) (Halver, 1989) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

CAA = Çalışma Sonu Ortalama Ağırlığı (g) - Çalışma Başı Ortalama Ağırlığı (g)

OB = (Çalışma Sonu Ortalama Ağırlık - Çalışma Başı Ortalama Ağırlık) / (Çalışma Başı Ortalama Ağırlık) x 100

SBO = [[(Log_e Çalışma Sonu Ortalama Ağırlık) - (Log_e Çalışma Başı Ortalama Ağırlık)] / Çalışma Süresi] x 100

Karaciğer ve böbrek örneklerinden oksidan/antioksidan parametrelerin belirlenmesi için homojenatlar hazırlandı. Homojenatların hazırlanması için doku örnekleri, serum fizyolojik (%0,09 NaCl) ile yıkandı. İki süzgeç kâğıdı arasında suyu alındıktan sonra %1.15'lik KCl ile 1:10 oranında sulandırılarak cam-cam homojenizatör içerisinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 50 ml'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı (Sakin vd., 2011; Mişe

Yonar vd., 2017). Süpernatantlarda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi (Placer vd., 1966), antioksidan parametrelerden ise katalaz (CAT) aktivitesi (Aebi, 1983), glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi (Habig vd., 1974) ve redükte glutatyon (GSH) düzeyi (Ellman vd., 1959) belirlendi.

Dokulardaki CAT ve GST spesifik enzim aktivitesi ile MDA ve GSH düzeylerini hesaplamak için ölçülen doku protein düzeyleri Lowry vd. (1951) tarafından bildirilen yöntemle göre tespit edildi.

Sonuçların istatistiksel analizleri için SPSS 21.0 istatistik programı kullanıldı. Kontrol ve deneme gruplarının incelenen parametrelerinde oluşan değişimler $p < 0,05$ düzeyinde tek yönlü varyans analizi ile (ONEWAY – ANOVA) test edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Least Significant Difference (LSD) ile test edildi. Bağımlı gruplarda istatistiksel farklılığı ortaya çıkarabilmek amacıyla tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi.

BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önce 15 gün süreyle adaptasyonu sağlanan balıklarda herhangi bir ölüm olayı yaşanmadı. Yine 60 günlük deneme süresince kontrol ve deneme grubu balıklarında da herhangi bir ölüm gözlenmedi. Adaptasyon ve deneme süresince kontrol ve deneme grubu balıklarının yem alımlarında herhangi bir aksaklık yaşanmadı. Deneme gruplarının ellajik asit içeren deneme yemlerini aldıkları görüldü. Kontrol grubuna kıyasla ellajik asit verilen grupların büyüme parametrelerinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmezken oksidan/antioksidan parametrelerde önemli farklılıklar tespit edildi.

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların, CAA, OB ve SBO değerleri Tablo 1' de verilmiştir.

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarının büyüme parametreleri
Table 1. Growth parameters of the control and experimental groups

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
BA(g)		50,47 \pm 2,74	51,12 \pm 3,10	49,88 \pm 2,17	50,06 \pm 2,33
FA(g)	30.gün	71,33 \pm 3,47	72,11 \pm 3,62	72,45 \pm 4,69	72,83 \pm 3,70
	60.gün	90,17 \pm 3,82	91,30 \pm 4,23	91,89 \pm 3,76	92,33 \pm 4,12
CAA(g)	30.gün	20,86 \pm 2,11	20,99 \pm 2,45	22,57 \pm 1,86	22,77 \pm 2,38
	60.gün	39,70 \pm 3,41	40,18 \pm 2,89	42,01 \pm 3,28	42,27 \pm 3,56
OB(%)	30.gün	41,33 \pm 2,74	41,06 \pm 3,20	45,24 \pm 3,95	45,48 \pm 3,48
	60.gün	78,66 \pm 3,88	78,59 \pm 3,76	84,22 \pm 4,45	84,43 \pm 4,29
SBO(%)	30.gün	0,500 \pm 0,03	0,497 \pm 0,04	0,543 \pm 0,04	0,543 \pm 0,05
	60.gün	0,420 \pm 0,04	0,420 \pm 0,04	0,443 \pm 0,03	0,443 \pm 0,04

BA: Başlangıç ağırlığı, FA: Final ağırlığı, CAA: Canlı ağırlık artışı, OB: Oransal büyüme, SBO: Spesifik büyüme oranı, K: Kontrol grubu, EA-50: 50 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-100: 100 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-200: 200 mg ellajik asit uygulanan grup

Kontrol grubu ve sırasıyla 50, 100 ve 200 mg/kg yem oranında ellajik asit verilen EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının CAA, OB ve SBO değerlerinde çalışmanın hem 30. hem de 60. günlerinde istatistiksel herhangi bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$). Ayrıca yalnız ellajik asit verilen EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi içerisinde kıyaslandığında hem 30. hem de 60. gündeki büyüme parametreleri değerlerinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların karaciğer ve böbrek MDA düzeyleri Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarının karaciğer ve böbrek MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Table 2. Liver and kidney MDA levels (nmol/mg protein) of the control and experimental groups

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
Karaciğer	30.gün	2,88 \pm 0,13 ^c	2,47 \pm 0,10 ^b	2,19 \pm 0,12 ^a	2,18 \pm 0,10 ^a
	60.gün	2,85 \pm 0,11 ^c	2,23 \pm 0,13 ^{b*}	2,01 \pm 0,11 ^{a*}	2,02 \pm 0,12 ^{a*}
Böbrek	30.gün	3,95 \pm 0,10 ^c	3,61 \pm 0,11 ^b	3,33 \pm 0,13 ^a	3,31 \pm 0,12 ^a
	60.gün	3,96 \pm 0,12 ^c	3,38 \pm 0,12 ^{b*}	3,10 \pm 0,14 ^{a*}	3,08 \pm 0,10 ^{a*}

K: Kontrol grubu, EA-50: 50 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-100: 100 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-200: 200 mg ellajik asit uygulanan grup; ^{a,b,c} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$); * Aynı grup içinde 30. günden farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

Çalışmanın 30. gününde kontrol grubuna göre ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p < 0,05$). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin EA-50 grubundan istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Denemenin 60. gününde ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p < 0,05$). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi arasında karşılaştırıldığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin EA-50 grubundan daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının 60. gündeki karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin 30. güne kıyasla istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların karaciğer ve böbrek CAT aktiviteleri Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarının karaciğer ve böbrek CAT aktiviteleri (k/mg protein)**Table 3.** Liver and kidney CAT activities (k/mg protein) of the control and experimental groups

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
Karaciğer	30.gün	3,66±0,18 ^a	3,95±0,21 ^b	4,22±0,25 ^c	4,20±0,23 ^c
	60.gün	3,65±0,22 ^a	4,20±0,32 ^{b*}	4,64±0,29 ^{c*}	4,68±0,26 ^{c*}
Böbrek	30.gün	3,14±0,15 ^a	3,42±0,21 ^b	3,89±0,18 ^c	3,91±0,22 ^c
	60.gün	3,16±0,18 ^a	3,80±0,24 ^{b*}	4,03±0,17 ^{c*}	4,02±0,24 ^{c*}

K: Kontrol grubu, EA-50: 50 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-100: 100 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-200: 200 mg ellajik asit uygulanan grup; ^{a,b,c} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05); * Aynı grup içinde 30. günden farkı göstermektedir (p < 0,05).

Denemenin 30. gününde ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek CAT aktivitelerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi arasında karşılaştırıldığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek CAT aktivitelerinin EA-50 grubundan daha yüksek olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Uygulamanın 60. gününde kontrol grubuna göre ellajik asit verilen EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek CAT aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek CAT aktivitelerinin EA-50 grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü (p < 0,05).

EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının 60. günündeki karaciğer ve böbrek CAT aktivitelerinin 30. güne kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi (p < 0,05).

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların karaciğer ve böbrek GST aktiviteleri **Tablo 4'** de verilmiştir.

Çalışmanın 30. gününde kontrol grubuna göre ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GST aktivitelerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GST aktivitelerinin EA-50 grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görüldü (p < 0,05).

Denemenin 60. gününde ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GST aktivitelerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi arasında karşılaştırıldığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GST aktivitelerinin EA-50 grubundan daha yüksek olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Tablo 4. Kontrol ve deneme gruplarının karaciğer ve böbrek GST aktiviteleri (µmol/dakika/mg protein)**Table 4.** Liver and kidney GST activities (µmol/dakika/mg protein) of the control and experimental groups

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
Karaciğer	30.gün	113,47±8,22 ^a	135,86±11,30 ^b	159,87±12,49 ^c	161,04±10,63 ^c
	60.gün	115,01±7,05 ^a	138,08±9,27 ^b	156,35±11,02 ^c	160,18±12,41 ^c
Böbrek	30.gün	98,63±4,35 ^a	119,20±6,47 ^b	136,41±5,33 ^c	134,19±5,87 ^c
	60.gün	97,14±3,91 ^a	117,73±4,86 ^b	140,02±6,18 ^c	139,00±7,14 ^c

K: Kontrol grubu, EA-50: 50 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-100: 100 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-200: 200 mg ellajik asit uygulanan grup; ^{a,b,c} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05); * Aynı grup içinde 30. günden farkı göstermektedir (p < 0,05)

EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının 60. günündeki karaciğer ve böbrek GST aktivitelerinin 30. güne kıyasla istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermediği saptandı (p > 0,05).

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların karaciğer ve böbrek GSH aktiviteleri **Tablo 5'** de verilmiştir.

Tablo 5. Kontrol ve deneme gruplarının karaciğer ve böbrek GSH düzeyleri (µmol/mg protein)**Table 5.** Liver and kidney GSH levels (µmol/mg protein) of the control and experimental groups

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
Karaciğer	30.gün	74,49±4,02 ^a	89,80±5,11 ^b	102,03±5,89 ^c	101,01±4,21 ^c
	60.gün	75,06±3,69 ^a	90,73±4,28 ^b	103,56±4,62 ^c	103,31±5,04 ^c
Böbrek	30.gün	46,58±3,15 ^a	61,02±4,51 ^b	73,73±3,19 ^c	75,10±4,09 ^c
	60.gün	45,94±4,30 ^a	61,28±3,47 ^b	75,52±4,01 ^c	74,70±3,66 ^c

K: Kontrol grubu, EA-50: 50 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-100: 100 mg ellajik asit uygulanan grup, EA-200: 200 mg ellajik asit uygulanan grup; ^{a,b,c} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05); * Aynı grup içinde 30. günden farkı göstermektedir (p < 0,05)

Denemenin 30. gününde kontrol grubuna göre ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı tespit edildi (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi içerisinde kıyaslandığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin EA-50 grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi (p < 0,05).

Uygulamanın 60. gününde ellajik asit verilen EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı saptandı (p < 0,05). EA-50, EA-100 ve EA-200 grupları kendi arasında karşılaştırıldığında ise EA-100 ve EA-200 gruplarının karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin EA-50 grubundan daha yüksek olduğu görüldü (p < 0,05).

EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının 60. gündeki karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin 30. güne kıyasla istatistiksel olarak herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi ($p > 0,05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Üretim ve karlılıkla direkt bağlantılı olarak kısa süre içerisinde büyümede sağlanabilecek maksimum artış su ürünleri yetiştiriciliğinde oldukça önemlidir ve özel ilgi duyulan bir konudur (Wang vd., 2015). Büyüme parametreleri üzerine immunostimulan ve antioksidan karakterdeki doğal maddelerin etkileri farklı balık türlerinde farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Nya ve Austin, 2009a; Nya ve Austin, 2009b; Zahran vd., 2014; Musthafa vd., 2018; Mehrabi vd., 2019; Li vd., 2019; Yousefi vd., 2019; Yonar vd., 2019; Farsani vd., 2019). Mişe Yonar (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, 8 hafta süreyle 50, 100 ve 200 mg ellajik asit/kg yem verilen alabalıkların ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı ve yem dönüşüm oranında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel herhangi bir farklılık olmadığı ifade edilmiştir. Benzer sonuçlar bu çalışmada da elde edilmiş, ellajik asit verilen deneme gruplarının CAA, OB ve SBO değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu sonuç ellajik asidin pullu sazanın büyüme performansı üzerine olumlu herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bunun nedeni ellajik asitte bulunan ve antibesinsel bir faktör olan tanen ile açıklanabilir. Diğer taraftan elde edilen sonuçlar ellajik asidin büyümeyi olumsuz etkilemediğini de göstermiştir. Çünkü kontrol grubuna göre ellajik asit verilen gruplara göre deneme gruplarının büyüme parametrelerinde olumsuz herhangi bir sonuç belirlenmemiştir.

Serbest radikallerin en önemli etkileri karbohidrat, protein, lipid ve nükleik asitlerin yıkımına sebep olmalarıdır. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu oluşan, bir başka ifadeyle lipid peroksidasyon sonucu açığa çıkan aldehitlerden biri olan malondialdehit MDA düzeyinin ölçülmesi hücrelerde oluşan oksidatif hasarın belirlenmesinde kullanılan en önemli göstergelerden biridir (Morales vd., 2004; Fontagné vd., 2006). Bu çalışmada ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 deneme gruplarında, karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı, yine EA-100 ve EA-200 deneme gruplarında karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin EA-50 grubundan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar 21 gün süreyle 50, 100 ve 150 mg (Mişe Yonar vd., 2014) ve 8 hafta süreyle 50, 100 ve 200 mg (Mişe Yonar 2019) dozunda ellajik asit uygulanan gökkuşuğu alabalıklarında da elde edilmiştir. Her iki çalışmada da ellajik asit uygulanan balıkların karaciğer, böbrek ve dalağında MDA düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Ural vd. (2015) tarafından yapılan ve pullu sazanda malathion pestisitine karşı ellajik asit koruyuculuğunun araştırıldığı başka bir çalışmada ise 14 gün süreyle 100 mg/kg balık dozunda yalnız ellajik asit verilen grupların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeyleri araştırılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen

verilerin aksine karaciğer ve böbrek MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir düşüş, solungaç MDA düzeyinde ise yine istatistiksel açıdan önemsiz bir artış tespit edilmiştir.

Balıklarda antioksidanlar diğer yüksek omurgalılarda olduğu gibi enzimatik (süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyonla bağlı diğer enzimler) ve non-enzimatik (redükte glutatyon, vitamin E ve C, β karoten vb.) olarak sınıflandırılırlar (Belló vd., 2000; Mourente vd., 2002; Puangkaew vd., 2005). Süperoksit radikalini dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit radikalini temizleyen ve çok önemli bir antioksidan enzim olan CAT, oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli bir komponentidir. Ural vd. (2015) pullu sazanda malathion pestisitine karşı ellajik asit koruyuculuğunu araştırmış ve 100 mg/kg balık dozunda 14 gün süreyle yalnız ellajik asidin verildiği gruplarda karaciğer, böbrek ve solungaç CAT aktivitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Diğer taraftan 50, 100 ve 150 mg/kg dozlarında 21 gün süreyle ellajik asidin uygulandığı gökkuşuğu alabalığında her üç deneme grubunun CAT aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artış göstermiştir. Fakat deneme grupları kendi içerisinde karşılaştırıldığında belirlenen artışlar önemsiz bulunmuştur (Mişe Yonar vd., 2014). 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarında ve 8 hafta süreyle ellajik asit verilen gökkuşuğu alabalıklarında kontrol grubuna göre deneme gruplarının CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada 100 ve 200 mg ellajik asit uygulanan grupların CAT aktivitesi 50 mg ellajik asit uygulanan gruptan yüksek bulunmuştur (Mişe Yonar 2019). Bu çalışmada ise ellajik asidin her üç dozunun uygulandığı deneme gruplarında karaciğer ve böbrek CAT aktivitesinin çalışmanın hem 30. gününde hem de 60. gününde kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Ayrıca 100 ve 200 mg dozunda ellajik asit verilen grupların karaciğer ve böbrek CAT aktivitesi 50 mg dozunda ellajik asit verilen gruptan da yüksek bulunmuştur.

Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif stresten koruyan tripeptit karakterdeki GSH, çok önemli bir antioksidan olup non-enzimatik ve endojen özelliktedir. Protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutan GSH böylece çoğu protein ve enzimin inaktive olmasını önler (Hayes ve McLellan 1999). Diğer taraftan GSH ile birlikte elektrofilik gruplar arasındaki konjugasyonu katalizleyen GST, ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda görevli faz II enzim ailesinin bir üyesidir (Hamed vd., 2003). Ural vd. (2015) 14 gün süreyle 100 mg/kg balık dozunda ellajik asit verilen grupların karaciğer, böbrek ve solungaç GST aktivitelerini araştırmıştır. Sonuç olarak karaciğer ve solungaç GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış, böbrek GST aktivitesinde ise yine istatistiksel açıdan önemsiz bir düşüş tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise ellajik asit verilen deneme gruplarının karaciğer ve böbrek dokusundaki GSH düzeyi ve GST aktivitesi çalışmanın hem 30. hem de 60. gününde kontrol grubuna

göre istatistiksel olarak önemli bir artış göstermiştir. Her iki çalışmadan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık ellajik asidin uygulanan dozu ve uygulama süresiyle açıklanabilir.

Özette ellajik asidin pullu sazanın büyüme performansı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Kontrol ve ellajik asit uygulanan grupların CAA, OB ve SBO değerlerinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Bununla birlikte ellajik asidin büyüme olumsuz etkilemediği de tespit edilmiştir. Diğer taraftan farklı dozlarda ellajik asit verilen gruplarda karaciğer ve böbrek MDA düzeylerinin düştüğü, bir başka ifadeyle oksidatif stresin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca farklı dozlarda ellajik asit uygulanan grupların karaciğer ve böbrek CAT ve GST aktiviteleri ile GSH

düzeylerinin yükseldiği dolayısıyla da antioksidan kapasitenin arttığı görülmüştür. Sonuç olarak, ellajik asit uygulaması oksidatif stresi azalttığı ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı için bu madde balıklarda antioksidan olarak kullanılabilir. Fakat farklı balık türlerinde, farklı doz ve süreler için farklı yöntemler kullanılarak ellajik asit uygulamasının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma; Yüksek Mühendis Tuncay EKSEN' in yüksek lisans tezinin bir bölümünden özetlenmiş ve Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi tarafından SÜF.19.01. nolu proje olarak desteklenmiştir.

KAYNAKÇA

- Aebi, H. (1983). Catalase. In H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods in Enzymatic Analysis* (pp 276-286). New York: Academic Press.
- Arda, M., Seçer, S. & Sarıyüpoğlu, M. (2005). *Balık Hastalıkları*. Ankara: Medisan Yayınevi.
- Belló, A.R.R., Fortes, E., Belló-Klein, A., Belló, A.A., Llesuy, S.F., Robaldo, R.B. & Bianchini, A. (2000). Lipid peroxidation induced by *Clinostomum detrunctum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 42, 233-236. DOI: [10.3354/dao042233](https://doi.org/10.3354/dao042233)
- Çelikkale, M.S. (1988). *İç Su Balıkları Yetiştiriciliği*. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Yayınları.
- Çeribaşı, O.A., Sakin, F., Türk, G., Sönmez, M. & Ateşşahin, A. (2012). Impact of ellagic acid on adriamycin induced testicular histopathological lesions apoptosis lipid peroxidation and sperm damages. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7-8), 717-724. DOI: [10.1016/j.etp.2011.01.006](https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.01.006)
- Diop, A. (2013). Ellajik Asidin C6 Hücrelerinde Canlılık, DNA Hasarı, Apoptoz ve Nekroz Üzerine Etkileri. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82, 47-95. DOI: [10.1152/physrev.00018.2001](https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001)
- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77. DOI: [10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Erenoğlu, N. (2012). Farklı İnsan Meme Kanseri Hücrelerinde Ellajik Asitin Sitotoksik Etkisi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Farsani, M.N., Hoseinifar, S.H., Rashidian, G., Farsani, H.G., Ashouri, G. & Doan, H.V. (2019). Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 91, 233-240. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.05.031](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.031)
- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T. & Bergot, P. (2006). Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae. *Aquaculture*, 257, 400-411. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2006.01.025](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.025)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), 7130-7139. DOI: [10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)
- Halver, J.E. (1989). *Fish Nutrition*. New York: Academic Press Inc.
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E. & Abdalla, A.M. (2003). Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution. *The Environmentalist*, 23, 313-322. DOI: [10.1023/B:ENVR.0000031409.09024.cc](https://doi.org/10.1023/B:ENVR.0000031409.09024.cc)
- Hayes, J.D. & McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Research*, 31, 273-300. DOI: [10.1080/10715769900300851](https://doi.org/10.1080/10715769900300851)
- Landete, J.M. (2011). Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: a review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*, 44(5), 1150-1160. DOI: [10.1016/j.foodres.2011.04.027](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027)
- Li, M., Zhu, X., Tian, J., Liu, M. & Wang, G. (2019). Dietary flavonoids from *Allium mongolicum* Regel promotes growth, improves immune, antioxidant status, immune-related signaling molecules and disease resistance in juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Aquaculture*, 501, 473-481. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2018.12.011](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.011)
- Losso, J.N., Bansode, R.R., Il, A.T., Bawadi, A.H. & Truax, R. (2004). In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 672-678. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2004.06.004](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.06.004)
- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L. & Randal, R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biochemistry*, 193, 265-275. DOI: [10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Mehrabi, Z., Firouzabakhsh, F., Rahimi-Mianji G. & Paknejad, H. (2019). Immunostimulatory effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 503, 330-338. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2019.01.025](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.025)
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Yöntürk, Y. & Pala, A. (2014). Effect of ellagic acid on some haematological, immunological and antioxidant parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98, 936-941. DOI: [10.1111/jpn.12162](https://doi.org/10.1111/jpn.12162)
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E. & Ural, M.S. (2017). Antioxidant effect of curcumin against exposure to malathion in *Cyprinus carpio*. *Cellular and Molecular Biology*, 63(3), 68-72. DOI: [10.14715/cmb/2017.63.3.13](https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.3.13)
- Mişe Yonar, S. (2019). Growth performance, haematological changes, immune response, antioxidant activity and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diet supplemented with ellagic acid. *Fish & Shellfish Immunology*, 95, 391-398. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.10.056](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.056)
- Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. & Gabriel C.G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 139(1-3), 153-161. DOI: [10.1016/j.cca.2004.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.008)
- Mourente, G., Diaz-Salvago, E., Bell, J.G. & Tocher, D.R. (2002). Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture*, 214, 343-361. DOI: [10.1016/S0044-8486\(02\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00064-9)

- Musthafa, M.S., Asgari, S.M., Kurian, A., Elumalai, P., Ali, A.R.J., Paray, B.A. & Al-Sadoon, M.K. (2018). Protective efficacy of *Mucuna pruriens* (L.) seed meal enriched diet on growth performance, innate immunity, and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 75, 374-380. DOI: [10.1016/j.fsi.2018.02.031](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.02.031)
- Nya, E.J. & Austin, B. (2009a). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11), 963-970. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x)
- Nya, E.J. & Austin, B. (2009b). Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11), 971-977. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x)
- Placer, Z.A. Cushman, L. & Johnson, B.C. (1966). Estimation of products of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, 16, 359-364. DOI: [10.1016/0003-2697\(66\)90167-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90167-9)
- Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S. & Watanabe, T. (2005). Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 140, 187-196. DOI: [10.1016/j.cca.2005.01.016](https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.01.016)
- Sağlam, N. & Yonar, M.E. (2009). Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Aquaculture Research*, 40, 395-404. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2008.02105.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02105.x)
- Sakin, F., Ispir, Ü., Mişe Yonar, S., Yonar, M.E. & Taysi, R. (2011). Effect of short-term cypermethrin exposure on oxidant-antioxidant balance in the whole body of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(10a), 2806-2809.
- San, A. & Yonar, M.E. (2017). Determination of oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) exposed to deltamethrin in different water temperature. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 281-286. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.3.06](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.3.06)
- Seyhan, S. (2013). Türkiye'de Yetiştirilen Maviyemiş Türlerinde Ellajik Asit ve Resveratrol Miktarlarının HPLC Yöntemi ile Tayini. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29, 1715-1733.
- Talpur, A.D. & Ikhwanuddin, M. (2013). *Azadirachta indica* (neem) leaf dietary effects on the immunity response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34, 254-264. DOI: [10.1016/j.fsi.2012.11.003](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.11.003)
- Tıkırdık, M. (2019). Ellajik Asit, Kafein ve Betainin Telomeraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Burdur.
- Ural, M.Ş., Yonar, M.E. & Mişe Yonar, S. (2015). Protective effect of ellagic acid on oxidative stress and antioxidant status in *Cyprinus carpio* during malathion exposure. *Cellular and Molecular Biology*, 61(5), 58-63. DOI: [10.14715/cmb/2015.61.5.10](https://doi.org/10.14715/cmb/2015.61.5.10)
- Wang, J.L., Meng, X., Lub, R., Wu, C., Luo, Y.T., Yan, X., Li, X.J., Kong, X.H. & Nie, G.X. (2015). Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 435, 293-300. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2014.10.004](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.004)
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S. & Silici, S. (2011). Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish and Shellfish Immunology*, 31, 318-325. DOI: [10.1016/j.fsi.2011.05.019](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.019)
- Yonar, M.E. (2012). The Effect of lycopene on oxytetracycline-induced oxidative stress and immunosuppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish and Shellfish Immunology*, 32(6), 994-1001. DOI: [10.1016/j.fsi.2012.02.012](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.02.012)
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Ispir, U. & Ural, M.Ş., (2019). Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. *Achromogenes*. *Fish & Shellfish Immunology*, 89, 83-90. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.03.038](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.038)
- Yousefi, M., Hoseini, S.M., Vatnikov, Y.A., Kulikov, E.V. & Drukovsky, S.G. (2019). Rosemary leaf powder improved growth performance, immune and antioxidant parameters, and crowding stress responses in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture*, 505, 473-480. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2019.02.070](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.070)
- Zahran, E., Risha, E., AbdelHamid, F., Mahgoub, H.A. & Ibrahim, T. (2014). Effects of dietary *Astragalus polysaccharides* (APS) on growth performance, immunological parameters, digestive enzymes, and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 38, 149-157. DOI: [10.1016/j.fsi.2014.03.002](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.03.002)