

## FORMALDEHİT UYGULANAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)' NDA BAZI HEMATOLOJİK VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

Serpil Mişe Yonar\*, Naim Sağlam, Yassir Yöntürk, Ayşenur Aytemur, Ayşe Koşar

Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, Türkiye

Received: 12.10.2013 / Accepted: 20.04.2014 / Published online: 27.08.2014

### Öz:

Bu çalışmada, balık hastalıklarının tedavisinde ve dezenfektan olarak yaygın bir şekilde kullanılan formaldehit (CH<sub>2</sub>O)' in gökkuşağı alabalığında bazı hematolojik ve antioksidan parametrelere etkisi araştırıldı. Bu amaçla, formaldehitin 40 ve 120 ppm' lik konsantrasyonları balıklara 4 gün boyunca 30 dakika süreyle uygulandı. Son uygulamadan 24 saat sonra balıklardan kan ve doku (karaciğer, böbrek ve solungaç) örnekleri alındı. Kan örneklerinde hematokrit (Ht) değeri, eritrosit (RBC) ve lökosit (WBC) sayıları, hemoglobin (Hb) düzeyi ile eritrosit indeksleri; ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (MCHC) araştırıldı. Doku örneklerinde ise malondialdehit (MDA) konsantrasyonu, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ile redükte glutatyon (GSH) düzeyi incelendi. Formaldehit uygulanan deneme gruplarında hematolojik parametrelerin tamamının kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi (p<0.05). Kontrol grubuna göre formaldehit uygulanan gruplarda doku MDA konsantrasyonunun arttığı saptandı (p<0.05). GSH-Px ve GST enzim aktiviteleri ile GSH düzeyinin ise kontrol grubuna göre arttığı belirlendi. Bu artış yalnızca böbrek GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemsiz bulundu (p>0.05).

**Anahtar Kelimeler:** Balık, Formaldehit, Hematolojik parametre, Antioksidan parametre

\* Correspondence to: Serpil MİŞE YONAR, Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Tel: +90-424-2370000/4560

E-posta: [serpilmise@gmail.com](mailto:serpilmise@gmail.com)

**Abstract: The Investigation of Some Hematological and Antioxidant Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Treated Formaldehyde**

In this study, effect of formaldehyde (CH<sub>2</sub>O), which is widely used in the treatment of fish diseases and as a disinfectant, on some haematological and antioxidant parameters was investigated. For this purpose, fish were exposed to 40 and 120 ppm of formaldehyde for 30 min during 4 days. After 24 hours the last treatment, blood and tissue (liver, kidney and gill) samples were collected from fish. Haematocrit (Ht) value, red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) counts, haemoglobin (Hb) concentration and erythrocyte indexes; mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) were investigated in the blood samples. Malondialdehyde (MDA) level, glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathion-S-transferase (GST) activity as well as the reduced glutathione concentration were examined in the tissue samples. All of the haematological parameters decreased in the groups treated formaldehyde compared to that of the control group (p<0.05). The concentration of tissue MDA was increased in the groups treated formaldehyde compared to the control group (p < 0.05). The GSH-Px and GST enzyme activities and the GSH level increased compared to the control group. This increase was not statistically significant only in the kidney GST activity (p>0.05).

**Keywords:** Fish, Formaldehyde, Haematological parameter, Antioxidant parameter

**Giriş**

Balıklar yaşadıkları ortam nedeniyle doğal olarak birçok enfeksiyonla karşı karşıya kalmaktadır. Entansif yetiştiricilik yapılan yerlerde balıkların yoğun stoklanması enfeksiyöz hastalıkların büyük bir tehlike oluşturmasına neden olmaktadır. Bir balıkta başlayan hastalık çok kısa zamanda diğerlerine bulaşmakta ve yayılmaktadır (Ellis, 1988). Bu hastalıklar oluştuktan sonra onu tedavi etmek çok zor olup, uzun ve yorucu bir çalışmayı gerektirmektedir. Bu nedenle kültür balıkçılığında hastalıkların çıkmasını ve yayılmasını önlemek için çeşitli hijyenik ve profilaktif tedbirler alınmakta, farklı dezenfektanlar kullanılmaktadır. Formaldehit su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan kimyasal bir dezenfektandır (Tokşen 2004; Balta ve diğ., 2008; Kayis ve diğ., 2009; Bulut ve diğ., 2012).

Balıklarda her türlü stres faktörleri, su kalitesindeki değişimler, kirlilik faktörleri, toksik maddeler, hastalıklar, beslenme yetersizliği gibi nedenler balığın direk fizyolojik durumunu etkilemektedir. Kan, bu konuda iyi bir belirleyici faktördür ve organizmada meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikleri doğru ve tam olarak yansıtmaktadır (Kocabatmaz ve Ekingen, 1982; Cengizler ve Azizoğlu, 2000).

Diğer yüksek omurgalı canlılarda olduğu gibi balıklarda da lipid peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehit (MDA), doymamış yağ asit-

lerinin oksidasyonu sonucu oluşur ve hücresel bileşenlerde meydana gelen oksidatif stresin en önemli göstergelerinden biridir (Morales ve diğ., 2004). Bütün aerobik organizmalar gibi balıklarda da oksidatif stresi ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları mevcuttur. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler ve enzimatik karakterdeki süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutathion peroksidaz (GSH-Px), glutathion-S-transferaz (GST) ile enzimatik olmayan redükte glutathion (GSH), A, E ve C vitamini gibi maddelerdir (Dautremepuits ve diğ., 2003; Trenzado ve diğ., 2006).

Bu çalışmada, balık hastalıklarının tedavisinde ve dezenfektan olarak yaygın bir şekilde kullanılan formaldehitin gökkuşağı alabalığında bazı hematolojik ve antioksidan parametrelere etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot**

Çalışmada, Elazığ ili Keban ilçesindeki yerel bir işletmeden satın alınan, ortalama ağırlığı 180.35 ± 20.10 g ve ortalama boyu 21.15 ± 1.35 cm olan 72 adet alabalık kullanıldı. Balıklar her bir tekrar için 3, toplamda 9 adet 80 x 75 x 90 cm ebatlarında 540 litrelik fiberglas tanklara eşit sayıda stoklandı. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan bu tanklara 10 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon süresince ba-

lıklara günde iki kere alabildikleri kadar ticari alabalık yemi verildi. Çalışma üç tekrarlı olarak yürütüldü (her bir tekrar için 24, toplamda 72 balık). Çalışma süresince ortalama su sıcaklığı, oksijen düzeyi ve pH sırasıyla 14.9°C, 8.1 mg/L ve 7.6 olarak ölçüldü.

Balıklara formaldehit (CH<sub>2</sub>O) uygulaması için 40 ve 120 ppm formaldehit içeren 80 x 30 x 25 ebatlarında 6 farklı akvaryum hazırlandı. Bu akvaryumlarda, 40 ve 120 ppm konsantrasyonlarındaki formaldehit balıklara 4 gün boyunca 30 dakika süreyle banyo yöntemiyle uygulandı. Konsantrasyonlar her formaldehit uygulamasından önce yenilendi. Akvaryumlarda formaldehit uygulanan balıklar tekrar fiberglas tanklara aktarıldı. Kontrol grubu balıklarına ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Formaldehit uygulaması için doz ve süre seçimi Treves-Brown (2000)' a göre yapıldı.

Son formaldehit uygulamasından 24 saat sonra kontrol ve deneme grubu balıkları benzokain kullanılarak anestezi edildi. Anestezi edilen balıkların kuyruk kısımları kaudal pedüncül bölgeden kesilerek EDTA' lı tüplere kan örnekleri alındı. Bunu takiben otopsi yapılan balıkların karaciğer, böbrek ve solungaçları çıkartılarak folyolara sarıldı ve - 40°C' de derin dondurucuda saklandı. Kan örnekleri aynı gün, dokular ise 15 gün içerisinde işlendi.

EDTA' lı tüplere alınan kan örneklerinde hematokrit (Ht) değer (Konuk, 1981), hemoglobin (Hb) düzeyi (Drabkin, 1946), eritrosit (RBC) ve lökosit (WBC) sayıları (Natt and Herrick, 1952) ile eritrosit indeksleri; ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (MCHC) (Konuk, 1981) belirlendi. Antioksidan parametrelerin belirlenmesi için ise karaciğer, böbrek ve solungaç örneklerinden doku homojenatları hazırlandı. Bunun için doku örnekleri serum fizyolojik (% 0,09 NaCl) ile yıkandı. Doku örnekleri-

nin iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındı ve daha sonra bu örnekler %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen doku homojenatları 50 mL'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı ve malondialdehit (MDA) düzeyi (Placer ve diğ., 1966), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi (Beutler, 1975), glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi (Habig ve diğ., 1974) ile redükte glutatyon (GSH) düzeyi (Ellman, 1959) belirlendi. Protein tayini ise Lowry ve diğ. (1951)'nin bildirdiği metoda göre yapıldı.

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 10 paket istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıklarının incelenen parametrelerinde meydana gelen değişimler p<0.05 düzeyinde tek yönlü varyans analizi (ONEWAY-ANOVA) ile test edildi.

### Bulgular ve Tartışma

Formaldehitin her iki konsantrasyonunun uygulandığı deneme gruplarında kontrol grubuna göre incelenen hematolojik parametrelerin tamamının azaldığı belirlendi (Tablo 1). Bu azalma tüm parametreler için istatistiksel olarak önemli bulunurken (p<0.05), MCHC değeri için önemsiz bulundu (p>0.05). MCV ve MCH değerlerine göre 120 ppm konsantrasyonunda formaldehit uygulanan grupta mikrositer hipokrom tipte anemi belirlendi.

Kontrol grubuna göre formaldehit uygulanan gruplardaki balıkların incelenen tüm dokularında MDA düzeyinin arttığı saptandı (Tablo 2, p<0.05). Karaciğer, böbrek ve solungaç GSH-Px ve GST enzim aktiviteleri ile GSH düzeyinin kontrol grubuna göre deneme gruplarında arttığı belirlenirken, bu artış yalnızca böbrek GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 2, p>0.05).

**Tablo 1.** Kontrol ve deneme gruplarında bazı hematolojik değerler ( $\pm$  standart sapma).**Table 1.** The some haematological values in the control and experimental groups ( $\pm$  standard deviation).

Gruplar	Parametreler						
	Ht (%)	Hb (g/dL)	RBC ( $\times 10^6$ )	WBC ( $\times 10^3$ )	MCV ( $\mu^3$ )	MCH ( $\mu\mu\text{g}$ )	MCHC (%)
<b>Kontrol</b>	31.80 $\pm 4.38^c$	7.30 $\pm 0.37^b$	1.69 $\pm 0.06^b$	39.00 $\pm 1.82^b$	186.76 $\pm 19.11^b$	41.25 $\pm 3.16^b$	23.57 $\pm 4.97^a$
<b>40 ppm</b>	26.80 $\pm 3.61^b$	5.65 $\pm 0.82^a$	1.52 $\pm 0.12^a$	32.80 $\pm 1.78^a$	179.49 $\pm 34.08^b$	39.39 $\pm 6.29^b$	22.00 $\pm 5.72^a$
<b>120 ppm</b>	22.30 $\pm 3.62^a$	5.09 $\pm 0.70^a$	1.51 $\pm 0.05^a$	32.66 $\pm 0.80^a$	152.60 $\pm 22.79^a$	32.84 $\pm 4.98^a$	21.43 $\pm 4.20^a$

**Ht:** hematokrit değer,  
**Hb:** hemoglobin düzeyi,  
**RBC:** eritrosit sayısı, **WBC:** lökosit sayısı,  
**MCV:** ortalama eritrosit hacmi, **MCH:** ortalama eritrosit hemoglobini,  
**MCHC:** ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu.  
<sup>a,b,c</sup>: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 2.** Kontrol ve deneme grubundaki balıklarının karaciğer, böbrek ve solungacında MDA düzeyi, GSH-Px ve GST aktiviteleri ve GSH konsantrasyonu ( $\pm$  standart sapma).**Table 2.** MDA level, GSH-Px and GST activities, and GSH concentration in the liver, kidney and gill of the fish in the control and experimental groups ( $\pm$  standard deviation).

Gruplar	Parametreler				
	MDA (nmol/g protein)	GSH-Px (U/g protein)	GST (U/mg protein)	GSH ( $\mu\text{mol/g protein}$ )	
<b>Karaciğer</b>	<b>Kontrol</b>	5.71 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	43.19 $\pm$ 6.59 <sup>a</sup>	107.14 $\pm$ 18.76 <sup>a</sup>	71.16 $\pm$ 16.58 <sup>a</sup>
	<b>40 ppm</b>	9.43 $\pm$ 1.26 <sup>b</sup>	52.88 $\pm$ 7.22 <sup>b</sup>	217.07 $\pm$ 27.12 <sup>b</sup>	84.87 $\pm$ 18.47 <sup>b</sup>
	<b>120 ppm</b>	9.89 $\pm$ 1.53 <sup>b</sup>	56.24 $\pm$ 9.41 <sup>b</sup>	304.99 $\pm$ 24.89 <sup>c</sup>	120.05 $\pm$ 22.01 <sup>c</sup>
<b>Böbrek</b>	<b>Kontrol</b>	8.04 $\pm$ 1.86 <sup>a</sup>	38.57 $\pm$ 6.42 <sup>a</sup>	31.82 $\pm$ 4.20 <sup>a</sup>	28.21 $\pm$ 5.69 <sup>a</sup>
	<b>40 ppm</b>	14.64 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>	49.25 $\pm$ 8.74 <sup>b</sup>	31.97 $\pm$ 3.87 <sup>a</sup>	34.40 $\pm$ 7.33 <sup>b</sup>
	<b>120 ppm</b>	18.05 $\pm$ 3.51 <sup>c</sup>	53.07 $\pm$ 10.03 <sup>b</sup>	32.61 $\pm$ 4.69 <sup>a</sup>	60.98 $\pm$ 11.41 <sup>c</sup>
<b>Solungaç</b>	<b>Kontrol</b>	9.32 $\pm$ 2.06 <sup>a</sup>	26.27 $\pm$ 5.27 <sup>a</sup>	34.46 $\pm$ 5.22 <sup>a</sup>	39.67 $\pm$ 9.22 <sup>a</sup>
	<b>40 ppm</b>	26.58 $\pm$ 4.94 <sup>b</sup>	34.39 $\pm$ 7.68 <sup>b</sup>	56.68 $\pm$ 8.59 <sup>b</sup>	45.97 $\pm$ 10.86 <sup>b</sup>
	<b>120 ppm</b>	27.12 $\pm$ 5.22 <sup>b</sup>	36.88 $\pm$ 9.04 <sup>b</sup>	86.58 $\pm$ 11.26 <sup>c</sup>	81.11 $\pm$ 14.28 <sup>c</sup>

**MDA:** malondialdehit düzeyi,  
**GSH-Px:** glutasyon peroksidaz aktivitesi,  
**GST:** glutasyon S-transferaz aktivitesi,  
**GSH:** redükte glutasyon düzeyi.  
<sup>a,b,c</sup>: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır ( $p < 0.05$ ).

Balıklarda hematolojik incelemeler, hastalıkları tanılamada yardımcı olmaktadır. Diğer taraftan kan analizleri balıkların fizyolojik durumlarının değerlendirilmesinde, beslenme ve çevresel faktörlerin etkilerinin saptanmasında yaralı olmaktadır (Kocabatmaz ve Ekingen, 1982). Bu çalışmada da balıklara formaldehit uygulamasıyla hematolojik değerlerde önemli değişimler elde edilmiştir. Yapılan bir araştırmada, (Bulut, 2010) 60 dakika süreyle 250 mL/L ve 45 dakika süreyle 500 mL/L formaldehit uygulanan gökkuşağı ala-

balığında hematokrit ve hemoglobin düzeyleri, eritrosit sayısı ile MCV ve MCHC değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlenmiş, lökosit sayısı ile ilgili herhangi bir sonuç elde edilememiştir. Diğer bir çalışmada 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 ve 12.5 mg/250L' lik formaldehit konsantrasyonları alabalıklara uygulanmış, 0., 4., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde balıklardan alınan kan örneklerinde hematokrit düzeyi, hemoglobin miktarı ve retikulosit oranı belirlenmiştir. Sonuçta formaldehit uygulamasıyla hema-

tokrit düzeyi ile hemoglobin miktarının doz ve süreye bağı olarak arttığı saptanmıştır (Bayram, 2008). Deneme grubu balıklarına 40 ve 120 ppm konsantrasyonlarında 48 saat süreyle formaldehit uygulanan bu çalışmada ise kontrol grubuna göre hematokrit ve hemoglobin düzeyleri, eritrosit ve lökosit sayıları ile eritrosit indekslerinde istatistiksel olarak önemli azalmalar saptanmıştır. Sonuçlar arasındaki bu farklılık formaldehitin uygulanan doz ve süreleriyle açıklanabilir.

Oksidatif stres, oksidan ve antioksidan denge arasındaki değişiklikler sonucunda meydana gelmekte ve reaktif oksijen türleri lehindeki artışlar oksidatif hasar olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller yüksek aktivitelelerinden dolayı hücre zarında bulunan doymamış yağ asitleri ile etkileşerek lipid peroksidasyonu başlatabilmektedir. Oluşan lipid peroksitler kolaylıkla yıkılmaları başta MDA olmak üzere birçok sekonder ürün meydana getirebilmektedir (Bird and Draper, 1984; Jain, 1988; Bandyopadhyay ve diğ., 1999). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, formaldehit uygulanan balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda MDA düzeyinin önemli oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuç güçlü bir dezenfektan olan ve yaygın bir şekilde kullanılan kloramin-T' nin gökkuşağı alabalığında MDA düzeyini artırarak oksidatif strese sebep olduğunu belirleyen Tkachenko ve diğ., (2013)' in bulgularıyla paralel bulunmuştur.

GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan, endojen ve enzimatik olmayan, çok önemli tripeptit karakterinde bir antioksidandır. Ayrıca protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engellemektedir (Hayes and McLellan, 1999). GSH-Px, sitozolde yerleşik bir enzim olup tetramer yapıda 4 selenyum atomu içerir ve hidrojen peroksit ile inorganik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar (Piner, 2009). GST, GSH ile elektrofilik gruplar taşıyan bileşikler arasındaki konjugasyonu katalizleyen, birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda rol oynayan, çok fonksiyonlu faz II enzim ailesinin üyeleridir (Hamed ve diğ., 2003). Yonar ve Mişe Yonar (2010), önemli bir dezenfektan olan ve geniş bir şekilde kullanılan malaşit yeşilinin gökkuşağı alabalığında kan, karaciğer, böbrek, dalak ve solungaç dokusunda CAT aktivitesi ve GSH düzeyini azalttığını bulmuşlardır. Singh ve diğ. (2012) yetiştiricilikte yaygın kullanılan bakır sülfatın *Channa punctatus* türü balıkların karaciğer, böbrek ve solungaçında CAT enzim aktivitesini önemli düzeyde inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise iki farklı konsantrasyonda formaldehit uygulanan gökkuşağı alabalığının karaciğer, böbrek ve solungaç dokusundaki antioksidan parametrelerde artış belirlenmiştir. Bu artış formaldehitin neden olduğu stresi elimine etmek için antioksidanların yüksek aktivite göstermesiyle açıklanabilir. Diğer taraftan böbrek GST enzim aktivitesinin kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermemesi formaldehitin vücuttan tam olarak atılamadığını göstermektedir.

**Sonuç**

Bu çalışma sonuçlarına göre, formaldehit uygulanan balıkların hematokrit seviyesi, eritrosit ve lökosit sayısı, hemoglobin düzeyi, eritrosit indeksleri gibi bazı kan parametrelerinde önemli azalmalar tespit edilmiştir. Ayrıca formaldehitin balıklarda oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir. Fakat GSH-Px ve GST enzim aktivitelele ile GSH düzeyinin artması oksidatif stresin vücut tarafından bertaraf edilmeye çalışıldığının bir işaretidir. Bununla birlikte özellikle böbrek GST enzim aktivitesinde herhangi bir artışın olmaması formaldehitin vücuttan tam olarak detoksifiye edilemediğini göstermektedir. Buna bağlı olarak hematolojik parametrelerdeki azalmanın nedeni de balıklar için primer lenfoid organ olan böbrekteki bu detoksifikasyon eksikliği olabilir. Bu sonuç formaldehitin hematopoetik dokuda birikim yaparak etkilediğinin bir işaretidir. Ancak bu değişimlere rağmen deneme süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Bu bulgu formaldehitin olumsuz etkilerine rağmen dezenfektan olarak ve paraziter hastalıkların tedavisinde güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

## Sonuç

**Kaynaklar**

Balta, F., Kayis, S., Altinok, I., (2008). External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments, *Bulletin of European Association Fish Pathologist*, **28(4)**: 157-162.

Bandyopadhyay, U., Das, D., Banerjee, R.K., (1999). Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis, *Current Science*, **77**: 658-666.

Bayram, H., (2008). Gökkuşağı Alabalığı' na (*oncorhynchus mykiss*) Uygulanan Formaldehit Banyosunun Bazı Hematolojik Kan

- Parametreleri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Erzurum, 32s.
- Beutler, E., (1975). Red cell metabolism. In: A manual of biochemical methods, New York: Grune Strottan, pp. 67-69.
- Bird, R.P., Draper, H.H., (1984). Comparative studies of different methods of malondialdehyde determination, *Methods in Enzymology*, **105**: 299-305.  
**doi: [10.1016/S0076-6879\(84\)05038-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05038-2)**
- Bulut, C., (2010). Bakır Sülfat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) ve formaldehit (CH<sub>2</sub>O)' in Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Histopatolojik ve Hematolojik Etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Isparta, 95s.
- Bulut, C., Kubilay, A., Akçimen, U., Ceylan, M., (2012). Formaldehit (CH<sub>2</sub>O)'in Farklı Konsantrasyonlarının Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Kortizol, Serum Glikoz ve Lizozim Aktivitesi Üzerine Etkileri, *Journal of FisheriesSciences.com*, **6**(4): 321-330.  
**doi: [10.3153/jfsc.com.akdeniz006](https://doi.org/10.3153/jfsc.com.akdeniz006)**
- Cengizler, İ., Azizoğlu, A.Ş. (2000). Seyhan Baraj Gölü ve Seyhan nehrinde yaşayan aynalı sazan (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)'larda bazı kan parametrelerinin belirlenmesi, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, **24**: 205-214.
- Dautremepuits, C., Betoulle, S., Vernet, G., (2003). Stimulation of antioxidant enzymes levels in carp (*Cyprinus carpio* L.) infected by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda), *Fish and Shellfish Immunology*, **15**: 467-471.  
**doi: [10.1016/S1050-4648\(03\)00007-X](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(03)00007-X)**
- Drabkin, D.L., (1946). The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species, *Journal of Biological Chemistry*, **64**: 703-723.
- Ellis, A.E., (1988). General Principles of Fish Vaccination. In: Ellis, A.E. (Ed), Fish Vaccination. Academic Press Lmt., New York, pp. 1-19.
- Ellman, G.L., (1959). Tissue sulphhydryl groups, *Archives Biochemistry and Biophysics*, **82**: 70-77.  
**doi: [10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)**
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *Journal of Biological Chemistry*, **249**: 7130-7139.
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.F., 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 coordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*, **31**: 273-300.  
**doi: [10.1080/10715769900300851](https://doi.org/10.1080/10715769900300851)**
- Jain, S.K., (1988). Evidence for membrane lipid peroxidation during the in vivo aging of human erythrocytes, *Biochimica et Biophysica*, **937**: 205-210.  
**doi: [10.1016/0005-2736\(88\)90242-8](https://doi.org/10.1016/0005-2736(88)90242-8)**
- Kayis, S., Ozcelep, T., Capkin, E., Altinok, I., (2009). Protozoan and Metazoan Parasites of Cultured Fish in Turkey and their Applied Treatments, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*, **61**(2): 93-102.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., (1982). Değişik Tür Balıklardan Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metotların Standardizasyonu. TÜBİTAK Projesi, Proje No: VHAG-557, 72s.
- Konuk, T., (1981). Pratik Fizyoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 314.
- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L., Randal, R.J., (1951). Protein measurement with folinphenol reagent, *Journal of Biochemistry*, **193**: 265-275.
- Morales, A.E., Pèrez-Jimènez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Gabriel C.G., (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver,

- Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **139**: 153-161.  
**doi: [10.1016/j.cca.2004.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.008)**
- Natt, M.P., Herrick, C.A., (1952). New blood diluents for counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken, *Poultry Science*, **31**: 735-738.  
**doi: [10.3382/ps.0310735](https://doi.org/10.3382/ps.0310735)**
- Piner, P., (2009). Lambda-cyhalothrinin *Oreochromis niloticus*'da Karaciğerde Piperonil Bütoksit modülatörlüğünde Oksidatif Stres Potansiyelinin Belirlenmesi, Stres Proteinleri ve Apoptozis Üzerine etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 102s.
- 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)**
- Singh, D., Katiyar, S., Verma, A., (2012). Role of Copper Sulphate on Oxidative and Metabolic Enzymes of Freshwater Fish; *Channa Punctatus*. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, **2(1)**: 1-5.  
**doi: [10.4172/2161-0525.1000121](https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000121)**
- Tkachenko, H., Kurhaluk, N., Grudniewska, J., (2013). Effect of chloramine T exposure on oxidative stress biomarkers and liver biochemistry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), brown trout, *Salmo salar* (L.) and garliyg, *Thymallus thymallus* (L.), *Archives of Polish Fisheries*, **21**: 41-51.  
**doi: [10.2478/aopf-2013-0005](https://doi.org/10.2478/aopf-2013-0005)**
- Tokşen, E., (2004). Çipura Yavrularında (*Sparus aurata* L., 1758) Görülen *Trichodina* spp. Enfeksiyonlarına Formaldehit Banyolarının Etkisi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **21(1-2)**: 31-33.
- Trenzado, C., Carmen H.M., Gallego, M.G., Morales, A.E., Furne, M., Domezain, A., Domezain, J. Sanz, A., (2006). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study, *Aquaculture*, **254**: 758-767.  
**doi: [10.1016/j.aquaculture.2005.11.020](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.020)**
- Treves-Brown, K.M., (2000). Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publisher, London.  
**doi: [10.1007/978-94-017-0761-9](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0761-9)**
- Yonar, M.E., Mişer Yonar, S., (2010). Changes in selected immunological parameters and antioxidant status of rainbow trout exposed to malachite green (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **97**: 19-23.  
**doi: [10.1016/j.pestbp.2009.11.009](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.11.009)**