



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2023; 37 (1): 08 - 12
http://www.fusabil.org

Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, w.)'nda Arı Poleninin Bazı İmmünolojik Parametrelere Etkisi*

Yassir YÖNTÜRK^{1, a}
M. Enis YONAR^{1, b}

¹ Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Yetiştiricilik Bölümü
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-6306-2255

^b ORCID: 0000-0001-9519-4247

Bu çalışmada; gökkuşığı alabalığında bazı immünolojik parametreler üzerine arı polenin etkisi araştırıldı. Araştırmada; ortalama ağırlığı 100±10 g olan toplam 120 adet gökkuşığı alabalığı kullanıldı. %1, %2 ve %4 oranında polen içeren yemler 21 gün süreyle balıklara verildi. Deneme sonunda balıklardan alınan kan örneklerinde hematokrit değeri, oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi), total protein ve total immunoglobulin düzeyleri analiz edildi. Kontrol grubuna göre polen uygulanan grupların hematokrit, oksidatif radikal üretimi, total protein ve immunoglobulin düzeylerinde önemli bir artış tespit edildi (P<0.05).

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, arı poleni, balık, bağışıklık

Effects of Bee Pollen on Some Immunological Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.)

In this study, effects of bee pollen on some immunological parameters of rainbow trout (*O. mykiss*) were investigated. In the research, total 120 rainbow trout that averagely weighted 100±10 g were used. Diets containing 1%, 2% and 4% pollen were given to the fish for 21 days. At the end of the experiment, hematocrit value, oxidative radical production (nitrobluetetrazolium-NBT activity), total protein, and total immunoglobulin levels were analyzed in blood samples taken from fish. There was a statistically significant increase in haematocrit level, oxidative radical production, total protein, and immunoglobulin levels of pollen-treated groups when compared to the control group.

Key Words: Antioxidants, bee pollen, fish, immunity

Giriş

Yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı yerlerde enfeksiyöz hastalıklar balıklar için büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Yaşadıkları ortamdaki dolayı balıklar, birçok enfeksiyonla doğal olarak karşılaşmakta, bir balıkta başlayan hastalık çok kısa zamanda diğerlerine bulaşmakta ve yayılmaktadır (1). Balıklarda görülen hastalıklarının tedavisi için çeşitli kemoterapötik maddeler uzun zamanlardan beri kullanılmaktadır. Ancak kemoterapötiklerin önemli yan etkilerinin olması ve bütün enfeksiyonlara karşı kullanılamaması bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda hastalığın çıkmasını engelleyecek korunma önlemlerinin alınması, aşılama, doğal ya da sentetik immunostimulanların kullanılabilirliği konusu bir hayli önem kazanmıştır. Diğer taraftan yetiştiricilik koşullarının zaman zaman yetersizliği balıklarda strese neden olmakta bu da bağışıklık sisteminin etkinliğini azaltabilmektedir. Bu yüzden hastalık oluşmadan alınacak önlemler büyük önem taşımaktadır (1-4).

Polen antibakteriyel, antifungal, antikarsinojenik ve antioksidan özelliklere sahip immunomodulator yapıda bir madde olup, içerdiği besin maddeleri nedeniyle son zamanlarda oldukça fazla dikkat çekmektedir (5-8). Tohumlar oluşmadan önce açan çiçeklerin, orta kısmında erkek üreme organlarının başçık bölümünde bulunan ve bitkinin tüm kalıtsal özelliklerini taşıyan, küçük hücrelerden oluşan tozlar polen olarak isimlendirilmektedir. Çiçekli bitkilerin erkek cinsiyet hücreleri olan polen, dişi organın tozlaşması görevini yapar. Arıların büyümesi ve salgı bezlerinin gelişmesi için gerekli olan başlıca protein kaynağı polendir. Arı kolonisinin yavru üretip devamlılığını sağlaması ancak polenle mümkün olabilmektedir. Polenler bitkilerin çiçeklenme dönemleri boyunca görülürler ve çiçek tozu olarak da adlandırılırlar. Genelde sarı renkli olup kremden siyaha kadar değişen farklı renklerde de olabilirler (9). Polenin yapısında esas olarak yüksek oranda protein ve karbonhidrat bulunmakla birlikte yağ asitleri, vitaminler, mineral maddeler, enzimler ve aminoasitler yapılan analizler sonucunda belirlenmiştir. Ayrıca polende karotenoidler, steroidler, flavonoidler ve renk maddelerinin varlığı da kanıtlanmıştır (8).

Balık hastalıkları nedeniyle meydana gelen ekonomik kayıplar su ürünleri sektörünün gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde balık

Geliş Tarihi : 16.05.2022
Kabul Tarihi : 27.11.2022

Yazışma Adresi Correspondence

M. Enis YONAR
Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Yetiştiricilik Bölümü
Elazığ – TÜRKİYE

myonar@gmail.com

* Bu çalışma; Yüksek Mühendis Yassir YÖNTÜRK'ün yüksek lisans tezinin bir bölümünden özetlenmiş ve Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: SÜF.17.03).

hastalıklarının birçoğunun tedavisi için halen etkin bir çözüm geliştirilememiş olması ve var olan tedavi yöntemlerinin ise balıklar için ekstra bir stres kaynağı olması, bilim adamlarını balık hastalıklarına karşı immüno stimulanların kullanımını araştırmaya ve balık sağlığını arttırmaya sevk etmiştir (10). Bu araştırmada immüno stimulan özellikteki arı polenin balıklarda kullanılabilirliğinin, balıklara farklı dozlarda oral yolla verilen arı polenin bazı immün parametrelere etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Protokol No: 2014/10-102).

Araştırmada kullanılan ve ortalama ağırlığı 100 ± 10 g olan 120 adet gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), yerel bir işletmeden temin edilerek $80 \times 75 \times 90$ cm boyutlarında 4 farklı fiberglas tanka, her birinde 10 adet olacak şekilde yerleştirildi. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan bu ortama 15 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon süresince balıklara günde iki kere alabildikleri kadar ticari alabalık yemi verildi.

Çalışma 3 tekrarlı olarak yürütüldü ve her bir tekrar için 40 adet olmak üzere toplamda 120 balık kullanıldı.

Araştırmada kestane (*Castanea sativa*) poleni kullanıldı. Polen örnekleri, Zonguldak yöresinde sabit arıcılık yapan arıcılardan kestane balının üretim sezonunda kovanların önüne polen tuzağı takılarak elde edildi. Polen örneklerinin palinolojik olarak identifikasyonu Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi'nden Prof. Dr. Sibel SİLİCİ tarafından yapıldı.

Çalışmada kullanılan polen örnekleri %1, %2 ve %4 oranında tartıldı ve 1'er litre su içerisinde çözüldü. Polen içeren yemlerin hazırlanması için, özel bir firmadan (Ecobio, Çağatay Yem, Türkiye) alınan pelet yemler önce toz haline getirildi. Toz haline getirilen yemler polen içeren 1'er litrelik sularla hamur haline getirildi. Hamur haline getirilen karışım kıyma makinesinden geçirilerek pelet haline dönüştürüldü. Hazırlanan peletler tepsilere yerleştirilip yem fırınına kurutuldu. Yemler soğutulduktan sonra, kullanılıncaya kadar koyu renkli cam muhafaza kapları içerisinde ve 4°C 'de muhafaza edildi (3, 4).

Adaptasyon süresi sonunda balıklar aşağıdaki gibi 4 farklı gruba ayrıldı.

K: Kontrol grubu; polen içermeyen ticari yemin uygulandığı grup

D1: %1 oranında polen ilave edilen yemin uygulandığı grup.

D2: %2 oranında polen ilave edilen yemin uygulandığı grup.

D3: %4 oranında polen ilave edilen yemin uygulandığı grup.

Yemler 21 gün süreyle uygulandı ve bu sürenin sonunda benzocain (25 mg/L) ile anestezi edilen balıklar, kan örneklerinin alınması için kavdal pedüncül bölgesinden ensize edildi. Kan örnekleri EDTA'lı antikoagülant tüplere dolduruldu.

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde hematokrit değeri (Ht) (11) ve oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi) (12) belirlendikten sonra plazmaları çıkarıldı. Bunun için kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazmada total protein (TP) (12) ve total immunoglobulin (TI) (12) düzeyleri belirlendi.

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 22.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. İncelenen immunolojik parametrelerde meydana gelen değişimler Shapiro-Wilk normallik testinden sonra tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) ile incelendi. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey post hoc testi kullanıldı.

Bulgular

Kontrol grubu balıklarıyla farklı oranlarda polen içeren yemlerin uygulandığı balıkların Ht, NBT, TP ve TI düzeylerindeki değişimler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Kontrol grubuna göre her üç deneme grubunda da Ht'nin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P < 0.05$). Bu artışın kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %13.65, %17.44 ve %19.89 düzeyinde olduğu saptandı. Yalnız polen uygulanan D1, D2 ve D3 grupları karşılaştırıldığında D3 grubunun Ht değerinin D1 grubundan farklı olduğu belirlendi ($P < 0.05$).

Kontrol grubuna göre her üç deneme grubunda da NBT aktivitesinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P < 0.05$). Bu artışın kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %14.10, %20.71 ve %21.17 olarak saptandı. Yalnız polenin uygulandığı D1, D2 ve D3 grupları karşılaştırıldığında D2 ve D3 gruplarının NBT aktivitelerinin D1 grubundan farklı olduğu görüldü ($P < 0.05$).

Kontrol grubuna göre her üç deneme grubunda da TP düzeyinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P < 0.05$). Bu artışın kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %13.45, %15.69 ve %14.57 düzeyinde olduğu görüldü. Yalnız polen uygulanan D1, D2 ve D3 gruplarının TP düzeyleri arasında istatistiksel herhangi bir farklılık belirlenmedi ($P > 0.05$).

Kontrol grubuna göre her üç deneme grubunda da TI düzeyinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($P < 0.05$). Bu artışın kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %25.70, %32.35 ve %35.16 düzeyinde olduğu saptandı. Yalnız polenin uygulandığı D1, D2 ve D3 grupları karşılaştırıldığında D2 ve D3 gruplarının TI düzeylerinin D1 grubundan farklı olduğu görüldü ($P < 0.05$).

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu balıklarında Ht, NBT, TP ve TI düzeyleri (Ortalama ± standart hata)

	Deneme Grupları			
	K	D1	D2	D3
Ht (%)	33.45 ± 3.84 ^c	38.74 ± 4.19 ^b	40.52 ± 5.20 ^{ab}	41.76 ± 4.47 ^a
NBT (mg/mL)	1.34 ± 0.11 ^c	1.56 ± 0.14 ^b	1.69 ± 0.17 ^a	1.70 ± 0.15 ^a
TP (mg/mL)	36.86 ± 3.41 ^b	42.59 ± 4.53 ^a	43.72 ± 5.10 ^a	43.15 ± 4.91 ^a
TI (mg/mL)	21.24 ± 3.75 ^c	28.59 ± 4.81 ^b	31.40 ± 4.22 ^a	32.76 ± 5.68 ^a

K: Kontrol grubu; D1: %1 oranında polen verilen grup; D2: %2 oranında polen verilen grup, D3: %4 oranında polen verilen grup.
a, b, c, d: Aynı satırda yer alan farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

Tartışma

Ht balık sağlığı hakkında ipuçları vermektedir. Buna bağlı olarak beslenme yetersizliği ve hastalıkların daima düşük Ht ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (13, 14). Bu çalışmada sırasıyla %1, %2 ve %4 oranında polen uygulanan D1, D2 ve D3 gruplarında Ht'ler sırasıyla 38.74±4.19, 40.52±5.20 ve 41.76±4.47 olarak belirlenmiş ve bu değerlerin kontrol grubundan (33.45±3.84) farklı olduğu saptanmıştır. Benzer bir sonuç El-Asely ve ark. (15) tarafından tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda elde edilmiş, sırasıyla %1, %2.5 ve %4 oranında polen içeren yemlerin uygulandığı tüm gruplarda Ht denemenin 10., 20. ve 30. günlerinde istatistiksel olarak önemli oranda arttığı görülmüştür.

Balıkta fagositoz, bakteri, virüs ve parazit gibi patojenik etkenlere karşı nonspesifik immun direncin en önemli mekanizmasını oluşturur. Kemotaksis, opsonizasyon, absorpsiyon, intraselüler yıkım ve sindirim gibi birçok safhada gerçekleşen fagositozda makrofajlar ve polimorf nükleer lökositler birinci derecede görev alırlar. Bu hücrelerin aksiyon mekanizması respiratory burst (solunum patlaması) sırasında reaktif oksijen türlerinin üretilmesidir. NBT testi kullanılarak belirlenen nötrofillerin oksidatif radikal üretimi nötrofillerin fagositik aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan bir testtir (16). Bu çalışmada polen uygulamasıyla NBT aktivitesinin bir başka ifadeyle nötrofillerin oksidatif radikal üretiminin arttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde El-Asely ve ark. (15) tarafından tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda yapılmış bir çalışmada, polen uygulanan balıkların fagositik hücre (nötrofil ve monositler) sayısının denemenin 10 gününde istatistiksel olarak önemli oranda arttığı belirlenmiştir. *In vivo* olarak enjeksiyonla 5 mg, yemle 0.1 ve 10 g kg⁻¹ propolis su ve etanolik ekstraktının verildiği çipura balıklarının hücre ve humoral immun yanıtındaki değişimlerin araştırıldığı bir çalışmada da (17) fagosit yüzdesinin arttığı görülmüştür. Benzer şekilde aynı balık türüne propolisin etanolik ekstraktının enjekte edilmesiyle fagositik aktivitenin arttığı belirlenmiştir (18). Mişe Yonar ve ark. (19) tarafından yapılan çalışmada da 10 mg/kg balık dozunda ve 10 gün süreyle propolis uygulamasının sazanlarda NBT aktivitesini arttırdığı bulunmuştur. Balıklarda nonspesifik immun cevabın, immunostimulanların kullanılması sonucunda fagositik hücrelerin sayısının artmasıyla ya da reaktif oksijen türlerinin üretilmesi neticesinde aktive olmasıyla artabileceği belirtilmiştir (20). Bu bilgi bu çalışmada NBT aktivitesinde belirlenen artışla da teyit edilmiştir. Diğer

tarafından farklı immunostimulan maddeler kullanılarak yapılan önceki çalışmalarda da NBT aktivitesinde artışlar belirlenmiştir. Örneğin güçlü bir antioksidan ve immunostimulan olan ayrıca yapısındaki bileşiklerle polene benzerlik gösteren spirulina (*Spirulina platensis*) ile beslenen tilapialarda NBT aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (21). Bu artış hem yem hem de enjeksiyonla 200, 400 ve 800 mg/kg balık dozunda spirulina verilen gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda da kaydedilmiştir.

Toplam plazma proteini nonspesifik immun sistemin humoral unsuru olarak kabul edilmektedir (22). Doğal olarak bulunan, bitkisel karakterdeki farklı immunostimulanların balıkların total protein düzeyine etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Immanuel ve ark. (23) dört farklı bitkisel tıbbi ekstraktın tilapiaların (*Oreochromis mossambicus*), Das ve ark. (24) ise fesleğenin (*Ocimum sanctum*) *Lobeo rohita* türü balıkların total protein düzeyine etkisini araştırmışlardır. Her iki araştırmada da bu parametrenin bitkisel ekstrakt uygulamasıyla arttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Düğenci ve ark. (25) ökseotu, ısırgan otu ve zencefilden elde edilen üç farklı bitkisel ekstraktın yemle uygulandığı gökkuşuğu alabalığında plazma protein düzeyinin kontrol balıklarından yüksek çıktığını ifade etmişlerdir. Diğer taraftan polen kullanılarak yapılan bir çalışmada %1, %2.5 ve %4 oranında polen içeren yemlerin uygulandığı tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların total plazma protein düzeyinin, denemenin 10. gününde %2.5 oranında polen uygulanan grupta, denemenin 20. gününde ise %2.5 ve %4 oranında polen uygulanan gruplarda istatistiksel olarak önemli oranda arttığı görülmüştür (15). Bu çalışmada sırasıyla %1, %2 ve %4 oranında polen uygulanan D1, D2 ve D3 gruplarında total protein düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır. Bu sonuç yukarıda adı geçen ve farklı doğal immunostimulanlar kullanan araştırmacıların bulgularıyla paralel bulunmuştur.

Balıklarda spesifik savunma mekanizmalarının en önemli elemanlarını immunoglobülinler oluşturmaktadır. Bilindiği gibi antikorlar; vücudun antijenik uyarımları sonucu plazma hücreleri tarafından sentezlenen ve antijenlerle birleşerek reaksiyon verebilen glikoprotein karakterindeki moleküller olup B lenfositlerin başkalaşması ile ortaya çıkar (26, 27). İspir ve Dörücü (28), intraperitoneal enjeksiyonla levamisol uyguladıkları gökkuşuğu alabalıklarında, antikor düzeyini denemenin 3., 7., 10. ve 14. günlerinde kontrol balıklarından yüksek bulmuşlardır. Yine Siwicki ve ark. (12) farklı

immunostimulanları yemle oral olarak uyguladıkları alabalıklardaki antikor düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Çipura balıklarının immunoglobulin M düzeyinin vitamin A, kitin, levamisol gibi immunostimulanların uygulanmasıyla kontrol balıklarına göre önemli oranda arttığı ifade edilmiştir (29). Arıların kendilerini soğuktan ve hastalıklardan korumak için yaprak, tomurcuk, dal ve ağaç kabuklarından topladığı reçinemsî karakterdeki propolis oral ve enjeksiyonla uygulandığı bir çalışmada ise total immunoglobulin düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir (30). Bu çalışmada da bir arı ürünü olan polenin, oral yolla immunostimulan olarak verildiği alabalıkların total immunoglobulin düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir artış belirlenmiştir. Diğer taraftan Puangkaew ve ark. (31), doymamış yağ asitlerinin gökkuşluğu alabalığında antikor düzeyini etkilediğini

saptamıştır. Bu çalışmada da antikor düzeyinde belirlenen artışın nedeni polenin yapısındaki yağ asitleri olabilir.

Sonuç olarak, polenin alabalıkların bazı immun parametrelerini olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bu sonuç polenin immunostimulan olarak balıklara verilebileceğini göstermektedir. Ancak başka balık türlerinde farklı doz ve sürelerde polen uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Teşekkür

Polen örneklerinin identifikasyonu için Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi öğretim üyesi Prof.Dr. Sibel SİLİCİ'ye teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Arda M, Seçer S, Sarreyyüpoğlu M. Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayınevi, 2005.
- Sağlam N, Yonar ME. Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). Aquac Res 2009; 40: 395-404.
- Yonar ME, Mişe Yonar S, Ispir U, et al. Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. *Achromogenes*. Fish Shellfish Immun 2019; 89: 83-90.
- Mişe Yonar S. Growth performance, haematological changes, immune response, antioxidant activity and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diet supplemented with ellagic acid. Fish Shellfish Immun 2019; 95: 391-398.
- Yang X, Guo D, Zhang J, et al. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. Int Immunopharmacol 2007; 7: 401-408.
- Eraslan G, Kanbur M, Silici S. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. Food Chem Toxicol 2009; 47: 86-91.
- Xu X, Sun L, Dong J, et al. Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with superficial carbon oxide. Innov Food Sci Emerg 2009; 10: 42-46.
- Abbass AA, El-Asely AM, Kandiel MMM. Effects of dietary propolis and pollen on growth performance, fecundity and some hematological parameters of *Oreochromis niloticus*. Turk J Fish Aquat Sc 2012; 12: 851-859.
- Çankaya N, Korkmaz A. Polen. Samsun: Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını, 2008.
- Ergönül MB, Yavuzcan H, Altındağ A. Balık sağlığı ve immunostimulanların kullanımı. J FisheriesSciences.com 2012; 6: 188-202.
- Konuk T. Pratik Fizyoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1981.
- Siwicki AK, Anderson DP, Rumsey GL. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Vet Immunol Immunop 1994; 41: 125-139.
- Rehulka J. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 2000; 90: 27-47.
- Rehulka J. Aeromonas causes severe skin lesions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Clinical pathology, haematology and biochemistry. Acta Vet Brno 2002; 71: 351-360.
- El-Asely AM, Abbass AA, Austin B. Honey bee pollen improves growth, immunity and protection of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against infection with *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immun 2014; 40: 500-506.
- Siwicki A, Studnicka M. The phagocytic ability of neutrophils and serum lysozyme activity in experimentally infected carp *Cyprinus carpio* L. J Fish Biol 1987; 31: 57-60.
- Cuesta A, Rodriguez A, Esteban MA, et al. *In vivo* effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immun responses. Fish Shellfish Immun 2005; 18: 71-80.
- Abd-El-Rhman AMM. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immun 2009; 27: 454-459.
- Mişe Yonar S, Ural MŞ, Silici S, et al. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of propolis. Ecotox Environ Safe 2014; 102: 202-209.
- Barman D, Nen P, Mandal SC, et al. Immunostimulants for aquaculture health management. J Mar Sci Res Dev 2013; 3: 134.
- Ibrahim MD, Mohamed MF, Ibrahim MA. The role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in growth and immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its resistance to bacterial infection. J Agric Sci 2013; 5: 109-114.
- Jeney G, Galeotti M, Volpatti D, et al. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. Aquaculture 1997; 154: 1-15.
- Immanuel G, Uma RP, Iyapparaj P, et al. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity

- and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. J Fish Biol 2009; 74: 1462-1475.
24. Das R, Raman RP, Saha H, et al. Effect of *Ocimum sanctum* Linn. (Tulsi) extract on the immunity and survival of *Labeo rohita* (Hamilton) infected with *Aeromonas hydrophila*. Aquac Res 2015; 46: 1111-1121.
 25. Dügenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. J Ethnopharmacol 2003; 88: 99-106.
 26. Dalmo RA, Ingebrigtsen K, Bogwald J. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). J Fish Dis 1997; 20: 241- 273.
 27. Diker S. İmmunoloji. Ankara: Medisan Yayınevi, 1998.
 28. İspir U, Dorucu M. A study on the effects of levamisole on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 1169-1176.
 29. Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). Vet Immunol Immunop 2004; 101: 203-210.
 30. Yonar ME. *Yersinia ruckeri* ile Enfekte Edilen Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın Tedavisinde Propolisin Kullanılması. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
 31. Puangkaew J, Kiron V, Somamoto T, et al. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish Shellfish Immun 2004; 16: 25-39.