



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2021; 35 (2): 85 - 89  
http://www.fusabil.org

### Ellajik Asidin Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'da Bazı Hematolojik Parametrelere Olan Etkisi \*

Tuncay EKSEN <sup>1, a</sup>  
Serpil MIŞE YONAR <sup>2, b</sup>

<sup>1</sup> Trabzon Havalimanı  
Meteoroloji Müdürlüğü,  
Trabzon, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi,  
Su Ürünleri Fakültesi,  
Yetiştiricilik Bölümü,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0001-6181-1593

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0003-2736-5731

Bu çalışmada, yeme farklı oranlarda katılan ellajik asidin pullu sazanda (*Cyprinus carpio*) bazı hematolojik parametrelere etkisini araştırmak amaçlandı. 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 hematolojik değerler [eritrosit ve lökosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit düzeyi ve eritrosit indeksleri: Ortalama eritrosit hacmi (MCV); ortalama eritrosit hemoglobin (MCH); ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu (MCHC)] analiz edildi. Ellajik asitle beslenen grupların eritrosit ve lökosit sayıları, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri kontrol grubuyla kıyaslandığında arttı (P<0.05). Fakat kontrol ve ellajik asit verilen grupların eritrosit indekslerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (P>0.05). Sonuç olarak, ellajik asit balıklarda bir immunostimulan olarak kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Balık, ellajik asit, hematolojik parametre, kan

#### Effect of Ellagic Acid on Some Hematological Parameters in Scaly Carp (*Cyprinus carpio*)

In the present study, it was aimed to investigate the effects of various levels of dietary ellagic acid on haematological values in scaly carp (*Cyprinus carpio*). Fish were fed with the control diet and three different experimental diets containing three different levels of ellagic acid (50, 100 and 200 mg kg<sup>-1</sup> diet) for 60 days. On the 30th and 60th days of the experiment, the haematological values [red and white blood cell counts, haemoglobin and haematocrit levels and erythrocyte indices: Mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC)] were analysed. The red and white blood cell counts, haemoglobin and haematocrit levels increased in the groups fed with ellagic acid when compared with the control group. However, there were no significant differences in the erythrocyte indices among the groups.

**Key Words:** Fish, ellagic acid, haematological parameter, blood

#### Giriş

Su ürünleri yetiştiriciliğinde üretim artışını olumsuz etkileyen faktörlerin başında hastalıklara bağlı sorunlar gelmekte ve bu sorunların bir sonucu olarak da önemli ekonomik kayıplar yaşanmaktadır. Çoğu durumda hastalıklara karşı tedavi edici önlemler alınamamakta ve etkin bir çözümün geliştirilememektedir. Bu nedenle bilim insanları balık sağlığını arttırmaya yönelik çalışmalara yönelmiştir. Bu çalışmaların büyük bir kısmını hastalık oluşmadan alınacak önlemler oluşturmaktadır. Bu kapsamda aşılama, doğal ya da sentetik immunostimulanlar ile antioksidanların kullanılabilirliği konusu son yıllarda bir hayli dikkat çekmektedir. İmmunostimulan özelliği sahip maddelerin kullanılması bu bağlamda önemli bir çözüm olarak görülmektedir (1-3).

Ellajik asit böğürtlen, ahududu, çilek, vişne, kıvılcık, nar, kırmızı ve siyah üzüm, ceviz ve diğer bitkisel besinler dâhil olmak üzere pek çok sayıda taneli meyvede bulunan fenolik karakterdeki bir antioksidandır. Birçok meyve ve sebze bulunan ve doğal fenolik bir bileşik olan ellajik asit önemli bir antioksidan maddedir. Molekül formülü C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub>, molekül ağırlığı 302.197 g/mol'dür. Vücuda alınan meyvelerde bulunan 'ellagitannins' denilen maddeler vücutta ellajik aside dönüştürülür (4). 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 (5-7).

Farklı stres ve kirlilik faktörleri, su kalitesinde meydana gelen değişimler, toksik etkili maddeler, hastalıklar, yetersiz beslenme, koruyucu veya tedavi edici amaçla kullanılan kemoterapötikler gibi faktörlere bağlı olarak balığın direk fizyolojik durumu değişebilmektedir. Fizyolojik durumda meydana gelen bu değişimlerin incelenmesinde kan dokusu güvenilir bir kriterdir ve organizmada oluşan fiziksel ve kimyasal değişimleri kesin bir şekilde yansıtabilmektedir. Bu nedenle memelilerde olduğu gibi balıklarda da

Geliş Tarihi : 21.02.2021  
Kabul Tarihi : 15.04.2021

#### Yazışma Adresi Correspondence

Serpil MIŞE YONAR  
Fırat Üniversitesi,  
Su Ürünleri Fakültesi,  
Yetiştiricilik Bölümü,  
Elazığ – TÜRKİYE

serpilmise@gmail.com

\* Bu çalışma; Tuncay EKSEN'in yüksek lisans tezinin bir bölümünden özetlenmiş ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Yönetim Birimi tarafından SÜF.19.01. nolu proje olarak desteklenmiştir.

metabolik bozukluklar ve septisemik hastalıkların yanı sıra fizyolojik değişimlerin belirlenmesi amacıyla kan analiz sonuçlarına geniş bir şekilde başvurulmaktadır. Bununla birlikte immunostimulan ve antioksidanların vücutta oluşturduğu fizyolojik değişlikleri ortaya koyması bakımından da kan dokusu oldukça önemlidir (8-11).

Bu çalışmada, yeme katılan ellajik asidin pullu sazanda hematolojik parametrelere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmada immunostimulan ve antioksidan özellikteki ellajik asit balıklara oral yolla verilmiş, kullanılan parametreler değerlendirilerek immunostimulan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

### Gereç ve Yöntem

**Araştırma ve Yayın Etiği:** Çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylandı (Protokol No: 2019/62).

Çalışma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde yapıldı ve çalışmada 33x100x60 cm boyutlarındaki 12 farklı cam akvaryum (3 tekrar ve her bir tekrar için 4 akvaryum) kullanıldı. Akvaryumlar, çalışmaya başlamadan önce dezenfekte edildi ve balıkların akvaryum dışına atılmalarını engellemek için balık ağıyla kapatıldı.

Çalışmada başlangıç ağırlığı yaklaşık 50±5 g olan 0+ yaş grubundaki 240 adet (her bir tekrar için 80 toplamda 240 balık) pullu sazan (*Cyprinus carpio*) kullanıldı. Balıklar DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden canlı olarak temin edildi. Canlı olarak temin edilen balıklar 33x100x60 cm boyutlarında 12 farklı cam akvaryuma, her birinde 20 adet olacak şekilde yerleştirildi. Deneysel çalışma başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan 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; sinonim: 4,4',5,5',6,6'-Hexahydroxydiphenic acid 2,6,2',6'-dilactone; CAS no: 476-66-4; deneysel formülü: C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub>) temin edildi. Laboratuvar analizleri sırasında kullanılan kimyasallar ise Sigma-Aldrich, Merck, Serva, Isolab, VWR Chemicals, Fluka, AppliChem, ABCR firmalarından sağlandı.

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 kurutuldu. Yemler soğutulduktan sonra, kullanılıncaya kadar koyu renkli cam muhafaza kapları içerisinde ve 4 °C'de muhafaza edildi.

Adaptasyon süresi sonunda balıklar aşığıdaki gibi dört grubu ayrıldı.

K: Kontrol grubu; 60 gün süreyle ellajik asit içermeyen ticari yemin uygulandığı grup,

EA-50: 60 gün süreyle 50 mg/kg yem oranında ellajik asit verilen grup,

EA-100: 60 gün süreyle 100 mg/kg yem oranında ellajik asit verilen grup,

EA-200: 60 gün süreyle 200 mg/kg yem oranında ellajik asit verilen grup.

Çalışma 3 tekrarlı olarak yürütüldü ve her bir tekrar için 80 adet olmak üzere toplamda 240 balık kullanıldı. Ellajik asidin uygulanan dozları Mişe Yonar ve ark. (9) ve Mişe Yonar (4)'a göre belirlendi.

Denemenin 30. ve 60. günlerinde her bir tekrardan 10 balık alınarak 25 mg/L konsantrasyonundaki benzokain (25 mg/L) yardımıyla anestezi edildi. Anestezi altındaki balıklar kavdal pedüncül bölgesinden ensize edilerek kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Kan örnekleri aynı gün işlendi.

Eritrosit ve lökosit sayıları, Natt Herrick solüsyonu kullanılarak Thoma lamında aynı anda yapıldı (12-14). Hemoglobin düzeyi siyanmethemoglobin yöntemine göre, Drabkin's ayırıcı kullanarak spektrofotometrede belirlendi (15). Hematokrit düzeyi mikrohematokrit yöntemle saptandı (13). Eritrosit indeksleri [Ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ile ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)] eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri kullanılarak formül yardımıyla hesaplandı (13, 14).

Sonuçların istatistiksel analizleri için SPSS 21.0 istatistik programı kullanıldı. Verilerin normal dağılımları kontrol edildikten sonra incelenen parametrelerde oluşan değişimlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) kullanıldı. Önemlilikler P≤0.05 olduğunda anlamlı kabul edildi. Bağımlı gruplarda istatistiksel farklılığı ortaya çıkarabilmek amacıyla bağımlı t testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi (16, 17).

### Bulgular

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların eritrosit ve lökosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmanın 30. gününde kontrol grubuna göre ellajik asit uygulanan EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının eritrosit ve lökosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin 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 eritrosit ve lökosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin 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 eritrosit ve lökosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin 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 eritrosit ve lökosit sayıları

**Tablo 1.** Kontrol grubu ile ellajik asit uygulanan deneme gruplarının eritrosit (RBC) ve lökosit (WBC) sayıları ile hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Ht) düzeyleri

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
RBC (x10 <sup>6</sup> )	30. gün	1.21±0.10 <sup>c</sup>	1.32±0.13 <sup>b</sup>	1.41±0.11 <sup>a</sup>	1.42±0.12 <sup>a</sup>
	60.gün	1.21±0.09 <sup>c</sup>	1.38±0.12 <sup>b,*</sup>	1.48±0.14 <sup>a,*</sup>	1.49±0.15 <sup>a,*</sup>
WBC (x10 <sup>3</sup> )	30. gün	35.15±1.10 <sup>c</sup>	39.82±1.44 <sup>b</sup>	45.20±2.21 <sup>a</sup>	46.03±1.95 <sup>a</sup>
	60. gün	35.21±1.28 <sup>c</sup>	43.25±1.73 <sup>b,*</sup>	49.83±2.03 <sup>a,*</sup>	50.09±2.32 <sup>a,*</sup>
Hb (g/dL)	30. gün	7.11±0.08 <sup>c</sup>	7.67±0.11 <sup>b</sup>	7.99±0.10 <sup>a</sup>	8.01±0.12 <sup>a</sup>
	60. gün	7.09±0.10 <sup>c</sup>	8.00±0.12 <sup>b,*</sup>	8.48±0.10 <sup>a,*</sup>	8.51±0.13 <sup>a,*</sup>
Ht (%)	30. gün	28.59±1.33 <sup>c</sup>	32.20±1.49 <sup>b</sup>	36.87±1.83 <sup>a</sup>	36.06±1.76 <sup>a</sup>
	60. gün	28.45±1.29 <sup>c</sup>	35.93±1.68 <sup>b,*</sup>	40.12±2.31 <sup>a,*</sup>	39.94±2.00 <sup>a,*</sup>

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

<sup>a,b,c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0.05).

\* Aynı grup içinde 30. günden farkı göstermektedir (P<0.05).

**Tablo 2.** Kontrol grubu ile ellajik asit uygulanan deneme gruplarının MCV, MCH, MCHC düzeyleri

		Gruplar			
		K	EA-50	EA-100	EA-200
MCV (µm <sup>3</sup> )	30. gün	239.95±15.85	243.12±18.33	256.01±21.97	255.94±17.48
	60.gün	240.12±22.10	251.04±19.75	263.08±23.92	261.05±24.24
MCH (pg)	30. gün	57.33±4.21	57.14±3.41	55.54±3.50	55.40±4.03
	60. gün	56.62±3.76	55.88±3.12	55.10±3.69	55.02±2.99
MCHC (%)	30. gün	24.45±2.11	23.52±2.36	21.89±1.98	22.03±2.54
	60. gün	24.60±2.85	22.33±2.47	21.32±1.72	21.61±2.06

MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobin, MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu; 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

ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin EA-50 grubundan daha yüksek olduğu tespit edildi (P<0.05).

EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının 60. gündeki eritrosit ve lökosit sayıları ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin 30. güne kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı (P<0.05).

Kontrol grubu ve ellajik asit uygulanan gruplardaki balıkların, MCV, MCH ve MCHC değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Kontrol grubu ve sırasıyla 50, 100 ve 200 mg/kg yem oranında ellajik asit verilen EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının MCV, MCH ve MCHC değerlerinde çalışmanın hem 30. hem de 60. günlerinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi (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 MCV, MCH ve MCHC değerlerinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi (P>0.05).

## Tartışma

Hematolojik parametreler balıkların sağlık durumunu değerlendirmek için genel bir gösterge olarak

kabul görmekte, stres ve hastalık durumlarını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (10, 18). Bu parametreler balıkların fonksiyonel ve beslenme durumunun ve ayrıca dış ortama adaptasyonunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılabilen önemli bir araçtır (11). Ayrıca kan parametrelerindeki değişimler normal ve patolojik süreçlerin iyi anlaşılabilmesi konusunda ipuçları vermektedir (19, 20). Bununla birlikte hematolojik parametreler immünostimulanların kullanımı nedeniyle oluşabilecek herhangi bir anormal durumun belirlenmesinde kullanılabilen ve immünostimulanların balıklara olumlu ya da olumsuz etkileri konusunda sağlık durumunu gösteren işaretler sunmaktadır (8). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, EA-50, EA-100 ve EA-200 gruplarının eritrosit sayısı ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin deneme sonunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Mişe Yonar ve ark. (9), 21 gün boyunca farklı oranlarda ellajik asitle takviye edilmiş yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalığının eritrosit sayısında istatistiksel bir artış kaydedildiğini belirtmiş hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde belirlenen artışın ise istatistiksel olarak önemsiz olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacıların elde ettiği sonuçlar ile bu çalışmadan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılığın nedeni ellajik asidin

uygulanan farklı dozları, çalışma süresi, balık ağırlığı ve türü olabilir.

Öte yandan, eritrosit indeksleri (MCV, MCH ve MCHC değerleri) anemilerin etiyojisini ve morfolojik sınıflandırmasını yapmak için sıklıkla kullanılmaktadır (21). Bu çalışmada ellajik asit uygulanan grupların eritrosit indekslerinde (MCV, MCH ve MCHC) kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu veri ellajik asidin pullu sazanda hematolojik parametreler üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve ellajik asidin anemiye sebep olmadığını, ayrıca ellajik asit uygulamasının balıklarda strese yol açmadığını göstermiştir. Benzer sonuçlar bu çalışmadaki dozlarla aynı oranda ellajik asit içeren yemlerin verildiği alabalıklarda da tespit edilmiştir (9).

İmmünolojik fonksiyonların yürütülmesinde görev alan ve spesifik olmayan veya nonspesifik bağışıklığın önemli faktörlerinden biri olarak kabul edilen lökositlerin sayısı / aktivitesindeki değişiklikler balıkların genel sağlık durumu hakkında ipuçları verebilmektedir (3, 22). Bu çalışmanın sonuçları ellajik asit içeren diyetlerle beslenen deneme gruplarının lökosit sayısının uygulama sonunda önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Bu bulgu, 21 gün (9) ve 8 hafta (3) süresince ellajik asit uygulanan gökkuşuğu alabalıklarından elde edilen sonuçlarla

paralellik göstermiştir. Bununla birlikte bitkisel karakterdeki immünostimulanların balıklarda immün sistemi stimüle ettiği ve lökosit sayısını artırabileceği belirtilmiştir (23). Yine birçok araştırmacı (24-32) bitkisel immünostimulanların farklı balık türlerinde nonspesifik hücresel bağışıklığın önemli bir parçasını oluşturan fagositozu artırdığını ifade etmiştir.

Sonuç olarak; 50, 100 ve 200 mg dozlarında ellajik asit verilen balıklarda incelenen hematolojik parametrelerden eritrosit ve lökosit sayısı ile hemoglobin ve hematokrit düzeylerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında arttığı belirlenmiştir. Elde edilen veriler ellajik asidin balıklarda immünostimulan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Diğer taraftan belirtilen dozlarda ellajik asit uygulanan grupların eritrosit indekslerinde (MCV, MCH ve MCHC) ise herhangi bir değişiklik belirlenmemiştir. Bu sonuç, ellajik asidin pullu sazanda hematolojik parametreleri üzerine olan olumlu etkisini teyit etmiştir. Ayrıca bu veri ellajik asidin anemiye sebep olmadığını, ayrıca ellajik asit uygulamasının pullu sazanda strese yol açmadığını göstermiştir. Fakat farklı balık türlerinde, farklı doz ve süreler için farklı yöntemler kullanılarak ellajik asit uygulamasının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

## Kaynaklar

1. 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.
2. Yonar ME, Mişe Yonar S, İspir 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.
3. 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.
4. Keskin S. Sıçanlarda Ultraviyole A ve B ile İndüklenmiş Deri Hasarında Ellajik Asit ve Silibininin Doku Koruyucu, Antiapoptotik ve Antioksidan Etkilerinin Moleküler ve Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018.
5. Losso JN, Bansode RR, II AT, et al. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 672-678.
6. Landete JM. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Res Int* 2011; 44: 1150-1160.
7. Çeribaşı AO, Sakin F, Türk G, et al. Impact of ellagic acid on adriamycin induced testicular histopathological lesions apoptosis lipid peroxidation and sperm damages. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 717-724.
8. Talpur AD, İkhwanuddin M. *Azadirachta indica* (neem) leaf dietary effects on the immunity response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish Shellfish Immun* 2013; 34: 254-264.
9. Mişe Yonar S, Yonar ME, Yöntürk Y, et al. Effect of ellagic acid on some haematological, immunological and antioxidant parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Anim Physiol An N* 2014; 98: 936-941.
10. Vazirzadeh A, Dehghan F, Kazemeini R. Changes in growth, blood immune parameters and expression of immune related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to diet supplemented with *Ducrosia anethifolia* essential oil. *Fish Shellfish Immun* 2017; 69: 164-172.
11. Abdel-Tawwab M, Adeshina I, Jenyo-Oni A, et al. Growth, physiological, antioxidants, and immune response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), to dietary clove basil, *Ocimum gratissimum*, leaf extract and its susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. *Fish Shellfish Immun* 2018; 78: 346-354.
12. Natt MP, Herrick CA. New blood diluents for counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poultry Sci* 1952; 31: 735-738.
13. Konuk T. Pratik Fizyoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1981.
14. İmren H, Turan O. Klinik Tanıda Laboratuvar. İstanbul: Beta Yayın Dağıtım, 1985.
15. Drabkin DL. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. *J Biol Chem* 1946; 64: 703-723.
16. Kocaçalışkan İ, Bingöl NA. Biyoistatistik. Ankara: Nobel Yayınları, 2008.
17. Kalaycı Ş. SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri. Ankara: Asil Yayınları, 2010.

18. Yonar ME. Chlorpyrifos-induced biochemical changes in *Cyprinus carpio*: Ameliorative effect of curcumin. *Ecotoxicol Environ Saf* 2018; 151: 49-54.
19. Li ZH, Velisek J, Grabic R, et al. Use of hematological and plasma biochemical parameters to assess the chronic effects of a fungicide propiconazole on a freshwater teleost. *Chemosphere* 2011; 83: 572-578.
20. Dotta G, Andrade JIA, Gonçalves ELT, et al. Leukocyte phagocytosis and lysozyme activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Fish Shellfish Immun* 2014; 39: 280-284.
21. Yonar ME, Mişe Yonar S, Pala A, et al. Trichlorfon-induced haematological and biochemical changes in *Cyprinus carpio*: Ameliorative effect of propolis. *Dis Aquat Organ* 2015; 114: 209-216.
22. Secombes CJ. The nonspecific immune system: Cellular defences. In: Iwama G, Nakanishi T. (Editors). *The fish immune system, organism, pathogen and environment*. Academic Press, Toronto: 1996: 63-103.
23. Adel M, Pourgholam R, Zorriehzahra J, et al. Hemato-immunological and biochemical parameters, skin antibacterial activity, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following the diet supplemented with *Mentha piperita* against *Yersinia ruckeri*. *Fish Shellfish Immun* 2016; 55: 267-273.
24. Dügenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J Ethnopharmacol* 2003; 88: 99-106.
25. Sahu S, Das BK, Mishra BK, et al. Effects of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *J Appl Ichthyol* 2007; 23: 80-86.
26. Choi SH, Park KH, Yoon TJ, et al. Dietary Korean mistletoe enhances cellular non-specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Fish Shellfish Immun* 2008; 24: 67-73.
27. Ardó L, Yin GJ, Xu P, et al. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 2008; 275: 26-33.
28. Nya EJ, Austin B. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis* 2009; 32: 963-970.
29. Nya EJ, Austin B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis* 2009; 32: 971-977.
30. Sharma A, Deo AD, Riteshkumar ST, et al. Effect of *Withania somnifera* (L. Dunal) root as a feed additive on immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Fish Shellfish Immun* 2010; 29: 508-512.
31. Nya EJ, Austin B. Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. *Fish Shellfish Immun* 2011; 30: 845-850.
32. Wang JL, Meng X, Lub R, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 2015; 435: 293-300.