



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2024; 38 (2): 111 - 116  
http://www.fusabil.org

### Polen Enjekte Edilen Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'da Bazı İmmünojenik Parametrelerin Araştırılması

M. Enis YONAR<sup>1, a</sup>  
Erkan KOLGAR<sup>1, b</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Su Ürünleri Fakültesi,  
Yetiştiricilik Bölümü,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0001-9519-4247

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0002-4235-7716

Bu çalışmada, sazan (*Cyprinus carpio*)'da bazı immünojenik parametreler üzerine polenin etkisi araştırıldı. Balıklar biri kontrol ve üçü deneme olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmazken diğer bir gruba fosfat buffer saline (PBS) intraperitoneal enjekte edildi. Kalan iki gruptaki balıklara ise polenin 1 mg/kg ve 10 mg/kg balık dozları intraperitoneal olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 3., 7. ve 10. günlerde balıklardan kan örnekleri kaudal pedüncül bölgesinden alındı. Kan örneklerinde lökosit sayısı, oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi) ve total immunoglobulin düzeyleri analiz edildi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde polen uygulanan grupların immünojenik parametrelerinde istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edildi ( $P<0.05$ ). Yalnız polen uygulanan gruplar birbiriyle kıyaslandığında immünojenik parametrelerin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde birbirinden farklılık gösterdiği belirlendi ( $P<0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Bağışıklık, balık, kan, polen, sazan

#### Investigation of Some Immunological Parameters in Pollen Injected Carp (*Cyprinus carpio*)

In this study, effects of pollen on immunological parameters in carp (*Cyprinus carpio*) were investigated. The fish were divided into four groups as one control group and three experimental groups. While no procedure was applied to the control group, phosphate buffer saline (PBS) was injected intraperitoneally to another group. The fish in the remaining two groups were injected intraperitoneally with 1 mg/kg and 10 mg/kg fish doses of pollen. Blood samples were taken from the caudal peduncle of the fish on 3rd, 7th and 10th days after injection. Leucocyte count, oxidative radical production (nitroblue tetrazolium-NBT activity) and total immunoglobulin levels were analysed in blood samples. When compared to the control group, statistically significant increase in immunological parameters of the pollen treated groups were detected on the 3rd, 7th and 10th days of the experiment ( $P<0.05$ ). When pollen groups were compared with each other, immunological parameters were found to be different on the 3rd, 7th and 10th days of the experiment ( $P<0.05$ ).

**Key Words:** Immunity, fish, blood, pollen, carp

#### Giriş

Balık hastalıkları sonucunda oluşan ekonomik kayıplar su ürünleri sektörünün gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır. Günümüzde balık hastalıklarının birçoğunun tedavisi için halen etkin bir çözüm geliştirilememiş olması ve var olan tedavi yöntemlerinin ise balıklar için ekstra bir stres kaynağı olması, bilim insanlarını balık sağlığını arttırmaya sevk etmiştir. Bu sebeple hastalığın çıkmasını engelleyecek korunma önlemlerinin alınması, aşılama, doğal ya da sentetik immunostimulanlar ile balıkların direncini azaltarak hastalıkların oluşumuna sebep olan stres faktörlerine karşı antioksidanların kullanılabilirliği konusu oldukça önem kazanmıştır. Diğer taraftan yetiştiricilik koşullarının zaman zaman yetersizliği balıklarda strese neden olmaktadır. Bu da bağışıklık sisteminin etkinliğini azaltabilmektedir. Bu yüzden hastalık oluşmadan alınacak önlemler büyük önem taşımaktadır (1).

Arıların büyümesinde ve salgı bezlerinin gelişmesinde mutlaka gerekli bir madde olan polen, arı kolonilerinin yavru üretmek devamlılığını sağlayabilmesi için mutlak gerekli bir maddedir (2). Antimikrobiyal, antioksidan ve immunomodulator özellikler gösteren polen, ihtiva ettiği besinler nedeniyle son zamanlarda bir hayli dikkat çekmektedir (3-6). Polenin ihtiva ettiği besin maddeleri arasında yüksek miktarda protein ve karbonhidrat bulunmakla birlikte yağ asitleri, vitaminler, mineral maddeler, enzimler ve aminoasitler de yapılan kimyasal analizler neticesinde yapılarında bulunmuştur. Bunun yanında flavonoid, karotenoid, steroid ve renk maddelerinin varlığı da polenin kimyasal yapısında gösterilmiştir (6).

Bu çalışmada, pullu sazana enjeksiyon yoluyla uygulanan polenin immunostimulan etkisinin araştırılması ve dolayısıyla polenin balıklarda immunostimulan olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

\* Bu çalışma, Yüksek Mühendis Erkan KOLGAR'ın yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve SÜF.18.05 numaralı proje kapsamında Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir.

Geliş Tarihi : 28.02.2024  
Kabul Tarihi : 29.03.2024

#### Yazışma Adresi Correspondence

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

meyonar@gmail.com

## Gereç ve Yöntem

Araştırma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'nca onaylandı (Protokol No: 2018/42).

Çalışma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan ve yaklaşık hacmi 200 L olan 12 farklı cam akvaryum (3 tekrar ve her bir tekrar için 4 akvaryum) kullanılarak yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce akvaryumlar dezenfekte edildi ve akvaryumların üstü balıkların atlamalarını engellemek için kapatıldı. Hava kompresörü kullanılarak akvaryumlar sürekli havalandırıldı. Akvaryumdaki suyun sıcaklığı  $23\pm 1$  °C'ye ayarlandı.

DSİ 9. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden sağlanan, ortalama ağırlığı  $40\pm 5$  g olan 360 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio*) örnekleri Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesine canlı olarak getirilerek her bir akvaryumda 30 balık olacak şekilde stoklandı. Stoklanmadan önce balıklar makroskopik olarak muayene edildi.

Çalışmada kullanılan kestane (*Castanea sativa*) poleni örnekleri, Zonguldak bölgesinde sabit olarak arıcılık işiyle uğraşan arıcılardan kestane balının üretim sezonunda kovanların önüne polen tuzağının takılmasıyla elde edildi. Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Sayın Sibel SİLİCİ tarafından polen örneklerinin palinolojik identifikasyonu gerçekleştirildi. 10 g tartılan polen örneği 20 mL distile suda çözülerek 10 dakika 1.000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın sıvı kısmı döküldükten sonra sedimente 20 mL distile su tekrar eklenerek 5 dakika 1.000 rpm'de santrifüj edildi. Su kısmı tekrar dökülerek kurutma kâğıdı üzerine test tüpü ters çevrildi. Lam üzerine aktarılan sedimentin üzerine gliserin jelatin karışımı eklendikten sonra ısıtıcı tablada 40 °C'de jelin erimesi sağlandı. Preparat üzerine lamel kapatıldı. Polen tanecekleri referans polen preparatları ve polen atlasları kullanılarak mikroskopta tanımlandı ve sayıldı. Her bir örnekte en az 5.000 polen sayılmak suretiyle arı ekmeklerini en yüksek oranda temsil eden polen türleri tespit edildi.

Standart AOAC (7-9) metotları kullanılarak polenin kimyasal analizi yapıldı. ISO (10) metodu yardımıyla ise yağ asitlerinin analizi gerçekleştirildi. Polen örneklerindeki ana şeker kompozisyonu yüksek performanslı likid kromatografi (HPLC-RID, Agilent 1100 Series, USA, 4.6x250 mm, 5 µm particle size) ile saptandı. Polen örneklerinin antioksidan özellikleri Singleton ve Rossi (11), Gyamfi ve ark. (12), Leblanc ve ark. (13) ile Ulusoy ve Kolaylı (14) tarafından bildirilen metotlar kullanılarak tespit edildi.

12 farklı akvaryuma her bir akvaryumda 30 balık olacak şekilde stoklanan balıkların 15 gün süreyle adaptasyonu sağlandıktan sonra aşağıdaki gibi 4 grup oluşturuldu.

Grup 1 (K): Kontrol grubu

Grup 2 (PBS): Intraperitoneal olarak 0.1 mL Fosfat buffer saline (PBS) enjekte edilen grup

Grup 3 (P-1): 1 mg/kg balık dozunda intraperitoneal olarak polen enjekte edilen grup

Grup 4 (P-10): 10 mg/kg balık dozunda intraperitoneal olarak polen enjekte edilen grup

Deneme 10 gün sürdü. Çalışma 3 tekrarlı yapıldı ve her bir tekrar için 90 toplamda 360 balık kullanıldı. Çalışma süresince balıklara ticari bir balık yemi günde iki kez alabildikleri kadar verildi.

Polen enjeksiyonundan sonraki 3., 7. ve 10. günde her bir tekrardan 10 balık alınarak benzokain (25 mg/L) yardımıyla anestezi edildi. Balıkların kanları, kavdal pedüncül bölgesinin ensize edilmesinden sonra kavdal venadan alınarak EDTA içeren antikoagülanlı tüplere dolduruldu. Kan örnekleri alındıktan sonra balıklar tekrar makroskopik olarak muayene edildi.

Kan örneklerinde lökosit sayısı (WBC) (15) ve oksidatif radikal üretimi (nitrobluetetrazolium-NBT aktivitesi) belirlendikten sonra plazmaları çıkarıldı. Bunun için kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Plazmada total immunoglobulin (TI) düzeyi belirlendi (16).

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS® 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme gruplarındaki balıkların incelenen parametrelerinde oluşan değişimler Shapiro-Wilk normallik testinden sonra tek yönlü varyans analizi ile test edildi. Bağımlı gruplarda (günler için) istatistiksel farklılığı ortaya çıkarabilmek amacıyla tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi.

## Bulgular

Adaptasyon ve deneme esnasında balıklarda herhangi bir ölüm olayı gerçekleşmedi. Çalışmaya başlamadan önce ve yine kan alımını takiben makroskopik olarak muayene edilen balıklarda olumsuz herhangi bir bulguyla karşılaşılma.

Polen örneklerinin kimyasal analizinden elde edilen sonuçlar Tablo 1'de, polen örneklerinin yağ asidi kompozisyonu Tablo 2'de, antioksidan özellikleri ise Tablo 3' de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Kestane polenin kimyasal analizinden elde edilen sonuçlar

Kuru Madde (%)	90.36 $\pm$ 0.42
Kül (%)	3.01 $\pm$ 0.04
Ham Lif (%)	3.97 $\pm$ 0.26
pH	5.26 $\pm$ 0.01
Protein (%)	21.27 $\pm$ 0.01
Yağ (%)	1.75 $\pm$ 0.42
Fruktoz (%)	16.81 $\pm$ 0.01
Glukoz (%)	15.60 $\pm$ 0.17
Galaktoz (%)	5.67 $\pm$ 0.36
Sukroz (%)	2.56 $\pm$ 0.34

**Tablo 2.** Kestane polenin yağ asidi profili

Yağ Asidi	Kısaltma	Hafıza Zamanı (dk)	İçerik (%)
Miristik asit	C:14	12.5	1.39
Palmitik asit	C:16	15.3	10.94
Palmitoleik asit	C:16:1	16.4	7.87
Margaoleik asit	C:17:1	18.6	15.51
Stearik asit	C:18	19.8	2.41
Oleik asit	C:18:1	20.9	32.9
Linoleik asit	C:18:2	22.1	11.9
$\alpha$ -Linolenik asit	C:18:3	22.4	5.79
Araşidik asit	C:20	26.0	5.07
Araşidonik asit	C:20:4	29.6	6.08

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PBS ile polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarının lökosit sayısında zamana bağlı olarak oluşan değişimler Tablo 4'de sunulmuştur. P-1 ve P-10 gruplarında lökosit sayısının denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol ve PBS gruplarından istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). Yalnız P-1 ve P-10 grupları karşılaştırıldığında lökosit sayısının 3., 7. ve 10. günlerde birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi ( $P<0.05$ ). PBS grubundaki lökosit sayısının denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ( $P<0.05$ ). P-1 grubunda 7. gündeki lökosit sayısının 3. gündeki lökosit sayısından, 10. gündeki lökosit sayısından ise hem 3. hem de 7. gündeki lökosit sayısından farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). P-10 grubunda lökosit sayısının 7. günde 3. günden, 10. günde ise hem 3. hem de 7. günden farklılık gösterdiği belirlendi ( $P<0.05$ ).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PBS ile polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarının NBT aktivitesinde zamana bağlı olarak oluşan değişimler Tablo 5'de

**Tablo 3.** Kestane polenin belirlenen antioksidan özellikleri

	Total Fenolik Madde (mg GAE/kg)	Antiradikal Aktivite (% inhibition)	Total Flavonoid Madde (mg kateşin/kg)
Metanolik ekstrakt	16939.9 $\pm$ 125.8	95.17 $\pm$ 0.21	1778.89 $\pm$ 93.88
Su ekstraktı	4664.6 $\pm$ 247.8	24.39 $\pm$ 1.12	314.05 $\pm$ 19.65

GAE: Gallik asit eşdeğerleri

**Tablo 4.** Kontrol ve deneme gruplarında lökosit sayısı ( $\times 10^3$ )

Günler	K	PBS	P-1	P-10
3. gün	36.41 $\pm$ 2.74 <sup>a, A</sup>	36.75 $\pm$ 2.30 <sup>a, A</sup>	41.63 $\pm$ 3.11 <sup>b, A</sup>	47.01 $\pm$ 3.22 <sup>c, A</sup>
7. gün	36.58 $\pm$ 2.99 <sup>a, A</sup>	36.11 $\pm$ 2.52 <sup>a, A</sup>	45.06 $\pm$ 2.60 <sup>b, B</sup>	50.59 $\pm$ 3.45 <sup>c, B</sup>
10. gün	35.98 $\pm$ 3.15 <sup>a, A</sup>	36.19 $\pm$ 2.06 <sup>a, A</sup>	50.31 $\pm$ 3.79 <sup>b, C</sup>	54.05 $\pm$ 2.97 <sup>c, C</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

<sup>A,B,C</sup> Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

K: Kontrol grubu; PBS: PBS enjekte edilen grup; P-1: 1 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup; P-10: 10 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup.

sunulmuştur. P-1 ve P-10 gruplarında NBT aktivitesinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol ve PBS gruplarından istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). Yalnız P-1 ve P-10 grupları karşılaştırıldığında NBT aktivitesinin 3., 7. ve 10. günlerde birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi ( $P<0.05$ ). PBS grubundaki NBT aktivitesinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ( $P>0.05$ ). P-1 grubunda 7. gündeki NBT aktivitesinin 3. gündeki NBT aktivitesinden, 10. gündeki NBT aktivitesinin ise hem 3. hem de 7. gündeki NBT aktivitesinden farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). P-10 grubunda NBT aktivitesinin 7. günde 3. günden, 10. günde ise hem 3. hem de 7. günden farklılık gösterdiği belirlendi ( $P<0.05$ ).

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PBS ile polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarının total immunoglobulin düzeyinde zamana bağlı olarak oluşan değişimler Tablo 6'da sunulmuştur. P-1 ve P-10 gruplarında total immunoglobulin düzeyinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol ve PBS gruplarından istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). Yalnız P-1 ve P-10 grupları karşılaştırıldığında total immunoglobulin düzeyinin 3., 7. ve 10. günlerde birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi ( $P<0.05$ ). PBS grubundaki total immunoglobulin düzeyinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ( $P>0.05$ ). P-1 grubunda 7. gündeki total immunoglobulin düzeyinin 3. gündeki total immunoglobulin düzeyinden, 10. gündeki total immunoglobulin düzeyinin ise hem 3. hem de 7. gündeki total immunoglobulin düzeyinden farklı olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). P-10 grubunda total immunoglobulin düzeyinin 7. günde 3. günden, 10. günde ise hem 3. hem de 7. günden farklılık gösterdiği belirlendi ( $P<0.05$ ).

**Tablo 5.** Kontrol ve deneme gruplarında oksidatif radikal üretimi (NBT aktivitesi) (mg/mL)

Günler	K	PBS	P-1	P-10
3. gün	1.22 ± 0.08 <sup>a, A</sup>	1.23 ± 0.09 <sup>a, A</sup>	1.58 ± 0.14 <sup>b, A</sup>	1.71 ± 0.16 <sup>c, A</sup>
7. gün	1.23 ± 0.09 <sup>a, A</sup>	1.22 ± 0.10 <sup>a, A</sup>	1.86 ± 0.11 <sup>b, B</sup>	1.98 ± 0.19 <sup>c, B</sup>
10. gün	1.22 ± 0.07 <sup>a, A</sup>	1.22 ± 0.09 <sup>a, A</sup>	1.99 ± 0.15 <sup>b, C</sup>	2.10 ± 0.15 <sup>c, C</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (P<0.05).

<sup>A,B,C</sup> Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (P<0.05).

K: Kontrol grubu; PBS: PBS enjekte edilen grup; P-1: 1 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup; P-10: 10 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup.

**Tablo 6.** Kontrol ve deneme gruplarında total immunoglobulin (TI) düzeyi (mg/mL)

Günler	K	PBS	P-1	P-10
3. gün	12.28 ± 2.14 <sup>a, A</sup>	12.41 ± 2.60 <sup>a, A</sup>	14.95 ± 2.04 <sup>b, A</sup>	15.86 ± 3.10 <sup>c, A</sup>
7. gün	12.33 ± 2.52 <sup>a, A</sup>	12.21 ± 2.22 <sup>a, A</sup>	16.02 ± 3.30 <sup>b, B</sup>	18.75 ± 2.04 <sup>c, B</sup>
10. gün	12.15 ± 2.08 <sup>a, A</sup>	12.34 ± 2.86 <sup>a, A</sup>	17.91 ± 3.58 <sup>b, C</sup>	20.06 ± 2.23 <sup>c, C</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (P<0.05).

<sup>A,B,C</sup> Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir (P<0.05).

K: Kontrol grubu; PBS: PBS enjekte edilen grup; P-1: 1 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup; P-10: 10 mg/kg balık dozunda polen enjekte edilen grup.

## Tartışma

Herhangi bir yan etkisi olmayan, doğal olarak elde edilebilen ve ayrıca güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip polenin kimyasal özellikleri bölgedeki coğrafik yapıya ve floraya göre değişebilmektedir (4, 17). Karbaril pestisidine karşı arı polenin koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (4), kullanılan arı polenin yapısında organik asitler, flavonoidler, esterler, aldehitler, hidrokarbonlar, terpenler, alkol, keton ve diğer bazı bileşikler GC-MS analizi ile belirlenmiştir. Yıldız ve ark. (17) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise ratlarda karbon tetraklorid kullanılarak oluşturulan karaciğer hasarına karşı arı polenin koruyucu etkisi incelenmiştir. Sonuçta çalışmada kullanılan ve Zonguldak bölgesinden toplanan polen örneklerinde dominant türün kestane olduğu yapısında nem, kül, protein, nişasta ve yağları içerdiği belirlenmiş, bununla birlikte toplam fenolik madde, total flavonoid ve total karotenoid miktarı gibi antioksidan özellikleri saptanmıştır. Bu çalışmada da kestane tipi polen kullanılmış, polenin kimyasal analiz sonuçlarına göre yapısında nem, kül, protein, nişasta, şeker ve farklı yağ asitleri belirlenmiş ayrıca güçlü antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Nonspesifik immün direncin en önemli unsurlarından birini oluşturan fagositoz balıklarda patojenik etkenlere karşı vücudu korumaktadır. Fagositozda makrofajlar ve polimorf nükleer lökositler (özellikle nötrofiller) birinci derecede görev alırlar ve fagositoz olayı kemotaksis, opsonizasyon, absorpsiyon, intraselüler yıkım ve sindirim gibi farklı safhalarda meydana gelir. Fagositik hücrelerin aksiyon mekanizması respiratory burst (solunum patlaması) sırasında reaktif oksijen türlerinin üretilmesi şeklindedir.

Nötrofillerin fagositik aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan NBT testi nötrofillerin oksidatif radikal üretiminin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (18). El-Asely ve ark. (19) tilapia (*Oreochromis niloticus*) larda polen uygulamasının balıklarda fagositik hücre (nötrofil ve monositler) sayısını denemenin 10 gününde, fagositik oran ve indeksi ise denemenin 10. 20. ve 30. gününde istatistiksel olarak önemli oranda arttırdığını ifade etmiştir. Bir arı ürünü olan ve kimyasal yapısı polenle benzerlik gösteren propolis su ve etanolik ekstraktının *in vivo* olarak enjeksiyonla 5 mg, yemle 0,1 ve 10 g kg<sup>-1</sup> dozunda verildiği çipura balıklarında fagosit yüzdesinin arttığı görülmüştür (20). Abd-El-Rhman (21) tarafından da benzer sonuçlar elde edilmiş, aynı balık türüne propolis etanolik ekstraktının enjekte edilmesiyle fagositik aktivitenin arttığı görülmüştür. Mişe Yonar ve ark. (22) tarafından yapılan başka bir çalışmada da 10 mg/kg balık dozunda ve 10 gün süreyle oral yolla uygulanan propolis sazanlarda NBT aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Yöntürk (23) %1, 2 ve 4 oranında ve 21 gün süreyle polen içeren yemlerin oral yolla verildiği alabalıklarda NBT aktivitesinin arttığı saptanmıştır. Yukarıdaki çalışmalarla paralel olarak balıklarda immunostimulanların kullanılması sonucunda fagositik hücrelerin sayısının artmasıyla ya da reaktif oksijen türlerinin üretilmesi neticesinde nonspesifik immün cevabın aktive olabileceği belirtilmiştir (24). Bu çalışmada NBT aktivitesinde belirlenen artışla bu bilgi teyit edilmiş, polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarında NBT aktivitesinin yani nötrofillerin oksidatif radikal üretiminin arttığı görülmüştür.

Lökositler nonspesifik bağışıklıkta çok önemli bir rol oynamaktadır. Lökosit sayısı veya aktivitesi balıkların genel sağlık durumunu gösterebilir (25). El-Asely ve ark. (19), sırasıyla %1, %2.5 ve %4 oranında ve 30 gün süreyle polenin uygulandığı tilapia (*Oreochromis*

*niloticus*)' larda nötrofil ve monosit sayılarının kontrol grubuna göre çalışmanın 10., 20. ve 30. günlerinde istatistiksel olarak önemli oranda arttığını göstermişlerdir. Talas ve Gulhan (26) 96 saat süreyle 0.5, 2.5, 5, 10, 20 ve 30 ppm konsantrasyonlarında uygulanan polenin alabalıklarda lökosit sayısını arttırdığını belirtmişlerdir. Polenin 1 ve 10 mg/kg dozunda enjekte edildiği bu çalışmada da yukarıdaki araştırmacıların elde ettiği sonuçlarla uyumlu bir şekilde sazanların lökosit sayısı istatistiksel olarak artmıştır. Bu sonuç polenin immunostimulan etkisini göstermektedir.

İmmunoglobülinler balıklarda spesifik bağışıklığın en önemli unsurlarından birisini 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 (27-29). Siwicki ve ark. (16) farklı immunostimulanların yemle oral olarak uygulandığı alabalıklarda antikor düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğunu belirlemiştir. Çipura balıklarında yapılan bir çalışmada vitamin A, kitin, levamisol gibi immunostimulanların uygulanmasıyla immunoglobulin M düzeyinin arttığı ifade edilmiştir (30). Bir arı ürünü olan

propolis oral ve enjeksiyonla verildiği başka bir araştırmada total immunoglobulin düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir (31). Başka bir arı ürünü olan polenin %1, 2 ve 4 düzeyinde ve 21 gün süreyle yemle verildiği alabalıklarda da total immunoglobulin düzeyinin arttığı gösterilmiştir (23). Benzer şekilde bu çalışmada da polenin oral yolla uygulandığı sazanlarda total immunoglobulin düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir artış görülmüştür. Antikor düzeyinde belirlenen artışın nedeni uygulanan polenin yapısında belirlenen yağ asitleri olabilir (32).

Sonuç olarak, sazanlarda bazı immünolojik parametreler polen enjeksiyonuyla artmıştır. Bu veriler polenin balıklara immunostimulan olarak uygulanabileceğini göstermiştir. Fakat başka balık türlerinde farklı doz ve sürelerde, farklı yöntemlerle ve farklı parametreler kullanılarak polen uygulamasının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

### Teşekkür

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

### Kaynaklar

- Ergönül MB, Yavuzcan H, Altındağ A. Balık sağlığı ve immunostimulanların kullanımı. J FisheriesSciences.com 2012; 6: 188-202.
- Çankaya N, Korkmaz A. Polen. Samsun: Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını, 2008.
- Yang X, Guo D, Zhang J, et al. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. Int Immunopharmacol 2007; 7(3): 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 Technol 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.
- AOAC. 920.153. Ash of meat. Rockville, MD, USA: AOAC International, 2000.
- AOAC. 991.36. Fat (crude) in meat and meat products. Rockville, MD, USA: AOAC International, 2000.
- AOAC. 960.52. Microchemical determination of nitrogen (micro-Kjeldahl method). Rockville, MD, USA: AOAC International, 2000.
- ISO 12966-2: Animal and vegetable fats and oils – gas chromatography of fatty acid methyl esters – Part 2: preparation of methyl esters of fatty acids. Geneva Switzerland: International Organization for Standardization (ISO), 2011.
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 1965;16: 144-158.
- Gyamfi MA, Yonamine M, Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. Gen Pharmacol 1999; 32(6): 661-667.
- Leblanc, BW, Davis, OK, Boue S, et al. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. Food Chem 2009; 115: 1299-1305.
- Ulusoy E, Kolayli S. Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer Bee pollen, J Food Biochem 2014; 38(1): 73-82.
- 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 frunculosis. Vet Immunol Immunopathol 1994; 41: 125-139.
- Yıldız O, Can Z, Saral Ö, et al. Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. Evid Based Complement Alternat Med 2013; 461478.
- 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.
- 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.

20. 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.
21. 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.
22. 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. *Ecotoxicol Environ Saf* 2014; 102: 202-209.
23. Yöntürk Y. Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda Arı Poleninin Antioksidan ve İmmunostimulan Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2018.
24. Barman D, Nen P, Mandal SC, et al. Immunostimulants for aquaculture health management. *J Marine Sci Res Develop* 2013; 3: 134.
25. 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.
26. Talas ZS, Gulhan MF. Effects of various pollen concentrations on some biochemical and hematological parameters and paraoxanase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iran J Fish Sci* 2013; 12 (4): 928-938.
27. Arda M, Minbay A, Aydın N, et al. *İmmunoloji*. Ankara: Medisan Yayınevi, 1994.
28. 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.
29. Diker S. *İmmunoloji*. Ankara: Medisan Yayınevi, 1998.
30. Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 101: 203-210.
31. Yonar ME. *Yersinia ruckeri* ile Enfekte Edilen Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın Tedavisinde Propolisin Kullanılması. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
32. 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.