



Araştırma Makalesi

Polen Enjekte Edilen Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'da Hemoglobin Düzeyinin Araştırılması

Erkan KOLGAR¹
Muhammet Enis YONAR²

Özet: Bu çalışmada, sazan (*Cyprinus carpio*)'da hemoglobin düzeyi üzerine polenin etkisi araştırıldı. Polenin 1 mg/kg balık ve 10 mg/kg balık dozları intraperitoneal olarak balıklara enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 3., 7. ve 10. günde balıklardan kan örnekleri alındı. Kan örneklerinde hemoglobin düzeyleri analiz edildi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde polen uygulanan grupların hemoglobin düzeylerinde önemli bir artış tespit edildi ($p < 0,05$). Yalnız polen uygulanan gruplar birbiriyle kıyaslandığında da yine hemoglobin düzeylerinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: Balık, Hemoglobin, Kan, Polen, Sazan.

Investigation of Haemoglobin Level in Pollen Injected Scaly Carp (*Cyprinus carpio*)


Abstract: In this study, effects of pollen on haemoglobin level in carp (*Cyprinus carpio*) were investigated. 1 mg / kg fish and 10 mg / kg fish of pollen were injected intraperitoneally into the fish. Blood samples were taken from the fish on 3rd, 7th and 10th days after injection. Haemoglobin levels parameters were analysed in blood samples. When compared to the control group, statistically significant increase in haemoglobin levels of the pollen treated groups were detected on the 3rd, 7th and 10th days of the experiment ($p < 0,05$). When pollen groups are compared with each other, haemoglobin levels were also found to be different on the 3rd, 7th and 10th days of the experiment.

Keywords: Fish, Haemoglobin, Blood, Pollen, Carp.

GİRİŞ

Enfeksiyöz hastalıkların tedavisi için kullanılan kemoterapötik maddelerin kullanımı, balıklarda önemli organlara zarar vermesi, kas dokusunda birikerek insanlara geçmesi, bakterilerin direnç kazanması, bağışıklık sistemini baskılaması, etkisinin kısa süreli olması ve tüm enfeksiyonlara karşı etkili olmaması gibi nedenlerle sınırlı olmaktadır. Bu olumsuzlukların önüne geçebilmek için 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 (Sağlam & Yonar, 2009; Yonar vd., 2019).

¹Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ, Türkiye; erkankolding@gmail.com

²Corresponding author: Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ, Türkiye; meyonar@gmail.com;  0000-0001-9519-4247

Polen, tohumların oluşmasından hemen önce açan çiçeklerin orta kısmındaki erkek üreme organının başçık bölgesinde yer alan ve bitkinin bütün kalıtsal özelliklerini taşıyan, küçük hücrelerden oluşmuş tozlara verilen isimdir. Bitkilerin çiçeklenme dönemleri boyunca görülen polenler çiçek tozu olarak da isimlendirilirler (Çankaya & Korkmaz, 2008). Antimikrobiyal, antioksidan ve immunomodulator özellikler gösteren polen, ihtiva ettiği besinler nedeniyle son zamanlarda bir hayli dikkat çekmektedir (Yang vd., 2007; Eraslan vd., 2009; Xu vd., 2009; Abbass vd., 2012). 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 yapılarında gösterilmiştir (Abbas vd., 2012).

Bu araştırmada, pullu sazana enjeksiyon yoluyla uygulanan polenin hemoglobin düzeyine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma, 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 ± 1 °C' ye ayarlandı.

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

Çalışmada kestane (*Castanea sativa*) poleni kullanıldı. Polen 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. Sibel SİLİCİ tarafından polen örneklerinin palinolojik identifikasyonu gerçekleştirildi.

Çalışmada, canlı olarak getirilerek 12 farklı akvaryuma her bir akvaryumda 30 balık olacak şekilde stoklanan balıkların 15 gün süreyle adaptasyonu sağlandı. Adaptasyon sırasında ticari bir balık yemi balıklara günde iki kez alabildikleri kadar verildi.

Adaptasyon süresi sonunda balıklar aşağıdaki gibi 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (K): Kontrol grubu;

Grup 2 (PBS): Phosphat buffer saline (PBS) enjekte edilen grup;

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

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

Deneme 10 gün sürdü. Çalışma 3 tekrarlı yapıldı ve her bir tekrar için 120, toplamda 360 balık kullanıldı. Araştırma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'nca onaylandı (Protokol No: 2018/42).

Polen enjeksiyonundan sonraki 3., 7. ve 10. günlerde her bir tekrardan 10 balık alınarak 25 mg/L konsantrasyonundaki benzokain (25 mg/L) yardımıyla anestezi edildi. Balıkların kanları kavdal pedünkül bölgesinden ensize edilmesinden sonra kavdal venasından alınarak EDTA içeren antikoagülanlı tüplere dolduruldu. Kan örneklerinde hemoglobin (Hb) düzeyi Drabkin (1946) tarafından bildirilen yöntemle belirlendi.

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıklarının incelenen parametrelerinde oluşan değişimler 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 makroskobik olarak muayene edilen balıklarda herhangi bir olumsuz bulguyla karşılaşılmadı.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında PBS ile polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarının hemoglobin düzeyinde zamana bağlı olarak oluşan değişimler Tablo 1’de gösterilmiştir.

P-1 ve P-10 gruplarında hemoglobin 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 hemoglobin düzeyinin 3., 7. ve 10. günlerde birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi ($p < 0,05$).

PBS grubundaki hemoglobin düzeyinin denemenin 3., 7. ve 10. günlerinde kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ($p > 0,05$).

P-1 grubunda 3., 7. ve 10. gündeki hemoglobin düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$).

Benzer şekilde P-10 grubunda da 3., 7. ve 10. gündeki hemoglobin düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarında hemoglobin (Hb) düzeyi (g/dl).

Günler	Deneme Grupları			
	K	PBS	P-1	P-10
3. gün	7,34 \pm 0,45 a, A	7,32 \pm 0,60 a, A	9,28 \pm 0,52 b, A	10,55 \pm 0,66 c, A
7. gün	7,28 \pm 0,52 a, A	7,35 \pm 0,53 a, A	9,31 \pm 0,80 b, A	10,69 \pm 0,87 c, A
10. gün	7,37 \pm 0,39 a, A	7,33 \pm 0,49 a, A	9,35 \pm 0,59 b, A	10,48 \pm 0,70 c, A

^{a,b,c,d} Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

^{A,B,C} 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.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Balıklarda eritrosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin düzeyi ile eritrosit indeksleri (MCV, MCH ve MCHC) gibi hematolojik parametrelerdeki değişimler balık sağlığı için genel bir gösterge olarak kabul edilmekte ve bu parametreler balık sağlığı hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Ayrıca kan parametrelerindeki değişimler normal ve patolojik süreçlerin iyi anlaşılabilmesi hakkında da ipuçları vermektedir (Li vd., 2011; Dotta vd., 2014). Arılarından elde edilen ürünlerin balıklarda bazı hematolojik değerlere etkisini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır. Örneğin Selamoğlu Talas ve Gulhan (2009), güçlü bir antioksidan olan propolisin 0,01 g/L, 0,02 g/L ve 0,03 g/L konsantrasyonlarında uygulandığı

alabalıklarda hemogloblin düzeyinin düştüğünü saptamışlardır. Yonar ve Silici (2010), ise bu sonucun aksine 5 ve 10 g/kg yem dozunda uygulanan propolisin gökkuşağı alabalıklarında hemogloblin seviyesinde önemli herhangi bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. El-Asely vd. (2014), sırasıyla % 1, % 2,5 ve % 4 oranında polen içeren yemlerin uygulandığı tilapia (*Oreochromis niloticus*)' larda hematokrit düzeyinin denemenin 10., 20. ve 30. günlerinde istatistiksel olarak önemli oranda arttığını gözlemlemişlerdir. Tilapiaların hematokrit düzeyinde belirlenen bu artış % 1, 2 ve 4 oranında ve 21 gün süreyle polen içeren yemlerin oral yolla verildiği alabalıklarda da saptanmıştır (Yöntürk, 2018). Talas ve Gulhan (2013), farklı konsantrasyonlarda (0.5, 2.5, 5, 10, 20 ve 30 ppm) 96 saat süreyle uygulanan polenin alabalıklarda hemogloblin düzeyini kontrol grubuna göre arttırdığını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da kontrol ve PBS grubuna göre polen enjekte edilen P-1 ve P-10 gruplarında hemogloblin düzeylerinin istatistiksel olarak farklılık gösterdiği, yine yalnız polenin uygulandığı P-1 ve P-10 grupları karşılaştırıldığında da gruplar arasında istatistiksel bir farklılığın bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, sazanlarda hemogloblin düzeyi polen enjeksiyonuyla olumlu yönde etkilenmiştir. Bu veriler polenin balıklara immunostimulan olarak uygulanabileceğini göstermiştir. Ayrıca deneme sonuna kadar enjeksiyonla polen verilen balıklarda herhangi bir ölüm olayının gerçekleşmemiş olması bu maddenin güvenle kullanılabilceğini göstermiştir. Fakat başka balık türlerinde farklı doz ve sürelerde ve farklı yöntemlerle polen uygulamasının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma; Erkan KOLGAR'ın yüksek lisans tez çalışmasının bir kısmından özetlenmiş olup, SÜF.18.05 numaralı proje olarak Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir. Polen örneklerinin palinolojik identifikasyonu için Prof. Dr. Sibel SİLİCİ'ye teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar, bu makale ile ilgili başka kişi veya kurumlar ile çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abbass, A. A., El-Asely, A. M., & Kandiel, M. M. M. (2012). Effects of dietary propolis and pollen on growth performance, fecundity and some hematological parameters of *Oreochromis niloticus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 851-859.
- Çankaya, N., & Korkmaz, A., 2008. Polen. *Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını*.
- Dotta, G., Andrade, J. I. A., Gonçalves, E. L. T., Brum, A., Mattos, J. J., Maraschin, M. ... & Martins, M. L. (2014). Leukocyte phagocytosis and lysozyme activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 39, 280-284.
- 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.
- El-Asely, A. M., Abbass, A. A., & Austin, B. (2014). Honey bee pollen improves growth, immunity and protection of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against infection with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 40, 500-506.
- Eraslan, G., Kanbur, & M., Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 86-91.

- Li, Z. H., Velisek, J., Grabic, R., Li, P., Kolarova, J., & Randak, T. (2011). Use of hematological and plasma biochemical parameters to assess the chronic effects of a fungicide propiconazole on a freshwater teleost. *Chemosphere*, 83, 572-578.
- Sağlam, N., & Yonar, M. E. (2009). Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Aquaculture Research*, 40, 395-404.
- Selamoglu Talas, Z., & Gulhan, M. F. (2009). Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1994-1998.
- Talas, Z. S., & Gulhan, M. F. (2013). Effects of various pollen concentrations on some biochemical and hematological parameters and paraoxanase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(4), 928-938.
- Yang, X., Guo, D., Zhang, J., & Wu, M. (2007). Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. *International Immunopharmacology*, 7(3), 401-408.
- Yonar, M. E., Mişe Yonar, S., İspir, Ü., & Ural, M. Ş. (2019). Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*. *Fish & Shellfish Immunology*, 89, 83-90.
- Yonar, M. E., & Silici, S., 2010. Gökkuşığı alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792)'nın bazı kan parametrelerine propolisin etkisinin araştırılması. *e-Journal of New World Sciences Academy*, 5(3), 231-240.
- Yöntürk, Y., 2018. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W.)'nda arı poleninini antioksidan ve immunostimulan etkisinin araştırılması [Yayınlanmamış yüksek lisans tezi], Fırat Üniversitesi.