

Yemlere propolis ilavesinin çipura (*Sparus aurata* L. 1758)'nın yağ asidi profili ve kan parametreleri üzerine etkisi

The influence of the dietary propolis on the fatty acid profile and the hematological parameters of seabream (*Sparus aurata* L. 1758)

Çağlayan Kaplan¹ • Mete Erdoğan² • Fatime Erdoğan^{3*} • Özgür Aktaş⁴ • Faruk Pak⁵

¹ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü 48600, Muğla

² Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ortaca Meslek Yüksekokulu 48600, Muğla

³ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ortaca Meslek Yüksekokulu 48600, Muğla

⁴ Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Kepez, Antalya

⁵ Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Kepez, Antalya

<https://orcid.org/0000-0002-3932-2619>

<https://orcid.org/0000-0002-2009-6586>

<https://orcid.org/0000-0002-4376-4372>

<https://orcid.org/0000-0002-3175-2251>

<https://orcid.org/0000-0003-4191-6173>

*Corresponding author: ferdogan95@hotmail.com

Received date: 19.05.2021

Accepted date: 21.09.2021

How to cite this paper:

Kaplan, Ç., Erdoğan, M., Erdoğan, F., Aktaş, Ö., & Pak, F. (2022). The influence of the dietary propolis on the fatty acid profile and the hematological parameters of seabream (*Sparus aurata* L. 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39(2), 151-159. DOI: [10.12714/egejfas.39.2.09](https://doi.org/10.12714/egejfas.39.2.09)

Öz: Bu çalışma, çipura (*Sparus aurata*) diyetlerinde yem katkı maddesi olarak artan oranlarda propolis ilavesinin hematolojik parametreler ve balık eti yağ asitleri profili üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Ortalama 12,04±0,01 g ağırlığındaki çipuralar, 10 hafta boyunca 0 (kontrol), 1,25, 2,5, 5, 10, 20 g/kg propolis (kısaca P1.25; P2.5; P5; P10 ve P20) ilaveli diyetlerle beslenmiştir. Deneme, 400 L'lik 18 polyester tanka 50'şer balık eklenerek üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Deneme grupları %45 protein, %17 yağ içeren yemle günde iki kez (09:00 ve 17:00) doyana kadar elle beslenmiştir. Propolis takviyesi, balık eti doymuş yağ asitleri (SFA) ve tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) üzerine herhangi bir etki etmemiştir, bununla birlikte 10 g/kg propolis ilavesinden itibaren çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içerikleri önemli düzeyde artmıştır. Dolayısı ile yemlere propolis ilavesi, balık eti toplam yağ asidi kompozisyonunu etkilemiştir (p <0,05). Sonuç olarak, propolis takviyesi, çipura eti yağ asidi kompozisyonunun kalitesini iyileştirmiştir. Denemenin sonunda balıklardan alınan kan örneklerinde RBC (kırmızı kan hücrelerindeki eritrosit sayısı), HGB (kanda bulunan hemoglobin sayısı) ve HCT (kanda bulunan eritrosit ve hemoglobin sayısı) gibi hematolojik parametreler P20 grubunda diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Deneme grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p >0,05). Yemlerine propolis ilavesi çipura yavrularının hematolojik parametreleri üzerine herhangi bir etki etmemiştir. Elde edilen sonuçlar propolisin, çipura yemlerinde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Sparus aurata*, propolis, besin bileşenleri, yağ asidi profili, hematolojik parametreler

Abstract: This study was carried out to investigate the effects of increasing levels of propolis addition as a feed additive in seabream (*Sparus aurata*) diets on the hematological parameters and the fish fatty acids profile. Seabream with an average weight of 12.04 ± 0.01 g were fed 0 (control), by 1.25, 2.5, 5, 10, 20 g/kg (abbreviated with P1.25; P2.5; P5; P10 and P20 respectively) propolis supplemented diets for 10 weeks. The experiment was conducted in three replications by adding 50 fish to 18 polyester tanks of 400 L. The trial groups were fed twice daily (09:00 and 17:00) by hand to satiation with feed containing 45% protein and 17% lipid. Although the propolis supplementation had no effect on seabream saturated fatty acids (SFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA), the polyunsaturated fatty acid (PUFA) contents increased significantly after the addition of 10 g/kg propolis. Therefore, the addition of the propolis to feeds significantly affected the total fatty acid composition of fish (p <0.05). As a result, the propolis supplement improved the quality of seabream fatty acid composition. At the end of the experiment, hematological parameters such as RBC (erythrocyte count in red blood cells), HGB (hemoglobin count in blood) and HCT (erythrocyte and hemoglobin count in blood) in blood samples taken from fish were found to be higher in P20 group than the other groups. There was no significant difference between the experimental groups (p > 0.05). The addition of the propolis to their feed did not have any effect on the hematological parameters of seabream. The results obtained showed that the propolis has the potential to use in seabream feeds.

Keywords: *Sparus aurata*, propolis, proximate composition, fatty acid profile, hematological parameters

GİRİŞ

Kültür balığı işletmelerinde yüksek stok yoğunluğunda yetiştiricilik yapılmaktadır. Balıkların, yetiştirildiği koşullarla bağlantılı olarak çeşitli akut ve kronik stres etkenlerine maruz kaldığı bilinmektedir. Bu durum çoğunlukla büyümede azalma, bağışıklık sisteminin baskılanması, çeşitli patojenlere karşı hassasiyetin artmasına neden olarak hem balık fizyolojisini hem de davranışlarını ters etkilemektedir (Segvic-Bubic vd.,

2013). Son yıllarda arı ürünlerinin (polen, arı sütü ve propolis) sayısız işlevsel, biyolojik ve farmasötik yararlı etkileri nedeniyle araştırılmasına yeniden ilgi duyulmuştur (Seven vd., 2014). Propolis, bitkilerin farklı kısımlarından reçine toplanması sonucu ortaya çıkan ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir arı ürünüdür (de la Cruz-Cervantes vd., 2018; Touzani vd., 2018; Farag vd., 2021). Propolis'te bulunan ana kimyasal

sınıflar flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik bileşiklerdir. Bununla birlikte, propolis birçok B kompleksi vitamini, önemli mineralleri ve eser elementleri içerir. Gerek kanatlı hayvanlar gerekse balıklarda propolisin büyüme destekleyici ve immunostimulant olarak etkileri belirlenmiştir (Soltani vd., 2017; Keleştemur ve Seven 2013; Şegvić-Bubić vd., 2013; Bae vd., 2012; Meurer vd., 2009; Seven vd., 2008; Cuesta vd., 2005). Ayrıca arı ürünlerinin serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunu önleyen bir antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Seven vd., 2014). Propolisin içeriğinde bulunan tüm bileşikler önemli biyolojik aktivitelere sahiptir. Kafeik asit, ferulik asit ve kafeik asit fenil ester gibi antioksidan bileşikler bunlardan birkaçıdır (Ahn vd., 2007). İlâveten gliserol eter propoliste en yaygın bulunan eter lipidlerindendir ve hücre kültürlerinde oksidatif strese karşı bazı koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bu antioksidan aktivite çeşitli reaktif oksijen türleri tarafından hedeflenen enol eter çift bağından gelir (Soltani vd., 2017). Bu özellikler dikkate alınarak yürütülen çalışmalarda yemlere propolis ilavesinin kanatlı ve memelilerde kas dokusu ve yağ asidi profilini, özellikle PUFA kalitesini arttırabileceği belirtilmiştir (Arslan ve Seven, 2017; da Silva vd., 2019; İtavo vd., 2019; Seven vd., 2014) ancak bu konuda balıklarla ilgili herhangi bir çalışma tespit edilememiştir.

Diğer yandan eksojen ajanların eritrosit sayısı, HGB miktarı, hematokrit değeri ve toplam lökositler gibi hematolojik parametreleri değiştirebileceği belirtilmektedir (Talas ve Gülhan, 2009). Propolisin canlı organizmalar üzerindeki etkilerini anlamak için, fizyolojik, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin incelenebileceği bildirilmektedir (Talas ve Gülhan 2009). Çeşitli çalışmalarda gösterildiği gibi, propolis antimikrobiyal, anti-inflamatory, antioksidan, antifungal, antiprotozoan ve antiviral ajanlar gibi birkaç biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir (Bankova vd., 2000). Bu özellikler göz önüne alındığında diyetlere eklenmesi onu tüketen canlı için yararlı olabilir, ancak normal diyet içinde gerekenden daha yüksek miktarlara maruz kaldıklarında propolisin insanlara ve hayvanlara zarar verebileceği düşünülmektedir. (Talas ve Gülhan 2009). Son yıllarda birkaç balık türünde propolisin biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine etkileri konusunda yürütülmüş çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Hassaan vd., 2019; Acar 2018; Dotta vd., 2015; Keleştemur vd., 2012; Talas ve Gülhan, 2009; Yonar ve Silici, 2010). Tüm bu veriler gözönünde bulundurulduğunda, bu çalışmada çipura yemlerine farklı oranlarda propolis ilavesinin balık kas dokusu yağ asitleri profili ve hematolojik parametreler üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Deneme düzeni ve balıklar

Çalışma Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Beymelek Araştırma (AKSAM) biriminde yürütülmüştür. Deneme balıkları AKSAM kuluçkahane biriminden temin edilmiştir. Deneme başlamadan önce balıklar 2 hafta boyunca 400 L'lik tanklarda karantinaya alınarak adaptasyona bırakılmıştır. Adaptasyon sürecinde %45 ham protein içeren ticari yemle beslenmiştir. Deneme ünitesinin bulunduğu ortamda otomatik zamanlayıcılar kullanılarak 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot rejimi uygulanmıştır. Denemede ortalama sıcaklığı $28,61 \pm 0,12$ °C, çözünmüş oksijen konsantrasyonu $7,09 \pm 0,18$ mg/L, pH'si $7,66 \pm 0,01$, tuzluluğu $\%38,98 \pm 0,03$ olan filtre edilmiş deniz suyu kullanılmıştır. Su sıcaklığının ölçümü dijital termometrelerle, pH WTW 315i pH metre ile, oksijen WTW 315i oksijen ölçer ile yapılmıştır. Su kalitesi parametreleri günlük olarak izlenmiştir.

10 haftalık denemede 18 adet 400 litrelik polyester deneme tankları kullanılmıştır. Denemenin başında ve her 30 günlük periyotta 0,2 ml/L dozundaki (Fazio vd., 2013) fenoksiethanol ile bayıltılan balıkların tartımları ve ölçümleri yapılmıştır. Araştırma Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: B.30.2. AKD.0.05.07.00/58). Ortalama canlı ağırlığı $12,04 \pm 0,01$ g, ortalama uzunluğu $9,37 \pm 0,02$ cm olan toplam 900 adet çipura tesadüf parselleri deneme planına göre, her tanka 50 adet olacak şekilde 3 tekerrürlü 6 grup halinde stoklanmıştır. Deneme süresince, çipura yavruları 09:00-17:00 saatlerinde propolis ilaveli yemlerle doyana kadar elle beslenmiştir.

Yem materyali

Ticari çipura yemine artan oranlarda propolis ilavesi ile elde edilen deneme yemlerinin besin madde içeriği ve yağ asidi profili analizleri Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Kepez Yerleşkesi laboratuvarlarında yapılmıştır, sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Çamlı Yem Besicilik Sanayii ve Ticaret A.Ş.'den temin edilen çipura yemi yem kırma makinesiyle toz haline getirilmiştir. Toz propolis ekstraktı, sırasıyla 1,25, 2,5, 5, 10 ve 20 g/ kg toz yeme eklenmiştir. Kontrol grubu yemlerine propolis ilave edilmemiştir. Eklenen toz propolis ekstraktı Karmas LEO-6 Batch mixer (0,15 kW) yem karıştırıcıyla homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra, 1/3 oranında su eklenerek hamur kıvamına getirilmiş, yem makinesi ile tekrar 2 ve 3 mm yemlere dönüştürülmüştür. Yemler oda sıcaklığında 24 saat kurutulduktan sonra kullanıncaya kadar 4 °C' de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1. Deneme yemlerinin besin bileşimi (% kuru ağırlık) ve yağ asidi profili
Table 1. The proximate composition (dry weight %) and the fatty acid profile of the experimental diets

	Deneme yemleri					
	Kontrol	P1,25	P2,5	P5	P10	P20
Kuru madde (%)	90,28	90,10	90,36	90,47	90,46	90,43
Ham protein (%)	45,51	45,31	45,23	45,18	45,24	45,12
Ham yağ (%)	17,13	17,12	17,13	17,15	17,18	17,24
Ham kül (%)	9,93	9,99	10,03	10,01	10,04	10,11
Ham selüloz (%)	2,95	2,94	2,94	2,95	2,97	2,98
Azotsuz öz madde (%)	24,48	24,65	24,66	24,71	24,58	24,56
Yağ asitleri						
C14:0	2,62±0,04	2,59±0,06	2,58±0,04	2,59±0,04	2,60±0,08	2,65±0,05
C15:0	0,26±0,02	0,26±0,01	0,25±0,03	0,26±0,01	0,25±0,02	0,27±0,02
C16:0	12,83±0,08	12,85±0,07	12,87±0,06	12,90±0,08	12,99±0,07	13,13±0,04
C17:0	0,27±0,01	0,28±0,01	0,30±0,01	0,32±0,01	0,33±0,01	0,35±0,01
C18:0	12,80±1,48	12,98±1,48	13,34±1,29	14,52±0,48	14,80±0,94	15,67±0,51
C20:0	0,57±0,02	0,55±0,02	0,54±0,02	0,53±0,02	0,60±0,02	0,61±0,04
C22:0	0,22±0,00	0,20±0,01	0,23±0,03	0,23±0,02	0,24±0,02	0,27±0,03
ΣSFA	29,55±1,37	29,67±1,29	30,09±1,16	31,34±0,36	31,79±0,79	32,96±0,46
C16:1	2,64±0,06	2,62±0,05	2,65±0,06	2,65±0,05	2,69±0,06	2,70±0,03
C17:1	0,09±0,01	0,10±0,02	0,08±0,01	0,10±0,01	0,11±0,01	0,13±0,02
C18:1n9	30,50±0,42	31,02±0,06	30,89±0,30	30,87±0,08	31,08±0,09	31,09±0,12
C20:1	0,15±0,01	0,14±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01	0,18±0,01	0,18±0,01
C22:1n9	0,37±0,01	0,37±0,01	0,35±0,02	0,38±0,02	0,39±0,01	0,41±0,02
C24:1	0,38±0,01	0,38±0,01	0,37±0,02	0,37±0,02	0,41±0,01	0,41±0,01
ΣMUFA	34,11±0,50	34,62±0,30	34,50±0,12	34,52±0,08	34,83±0,04	34,90±0,12
C18:2n6	11,63±0,19	11,64±0,30	11,76±0,17	11,67±0,16	11,70±0,25	11,73±0,25
C18:3n3	3,61±0,11	3,63±0,10	3,61±0,05	3,62±0,10	3,68±0,10	3,70±0,11
C18:4n3	1,01±0,03	0,98±0,02	1,01±0,01	1,02±0,02	1,02±0,02	1,07±0,02
C20:2n6	0,66±0,01	0,66±0,03	0,63±0,04	0,69±0,02	0,70±0,03	0,74±0,04
C22:2n6	0,06±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01	0,08±0,02	0,04±0,01	0,08±0,02
C20:5n3	4,12±0,07	4,15±0,09	4,08±0,07	4,17±0,03	4,08±0,03	4,12±0,03
C22:4n6	0,19±0,01	0,15±0,01	0,17±0,01	0,21±0,01	0,23±0,01	0,25±0,01
C22:5n3	1,11±0,04	1,07±0,03	1,10±0,04	1,09±0,01	1,09±0,03	1,14±0,03
C22:6n3	5,41±0,06	5,36±0,06	5,37±0,05	5,38±0,05	5,39±0,02	5,42±0,02
ΣPUFA	27,77±0,51	27,68±0,59	27,76±0,51	27,89±0,31	27,94±0,37	28,22±0,15
TOPLAM	91,43±0,36	92,28±0,34	92,37±0,28	93,27±0,66	94,70±0,23	94,59±0,97
PUFA/SFA	0,94±0,06	0,94±0,01	0,93±0,06	0,89±0,02	0,88±0,04	0,86±0,02
Σn6	12,53±0,21	12,50±0,37	12,55±0,20	12,54±0,21	12,54±0,21	12,55±0,20
Σn3	15,25±0,30	15,18±0,32	15,15±0,25	15,26±0,13	15,29±0,19	15,44±0,01
n6/n3	0,82±0,00	0,83±0,01	0,83±0,00	0,82±0,01	0,82±0,01	0,82±0,02
DHA/EPA	1,31±0,01	1,29±0,01	1,32±0,02	1,29±0,01	1,33±0,01	1,32±0,01
Diğerleri	8,57±0,36	8,03±0,57	7,65±0,53	6,25±0,02	5,44±0,46	3,92±0,34

Propolis

Toz propolis ekstraktı Antalya-Yavuzbal firmasından temin edilmiştir. Denemede kullanılan propolis Antalya çevresindeki kovanlardan toplanmıştır. Denemede kullanılan propolisin besin bileşenleri ve yağ asidi profili analizi Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Kepez Yerleşkesi laboratuvarlarında yapılmıştır, sonuçlar **Tablo 2'** de verilmiştir.

Tablo 2. Propolisin besin bileşimi (% kuru ağırlık) ve yağ asidi profili
Table 2. The proximate composition (dry weight %) and the fatty acid profile of the propolis

Parametreler	Propolis (%)
Nem	10,18±0,11
Ham protein	3,40±0,04
Ham yağ	18,80±0,19
Ham kül	15,38±0,13
Azotsuz öz madde	62,41±0,33
Yağ Asitleri	
C16:0	7,52±0,08
C17:0	0,24±0,03
C18:0	76,55±1,74
ΣSFA	84,31±1,12
C18:1n9	4,11±0,07
C22:1n9	0,43±0,03
ΣMUFA	4,54±0,29
C18:2n6 (LA)	0,64±0,03
C18:3n (LNA)	0,54±0,03
C20:5n3 (EPA)	0,32±0,02
ΣPUFA	1,50±0,04
TOPLAM	90,35±1,41
PUFA/SFA	0,02±0,01
Σn6	0,64±0,03
Σn3	0,86±0,01
n6/n3	0,74±0,03
DHA/EPA	0,00±0,00
Diğerleri	9,65±1,41

Kimyasal analiz yöntemleri

Deneme sonunda her tanktan 5 balık alınarak 400 ppm (Fazio vd., 2013) fenoksiethanol uygulanmış, öldürülen balıklar tüm vücut besin kompozisyonu ve yağ asidi analizleri için -20 °C'de analize kadar muhafaza edilmiştir.

Denemede kullanılan balık yemi ve balık eti besin kompozisyonu AOAC (2000)'e göre belirlenmiştir. Yem ve balık numuneleri, kuru maddeyi belirlemek için 105 °C'de 24 saat fırında kurutulmuştur. Yaklaşık 2 g civarında tartılan örnek, daha önceden kül fırınında yakılmış desikatörde soğutulmuş krozelere koyulduktan sonra 600 °C'de 2 saat yakılmıştır. Daha sonra desikatöre alınarak, oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Ham protein miktarı (NX6,25) Dumas metodu kullanılarak Dumas Azot Analiz cihazı (Velp NDA 701-Monza,

Brianza-İtalya) ile tespit edilmiştir. Ham yağ analizi için yaklaşık 1 g kurutulmuş örnek tartılıp, XT4 filter bag içerisine koyulmuş ve ağzı yapıştırılmıştır. 3 saat 105 °C'ye ayarlanmış etüvde bekletilmiştir. Daha sonra tartım alınmıştır. Filter bag'ler yağ tayin cihazına yerleştirilmiştir (ANKOM XT15) ve dietil eterle 30 dakika ekstraksiyona devam edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi bitince 30 dakika 105 °C'ye ayarlanmış etüvde bekletilmiş ve tekrar tartım alınmıştır. Tartımlar arası farktan ham yağ miktarı hesaplanmıştır.

Yağ asitleri analizi

Yağ ekstraksiyon işlemi Bligh ve Dyer (1959) metoduna göre yapılmıştır. Yağ asitleri metil esterleri, Ichihara vd., (1996) tarafından tanımlanmış metoda göre n-hexane ve metanol içerisinde 2 M KOH kullanılarak transmetilasyon ile hazırlanmıştır. Ekstrakte edilmiş 10 mg'lık yağ örneği üzerine 4 ml, 2 M'lık KOH ve 2 ml n-hekzan ilave edilmiştir. Ardından, oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırılmış ve 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş sonra hekzan tabakası GC'de analiz için alınmıştır.

Yağ asitleri analizi bir adet alev iyon detektörü ve silika kılcal kolon (30 mx 0,32 mm, ID x 0,25 µm film) ile donatılmış Thermo Focus GC cihazında yapılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırası ile 220 °C ve 280 °C'ye ayarlanmıştır. Bu esnada fırın sıcaklığı 5 dakika 140 °C'de tutulmuştur. Sonrasında her dakikada 4 °C artırılarak 200 °C'ye, 200 °C'den 220 °C'ye de her dakika 1 °C artırılarak getirilmiştir. Numune ölçüsü 5 µl ve taşıyıcı gaz da 16 ps'de kontrol edilmiştir. Ayıraç 1:40 oranında kullanılmıştır. Yağ asitleri FAME karışımının (SUPELCO) gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Sonuçlar % alan olarak ifade edilmiştir.

Deneme balıklarından kan örneği alınması

Örnek toplama ve analiz

Deneme sonunda, balıklar 24 saat aç bırakılmış ve her bir tanktan rastgele 5 balık örneği alınmıştır. 0,3 ml/L'lik bir dozda 2-fenoksietanol ile anestezi yapıldıktan sonra (Fazio vd., 2013), heparinize tek kullanımlık şırıngalar kullanılarak kaudal venden kanları alınmıştır. Kan örnekleri antikoagülan ajan olarak EDTA (1,26 mg / 0,6 ml) içeren mikro tüplere (Miniplast 0,6 ml, LP Italiana Spa, Milano) ayrılmış ve hematolojik oto analizör (MS4, Melet Scholoesing laboratories, Pontoise, Cedex – Fransa) ile analiz edilmiştir. Balıkların kuyruk bölgesinden alınan kan örnekleri analizlerinde hemogram için; beyaz kan hücrelerinde bulunan lökositlerin sayısı (WBC), kırmızı kan hücrelerindeki eritrosit sayısı (RBC), kanda bulunan hemoglobin sayısı (HGB), kanda bulunan eritrosit ve hemoglobin sayısı (HCT), eritrositlerin sahip olduğu ortalama büyüklük (MCV), eritrositlerde bulunan hemoglobin sayısı (MCH), ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ve platelets trombosit (PLT) değerleri belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler

Denemede elde edilen verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) ve grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS 14,0 paket programlarından yararlanılmış, istatistiki karşılaştırmalarda $p < 0,05$ önem seviyesi seçilmiştir.

BULGULAR

Vücut kompozisyonu ve yağ asidi profili

Çalışma sonunda çipura balık eti besin kompozisyonu incelendiğinde, 10 g/kg propolis ilavesi protein oranını arttırırken kül oranını düşürmüştü, kuru madde ve yağ oranları üzerine etki etmemiştir (Tablo 3).

Propolis ilaveli yemlerle beslenen çipura balık eti doymuş yağ asitleri (SFA) ve tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir, bununla birlikte Tablo 4.'de görüldüğü gibi 10 g/kg ve üzeri propolis ilavesi çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) ve toplam yağ asidi içeriklerini önemli düzeyde arttırmıştır ($p < 0,05$).

Hematolojik profil

Deneme sonunda balıklardan alınan kan örnekleri incelendiğinde WBC, RBC, HGB, HCT değerlerinin en yüksek P20 grubunda olduğu, gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$), MCV, MCH, MCHC, PLT değerleri için de gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 3. Artan oranlarda propolis ilaveli yemlerle beslenen çipura *S. aurata* 'nın vücut kompozisyonu

Table 3. The proximate composition (wet weight %) of the whole body of the seabream *S. aurata* fed diets with the increasing level of the propolis in the feed

	Kontrol	P1,25	P2,5	P5	P10	P20
Kuru madde	37,57 ± 1,49	37,18 ± 0,68	37,74 ± 0,48	36,47 ± 0,87	37,99 ± 1,17	38,21 ± 0,90
Ham protein	16,66 ± 0,59 ^{ab}	16,87 ± 0,57 ^{ab}	15,82 ± 0,66 ^b	17,86 ± 0,42 ^{ab}	19,09 ± 1,55 ^a	17,54 ± 0,77 ^{ab}
Ham yağ	17,41 ± 1,65	16,32 ± 0,51	15,79 ± 0,38	14,47 ± 0,60	16,62 ± 0,96	16,58 ± 0,66
Ham kül	3,98 ± 0,10 ^{ab}	4,08 ± 0,09 ^{ab}	3,90 ± 0,07 ^{ab}	4,20 ± 0,21 ^a	3,74 ± 0,07 ^b	3,86 ± 0,09 ^{ab}

Her bir parametre için (n=5) ortalama değerler ve standart hata (\pm SH) gösterilmiştir. Aynı satırda farklı küçük harf olan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$).

Tablo 4. Artan oranlarda propolis ilaveli yemlerle beslenen çipura *S. aurata*'nın yağ asidi profili

Table 4. The fatty acid profile of the seabream *S. aurata* fed with the increasing levels of the propolis in the feed

Yağ asitleri	Kontrol	P1,25	P2,50	P5,0	P10	P20
C14:0	1,83±0,23	2,21±0,11	2,06±0,17	1,97±0,07	1,98±0,15	2,12±0,08
C15:0	0,23±0,01	0,25±0,01	0,23±0,02	0,23±0,01	0,24±0,01	0,27±0,01
C16:0	16,53±0,87	15,88±0,32	16,23±0,70	16,45±0,40	16,63±0,51	15,53±0,19
C17:0	0,21±0,02	0,20±0,00	0,19±0,01	0,19±0,00	0,19±0,00	0,19±0,01
C18:0	13,19±2,19	7,25±1,29	10,69±2,93	11,22±1,76	11,95±2,83	9,15±1,34
C20:0	0,38±0,01	0,33±0,02	0,37±0,02	0,37±0,03	0,36±0,02	0,37±0,01
C22:0	0,36±0,02 ^{ab}	0,33±0,01 ^{abc}	0,32±0,01 ^{bc}	0,38±0,02 ^a	0,35±0,02 ^{abc}	0,30±0,01 ^c
Σ SFA	32,73±2,87	26,45±1,48	30,09±3,46	30,81±1,93	31,69±3,18	27,93±1,46
C16:1	2,80±0,25	3,44±0,17	3,10±0,33	3,07±0,16	3,05±0,32	3,42±0,14
C17:1	0,14±0,03	0,19±0,02	0,17±0,03	0,17±0,02	0,16±0,01	0,17±0,02
C18:1n9	30,14±2,34	34,46±1,29	31,78±2,25	31,23±1,41	29,93±2,19	32,37±0,82
C20:1	0,17±0,01	0,19±0,01	0,19±0,02	0,17±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01
C22:1n9	0,63±0,10	0,50±0,07	0,52±0,08	0,58±0,06	0,57±0,04	0,54±0,04
C24:1	0,29±0,03 ^{ab}	0,41±0,04 ^a	0,35±0,05 ^{ab}	0,35±0,02 ^{ab}	0,27±0,05 ^b	0,37±0,03 ^{ab}
Σ MUFA	34,18±2,55	39,19±1,38	36,10±2,86	35,57±1,54	34,15±2,58	37,05±0,94

Tablo 4. Devamı
Table 4. Continued

Yağ asitleri	Kontrol	P1,25	P2,50	P5,0	P10	P20
C18:2n6	10,66±0,89 ^b	11,73±0,35 ^{ab}	11,54±0,77 ^{ab}	12,13±0,52 ^{ab}	11,30±0,84 ^{ab}	13,08±0,34 ^a
C18:3n3	2,61±0,40 ^b	3,10±0,20 ^{ab}	2,83±0,33 ^{ab}	2,65±0,23 ^{ab}	3,93±0,92 ^{ab}	4,29±0,47 ^a
C18:4n3	0,55±0,07	0,69±0,05	0,61±0,10	0,60±0,07	0,61±0,07	0,63±0,03
C20:2n6	0,67±0,04	0,79±0,10	0,66±0,03	0,67±0,01	0,66±0,03	0,69±0,02
C22:2n6	0,06±0,02 ^b	0,09±0,01 ^{ab}	0,08±0,01 ^{ab}	0,08±0,01 ^{ab}	0,07±0,01 ^{ab}	0,10±0,01 ^a
C20:5n3	3,09±0,21	2,75±0,21	2,78±0,17	2,83±0,12	3,32±0,18	2,91±0,01
C22:4n6	0,23±0,02	0,22±0,02	0,20±0,00	0,21±0,02	0,24±0,01	0,23±0,01
C22:5n3	1,59±0,04	1,62±0,04	1,54±0,06	1,58±0,01	1,65±0,03	1,63±0,02
C22:6n3	7,32±0,99	5,65±0,72	5,94±0,75	6,13±0,52	7,10±0,82	6,05±0,33
ΣPUFA	26,77±0,23^b	26,64±0,26^b	26,18±0,46^b	26,89±0,91^b	28,86±0,76^a	29,62±0,23^a
TOPLAM	93,69±0,15^{ab}	92,28±0,34^b	92,37±0,28^b	93,27±0,66^{ab}	94,70±0,23^a	94,59±0,97^a
PUFA/SFA	0,83±0,09	1,01±0,05	0,90±0,11	0,88±0,07	0,93±0,11	1,06±0,04
Σn6	11,61±0,92 ^b	12,84±0,40 ^{ab}	12,48±0,81 ^{ab}	13,09±0,55 ^{ab}	12,27±0,86 ^{ab}	14,10±0,36 ^a
Σn3	15,16±0,69 ^{ab}	13,80±0,63 ^b	13,70±0,50 ^b	13,80±0,46 ^b	16,00±0,34 ^a	15,51±0,85 ^{ab}
n6/n3	0,77±0,10	0,94±0,07	0,92±0,09	0,95±0,03	0,74±0,06	0,92±0,08
DHA/EPA	2,35±0,17	2,04±0,11	2,12±0,14	2,16±0,11	2,13±0,13	2,08±0,04
Diğerleri	6,31±0,15 ^{ab}	7,72±0,34 ^a	7,63±0,28 ^a	6,73±0,66 ^{ab}	5,30±0,23 ^b	5,41±0,97 ^b

Her bir parametre için (n=5) ortalama değerler ve standart hata (±SH) gösterilmiştir. Aynı satırda farklı küçük harf olan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (p < 0,05).

Tablo 5. Artan oranlarda propolis ilaveli yemlerle beslenen çipura *S. aurata*'nın hematolojik parametreleri
Table 5. The hematological parameters of the seabream *S. aurata* fed with the increasing levels of the propolis in the feed

	Kontrol	P1,25	P2,5	P5	P10	P20
WBC (x10 ⁹ L ⁻¹)	201,90±11,64	173,17±39,21	182,80±14,35	200,27±10,13	190,93±25,61	225,40±9,81
RBC (x10 ¹² L ⁻¹)	3,33±0,46	3,16±0,96	3,05±0,33	3,29±0,26	3,32±0,50	4,23±0,49
HGB (g dL ⁻¹)	11,03±1,15	10,47±2,99	10,13±0,96	11,03±0,80	10,73±1,48	12,50±1,65
HCT (%)	51,37±7,92	45,57±9,99	44,30±7,25	54,07±6,08	49,37±11,07	63,50±7,60
MCV (fL)	153,83±5,22	151,67±12,54	145,00±15,47	163,57±5,45	145,40±14,33	150,30±8,58
MCH (pg)	33,37±1,13	33,47±0,67	33,23±0,74	33,50±0,29	32,50±0,92	29,43±1,32
MCHC (g dL ⁻¹)	21,77±1,07	22,33±1,64	23,50±2,46	20,53±0,78	22,83±2,59	19,80±1,94
PLT (x10 ⁹ L ⁻¹)	71,67±13,22	68,67,67±12,17	66,00±6,66	67,00±5,03	55,67±5,17	70,00±7,37

Her bir parametre için (n=5) ortalama değerler ve standart hata (±SH) gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Yetiştiricilik ortamında stres koşulları altında, adrenal glukokortikoidler kültüre alınan hayvanda kortikal bölgeden salınır. Bu hormonların başlangıçta gerekli enerjiyi artırmak için yağ dokusundan lipidleri harekete geçirdiği bilinmektedir. Önce doymamış yağ asitleri harekete geçirilir (Mumma vd., 2006). Kanatlılarla yapılan çalışmalarda kronik stres altında devam eden kortikosteron salınımının, dokularda lipid

peroksidasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir (Lin vd., 2004). Morrissey vd. (1994), lipid peroksidasyonunun, vücudun kronik strese (stresin ikinci evresi) adaptasyon döneminde dokuların fosfolipid fraksiyonunda PUFA'nın azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Devam eden kortikosteron sekresyonunun, stres koşulları altında yağ sentezi, özellikle SFA sentezi doğrultusunda enerji metabolizmasını değiştirdiği rapor edilmektedir (Szabo vd., 2004).

Nakajima vd. (2009) propolisteki kafeik asidin kasların ve iç organların PUFA oranlarını artırarak yağ asidi profillerini iyileştirebileceğini belirtmiştir. Propolis ilavesinin doza bağlı olarak kanatlı dokularının PUFA içeriğinde bir artışa neden olabileceği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Rymer ve Givens 2005). Bu çalışmada propolis ilavesinin balık kas dokusunda yağ asidi profili üzerine etkisi ilk kez incelenmiştir, kontrol grubu kas dokularının SFA oranının, propolis ilaveli gruplardan bir miktar yüksek olduğu ancak gruplar arasında farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$). Ayrıca 10 g/kg ve üzeri propolis ilave edilen gruplarda toplam PUFA'nın diğer gruplardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Arı ürünleri çok sayıda fenolik bileşik içerir (Viuda vd., 2008). Önceki çalışmalar, fenollerin ve polifenollerin indirgeyici ajanlar, hidrojen donörleri ve tekli oksijen söndürücüler olarak hareket eden redoks özelliklerine sahip olduğu göstermiştir (Caldwell, 2003). Guo vd. (2008), arı ürünlerinin doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı güçlü antioksidatif aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Tüm bu faktörler PUFA oranlarını artırarak kasların yağ asidi profillerini iyileştirmiş olabilir.

Çalışma sonunda çipura balık eti besin kompozisyonu incelendiğinde, 10 g/kg propolis ilavesinin protein oranını artırırken kül oranını düşürdüğü, tespit edilmiştir. Deng vd. (2011) gökkuşaağı alabalığı yemlerinde propolis kullanımının balık eti besin kompozisyonunu etkilemediğini belirtmişlerdir. Bae vd. (2012) yılan balığı yemlerine propolis ilavesinin balık eti besin kompozisyonunu etkilediğini, 0,5 g/kg propolis ilavesinin balık etinde ham protein ve yağ değerini artırırken, kül oranını düşürdüğünü, propolis oranı arttıkça protein ve yağda düşme, kül oranında ise yükselme meydana geldiğini, bu sonuçların propolis içerisindeki flavonoidlerin besin metabolizması, absorpsiyon ve besin alımını arttırmışından oluşmuş olabileceğini belirtmişlerdir. Ancak kesin etki mekanizması henüz belirlenmemiştir.

Hematolojik ve biyokimyasal özellikler çevre ve insan kaynaklı stres faktörlerinin etkilerini gösteren önemli parametrelerdir (Keleştemur vd., 2012). İlaveten immunostimulantların vücutta oluşturduğu fizyolojik değişiklikleri ortaya koyması bakımından da önemlidir (Yonar ve Silici 2010). Hematokrit düzeyi balık sağlığı için genel bir indikatördür ve immunostimulanlardan kaynaklanan anormallikleri açıklamaya yardım etmektedir. Balıklarda bir çok immunostimulant karakterdeki madde ile yapılan çalışmada lökosit düzeyinde önemli farklılıkların olduğu görülmüştür. Talas ve Gülhan (2009) alabalıklarda propolis konsantrasyonunun artmasıyla hematokrit değerinin düştüğünü saptamışlardır. Yonar ve Silici (2010) ise immunostimulant karakterdeki propolisin alabalıkların hematokrit değerini istatistiksel olarak anlamlı olmasa da arttırdığını rapor etmişlerdir. İlaveten eritrosit ve lökosit sayısında farkın önemli olduğunu belirtmişlerdir. Cuesta vd. (2005) propolisin çipurada, Talas ve Gülhan (2009) alabalıkta lökosit sayısını arttırdığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızda 20 g/kg propolis ilavesi

lökosit sayısında bir miktar artışa yol açmış ancak farklılık önemli düzeyde olmamıştır ($p > 0,05$).

Eritrosit indeksleri (MCV, MHC, MCHC), hematokrit, eritrosit ve hemoglobin yoğunluğu ile ilişkili olup eritrositlerin büyüklüğü veya çapı ile hemoglobin miktarını belirtir. Eritrosit indeksleri anemi tiplerinin ayırıcı tanısında yardımcı olur (Yonar ve Silici 2010). Talas ve Gülhan (2009) propolisin balıklarda makrositik anemiye neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise propolisin eritrosit indeksleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak incelenen parametreler çerçevesinde, çalışmamızda propolisin balıkların kan profili üzerine olumsuz herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir.

SONUÇ

Deneme sonuçlarından elde edilen veriler; propolisin çipura balık eti besin kompozisyonu ve yağ asitleri üzerine olumsuz bir etkisi olmadığını, aksine PUFA ve toplam yağ asidi miktarını arttırabileceğini, ilaveten çipurada hematolojik parametreleri olumsuz etkilemediğini göstermiştir. Propolisin elde edildiği coğrafi bölge, bitki örtüsü, hasat edildiği mevsim gibi faktörlerin kimyasal özellikleri üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Uygulanan doz, balık türü, balık büyüklüğü gibi değişkenlerin de sonuçlar üzerine etkili olduğu ileri sürülmektedir. Bütün bunlar gözönüne alındığında farklı propolis örneklerinin, farklı balık türlerine etkisinin belirlenmesi için gelecekte yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR VE MADDİ DESTEK

Bu çalışma Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 17/194 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

YAZARLIK KATKISI

Çağlayan Kaplan: Tasarım, denemenin yürütülmesi, gözden geçirme, görselleştirme. Mete Erdoğan: Veri kütürlüğü, gözden geçirme. Fatime Erdoğan: Tasarım, finansman edinme, veri kütürlüğü, yazma orijinal taslak. Özgür Aktaş ve Faruk Pak: Besin madde ve yağ asitleri analizlerinin yapılması.

ÇIKAR/REKABET ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması ve /veya rekabet eden çıkarlar olmadığını beyan eder.

ETİK ONAY

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Onay numarası: B.30.2. AKD.0.05.07.00/5 8

VERİ KULLANILABİLİRLİĞİ

Mevcut çalışma sırasında oluşturulan ve/veya analiz edilen veri setleri, editör veya hakemlerin talebi üzerine ilgili yazar tarafından sağlanacaktır.

KAYNAKÇA

- Acar, Ü. (2018). Effects of diet supplemented with ethanolic extract of propolis on growth performance, hematological and serum biochemical parameters and disease resistance of Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 495, 339-344. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2018.06.007](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.007)
- Ahn, M.R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392. DOI: [10.1016/j.foodchem.2006.03.045](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.045)
- AOAC. (2000). Official methods of analysis of the association of analytical chemists, 17th ed. Washington. DC.
- Arslan, A.S., & Seven, P.T. (2017). The effects of propolis on serum malondialdehyde, fatty acids and some blood parameters in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) under high stocking density. *Journal of Applied Animal Research*, 45(1), 417–422. DOI: [10.1080/09712119.2016.1206901](https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1206901)
- Bae, J.Y., Park, G.H., Lee, J.Y., Okorie, O.E., & Bai, S.C. (2012). Effects of dietary propolis supplementation on growth performance, immune responses, disease resistance and body composition of juvenile eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture International*, 20(3), 513–523. DOI: [10.1007/s10499-011-9482-4](https://doi.org/10.1007/s10499-011-9482-4)
- Bankova, V.S., de Castro, S.L., & Marcucci, M.C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31(1):3–15. DOI: [10.1051/apido:2000102](https://doi.org/10.1051/apido:2000102)
- Bligh, E.G., & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8):911-917. DOI: [10.1139/o59-099](https://doi.org/10.1139/o59-099)
- Caldwell, C.R. (2003). Alkylperoxyl radical scavenging activity of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4589–4595. DOI: [10.1021/jf030005q](https://doi.org/10.1021/jf030005q)
- Cuesta, A., Rodríguez, A., Esteban, M.Á., & Meseguer, J. (2005). In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish and Shellfish Immunology*, 18(1), 71–80. DOI: [10.1016/j.fsi.2004.06.002](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.06.002)
- da Silva, J.A., Ítavo, C.C.B.F., Ítavo, L.C.V., da Graça Morais, M., da Silva, P.C.G., Ferelli, K.L.S.M., & de Souza Arco, T.F.F. (2019). Dietary addition of crude form or ethanol extract of brown propolis as nutritional additive on behaviour, productive performance and carcass traits of lambs in feedlot. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 28(1), 31–40. DOI: [10.22358/jafs/105442/2019](https://doi.org/10.22358/jafs/105442/2019)
- de la Cruz-Cervantes, J.A., Benavides-González, F., Sánchez-Martínez, J.G., Vázquez-Sauceda, M.D.L.L., & Ruiz-Urbe, A.J. (2018). Propolis in aquaculture: A review of its potential. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(3), 337-349. DOI: [10.1080/23308249.2018.1424798](https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1424798)
- Deng, J., An, Q., Bi, B., Wang, Q., Kong, L., Tao, L., & Zhang, X. (2011). Effect of ethanolic extract of propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(4), 959–967. DOI: [10.1007/s10695-011-9493-0](https://doi.org/10.1007/s10695-011-9493-0)
- Dotta, G., Brum, A., Jeronimo, G.T., Maraschin, M., & Martins, M.L. (2015). Effect of dietary supplementation with propolis and *Aloe barbadensis* extracts on hematological parameters and parasitism in Nile tilapia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24(1), 66–71. DOI: [10.1590/s1984-29612015004](https://doi.org/10.1590/s1984-29612015004)
- Farag, M.R., Abdelnour, S.A., Patra, A.K., Dhama, K., Dawood, M.A., Elnesr, S.S., & Alagavany, M. (2021). Propolis: properties and composition, health benefits and applications in fish nutrition. *Fish & Shellfish Immunology*, 115, 179-188. DOI: [10.1016/j.fsi.2021.06.010](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.06.010)
- Fazio, F., Marafioti, S., Filiciotto, F., Buscaino, G., Panzera, M., & Faggio, C. (2013). Blood hemogram profiles of farmed onshore and offshore gilthead seabream (*Sparus aurata*) from Sicily, Italy. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(3), 415–422. DOI: [10.4194/1303-2712-v13_3_04](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_3_04)
- Guo, H., Ekusa, A., Iwai, K., Yonekura, M., Takahata, Y., & Morimatsu, F. (2008). Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation in vitro and in vivo. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 54(3), 191–195. DOI: [10.3177/jnsv.54.191](https://doi.org/10.3177/jnsv.54.191)
- Hassaan, M.S., Nagar, A.G.E., Salim, H.S., Fitzsimmons, K., & El-Haroun, E.R. (2019). Nutritional mitigation of winter thermal stress in Nile tilapia by propolis-extract: Associated indicators of nutritional status, physiological responses and transcriptional response of delta-9-desaturase gene. *Aquaculture*, 511, 734256. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2019.734256](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734256)
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31(5), 535–539. DOI: [10.1007/BF02522648](https://doi.org/10.1007/BF02522648)
- Ítavo, C.C.B.F., Ítavo, L.C.V., Esteves, C.A.T., Sapaterra, G.A., da Silva, J.A., da Silva, P.C.G., Ferelli, K.L.S.M., & de Souza Arco, T.F.F. (2019). Influence of solid residue from alcoholic extraction of brown propolis on intake, digestibility, performance, carcass and meat characteristics of lambs in feedlot. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 28(2), 149–158. DOI: [10.22358/jafs/109284/2019](https://doi.org/10.22358/jafs/109284/2019)
- Keleştemur, G.T., & Seven, İ. (2013). Effects of dietary propolis and vitamin E on growth performance and antioxidant status in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under different flow rate. *Aquaculture Research*, 44(7), 1120–1131. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2012.03122.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03122.x)
- Keleştemur, G.T., Seven, İ. & Seven P.T. (2012). Hipoksik stres uygulanan gökkuşuğu alabalığı yavrularının (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) rasyonlarına antioksidan etkili propolis katkısının bazı kan parametre değerlerine etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5 (1): 83-86, 2012. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2012.03122.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03122.x)
- Lin, H., Decuypere, E., & Buyse, J. (2004). Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*): 1. Chronic exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 139(4), 737–744. DOI: [10.1016/j.cbpc.2004.09.013](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.09.013)
- Meurer, F., Matiuzzi da Costa, M., de Barros, D.A.D., Leal de Oliveira, S.T., & da Paixão, P.S. (2009). Brown propolis extract in feed as a growth promoter of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) fingerlings. *Aquaculture Research*, 40(5), 603–608. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2008.02139.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02139.x)
- Morrissey, P.A., Buckley, D.J., Sheehy, P.J.A., & Monohan, F.J. (1994). Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 289-295. DOI: [10.1079/PNS19940034](https://doi.org/10.1079/PNS19940034)
- Mumma, J.O., Thaxton, J.P., Vizzier-Thaxton, Y., & Dodson, W.L. (2006). Physiological stress in laying hens. *Poultry Science*, 85(4), 761–769. DOI: [10.1093/ps/85.4.761](https://doi.org/10.1093/ps/85.4.761)
- Nakajima, Y., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Mishima, S., & Hara, H. (2009). Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 1–9. DOI: [10.1186/1472-6882-9-4](https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-4)
- Rymer, C., & Givens, D.I. (2005). n-3 fatty acid enrichment of edible tissue of poultry: A review. *Lipids*, 40(2), 121–130. DOI: [10.1007/s11745-005-1366-4](https://doi.org/10.1007/s11745-005-1366-4)
- Šegvić-Bubić, T., Boban, J., Grubišić, L., Trumbić, Ž., Radman, M., Perčić, M., & Čož-Rakovac, R. (2013). Effects of propolis enriched diet on growth performance and plasma biochemical parameters of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under acute low-temperature stress. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 877–885. DOI: [10.1111/anu.12032](https://doi.org/10.1111/anu.12032)
- Seven, P.T., Seven, İ., Yılmaz, M., & Şimşek, Ü.G. (2008). The effects of Turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, 146(1-2):137–148. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2007.11.003](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.11.003)
- Seven, İ., Şimşek, Ü.G., Gökçe, Z., Tatlı Seven, P., Arslan, A., & Yılmaz, Ö. (2014). The effects of royal jelly on performance and fatty acid profiles of different tissues in quail (*Coturnix coturnix japonica*) reared under high stocking density. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(3), 271–277. DOI: [10.3906/vet-1303-62](https://doi.org/10.3906/vet-1303-62)
- Soltani, E. K., Cerezuela, R., Charef, N., Mezaache-Aichour, S., Esteban, M. A., & Zerroug, M. M. (2017). Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 62, 57-67. DOI: [10.1016/j.fsi.2017.01.009](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.009)

- Szabó, A., Mézes, M., Dalle Zotte, A., Szendro, Z., & Romvári, R. (2004). Changes of the fatty acid composition and malondialdehyde concentration in rabbit *Longissimus dorsi* muscle after regular electrical stimulation. *Meat Science*, 67(3), 427–432. DOI: [10.1016/j.meatsci.2003.11.013](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.11.013)
- Talas, Z.S., & Gülhan, M.F. (2009). Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1994–1998. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2009.04.011](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.04.011)
- Touzani, S., Al-Waili, N., El Menyiy, N., Filipic, B., Pereyra, A., El Arabi, I., Al-Waili, W., & Lyoussi, B. (2018). Chemical analysis and antioxidant content of various propolis samples collected from different regions and their impact on antimicrobial activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 11(7), 436–442. DOI: [10.4103/1995-7645.237188](https://doi.org/10.4103/1995-7645.237188)
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), 117–124. DOI: [10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x)
- Yonar, M.E., & Silici, S. (2010). Gökkuşuğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792)'nin bazı kan parametrelerine propolisin etkisinin araştırılması. *Ecological Life Sciences*, 5(3), 231–240. DOI: [10.22358/jafs/109284/2019](https://doi.org/10.22358/jafs/109284/2019)