

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

BAZI DOĞAL BİTKİLERİN
GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ
(*Oncorhynchus mykiss*) SPESİFİK OLMAYAN
BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Soner BİLEN

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 24.12.2009

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Şükran CİRİK

Yrd. Doç. Dr. Musa BULUT

ÇANAKKALE

DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Soner BİLEN tarafından Prof. Dr. Şükran CİRİK yönetiminde hazırlanan “BAZI DOĞAL BİTKİLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*) SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Şükran CİRİK
Yönetici

Prof.Dr. Semra CİRİK
Jüri Üyesi

Prof.Dr. Ahmet Adem TEKİNAY
Jüri Üyesi

Doç.Dr. Cüneyt SÜZER
Jüri Üyesi

Doç.Dr. Murat YİĞİT
Jüri Üyesi

Sıra No:

Tez Savunma Tarihi: 24/12/2009

Prof. Dr. Ahmet ERDEM
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

TEŞEKKÜR

Tez alıŐması boyunca yardımlarını esirgemeyen danıŐmanım Prof. Dr. Őukran CİRİK ve yardımcı danıŐmanım Yrd. Doç. Dr. Musa BULUT'a, çalışmanın gerçekleŐebilmesi için gerekli bütçeyi bana sağlayan Murat MENGENECİOĞLU'na, fikirleriyle katkıda bulunan Prof. Dr. A. Adem TEKİNAY'a, denemeleri yapabilmem için çiftlik imkanlarını sunan Filiz Su Ürünleri yetkililerine, manevi desteklerinden dolayı annem Gülten BİLEN ve babam Hamdi BİLEN'e, doktoramın yazım aŐamasında gösterdiği yardımlardan dolayı sevgili eŐim Aslı Müge BİLEN'e teŐekkürü borç bilirim.

Soner BİLEN

Aralık 2009

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

- Ac-LDL: Acetylated Low-Density Lipoprotein
AOAC: Association Of Official Analytical Chemists
AFB1: Alatoksin B1
AFF: Asit Fosfataz
APC: Antigen Presenting Cell
A.Ş.: Anonim Şirketi
bbsv: Beyaz Benek Sendromu Virüsü
cAMP: Cyclic Adenosine Monophosphate
C: Santigrat
ConA: Konkavilin A
CRP: C-reaktif Protein
CYP: Siklofosfamid
DHA: Dokosaheksanoik Asit
dl: Desilitre
DMSO: Dimetilsülfoksit
DO: Doğal Olmayan Bağışıklık Sistemi
EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FAO: Besin ve Tarım Organizasyonu
FPH: Hidralizat
g: Gram
HBSS: Hank's Denge Solüsyonu
HCl: Hidroklorik Asit
HUFA: Yüksek Doymamış Yağ Asidi
H-MA: Yüksek-M Alginat
HMB: β -hydroxy- β -methylbutyrate
H₂SO₄: Sülfirik Asit
IFN- γ : Interferon-gama
IPN: Infectious Pancreatic Necrosis
l: Litre
LPS: Lipopolisakkarit
LSD: En Az Kayda Değer Değişim
Ltd. Şti.: Limited Şirketi

kg: Kilogram
KOH: Potasyum Hidroksit
M: Molar
ml: Mililitre
MPO: Miyeloperoksidaz
NaOH: Sodyum Hidroksit
NBT: Nitroblue Tetrazolium
nm: Nanometre
pH: Çözünmüş Hidrojen İyonu Ters Logaritması
PMA: Porbol Miristat Asetat
ppb: Milyarda Bir
ppm: Milyonda Bir
RES: Retikulaendotelyal Sistem
RNA: Ribonükleikasit
SBO: Spesifik Büyüme Oranı
Sc: *Saccharomyces cerevisiae*
SÇYE: Suda Çözülen Yosun Ekstraktları
SOD: Süperoksit Dismutaz
T: Tuftsin
T₃: Triiodotironin
U: International Unit
USA: Amerika Birleşik Devletleri
YDK: Yem Değerlendirme Katsayısı
°: Derece
%: Yüzde
g:g kuvveti
µm: Mikrometre
µg: Mikrogram
µl: Mikrolitre
α: Alfa
β: Beta
γ: Gama

ÖZET

BAZI DOĞAL BİTKİLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞININ (*Oncorhynchus mykiss*) SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ.

Soner BİLEN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışmanlar: Prof. Dr. Şükran CİRİK ve Yrd. Doç. Dr. Musa BULUT

24.12.2009, 92

Bu çalışmada, defne ve tetra bitkilerinin alabalıkların spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerinde meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. Balıklar, üç hafta süresince % 0,5 ve % 1'i tetra ve defne içeren yemlerle her gün doyana kadar beslenmişlerdir. Üçüncü hafta sonunda deneme yemi kesilip kontrol yemine dönülmüştür. Spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerinde meydana gelen değişimlerden hücre içi ve hücre dışı solunum etkisi, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyeleri üçüncü hafta, altıncı hafta ve dokuzuncu hafta sonunda kontrol edilmiştir. Üçüncü, altıncı ve dokuzuncu haftalar sonunda % 0,5 ve % 1 tetra içeren yemlerle beslenen balıkların hücre içi ve hücre dışı solunum etkisi, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein seviyeleri defne içeren yemlerle beslenen ve kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Aynı dönemlerde defne grupları ile kontrol grubu arasında bir farklılık olmamıştır ($P>0,05$). En yüksek değerler ise % 1 tetra içeren yemlere beslenen gruptan elde edilmiştir. Tetra ve defnenin balıkların büyümesine ve yem değerlendirme oranına herhangi bir etkisi olmamıştır ($P>0,05$).

Anahtar sözcükler: Bağışıklık uyarıcı, alabalık, defne, *Laurus nobilis*, tetra, *Cotinus coggyria*.

ABSTRACT

THE EFFECT OF SOME NATURAL PLANTS ON NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE MECHANISM OF RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*).

Soner BİLEN

Canakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Fisheries Thesis of Doctorate

Advisors: Prof. Dr. Sukran CIRIK and Assist. Prof. Dr. Musa BULUT

24.12.2009, 92

In this study, non-specific immune effects of laurel and tetra by dietary intake on rainbow trout were investigated. Fish were fed daily ad-libitum with diets containing of 0.5%, 1.0% laurel and tetra for three weeks. The fish were then switched back to the control diet. Non-specific immune parameters such as extracellular and intracellular respiratory burst activities, phagocytosis in blood leukocytes, lysozyme and total plasma protein level were evaluated at the end of each weeks of experimental feeding period. Extracellular and intracellular respiratory burst activities, phagocytic activity, lysozyme activity and total protein level parameters of the groups containing 0.5% and 1.0% tetra were higher than laurel and control groups at the end of the third, sixth and ninth weeks, respectively ($P < 0.05$). There is no differences between laurel and control groups ($P > 0.05$). The highest values of the non-specific immune parameters were observed in 1.0 % tetra feed group. Tetra and laurel groups did not show any difference in terms of specific growth rate and average weight of the fish ($P > 0.05$).

Keywords: Immunostimulant, rainbow trout, laurel, *Laurus nobilis*, tetra, *Cotinus coggyria*.

İÇERİK

	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
1.1. Dünyada Su Ürünleri Üretim Durumu	1
1.2. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi	2
1.3. Balıklarda Doğal Olmayan Bağışıklık Sistemi	5
1.3.1. Doğal Olmayan Bağışıklık Sisteminde Organ ve Dokular	5
1.3.1.1. Böbrek.....	6
1.3.1.2. Timus.....	7
1.3.1.3. Dalak.....	8
1.3.1.4. Karaciğer.....	8
1.3.1.5. Kalp.....	9
1.3.1.6. Deri.....	9
1.3.1.7. Bağırsak.....	10
1.3.1.8. Diğer Dokular.....	11
1.3.2. Doğal Olmayan Humoral (Sıvısal) Savunma Mekanizması	11
1.3.2.1. Tripsin ve Lizozim.....	12
1.3.2.2. C-Reaktif Protein	12
1.3.2.3. Aglutininler.....	13
1.3.2.4. Metal iyon Bağlayıcı Proteinleri.....	13
1.3.2.5. Proteaz Tutucuları	13
1.3.2.6. İnterferonlar.....	13
1.3.2.7. Ekosanoidler.....	14
1.3.3. Doğal Olmayan Hücresel Savunma Mekanizması	14
1.3.3.1. Granulositler.....	14
1.3.3.2. Monositler ve Makrofajlar.....	14
1.4. Balıklarda Bağışıklık ve Bağışıklık Uyarıcıların Önemi	15
1.5. Balık Üretiminde Kullanılan Bazı Bağışıklık Uyarıcılar	17

	Sayfa
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	19
BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM	31
3.1. Deneyin Kurgulanması	31
3.2. Deneme Yeri	31
3.3. Deneme Balıkları	31
3.4. Kullanılan Bağışıklık Uyarıcılar	32
3.4.1. Defne (<i>Laurus nobilis</i>)	32
3.4.2. Tetra (<i>Cotinus coggyria</i>)	33
3.5. Genel Beslenme Protokolü	34
3.6. Bağışıklık Uyarıcı Bitkilerin Yemlere Katılması	35
3.7. Balık Büyüme ve Yem Analizleri	36
3.7.1 Nem Tayini	36
3.7.2. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması	37
3.7.3.Ham Kül İçeriğinin Saptanması	37
3.7.4.Ham Protein İçeriğinin Saptanması	37
3.7.5. Ham Selüloz İçeriğinin Saptanması	38
3.7.6. Ortalama Bireysel Ağırlık (gr.)	38
3.7.7. Canlı Ağırlık Artışı(%)	38
3.7.8. Yem Değerlendirme Oranı (YDO) (%)	39
3.7.9. Spesifik Büyüme Oranı (SBO) (%)	39
3.8. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi	39
3.8.1. Lökosit İzolasyonu	39
3.8.2. Solunum Etkisi (Respiratory Burst)	40
3.8.3. Fagozitik Aktivite	41
3.8.4. Lizozim Aktivitesi	41
3.8.5. Toplam Protein Seviyesi	42
3.9. İstatiksel Analizler	42
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	44
4.1. Ticari Yemin Kimyasal Kompozisyonu	44
4.2.Bağışıklık Uyarıcıların Büyüme ve Yem Değerlendirmeye Etkisi	44
4.3. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimler	47
4.3.1.Solunum Etkisi (Respiratory Burst)	47

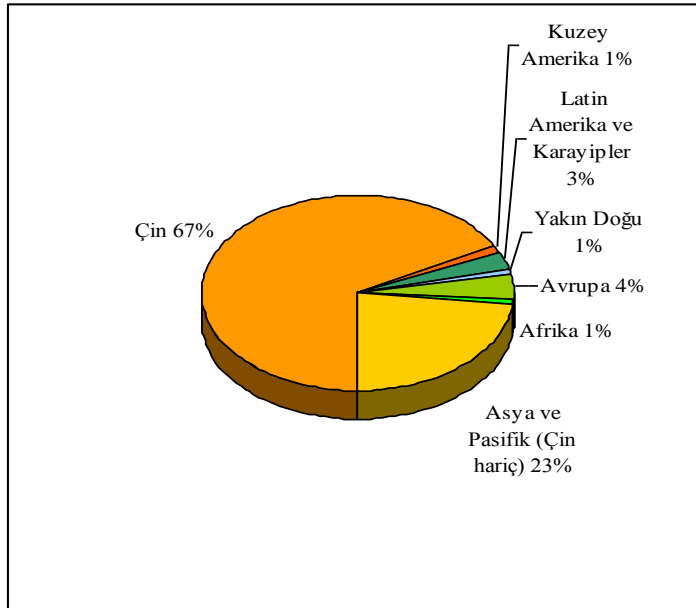
	Sayfa
4.3.1.1 Hücre İçi Aktivasyon (Intracellular)	47
4.3.1.2. Hücre Dışı Aktivasyon (Extracellular)	52
4.3.2. Fagozitik Aktivite.....	58
4.3.3.Lizozim Aktivitesi.....	63
4.3.4.Total Protein Seviyesi.....	69
BÖLÜM 5 – SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	74
KAYNAKLAR.....	77
Çizelgeler.....	I
Şekiller.....	II
Özgeçmiş.....	V

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Dünyada Su Ürünleri Üretiminin Durumu

Son yıllarda dünyadaki su ürünleri üretimi toplumların hızla gelişmesine bağlı olarak tüketimin artmasıyla birlikte hızlı bir yükseliş göstermiş ve önemli bir sektör haline almıştır. Ekonomik olan birçok deniz ve tatlı su balığı kültüre alınmış ve dünya su ürünleri üretimi yıldan yıla yükselerek devam etmiştir (Sakai, 1999). Özellikle Birleşmiş Milletler'e bağlı Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2008 yılında yayımladığı raporda su ürünleri üretiminin 51,7 milyon ton olduğu tespit edilmiştir. Su bitkileri üretimi de eklendiğinde bu miktar 66,7 milyon tona çıkmaktadır. Üretim bazında Çin dünya lideri konumundadır. Sıralamaya bakıldığında üretimin % 67'sinin Çin'de, % 23'ünün Asya-Pasifik ülkelerinde, % 4'ünün Avrupa'da, % 3'ünün Latin Amerika ve Karayipler'de, % 1'inin Kuzey Amerika'da, % 1'inin Yakın Doğu ve yine % 1'lik bir kısmının Afrika'da yapıldığı görülmektedir (Şekil 1). Çizelge 1'de dünyada en çok su ürünleri üretimi yapan ilk on ülke gösterilmiştir. Bu ülkeler tüm dünya üretiminin 44,2 milyon tonluk bir kısmını oluşturmaktadır.



Şekil 1. Su ürünleri üretiminin 2006 yılındaki bölgesel dağılımı (Anonim, 2008a).

Çizelge 1. 2006 yılında en fazla su ürünleri üretimi yapan ülkeler (Anonim, 2008a)

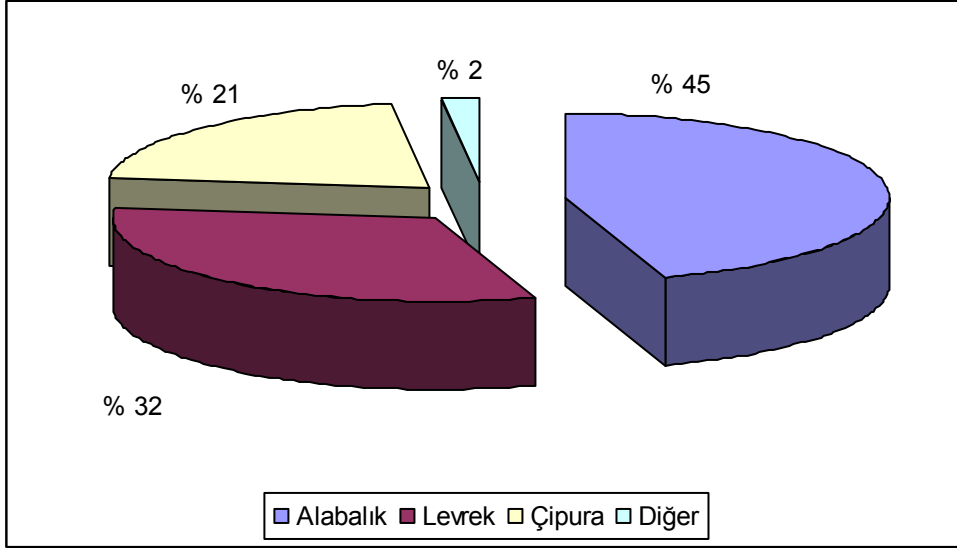
Ülke	Üretim (ton)
Çin	34429122
Hindistan	3123135
Vietnam	1657727
Endonezya	1292899
Bangladeş	892049
Şile	802410
Japonya	733891
Norveç	708780
Filipinler	623369
TOPLAM	44263382

Son yıllarda giderek artan su ürünleri üretiminin, 2020’li yıllarda insanların tükettiği hayvansal protein ihtiyacının % 57’sini karşılayacağı tahmin edilmektedir. Tarımsal alanların çeşitli sebeplerle daralması ve benzeri nedenlerden dolayı hayvancılık üretiminin sınırlanacağı ve buna paralel olarak gerekli hayvansal protein ihtiyacının karşılanması için su ürünlerine yönelinecek olması kaçınılmazdır.

1.2. Türkiye’de Su Ürünleri Üretimi

Türkiye’de 2008 yılında, yaklaşık 453113 tonu avcılıkla, 152186 tonu yetiştiricilikle olmak üzere toplam 646310 ton civarında su ürünleri üretilmiştir (Anonim, 2009). Çizelge 2’de de görüldüğü üzere su ürünleri üretiminde yetiştiricilik noktasında önemli gelişmeler sağlanmıştır (Anonim, 2009).

Resmi rakamlara göre alabalık yetiştiriciliği yapılan en önemli türler içinde 65928 ton ile başı çekmektedir. Alabalığı sırasıyla 49270 ton ile levrek ve 31670 ton ile çipura izlemektedir (Anonim, 2008b). Verilerden de anlaşılacağı üzere alabalık üretimi Türkiye’de önemli bir sektörü oluşturmaktadır.



Şekil 2. Türlerle göre 2008 yılındaki su ürünleri yetiştiriciliğinin oransal dağılımı (Anonim, 2008b).

Çizelge 2. Türkiye'deki toplam su ürünleri üretimi (ton) (1997–2008) (Anonim, 2009)

Yıllar	Avcılık		Yetiştiricilik		TOPLAM (ton)		
	Deniz (ton)	%	İç Su (ton)	%			
1997	404350	80,8	50460	10,1	45450	9,1	500260
1998	432700	79,6	54500	10	56700	10,4	543900
1999	523634	82,2	50190	7,9	63000	9,9	636824
2000	460521	79,1	42824	7,4	79031	13,6	582376
2001	484410	82	43323	7,3	67244	11,3	594977
2002	522744	83,3	43938	7	61165	9,7	627847
2003	463074	78,8	44698	7,6	79943	13,6	587715
2004	504897	78,3	45585	7,1	94010	14,6	644492
2005	380381	79,8	46115	8,5	118277	21,7	544773
2006	488966	73,9	44082	6,7	128943	19,5	661991
2007	589129	76,3	43321	5,6	139873	18,1	772323
2008	453113	70,11	41011	6,35	152186	23,54	646310

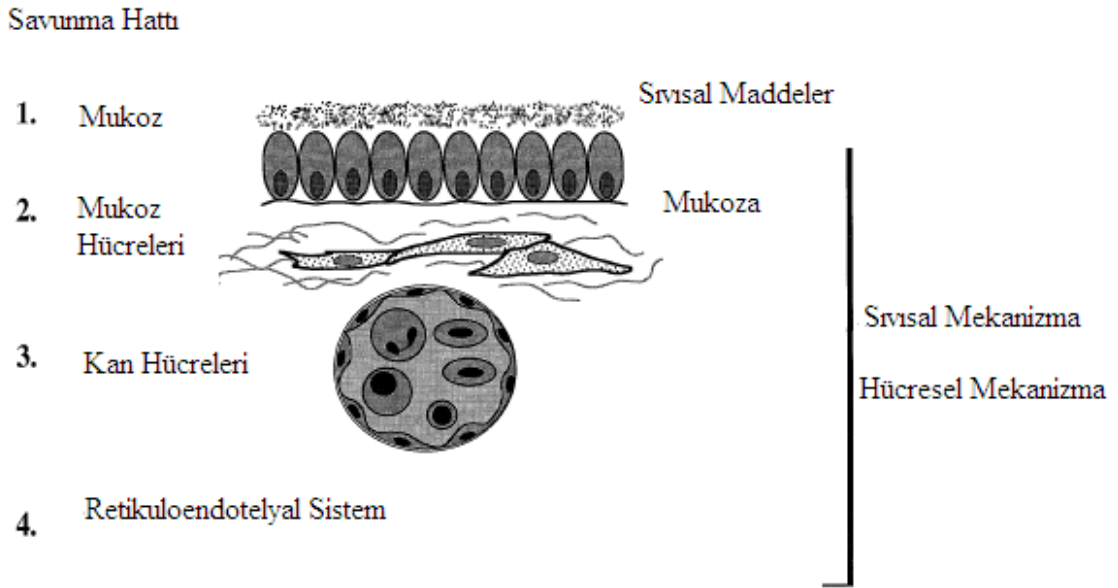
1.3. Balıklarda Doğal Olmayan Bağışıklık Sistemi

Doğal olmayan bağışıklık sistemini (DO) balıklardaki hastalıkların her safhasında önemli role sahiptir. DO humoral (sıvısal) savunma, proteaz, lisin ve aglutininleri içerir. Örneğin, mukozal hat hücreleri saldırıya karşı ikinci bariyer olarak fonksiyon gösterirken mukoz salgılama görevi ile savunmada birinci hattı oluşturur. Kan hücreleri, özellikle granulosit ve monositler, dolaşım esnasında mikropları yok ederken savunma mekanizmasının üçüncü hattını oluşturur. Sonuncu olarak, endotelial hücreler, makrofajlar ile doku ve organlardaki granulositler mikrop ya da mikrop ürünlerini alır ve yapısını bozar. Yutulan ve bozunma ürünleri büyük ölçüde makrofaj hattı küçük kan damarları ve endotelial hücrelerden ibaret olan retikulaendotelial sistemin (RES) etkinliğine bağlıdır. DO savunma mekanizmasının potansiyeli mikrobiyal saldırı esnasında, patojen veya diğer zararlı maddelerin daha randımanlı yıkım ve temizliğinde belirleyici olabilir. Antimikrobiyal maddenin üretimindeki merkez hücreler makrofajlar ve granulositler daha aktif durumlara geçişebilen yangıdaki mikrobiyal ürünlerdir. Aktive edilmiş hücreler daha aktif antimikrobiyal etkenler ve yüksek oranlardaki üretim ile antimikrobiyal aktivitelerini arttırabilir (Dalmo ve ark. 1997).

1.3.1. Doğal Olmayan Bağışıklık Sisteminde Organ ve Dokular

Balıklar ve memelilerin sahip olduğu immün sistem arasındaki en önemli fark balıkların kemik iliği ve lenf düğümlerine sahip olmayışdır. Timüs, böbrek ve dalak balıklardaki başlıca lenfoid dokulardır. Karaciğer, dalak ve kalp de ayrıca önemli organlardır (Fänge, 1984). Böbrekler, karaciğer ve dalağın dolaşımında kanın kendisinden ve kendisinden kaynaklanmayan zararlı maddelere karşı yüksek yutucu özelliği olan endotelial ve makrofajların bulunduğu başlıca boşaltım organları oldukları göz önünde bulundurulmalıdır. Böylelikle böbrek ve dalak RES'de büyük önem arz etmektedir (Iwama ve Nakanishi, 1996).

Makrofajlar, DO bağışıklıkta spesifik immün sistemindeki antijen sunma özelliği, DO humoral bağışıklık öğelerini ve sinyalleme maddelerini salgılamada rol alır. Bu yüksek yutucu özellikteki endotelyal hücreler ve makrofajlar RES'i teşkil eden doku ve organlarda dağılım göstermiştir (Dalmo ve ark. 1997).



Şekil 3. Defans mekanizmasının sadeleştirilmiş görünümü. RES DO sistemin dördüncü hattını oluşturabilir (Dalmo ve ark., 1997).

1.3.1.1. Böbrek

Böbrek kemikli balıklarda kan oluşturan (haematopoyetik) ana organdır (Zapata, 1979; Bielek, 1981). Böbreğin hem ön kısmı hem de arka kısmı kan yapıcı özelliktedir. Böbreğin arka kısmı ayrıca boşaltım görevi görür. Rowley ve ark. (1988)'nin da belirttiği gibi böbreğin yapısı kemikli balıklarda morfolojik olarak türden türe değişken olmasına rağmen genelde farklı olgunluktaki kan hücrelerinden, endotelyal hücrelerden, boşaltıma katılan hücrelerden ve endokrin fonksiyonlarından ibarettir (Zapata, 1979; Imagawa ve ark., 1990; Meseguer ve ark., 1991; Press ve ark., 1994; Scapigliati ve ark., 1995).

Melanomakrofajlar (malanin, keroid ve lipofuskin pigmentleri içeren makrofajlar) alabalıklarda böbreğin ön kısmında yayılmıştır (Ellis ve ark., 1976; Bogner ve Ellis, 1977). Bu melanomakrofajlar diğer kemikli türlerin kümeleşmiş hücrelerinde organize olarak gözlenebilir (Roberts, 1975). Kemikli balıkların savunma siteminin ortasında bulunan bu melanomakrofajlar ya da pigment içeren fagozitlerin tam görevleri hala bilinmemektedir (Wolke, 1992).

Salmonlarda, kan kaynaklı yabancı ya da kendisinden kaynaklanan yabancı maddeler böbrek sinüzoidal endotelial hücreler ve makrofajlar aracılığıyla hücre içine alınır (Smedsrod ve ark., 1993; Dannevig ve ark., 1994). Böbrek hücreleri vasıtasıyla maddelerin alımı, human serum albumin ile muamele edilmiş formaldehit (Smedsrod ve ark., 1984), dinitro fenile edilmiş human serum albumin (Dannevig ve ark., 1990; Dannevig ve ark., 1994), mannos içeren maddeler (Smedsrod ve ark., 1984; Dannevig ve ark., 1990; Dannevig ve ark., 1994) asetile edilmiş düşük yoğunluktaki yağlar (Ac-LDL) (Gjoen ve Berg, 1992) amine edilmiş $\beta(1,3)$ -D glukoz (Ingebrigtsen ve ark., 1993), modifiye edilmemiş moleküller, örneğin human serum albumin (Smedsrod ve ark., 1984), bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS) (Dalmo ve Bogwald, 1996) ve ara doku proteinleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu tip maddelerin temizliği RES'te önemli bir görev oluşturmaktadır (Smedsrod, 1990). Endosite edilmiş moleküller hücre yıkımına uğrayabilir (Dannevig ve Berg, 1978, Smedsrod ve ark., 1984) ve\veya dışkı ile glomerul ve tubulilerden idrar torbasına geçebilir (Dalmo ve ark., 1995; Christiansen ve ark., 1996). Antijenik maddeler, antijen sunan hücreler (APC, makrofajlar ve B-hücreleri) vasıtasıyla T-hücrelerine sunulup işlenebilir. Bu yolla immun yanıtı başlatır (Vallejo ve ark., 1990; Vallejo ve ark., 1991a; Vallejo ve ark., 1991b; Espelid ve Jorgensen, 1992; Vallejo ve ark., 1992; Monaco, 1995; Stensvag ve ark., 1995).

1.3.1.2. Timus

Timusun balıklarda, türlere göre değişmekle birlikte, vücudun hemen hemen altı farklı bölgesinde bulunduğu tespit edilmiştir. Fakat timus genellikle solungaç boşluğunda bulunmaktadır (Dalmo ve ark., 1997).

1.3.1.3. Dalak

Teleostlarda, dalağın, kan yapımında, makromoleküllerin uzaklaştırılmasında, antijenlerin bozulmasında, antikor üretimi ve yönetiminde görevli olduğu düşünülmektedir. DO ve spesifik immun sistemdeki görevi ise böbreğin ön kısmından sonra ikinci derece önemli olarak düşünülmektedir (Ferren, 1967).

1.3.1.4. Karaciğer

Karaciğerin bağışıklık sisteminde önemsiz bir rol oynadığı tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, karaciğerin RES'te atık atımında görevi vardır fakat salmonlarda böbrek ve dalağınki kadar, diğer balıklarda ise kalp, böbrek ve dalak kadar etkin bir görevi yoktur. Galaktoz ve mannoza son veren glikoproteinlerin injekte edilmesinden sonra endositoziz ile ilgili reseptörler tarafından alınmış ve gökkuşağı alabalığının karaciğerindeki hücreler tarafından bozulmuştur (Kindberg ve ark., 1991). Ayrıca *Aeromonas salmonicida*'dan elde edilen bakteriyal LPS *Salmo salar*'ın endotelial hücreleri tarafından alınmıştır. Son olarak $\beta(1-3)$ -D-glukan da damar içi ve peranal yolla salmons verildikten sonra karaciğer tarafından alınmıştır (Dalmo ve ark., 1994). Karaciğer makrofajları (Kuffer hücreleri) morfolojik kriterlerin temelinde birçok teleost balıkta tanımlanmıştır (Hampton ve ark., 1987). Bununla birlikte temel fikir, Kuffer hücrelerinin teleostlarda az ya da bulunmadığı üzerinedir. Yakın zamanda *Leiostomus xanthurus*'un karaciğerinden izole edilmiştir. *Leiostomus xanthurus*'in karaciğer birincil hücrelerinin %80'inden daha fazlası asitfosfataz, β -glukuronidaz ve naftal AS-D koro-asetat esteraz ile aktivasyon göstermiştir. Karaciğer hücrelerinin ayrıca nitroblue tetrazolium ile diformazanı azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca konkanavilin A (ConA, sonda bulunan α -D-mannopiranosil ve α -D-glikopiranosil'e bağlanan lektin) veya LPS eklenmesi üzerine, karaciğer hücrelerinde ^3H -thymidin alımında artış gözlemlenmiştir. Bu bulgular birlikte ele alındığında salmonid karaciğerinin yabancı maddelerin atımında ciddi rol üstlendiğini ortaya koymuştur. Ayrıca balıkların savunma sistemi ile karaciğerin ilişkisinin kanıtı bazı akut faz reaktanlarının üretimidir (Demers ve Bayne, 1994).

1.3.1.5. Kalp

Kalpteki endokardial hücreler, mavi levrek balıklarında (*Tautoglabrus adspersus*) karbon parçacıkları ile kolloidal karbonun injeksiyonu sonrası bu endotelial hücreler makrofajlara transfer edilmiştir (Mackmull ve Michels, 1932). Ferguson (1975) ve Ellis ve ark. (1976), kalbin kulakçıklarında kolloidal karbonların alındığını tespit etmişlerdir. Uygulamadan 9 saat sonra, bazı endokardial hücrelerin karbonla dolu olarak toplanıp yüzdüğü gözlenmiştir. Karbon partikülleri alındıktan sonra dolaşım sistemi ile muhtemel diğer organlara gönderildiğini öne sürmüşlerdir. Smedsrod ve ark. (1995), Leknes (1987), Dalmo ve ark. (1996b) ve Seternes ve ark. (1996), atlantik kod (*Gadus morhua*), morina (*Pollachius virens*), kalkan (*Scophthalmus maximus*) ve halibutta (*Hippoglasus hippoglasus*), dolaşımında kollojen at dalak demiri, $\beta(1-3)$ -D-glukan ve LPS, kalpteki endotelial hücreler tarafından endosite edilmiştir. Nakamura ve Shimozawa (1994), medakada (*Oryzias latipes*) karbon parçacık alımını pozitif bulmuşlarken, Japon balığı (*Carassius auratus*) ve limon tetra balığında (*Hyphessobrycon pulchripinnis*) negatif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca sazan (*Cyprinus carpio*) ve tetra balığı (*Barbus conchoni*) kalbinde de karbon tespit edilememiştir (Lamers ve Parmentier, 1985). Aksine, Mori (1980) Japon balığının (*Carassius auratus*) intraperitoneal injeksiyon sonucunda karbon parçacıklarının kalp endokardiumunda toplandığını tespit etmişlerdir.

1.3.1.6. Deri

Balık ile çevre arasında bir mukus tabakası (glikoproteinler, proteoglikanlar, proteinler) ara yüz oluşturmaktadır. Mukus hücreleri tarafında sürekli salgılanan bu mukus tabakası, balığı çevreden gelen zararlı patojenlere karşı korumaktadır. Mukus salgılama oranı enfeksiyonlara karşı yanıtta, fiziksel ve kimyasal tahriş edici maddelerin artışına bağlı olarak artmaktadır (Santos ve Hall, 1990; Yang ve Albright, 1994; Nilsen, 1995). Lizozim ve diğer bakteriyolisinler balık derisindeki mukosda bulunan maddelerdir. Epidermal fagositik hücrelerin hareketleri, yara üzerinden ve çevresinden, balık derisinde gözlenmiştir (Bullock ve Marks, 1978; Iger ve Abraham, 1990).

Salmonlardaki Malfigian hücrelerinin hareket davranışları ve fagositik aktiviteleri *in vitro* çalışılmıştır ve bu hücrelerin yaraları iyileştirilmesinde, zararlı mikropların yutulması ve lizis enzimiyle parçalanmasında görevli olduğu kanaatine varılmıştır (Asbakk ve Dalmo, 1997).

1.3.1.7.Bağırsak

Gastro-intestinal sistem mikrobiyal saldırılar için bir bariyer oluşturur. Midenin sindirim özelliği yabancı ve zararlı mikro organizmalara karşı çok düşük pH seviyesi ile birlikte salgıladığı sindirim enzimleri (Pepsin, safra) yoluyla koruma sağlar (Dabrowski ve Glogowski, 1977; Hofer ve Schiemer, 1981; Kristjansson ve Nielsen, 1992). Memelilerde bağırsak mikro ve makro partiküllerin emilimi (duodenum, jejenum ve ileum) Peyers plaklarının folikülle ilgili epitelyumlarındaki mikrofold ya da membran hücreleri (M-hücreler, özelleşmiş epitelyal hücreler) olarak adlandırılan hücrelerde olur. Peyer plaklarının lenfoid folikülleri lenfosit ve makrofajlardan meydana gelmiştir (LeFevre ve ark., 1978). Ayrıca gelişmemiş ya da tahriş olmuş durumdaki bağırsakların bozunmamış makromolekülleri emme kapasitesi artmıştır (albumin gibi) (Walker ve Isselbacher, 1974; Walker ve Bloch, 1983; Udall ve Walker, 1993). Mukosal emilim ve çeşitli maddelerin pinozitosisi bağırsak epitelyumu tarafından makromoleküllerin alımı için temel mekanizmayı oluşturmaktadır. Makromoleküller ayrıca sahip olduğu intraselüler boşluklarla sirkülasyonda alışverişi sağlar.

Kemikli balıklarda, M-hücreleri ve Peyer plakları yoktur. Bununla birlikte, intraperitoneal lenfositler ve makrofajlarla birlikte ösofilik granular hücreler lamina propria üzerinde bulunur. Ayrıca *Elasmobranch*'ta (köpekbalığı ve vatozlarda) bağırsakta birleşik lenfoid dokulardan bahsedilebilir (Fänge, 1984; Tomonaga ve ark., 1986). Dalmo ve ark. (1995a), mikropartiküllerin (0,045-3,1µm) Atlantik somonlarında bağırsakta emilmediğini tespit etmişlerdir. Buna karşın Tamura ve ark. (1993), yılan balıkları üzerine yaptıkları çalışmada bağırsaklarda *Vibrio anguillarum*'un emilimini tespit etmişlerdir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalara dikkat edildiğinde özellikle fuloresan ile işaretlenmiş lateks malzemelerin alabalıkların bağırsak sisteminde emildiği tespit edilebilir. Bu nedenle genellikle kabul edilen görüş Atlantik somonlarında bağırsak sisteminde emilimin olmaması memelilerin boşaltım sistemdeki tersine olması nedeniyle karşıt olmaktadır.

Bağırsakların ön bölümlerinin, somon ve bazı diğer balık türlerinde makro moleküllerin emildiği alan olarak düşünülmektedir (Iwai, 1968). Mide bulunmayan balıkların bağırsak sistemi absorpsiyon açısından bölgesel farklılık göstermektedir. Bazı makromoleküllerin, örneğin; ferritin, peroksidaz ve immunoglobulinlerin verildiği zaman emildiği tespit edilmiştir (Stroband ve ark., 1979). Makromoleküllerin emilimi ve antijen transferi, sindirim olmaksızın, immunolojik yanıtlar olarak değerlendirilmektedir (Dorin ve ark., 1994). Bağırsakların gelişmediği larvalara makromoleküller verildiğinde (protein, laminaran) emilimin ön bağırsakta olduğu gözlenmiştir. Kahverengi alabalık ve somonda yapılan çalışmalar sonucunda bağırsağın ön kısmının makromolekülleri absorbe edip sirkülasyon sistemine bırakma kabiliyetinde olduğu tespit edilmiştir (O'Donnell ve ark., 1994). Tüm bu tartışmalar ve sonuçlar ele alındığında tüm bağırsak sisteminin makromolekülleri absorbe edebilme yeteneğinde olduğu sonucuna varılabilir.

1.3.1.8. Diğer Dokular

Lökositler solungaçlarda, kalpte ve dokular arasında da dağılım göstermektedir (Ellis ve ark., 1976). Son zamanlarda tartışılan konu, dokuların bir böbrek ve kalp gibi bağışıklıkta önemli rol almadıkları konusundadır. Bununla birlikte, spesifik olmayan bağışıklık sisteminin elemanlarının (lizozim ve komplement gibi antibakteriyel yapılar) dokular içerisinde geniş dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

1.3.2. Doğal Olmayan Humoral (Sıvısal) Savunma Mekanizması

Savunmanın ilk hattı olan, tripsin, lizozim, antikor, komplement faktörler ve diğer litik faktörler gibi birçok antimikrobiyal amiller serum, mukoz, deri, solungaç ve bağırsak sisteminde mikroorganizmaların bağlanması ve koloni oluşturmasını önlemektedir (Iwama ve Nakanishi 1996).

1.3.2.1. Tripsin ve Lizozim

Tripsin ve tripsin içeren hücreler üst deride, solungaçlarda ve bağırsak sisteminde bulunur. Bu durum tripsinin lokal olarak üretildiği ve mukoz içine salgılandığına işaret etmektedir (Walsh, 1970). Lökositler tarafından salgılanan lizozim (N-asetilmuramid glikohidrolaz), dolaşım ve birçok hücrede dağılım göstermektedir (Fletcher ve White, 1973). Lizozim gram pozitif bakterilerin peptidoglikan yüzeylerinin glikolizidik katmanlarına yapışır. Lizozim gram negatif bakterilere karşı da antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

Memeli mononükleer fagozitler komplemet proteinlerin muhtemelen en zengin ekstrahepatik kaynağıdır. Tüm klasik yollarla sentezlendiği gözlenmiştir (Lappin ve Whaley, 1993). Komplemet gen ekspresyonunu uyaran ya da indirgeyen birçok amil bilinmektedir. Örneğin, prostaglandin E2, d2, 6-Keto PG, tromboksan hücre içi cAMP seviyelerini artırır ve bu hücreler yoluyla komplemet faktör 2'yi azaltır (Lappin ve Whaley, 1982). cAMP seviyesinin artmasına neden olan diğer maddeler de insan monositleri vasıtasıyla komplemet unsurların üretimini engeller. Aynı şekilde, IFN- γ , histamin, anafilatoksin, zimosan, koyun eritrositi ve lateks boncukların tümü komplemet protein sentezini önleyicidir. Diğer bir deyişle, birçok madde, mononikler fagositozis yoluyla komplemet unsurların uyarılmasını sağlar. Komplemet parçalar, komplemet aktivasyonu süresince, lökositler için kemotaktik aktivite, anafilaktik aktivite, ve fagozitik aktivitenin artırılması gibi çok geniş biyolojik olayların şekillenmesiyle oluşur (Iwama ve Nakanishi 1996).

1.3.2.2. C-Reaktif Protein

C-reaktif protein (CRP), hızlı faz tepkenleri olup birçok balıkta izole edilmiştir (Murai ve ark., 1990, Pepys ve ark., 1978). Göç, fagozitozis ve fagozitlerin solunum patlaması CRP ile etkilenir. CRP opsonin görevi görerek komplemet sistemin etkinliğini artırabilir (Kaplan ve Volanakis, 1974; Cofta ve ark., 1995).

Alabalıklarda CRP böbrek lenfositlerinde ve vücudun çevre yüzeylerinde tespit edilmiştir (Edagawa ve ark., 1993)

1.3.2.3. Aglutininler

Aglutiniler balıklarda serumda, mukozda ve safrada bulunan filogenetik yapılardır. Bu tip yapılar opsonin gibi rol oynar (Alexander ve Ingram, 1992).

1.3.2.4. Metal-iyon Bağlayıcı Proteinleri

Demir bağlayıcı proteinler (siderofilinler) örneğin apotransferin (iki demir iyonunu bağlar), seruloplazmin (içinde demir iyonu bulunan iyonları demire okside eder) ve metalotinin (bakır, çinko, kadmiyum ve civa gibi metalleri bağlar) gibi, bakterilerin büyümesini önler (Roed ve ark. 1995).

1.3.2.5. Proteaz Tutucuları

Birçok proteinazın tutulmasını sağlayan α_2 -makroglobulin gibi proteinaz tutucuları balıklarda serumda bulunur (Starkey ve Barrett, 1982). Bu yapıların temel görevi kanın homeostazında ve diğer vücut sıvılarının devamını sağlamada ve komplement ve koagülasyon hızlarının kademeli olarak düşürülmesinde etkindir. Bir diğer özellikleri ise immun sistemin antijen sunumunda rol almasıdır (Chu ve ark., 1994).

1.3.2.6. İnterferonlar

İnterferonlar vücutta virüslerin çoğalmasını önleyen yapılardır. γ -interferon, α - veya β interferon olarak somon ve alabalıklardan izole edilmişlerdir (de Kinkelin ve Dorson, 1973).

1.3.2.7. Ekosanoidler

Ekosanoidler 20-karbon poli-doymamış yağ asitlerinden türemiş bileşikler olup balıklarda organ ve kan hücrelerinde yaygın yayılım gösteren prostaglandin, likopsin ve lökositlerden oluşur (Anderson ve ark., 1979).

Ekosanoidlerin vazifesi hemostazis ve immün yanıtın indirgenmesi şeklinde özetlenebilir.

1.3.3. Doğal Olmayan Hücresel Savunma Mekanizması

Granulositler ve makrofajlar/manositler balıklarda DO hücresel kısmını oluştururlar. Patojenlere karşı başlangıç safhasında deride, bağırsaklarda ve epitelyal hücrelerde önemli role sahiptir (Iwama ve Nakanishi 1996).

1.3.3.1. Granulositler

Balıklarda granulositler, nötrofiller, bazofiller ve özonofiller olmak üzere üç tipte bulunmaktadır.

Alabalıklarda özonofiller böbrekte yer almaktadır. Diğer benzer hücrelerde, solungaçlarda (Smith, 1975), sindirim sisteminde (Sveinbjornsson ve ark., 1996), deride (Blackstock ve Pickering, 1980) ve kanda (Kelenyi ve Nemeth, 1969) dağılım gösterirler. Bu hücrelerin görevleri hala net bilinmemektedir.

1.3.3.2. Monositler ve Makrofajlar

Makrofaj terimi, bir ya da birçok çekirdeği bulunan ve 1-10µm arasındaki birçok yabancı maddeyi içine çekerek yok eden veya salgıları vasıtasıyla bu yapıların çevresini değiştiren hücreler için kullanılır. Fagozitler DO'da önemli rol oynarlar.

1.4. Balıklarda Bağışıklık ve Bağışıklık Uyarıcıların Önemi

Balıklar özellikle kafes, tank ve havuz gibi kapalı olan kontrollü ortamlarda yüksek yoğunluklarda yetiştirilmekte ve birim alandan maksimum verim almaya çalışılmaktadır. Yüksek yoğunluklarda yapılan üretim yöntemleri de dolayısıyla hastalık riskini büyük oranda arttırmakta ve üretimi yapılan türün sağlığını etkilemektedir. Bu tarz üretim sistemlerinde bu sebeplerden dolayı hastalık sıkıntısı yaşanmakta ve bu durumu gidermek için kemoterapötik uygulamalar tedavi maksatlı kullanılmaktadır.

Özellikle son yirmi yıl içinde ilaç sanayi hızla gelişmiştir. İlaç sanayinin gelişmesine paralel olarak balık üretiminde birçok tedavi yöntemleri ve ilaç uygulamaları geliştirilmiştir. Bununla birlikte bakteriyel hastalıkların özellikle bu tip ilaçlara direnç kazanmalarıyla birlikte balık üretiminde ana sorun haline gelmiştir (Aoki, 1992). Üretici ve tedavi uygulayıcıların antibiyotik uygulamalarında birleşimlere gitmeleri daha güçlü antibiyotik karışımlarının kullanılmasına olanak sağlamıştır. Fakat bu uygulamalar sonucunda balıkların bağırsak florasında bulunan sindirime yardımcı bakterilerin de tedavi esnasında ölümlerine neden olması ve bağırsak florasının kendisini yenilemesinde vakit alması ve dolayısıyla yem değerlendirmede kayıplar yaşanmasına sebebiyet vermiştir.

Balık üretiminde ana prensip balıkların hastalandıktan sonra ilaç uygulamalarıyla iyileştirilmesinden ziyade, koruyucu önlemlerin alınarak yoğun üretimlerde dahi balıkların hiçbir şekilde hastalığa yakalanmamasını sağlamak yönündedir. Bu durumda koruyucu olarak bir takım yöntemler geliştirilmiştir. Özellikle enfeksiyon hastalıklarda aşılama son derece kullanışlı koruyucu bir önlem olmakla birlikte ticari olarak da bol miktarda temin edilebilmektedir. Örneğin furunculosis, vibriosis, kızıl ağız hastalığı gibi bakteriyel hastalıklar, IPN gibi viral hastalıkların da ticari aşılıları bulunmaktadır. Aşılama balıklarda hastalıklara karşı korunmada en önemli yöntem olabilir. Üstelik hücre içi aktivite gösteren *Renibacterium salmoninarum* gibi patojenlere karşı da etkili aşılar geliştirilmiş olmakla birlikte tüm hastalıkların kontrolünde aşılıların kullanılması son derece zor olmaktadır. Tekil hastalıklara karşı belli aşılıların koruma maksatlı kullanılması uygun olmakla birlikte aşının sadece belli bir patojene karşı etkinlik sağlaması ve yüksek maliyeti üreticileri başka yollar

denemeye zorlamaktadır. Diğer bir problem aşı ve antibiyotik uygulamalarında sık olmasa da yan etkiler gözlenmekte (Santarem ve ark., 1997), hatta bazı durumlarda uygulama hatalarından da kaynaklanan ciddi kayıplara neden olmaktadır. Bu durum üreticileri farklı alternatif uygulamalar geliştirme yönünde baskılamıştır (Anderson, 1992; Secombes, 1994).

Bağışıklık uyarıcılar enfeksiyon hastalıklara karşı doğal bağışıklık sistemini değil de doğal olmayan bağışıklık sistemini güçlendirmektedir ve son yıllarda balık üretimde kullanılan rutin koruyucu önlemlerden biri haline almıştır. Bağışıklık uyarıcılar genellikle uzun süreli uygulamalar olup bağışıklık yeterliliği geliştirmektedir. Son dönemlerde birçok bağışıklık uyarıcı, araştırmacı ve ticari firmalar tarafından denenmiş olup kullanıma sunulmuş ve yeni bir endüstri haline almıştır.

Balık üretimde hayati süreci oluşturan yavru üretimi üretim başarısının en önemli adımlarındandır. Bazı durumlarda kuluçkahanelerde ölüm oranları çok yüksek olmakta, belirlenen kotalara ulaşabilmek için daha çok anaç, alan ve personel bulundurmak gerekmektedir. Özellikle kuluçkahanelerde üretimin başarısının artması için yeni stratejiler geliştirmek doğal olarak toplam üretimi de arttıracaktır. Alabalık yavru yetiştiriciliğinde alabalık yavru sendromu (*Flexibacter columnaris*) ve bazı bölgelerde IPN'den kaynaklanan ciddi sıkıntılar olmaktadır. Özellikle alabalık yavru sendromu, Türkiye genelinde ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bu gibi hastalıklara yakalanan balıklarda hastalık kontrolü yapılabilmekle beraber yüksek kayıplar ve tedavi masraflarının ağırlığı sıkıntı oluşturmaktadır. Bu sıkıntının engellenmesinde yeni stratejik önlemler ve özellikle bağışıklık güçlendiricilerin kullanımı sorunun engellenmesinde bir çözüm noktası oluşturabilir.

Bağışıklık uyarıcı kullanımının özellikle balıkların bağışıklık sistemini geliştirdiğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. (Siwicki, 1987, 1989; Kajita ve ark., 1990; Robertsen ve ark., 1990; Siwicki ve ark., 1990; Nikl ve ark., 1991; Yano ve ark., 1991; Chen ve Ainsworth, 1992; Matsuyama ve ark., 1992; Raa ve ark., 1992; Engstad ve Robertsen, 1993; Jørgensen ve ark., 1993a,b; Robertsen ve ark., 1994). Ayrıca günümüze kadar bağışıklık uyarıcıların uygulamalarında herhangi bir yan etkiye rastlandığı kayıt edilmemiştir.

Birçok üretici günümüzde hem aşılarda hem de bağışıklık uyarıcıları güncel olarak takip etmekte ve kullanmaktadır. Bazı durumlarda bağışıklık uyarıcılar aşı uygulamasının daha etkin olması için yardımcı unsur olarak, bazı durumlarda ise aşının yerine ana koruyucu olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte kullanıcılar için hala birtakım sıkıntılar mevcuttur. Yeni bağışıklık güçlendiriciler ve etkinliklerinin araştırılması ve daha kullanışlı bağışıklık uyarıcıların geliştirilmesi kaçınılmazdır.

Bu çalışmada özellikle doğal olan ve doğada bol miktarda bulunabilen bazı bitkilerin alabalığın bağışıklık sistemini ne ölçüde etkileyeceği araştırılmış ve tartışılmıştır.

1.5. Balık Üretiminde Kullanılan Bazı Bağışıklık Uyarıcılar

Balıklarda doğuştan oluşan bağışıklık, komplement sistem, granulosit ve makrofajlar gibi hem humoral hem de hücrel savunmayı içermektedir. Farklı ürünlerden oluşan bağışıklık güçlendiriciler örneğin, glukanlar, bakteriyal ürünler ve bitkisel içerikler özellikle doğal bağışıklığı oluşturan genlerin aktive edilmesinde direk rol oynayabilirler (Bricknell ve Dalmo, 2005). Dolayısıyla özellikle yemle uygulanan bu uyarıcılar, balıkların doğal savunmasını geliştirerek, yüksek stres, boylama, üreme, transfer ve aşılama öncesi hastalık yapıcı patojenlere karşı koruma sağlayabilir. Bugüne kadar yapılmış çalışmalar ışığında belirlenerek kullanılan bazı bağışıklık uyarıcıları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Balık üretiminde kullanılan bazı bağışıklık uyarıcılar

Bağışıklı Uyarıcılar					
Biyolojik Yapılar					Sentetik Kimyasallar
Bakteriyel Türevler	Polisakkaritler	Hayvansal ve Bitkisel İçerikler	Besinsel Faktörler	Hormonlar	
β-Glukanlar	Chitin	Ete (Tunicate)	C vitamini	Laktoferin	Levamisole
Peptidoglukanlar	Chitosan	Hde (Abalone)	E vitamini	Interferon	FK-565
FCA	Lentinan	Firefly squid	D ₃ vitamini	Büyüme Hormonu	MDP
EF203	Schizophyllan	<i>Quillaja saponin</i>		Prolaktin	
LPS	Oligosakkarit	Glycyrrhizin		Zeranol	
<i>Clostridium butyricum</i>		Ökseotu		α- tokoferol	
<i>Achromobacter stenohalis</i>		Isırgan Otu			
<i>Vibrio anguillarum</i>		Zencefil			
Laminaran					
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> P450					

BÖLÜM 2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Anderson ve Siwicki (1994), kahverengi alabalıklarda kitosan (de-*N*-acetylated kitin) ile daldırma yöntemi ya da enjeksiyon uygulanan balıklarda *Aeromonas salmonicida*'ya karşı etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada hem daldırma yöntemi hemde aşılama yöntemi uygulanan gruplarda *Aeromonas salmonicida*'ya karşı bağışıklığın arttığı ölüm oranlarının düştüğü tespit edilmiştir.

Dalmo ve ark. (1996), yaptıkları çalışmada laminaranın (β 1-3 glukan) intraperitoneal, peroral ve peranal olarak somonlara verildikten sonra bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Laminaran intraperitoneal yolla 15 mg/kg, peroral 150 mg/kg, ve peranal 150 mg/kg dozlarında uygulanmış ve uygulamadan iki gün sonra immun sistemde meydana gelen değişimler tespit edilmiştir. Laminaranın intraperitoneal yolla yapılan uygulamada peroral ve peranal yolla yapılan uygulamaya oranla daha yüksek etkinlik göstermiştir.

Jeney ve ark. (1997), farklı dozlarda glukan içeren yemlerle gökkuşuğu alabalığını besleyerek bağışıklık sisteminde ve stres faktörlerinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışmada balıklar % 0,1, % 0,5 ve % 1 oranında glukan içeren yemlerle dört hafta beslendikten sonra balıklar iki saatlik süren taşıma operasyonuna tabi tutularak stres faktörleri ve bağışıklık değişiklikleri incelenmiştir. İncelemeler sonunda, tüm uygulamaların ardından bir hafta sonra kontrol grubunda hipergliseminin devam ettiği gruplarda kortisol seviyeleri yükselmiş ve hiperglisemi yaşanmış olduğu tespit edilmiştir. En düşük glukoz seviyesi ise % 0,1 oranında glukan ile beslenen grupta tespit edilmiştir. Solunum etkisi, fagozitozis, lizozim seviyeleri de stres ile birlikte etkilenmiştir. *Flexibacter columnaris* ile tüm gruplar infekte edilmiş ve tüm gruplarda ölüm oranı yüksek olmuştur.

Santarem ve ark. (1997), β glukanların kalkan balığının (*Scophthalmus maximus* L.) bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada β 1-3 glukan balıklara enjeksiyon yolu ile verilmiştir. Çalışma sonunda bakteriyel aktivitede herhangi bir değişiklik gözlenmezken, solunum etkisinde artış meydana gelmiştir. Lizozim aktivitesi glukan enjekte edilen balıklarda kayda değer oranda yükselmiştir.

Verlhac ve ark. (1998), C vitamini ve glukanın hem beraber hemde ayrı ayrı yemlere katılarak alabalıklara verilmesi sonucu immün sistemde meydana gelen değişimleri tespit etmişlerdir. Çalışmada, balıklar dört hafta boyunca glukun içermeyen ve 150 ppm C vitamini içeren kontrol yemi ile beslenmiştir. Daha sonra aynı kontrol yemi içerisine 1000 ppm C vitamini ekleyerek ve glukun koymadan ve glukun koyarak 2 hafta boyunca beslenmiş ve yemleme sonunda bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. İlk uygulamadan 4 hafta sonra balıklardan kan örnekleri alınarak tekrar bağışıklık parametreleri kontrol edilmiştir. Çalışma sonucunda C vitamini içeren yemle beslenen balıkların bağışıklık sistemini olumlu yönde geliştirdiği, bununla birlikte glukun içeren yemlerle beslenen balıkların bağışıklık parametrelerine kayda değer bir değişim gözlenmemiştir.

Castro ve ark. (1999), kalkan (*Psetta maxima*) ve çipura (*Sparus aurata*) balıklarında β glukunların bağışıklık üzerinde etkilerini incelemişlerdir. *Saccharomyces cerevisiae*'den ve *Schizophyllum commune*'den elde edilen β glukunlar çalışmada kullanılmıştır. Kullanılan glukunlardan yoğun oranlı karışımın daha iyi sonuçlar verdiğini tespit edilmiştir.

Ortuno ve ark. (1999), yemlere yüksek oranda katılan C vitamininin çipura (*Sparus aurata*) balığının doğal olmayan bağışıklık sistemi üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada kontrol gruplarına 500 mg/kg deneme grubuna da 3000 mg/kg oranında C vitamini uygulayıp 2, 4, 6, 8 ve 10. haftalarda; büyüme, kandaki C vitamini seviyesi, doğal hemolitik tamamlayıcı aktivitesi, böbrek lökosit göçü ve fagositik aktiviteyi incelenmiştir. C vitamininin yüksek oranda, yemle balıklara verilmesi sonucu ikinci haftadan itibaren kan serumundaki oranının yükselerek pozitif bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Yine C vitamini girişi ile balıkların incelenen bağışıklık sistemi parametrelerinde de artışlar gözlenmiştir. Bununla birlikte en yüksek seviyelerine ulaşmaları farklı zamanlarda olmuştur. Fagositik aktivite uygulamanın ikinci haftasında, doğal hemolitik tamamlayıcı aktivitesi altıncı haftadan sonra, solunum etkisi sekizinci haftadan sonra gerçekleşmiştir. Bununla birlikte lökosit göçünde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

Bagni ve ark. (2000), uzun süreli α -tokoferol ve β 1-3, β 1-6 glukan uygulamalarının, levrek balığının (*Dicentrarchus labrax*) doğal bağışıklık sistemi üzerinde ne gibi değişikliklere sebep olacağını incelemişlerdir. Balıklar beş haftalık adaptasyon süreci sonrasında, % 2 β 1-3, β 1-6 ve 500 ppm α -tokoferol içeren yemlerle üç aylık periyot boyunca beslenmişlerdir. İki haftada bir kan örnekleri alınarak bağışıklık sistemindeki değişiklikler tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışmada, vitamin ve glukan grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte her iki grupta da komplement ve lizozim aktivitelerinde artış gözlenmiştir.

Ortuna ve ark. (2000), α -tokoferolü kontrol gruplarında 100 mg/kg ve 600, 1200 ve 1800 mg/kg içeren deneme yemleri ile 15, 30 ve 45 gün sürelerle çipura balıklarını besleyerek bağışıklık sisteminde (doğal hemolitik komplement aktivitesi, böbrek lökosit göçü, solunum patlaması, fagozitik aktivite) meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. α -tokoferolün yemlerde kullanılan miktarları ile orantılı olarak balıkların serumlarında miktarının arttığı tespit edilmiştir. 600 mg/kg dozda uygulanan grupta bağışıklık sisteminde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. 1200 mg/kg uygulanan grupta bağışıklık parametrelerinde artış gözlenmekle birlikte istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilememiştir. 1800 mg/kg uygulanan grupta ise kayda değer bir bağışıklık değişikliği tespit edilememiştir. 1200 mg/kg ve 30 gün süreyle uygulanan α -tokoferolün bağışıklık sistemini uyardığı sonuç olarak belirlenmiştir.

Anbarasu ve Chandran (2001), askorbik asitin *Mystus gulio*'nun bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla formalin ve ısıtma işlemi öldürülüp hazırlanan aşılarla aşılanan balıklara, aşılama öncesi vitamin verilmiştir. Aşılama öncesi vitamin verilen ve verilmeyen gruplar arasında herhangi bir farka rastlanmamıştır.

Cook ve ark. (2001), EcoActiva® isimli ticari ürün olan bir β -glukan preparatının *Pagrus auratus*'un bağışıklık sistemine etkilerini incelemişleridir. Çalışmada sonucunda makrofajların solunum etkisini arttırarak bağışıklık sistemini uyardığı tespit edilmiştir.

Gatta ve ark. (2001), alabalıklarda yemsel kromium mayasının bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri incelemişlerdir. Çalışmada 56 g ortalama ağırlığa sahip alabalıklar 1540, 2340 ve 4110 ppb oranlarında 6 hafta boyunca kromium mayası içeren yemlerle beslenmiştir. Çalışma sonunda bağışıklık sistemindeki değişimler incelenmiştir. Yüksek kromium uygulanan grupta lizozim aktivitesi artmıştır. Çalışma sonuçları kromiumum

bağışıklığı güçlendirdiği ve bunun uygulama süresi ve dozuyla pozitif olarak arttığı tespit edilmiştir.

Sahoo ve Mukherjee (2001), β 1-3 glukanın bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini sağlıklı ve aflatoksin B1 uygulanmış *Labeo rohita* balıklarındaki etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada sağlıklı ve aflatoksin B1 (AFB1) uygulanan balıklar yedi gün boyunca % 0,1 β 1-2 glukana içeren yemler ile beslenmiş ve 60 gün boyunca bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimler tespit edilmiştir. Tek doz AFB1 enjekte edilmiş balıklarda bağışıklık sisteminde ciddi düşüşler yaşandığı ve *Edwardsiella tarda*, *Aeromonas hydrophila* gibi patojenlerle karşı yapılan kontrol testlerinde de bağışıklığın düştüğü tespit edilmiştir. Glukana ile beslenen sağlıklı balıklarda bağışıklık sisteminin güçlendiği ve kontrol testlerinde bağışıklığın arttığı tespit edilmiştir.

Sakai ve ark. (2001), maya RNA'sından elde edilen nükleotitlerin oral uygulama sonrasında sazan balıklarının bağışıklık sisteminde meydana getirdiği değişimleri incelemişlerdir. 3 günlük uygulama sonrasında fagozitik aktivitenin ve nitroblue tetrazolium (NBT) aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir. Böbrek hücrelerinde meydana gelen değişim uygulamadan 10 gün sonra tespit edilmiştir. Serum komplement seviyeleri, lizozim aktivitesi nükleotid uygulaması sonucu artmıştır. Bununla birlikte balıkların kanlarında bulunan *Aeromonas hydrophila* sayısında kayda değer düşüş gözlenmiştir.

Jeney ve Jeney (2002), *Acipenser ruthenus* X *A. baerii* hibridi olan mersin balıklarında sekiz hafta boyunca glukana (% 0,1-% 0,5), dört hafta boyunca U vitamini (100, 200 ve 300 ppm), yirmi hafta boyunca C vitaminini (10, 100 ve 1000 mg/kg) yeme karıştırarak balıklara uygulamışlar ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmalar neticesinde iki haftalık % 0,5 glukana uygulanması sonrası lökosit aktivitesi artmıştır. Oksidatif radikal üretimi ise sadece yüksek doz uygulanan glukana gruplarında artmıştır. U vitamininin dört haftalık uygulaması sonucunda lökosit sirkülasyonu, fagozitik aktivite ve solunum yükseltme aktivitesi kayda değer oranda artmıştır. C vitamini uygulaması sonucu ise eritrosit ve lökosit sayılarında kontrol grubuna oranla azalma görülmüşken hemoglobin yoğunlaşmasında artış olmuştur.

Lizozim aktivitesi 100 ve 1000 mg uygulanan gruplarda ise artış göstermiştir.

Keleş ve ark. (2002), gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) zeranolün anabolik etkinliği ve DO immun sisteme etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada balıklara 0, 2, 5, 10 ve 20 ppm zeranol içeren yemler 21 gün süresince verilmiştir. Elde edilen veriler ışığında boy uzunluğunun 5, 10 ve 20 ppm, canlı ağırlığın ise 10 ve 20 ppm zeranol verilen gruplarda kontrole oranla istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. DO immun sistemle ilgili deneylerde izole edilen lökositlerin fagositoz ve bakterisit aktivitesinin zeranolün dozuna bağlı olarak önemli düzeyde arttırdığı, total serum protein seviyesinde belirgin bir değişiklik gözlenmediği belirlenmiştir.

Cain ve ark. (2003), tilapia balıklarda spirulina içeren bazal diyetlere % 0,2 oranında β - 1-3 glukan ekleyerek balıklar 6 hafta boyunca yemlenmiştir. Tüm gruplardan başlangıç, 3. ve 6. haftalarda kan örneği alınarak meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmada 6. hafta sonunda kandaki glukoz seviyelerinin azaldığı, monosit ve makrofajların sayısının arttığı tespit edilmiştir.

Cook ve ark. (2003), mercan balıkları üzerinde, ticari bir ürün olan ve β -Glukan içeren EcoActiva®'yı kış boyunca balıklara yem ile vererek doğal olmayan bağışıklık sistemini ve büyüme etkilerini incelemişlerdir. Kış boyunca EcoActiva® verilen balıklarda makrofaj süperoksit anyon üretimi ve porbol miristat asetat (PMA) uyarımını arttırdığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte klasik ve alternatif komplement aktivitesinde herhangi bir artış gözlenmemiştir. Ayrıca EcoActiva® uygulanan balıkların büyüme oranları kontrol grubundakilere göre daha yüksek olmuştur. Bu sonuçlar ışığında β -Glukan içeren EcoActiva®'nın kış ayı boyunca büyüme ve bağışıklık sistemini geliştirdiği tespit edilmiştir.

Couso ve ark. (2003), çalışmalarında üç farklı tip glukanın oral yolla uygulamasının çipura balıklarında *Photobacterium piscicida*'ya karşı dayanıklılığı ve fagozitlerde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Balıklar, 10 g/kg glukan içeren yemlerle 2 hafta yemlenip 1 hafta normal yem ile beslenmiş ve daha sonra kontrol testlerine tabi tutulmuştur. Analizler neticesinde glukan uygulanan gruplarda uygulanmayanlara oranla *Photobacterium piscicida*'ya karşı yüksek oranda koruma tespit edilmiştir. Bu özellikle

yüksek oranda gluklan uygulanan gruplarda gözlenmiştir. Solunum etkisi ve fagositik aktivite değerleri zamana göre değişim göstermiş olmakla birlikte, gruplar arasında üçüncü haftadan sonra fark oluşmuştur. 1 gr/kg oranında uygulanan glukanda da *Photobacterium piscicida*'ya karşı dayanıklılık artmıştır. Bu sonuçlar ışığında araştırmacılar gluklanın etkin bir koruyucu olabileceğini, bunu da kullanım süresi, miktarı ve periyodunu etkileyeceğine karar vermişlerdir.

Chang ve ark. (2003), *Penaeus monodon* üzerinde β 1-3 gluklanın beyaz benek sendromu virüsüne (bbsv) karşı doğal olmayan bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla *P. monodon*'lar 20 gün boyunca 1, 2, 10 ve 20 g/kg β 1-3 gluklan içeren yemlerle beslenmiş ve bbsv'ne karşı direnç testlerine tabi tutulmuştur. Toplam hemosit sayısı, fagozitozis, fenoloksidaz, süperoksit anyon ve süperoksit dismutaz üretimleri 1, 3, 6, 9, 12 ve direnç testinde 24 gün sonra ölçülmüş ve yaşama oranı da kaydedilmiştir. Çalışma sonunda en yüksek yaşama oranı 10 g/kg β 1-3 gluklan içeren yemlerle beslenen balıklarda gözlenmiştir. 2, 10 ve 20 g/kg doz uygulanan gruplarda bbsv uygulaması sonrası fagozitozis, fenoloksidaz, süperoksit anyon ve süperoksit dismutaz üretimleri hızla yükselmiş ve yine hızla eski seviyesine dönmüştür. Sonuç olarak β 1-3 gluklanın 10 g/kg dozda 20 gün boyunca uygulandığında bağışıklık sistemini bbsv'ye karşı yaşama oranını arttırdığı tespit edilmiştir.

Düğenci ve ark., (2003), ökse otu (*Viscum album*), ısırgan otu (*Urtica dioica*) ve zencefilin (*Zingiber officinale*) su ekstraktlarının, bağışıklık sistemi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada sulu ekstraktlar % 0,1 ve % 1 oranında yemlere katılarak 21 gün boyunca alabalıklar beslenmiştir. Zencefil ile beslenen balıkların bağışıklık sisteminde kayda değer bir değişiklik gözlenmiştir. Fagozitozis ve solunum etkisi tüm gruplarda kontrol grubuna oranla daha yüksek olmuştur. Tüm gruplarda plasmadaki protein seviyesini arttırmıştır. En yüksek plasma protein seviyesi % 1 zencefil ile beslenen gruplarda gözlenmiştir.

Düğenci ve Candan (2003), β -gluklan (MacroGard), *Schizosaccharomyces pombe*, *S. pombe* P450 içeren yemlerle % 0,1 ve % 1 oranında 21 gün boyunca beslenerek doğal olmayan bağışıklık sistemi üzerinde meydana getirdiği değişimleri tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda tüm gruplarda kontrol grubuna oranla solunum etkisi önemli ölçüde yüksek tespit edilmiştir. Fagozitik aktivite % 0,1 MacroGard ile beslenen gruplarda yüksek

tespit edilmiştir. Plazma protein seviyeleri % 1 MacroGard ve % 0,1 *S. pombe* P450 ile beslenen gruplarda yüksek tespit edilmiştir.

Rodriguez ve ark. (2003), hücre duvarı değiştirilmiş *Saccharomyces cerevisiae* (Sc)'i yemlerle çipuralara (*Sparus aurata* L.) vererek immunostimulant etkiyi incelemişlerdir. Çalışmada Sc 10 g/kg olacak şekilde yemlere katılarak balıklara 2, 4 ve 6 haftalık periyotlarda verilmiştir. Balıklardan örnekler alınarak, solunum etkisi, fagozitozis ve sitotoksitesi gibi hücreyel; komplement, lizozim gibi humoral yanıtlar tespit edilmiştir. Lizozim aktivitesi uygulamanın 2 ve 4. haftalarından itibaren artarken, peroksidaz ve komplement aktiviteleri 6. haftadan itibaren artış göstermiştir. Fagozitozis çalışmanın ilk haftasından itibaren kayda değer artış göstermiştir. Bu çalışmalar neticesinde Sc'nin çipuralarda bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilceği kanaatine varılmıştır.

Sahoo ve ark. (2003), triodotironinin (3,3',5-triiodo-L-thyronine) (T₃), 0, 1, 5 ve 10 mg/kg oranlarına yemlere katılıp 60 gün boyunca oral yolla uyguladıktan sonra rohu (*Labeo rohita*) balıklarında meydana getirdiği bağışıklık etkileri ve *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonuna karşı dirençlerini incelemişlerdir. Tüm T₃ uygulanan gruplarda serum, toplam serum proteini ve globulin seviyeleri kayda değer oranda artarken albumin-globulin oranları indirgenmiştir. 5 ve 10 mg/kg uygulanan gruplarda büyüme ve süperoksit üretiminde kayda değer artış gözlenmiştir. Deneme sonunda *Aeromonas hydrophila*'ya karşı yapılan kontrol testlerinde 5 mg/kg uygulanan T₃ grubunda en çok antikorun üretildiği belirlenmiştir.

Villamil ve ark. (2003), kalkan balıklarının (*Scophthalmus maximus* L.) bağışıklık sistemine nisinin etkilerini incelemişlerdir. Nisin balıklara enjekte edilmiş ve bir hafta sonunda yapılan bağışıklık testleri sonucunda herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Yapılan *in vitro* deneyler sonucunda ise 2,5 µg/ml ve 0,025 µg/ml dozunda nisin uygulamasının uygulamadan 72 saat sonra en düşük nisin seviyesinin bağışıklığı uyardığı tespit edilmiştir. Fagozitik aktivite aynı şekilde nisinin düşük dozlarında artış göstermiştir.

Castro ve ark. (2004), suda çözülen yosun ekstraktlarının (SÇYE) kalkan balıklarında solunum etkisi üzerine etkilerini tespit etmişlerdir. SÇYE olarak uygulamada *Ulva rigida*, *Enteromorpha* sp., *Codium tomentosum*, *Fucus vesiculosus*, *Pelvetia canaliculata*, *Dictyota dichotoma*, *Chondrus crispus* ve *Porphyra umbilicalis* kullanılmıştır. Çalışma

sonunda en iyi sonuçlar *U. rigida*, *C. crispus* ve *Enteromorpha sp.* ekstraktlarından elde edilmiştir.

Li ve ark. (2004), çizgili levreklerde nükleotidlerin yeme karıştırılarak balıklara verilmesi sonucu bağışıklık geliştirici etkilerini incelemiştir. Çalışmada Brewer mayasından elde edilen oligonükleotidler yeme % 0,5 oranında ilave edilmiş ve çalışma 7-8 hafta boyunca sürdürülmüştür. Çalışma sonunda balıklar *Streptococcus iniae* enfeksiyonuna karşı kontrol testine tabi tutulmuşlardır. Büyüme performansında herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Nötrofil oksidatif radikal üretimi ve *Streptococcus iniae*'ye karşı yaşama oranı nükleotid verilen balıklarda artmıştır. Oligonükleotid içeren yemlerin balıklara verilmesi sonucu bağışıklık yanıtının olumlu yönde arttığı tespit edilmiştir.

Misra ve ark. (2004), *Macrobrachium rosenbergii* yavrularında *Vibrio* enfeksiyonu sonucu oluşan kayıpları engellemek için β -glukan banyosu sonrası bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Çalışmada 15'er adetlik gruplar halinde balıklar 40 l'lik tanklara stoklanmış ve 5, 10 ve 15 mg/l β -glukan içeren tanklarda 1, 2 ve 3 saat boyunca banyo yaptırılmıştır. Uygulama sonrası balıklar 1, 2 ve 3'er saat arayla lizozim aktivitesi, total protein seviyesi ve asit fosfataz (AFF) aktivitesi kontrol edilmiştir. Farklı gruplardan toplanan balıkların total protein seviyelerinde bir farklılık olmazken 5 mg/kg glukan içeren tankta 1 saat banyo edilen balıkların AFF oranlarında kayda değer artış gözlenmiştir. 10-15 mg/kg glukan içeren 2 ve 3 saatlik banyo uygulamalarında ise lizozim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. *Vibrio alginoliticus* ile yapılan direnç testlerinde ise en iyi sonuçlar 5 mg/kg 2 saatlik banyo uygulamasında elde edilmiştir. Çalışma sonunda en uygun doz ve sürenin 5 mg/kg 2 saat olduğu sonucuna varılmıştır.

Puangkaew ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada E vitamini ve n-3 HUFA doymamış yağ asidi ile desteklenmiş yemler ile alabalıkların (*Onchorhynchus mykiss*) beslenmesi sonucu bağışıklık sistemlerinde meydana gelen değişimleri incelemiştir. 6 adet 0, 100 ve 1000 mg/kg içeren E vitamini ve % 20 ila % 48 n-3 HUFA ve DHA içeren yem ile 15 hafta boyunca beslenmiştir. Alternatif komplement aktivitesi, toplam immunoglobulin, fagozitozis ve sitotoksitideki değişimler belirlenmiştir. % 48 n-3 HUFA içeren yemlerle beslenen grupta yapılan ölçümlerde bağışıklık parametrelerinin arttığı tespit edilmiştir.

Rodriguez ve ark. (2004), bir çeşit mantar olan *Mucor circinelloides* yemsel uygulamasının çipuraların bağışıklık sisteminde meydana getirdiği değişimleri incelemişlerdir. Çalışmada mantar 10g/kg olacak şekilde 2, 4 ve 6 haftalık sürelerde balıklara verilmiştir. Belirlenen süreler sonunda elde edilen veriler ışığında, lizozim aktivitesinin arttığı, fagozitik aktivitenin 4 hafta sonrasında artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu mantarın balık çiftliklerinde bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir.

Skjermo ve Bergh (2004), çalışmalarında Yüksek-M Alginat'ı (H-MA) Atlantik halibut larvalarında immunostimulant etkisini incelemişlerdir. Bu maksatla H-MA ile zenginleştirilen artemialar larvalara verilmiştir. Çalışmada larvalar 7-9, 20-22 ve 41-43 günlerde zenginleştirilen yemler ile beslenmişlerdir. Çalışma başladıktan 90 gün sonra yavrular kontrol testlerine tabi tutulmuştur. Kontrol testlerinde *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilen balıklardan, H-MA uygulanan grupta ölüm oranı % 28, kontrol grubunda ise bu oran % 45 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak H-MA uygun bir bağışıklık uyarıcı olduğu ve *Vibrio anguillarum*'a karşı etkili bir koruyucu olduğu kanaatine varmışlardır.

Ashida ve Okimasu (2005), dietlerine katılan fermente edilmiş sebzelerin Japon dil balığının (*Paralichthys olivaceus*) bağışıklık sistemindeki etkilerini incelemişlerdir. Fermente edilmiş sebzeler yemlere katıldıktan sonra balıklara farklı dozlarda uygulamışlar, çalışma sonucunda fermente edilmiş sebzelerle beslenen balıkların fagozitik aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca balıkların yem alımlarında da kayda değer artış gözlenmiştir.

Bagni ve ark. (2005), β -glukandan oluşan ticari ürün Macrogard ve alginik asitten oluşan Ergosan adlı ticari preparatların levrek (*Dicentrarchus labrax*) bağışıklığına etkilerini kısa ve uzun dönemli tespit etmişlerdir. Denemede Ergosan % 0,5 ve Macrogard % 0,1 oranlarında içeren yemlerle balıklar 15 gün boyunca beslenmişler ve 45 gün herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Her 15-30 ve 45. günlerde balıklardan numune alınarak serum komplement, lizozim, total protein seviyeleri ölçülmüştür. Komplement aktivitesindeki değişim 15 günlük periyot sonrası her iki grupta kayda değer artmıştır. Serum lizozim oranları da 30 gün sonra her iki grupta kayda değer artmıştır. Çalışmada uzun dönem sonunda gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.

Choudhury ve ark. (2005), 60 günlük yaptıkları çalışmada *Labeo rohita* yavrularının yemsel kitin ve ribonükleik asit kullanımı sonucu hematolojik, solunum yükseltme aktivitesi ve *Aeromonas hydrophila*'ya karşı dirençleri incelenmiştir. 126 adet 13 g ortalama ağırlığa sahip balıklarla başlanan çalışmada ribonükleik asit % 0,1, 0,2 ve 0,4 oranında 25 mg/kg ve 50 mg/kg dozunda balıklara verilmiştir. Yüzde ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı, protein verimlilik oranı kayda değer artış göstermemiştir. Hemogloblin içeriği ve total eritrosit sayısı normal seviyelerinde seyretmiş ve immunostimulant uygulanan balıklarda bir değişiklik olmamıştır. En yüksek total lökosit sayısı, fagositik aktivite % 0,4 kitin kullanılan balıklarda gözlenmiştir. *Aeromonas hydrophila*'ya karşı yapılan direnç testlerinde en yüksek oran da yine % 0,4 kitin uygulanan grupta gözlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında % 0,4 kitin kullanılan balıkların *A. hydrophila*'ya en iyi korunumu sağladığı ve bağışıklığı güçlendirdiği tespit edilmiştir.

Kumari ve Sahoo (2005), siklofosfamid (CYP) uygulanan asya kedi balığının (*Clarias batrachus*) bağışıklığında ne tür değişimler meydana geldiğini ve bu balığın üretiminde bir bağışıklık uyarıcı olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. CYP intraperitoneal olarak 200 mg/kg canlı ağırlık dozajında balıklara uygulanmıştır. Uygulamadan 72 saat sonra süperoksit üretimi, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, hücre hacmi, toplam protein, lizozim, alternatif komplement aktivitesi, doğal hemoglobulin seviyeleri ölçülüp, *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilerek kontrol testleri yapılmıştır. Çalışma sonunda süperoksit üretimi, MPO aktivitesi, ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı hayatta kalma oranları kayda değer yüksek olmuştur. Bu çalışma sonunda CYP'in bağışıklığı uyarıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Kumari ve Sahoo (2006), bağışıklık sistemi siklofosfamid (CYP) ile uyarılmış asya kedi balıklarının (*Clarias batrachus*) β -1,3 glukan, levamisol, C vitamini ve laktoferin uygulanarak bağışıklık sisteminde oluşan değişimleri test etmişlerdir. Çalışmada tüm uyarıcılar, balıklara enjekte edilmiştir. Enjekte edildikten 72 saat sonra balıklardan numuneler alınarak hücresel ve humoral değişimler tespit edilmiştir. Tüm gruplarda bağışıklık parametreleri kayda değer yükselmiştir.

Liang ve ark. (2006), balık proteini olan hidralizatın (FPH) japon levrekleri (*Lateolabrax japonicus*) üzerinde yemsel uygulama sonucu bağışıklık etkisini incelemişlerdir. Çalışmada parotein kaynağının % 0, 5, 15 ve 25 FPH'tan oluşan yemler hazırlanmış ve balıklar bu yemlerle 60 gün boyunca beslenmişlerdir. Yemlemeden 30 ve 60 gün sonra balıklardan kan örnekleri alınarak lizozim ve komplement aktiviteleri test edilmiştir. % 15 FPH'ın 30 günlük uygulaması en yüksek lizozim ve komplement aktivitesi sonucunu vermiştir. FPH'ın yüksek ve en düşük dozları bağışıklık sisteminde herhangi bir değişime neden olmamıştır. FPH'nin büyüme üzerinde herhangi olumlu ya da olumsuz etkisine rastlanılmamıştır.

Rairakhwada ve ark. (2006), sazan balığının spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerinde mikrobiyal levanın etkilerini, 75 günlük yem uygulaması ile incelemişlerdir. % 0,1, 0,2, 0,5 ve 1,0 levan uygulama dozajı olarak kullanılmıştır. Eritrosit sayısı ve hemoglobin konsantrasyonu % 0,5 levan uygulanan grupta kayda değer oranda artmışken total protein oranı ve lökosit sayısında bir değişiklik olmamıştır. Fagositlerin solunum yükseltme aktivitesi ve lizozim aktivitesi en yüksek olan grupta % 0,5 levan olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular ışığında % 0,5 levan içeren yemleri yemsel immunostimulat olarak kullanılabilceği sonucuna varmışlardır.

Misra ve ark. (2006), farklı dozlardaki tuftsın (fagozitozis uyarıcı peptit)(T) enjeksiyonunun *Labeo rohita* yavrularında bağışıklık yanıtının *Aeromonas hydrophila* ve *Edwardsiella tarda* gibi enfeksiyon oluşturan bakterilere karşı ne şekilde etkilediğini tespit etmeye çalışmışlardır. Bu maksatla, hazırlana T enjeksiyonu 0, 5, 10 ve 15 mg/kg canlı ağırlık olacak şekilde dört farklı dozda her iki haftalık sürede toplam dört kez yapılmıştır. Her iki hafta sonunda immunolojik testler yapılmış ve çalışma 56 gün sürdürülmüştür. Çalışma sonunda balıklar hem enjeksiyonla hemde daldırma yöntemiyle *A. hydrophila* ve *E. tarda* enfeksiyonlarına maruz bırakılarak kontrol testleri yapılmıştır. Çalışmada uygulama sonrasında 42. günden sonra 10 mg/kg uygulama yapılan grupta bağışıklık parametrelerinde kayda değer artış olmuştur.

Watanuki ve ark. (2006), sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*), yeme katılan *Spirulina platensis*'in bağışıklık uyarıcı etkisini incelemişlerdir. Çalışmada balık başına 1, 10 ve 25 mg *S. platensis* gelecek şekilde yemler hazırlanmış ve balıklara 3 gün boyunca verilmiştir. Uygulama sonrası 1, 3 ve 5. günler sonrası balıklarda bağışıklık testleri yapılmıştır. Çalışma sonunda *S. platensis* uygulanan tüm gruplarda fagozitik aktivitenin ve

Böbrekteki fagozitik hücrelerin süperoksid üretiminin arttığı tespit edilmiştir. Böbreklerdeki fagozitik hücrelerin süperoksit anyonu artması 5. gün yapılan testlerde en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, sazan balıklarında *S. platensis* 'in bağışıklık sistemini uyarıcı etkileri olduğu tespit edilmiştir.

BÖLÜM 3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneyin Kurgulanması

Çalışmada kullanılacak olan balıklar üç hafta boyunca aynı tip yemle beslenmiştir. Daha sonra bu balıklar boylanıp 4500 adet her bir havuza gelecek şekilde stoklanmıştır. Havuzların her biri tesadüfi olarak seçilip üç tekerrürlü olacak şekilde gruplar rastgele örnekleme ile belirlenmiştir. Bu belirlenen gruplardan kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamış ve ticari yemle beslenmeye çalışma boyunca devam edilmiştir. Diğer gruplarda ise tetra ve defne tozları yemlere % 1 ve % 0,5 oranlarında gelecek şekilde karıştırılarak günde üç öğün verilmiştir. Üç hafta sonrasında havuzlardan rastgele balıklar alınmış ve bağışıklık testleri yapılmıştır. Üçüncü haftadan itibaren balıklara bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan bitkisel hammaddelerin uygulaması durdurulmuş ve buna müteakip üç haftada bir havuzlardan örnekler alınıp bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimler takip edilmiştir. Çalışma dokuzuncu hafta sonunda sonlandırılmıştır.

3.2. Deneme Yeri

Deneme, Filiz Su Ürünleri'ne ait, Kırklareli Vize ilçesinin Baklaya köyünde bulunan Istranca tesislerinde 8 m uzunluğunda, 1,2 m derinliğinde ve 3 m genişliğinde ve kullanılabilir hacmi toplam 24 m³ olan beton havuzlarda gerçekleştirilmiştir.

3.3. Deneme Balıkları

Çalışmada, ortalama $89,25 \pm 0,12$ g olan alabalıklar (*Onchorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Alabalıklar her havuza 4500'er adet olarak stoklanmıştır.

3.4. Kullanılan Bağışıklık Uyarıcılar

3.4.1. Defne (*Laurus nobilis*)

Defne, yapraklarını dökmeyen ve siyah kabuklu ağaç türüdür ve ülkemizde genel olarak Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinde yetişir. Defnenin sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir:

Alem: Plantae
Altalem: Tracheobionta
Bölüm: Magnoliophyta
Sınıf: Magnoliopsida
Altsınıf: Magnoliidae
Ordo: Laurales
Familya: Lauraceae
Genus: *Laurus* L.
Tür: *Laurus nobilis*

Yaprağı ve meyvesinin yağı ihraç edilir. Dünya defne yaprağı ihtiyacının % 80'ini Türkiye karşılamaktadır. Akdeniz Bölgesi'nde en çok Hatay'da yetiştirilen defnenin yaprakları Avrupa'ya ihraç edilmekte ve Avrupa ülkelerinde ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır.



Şekil 4. Defne (*Laurus nobilis*).

Yapraklarını dökmediğinden dolayı her zaman yapraklarını toplama imkanı olsa da genel olarak Mayıs ve Ekim ayları arasında toplanan yapraklar daha etkilidir. Meyveleri önce yeşilken daha sonraları siyah bir renk alır.

Defne bitkisinin tıbbi ve kozmetik amaçlı olarak kullanılan bölümü yaprak ve yaprağından elde edilen uçucu esansiyel yağdır. Defne meyvelerinden elde edilen defne yağı antiseptik özelliğe sahiptir.

3.4.2. Tetra (*Cotinus coggyria*)

Tetra ülkemizde Marmara Bölgesi'nin Kırklareli ili sınırlarında kalan bölgede yayılım gösteren, özellikle insan ve hayvan sağlığında tedavi amaçlı olarak kullanılan önemli bir bitki türüdür (Kültür, 2007). Tetra bitkisinin sistemeatikteki yeri aşağıdaki gibidir:

Alem: Plantae
Bölüm : Angiospermae
Sınıf: Eudicots
Ordo: Sapindales
Family: Anacardiaceae
Genus: *Cotinus*
Tür: *Cotinus coggyria*



Şekil 5. Tetra (*Cotinus coggyria*).

Tetra, 2-7 m uzunluğa kadar ulaşabilir. Yaprakları 3-8 cm ve oval şekillidir. Haziran ve Temmuz aylarında salkım şeklinde terminal durumlu sarımsı renkte çiçekler açar. Yaprakları Nisan ve Haziran ayları arasında toplanır.

3.5. Genel Beslenme Protokolü

Denemeler başlamadan önce üç hafta boyunca balıklar Çamlı Yem A.Ş. tarafından üretilen ekstrude, 4 mm ticari yemle günde üç defa yemlenmiştir. Çalışma dokuz hafta sürmüş ve deneme sonunda tüm balıklar 0,01 g hassasiyetindeki Dermac marka elektronik terazide gruplar halinde tartılmak suretiyle ortalamaları hesaplanmıştır.

Çalışmaya balıkların adaptasyon sürecinde kullanılan yemlerle devam edilmiştir. Çalışmada kullanılan yemin kimyasal kompozisyonu Çizelge 4’te verilmiştir. Deneme yemlerinin kimyasal analizleri AgroMarine A.Ş’ye ait laboratuvarlarda yapılmıştır.

3.6. Bağışıklık Uyarıcı Bitkilerin Yemlere Katılması

Çalışmada, daha önceden antimikrobiyal aktivitesi tespit edilen defne (*Laurus nobilis*) (Çizelge 4) ve tetra (*Cotinus coggyria*) (Dülger ve ark., 2009) (Çizelge 5) olmak üzere iki farklı doğal bitki kullanılmıştır. Bu doğal bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinden elde edilen verilere göre uygulama dozu belirlenmiştir. Defne yaprakları Çanakkale’deki aktarlardan, tetra yaprağı ise Kırklareli ili, Vize ilçesi, Baklaya Köyünde bulunan ormanlık alandan toplanmıştır. Toplanan yapraklar normal şartlar altında kurutulmuştur. Kurutulan yapraklar, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarlarında bulunan mini değirmende öğütülüp toz haline getirilerek yemlere katılmaya uygun hale getirilmiştir.

Çizelge 4. Defne (*Laurus nobilis*) antimikrobiyal aktivitesi

Bakteri	Kısıtlama Zonu (mm)	
	Ethanol Özütü	Kloramfenikol
<i>Bacillus cereus</i>	12	16,2
<i>Bacillus subtilis</i>	12,5	15,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,6	18,2
<i>Micrococcus luteus</i>	14,8	17,8
<i>Escherichia coli</i>	9,5	18,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10,5	18,2
<i>Proteus vulgaris</i>	8	16,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,6	24,8
<i>Pseudomonas putida</i>	9,5	20,4
<i>Salmonella typhimurium</i>	8	16,8
<i>Salmonella typhi</i>	8,6	16

Çizelge 5. Tetra (*Cotinus coggyria*) antimikrobiyal aktivitesi (Dülger ve ark., 2009)

Bakteri	Kısıtlama Zonu (mm)	
	Ethanol Özütü	Kloramfenikol
<i>Bacillus cereus</i>	15,6	16,2
<i>Bacillus subtilis</i>	16,2	15,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	22,8	18,2
<i>Micrococcus luteus</i>	19,2	17,8
<i>Escherichia coli</i>	12,4	18,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13,6	18,2
<i>Proteus vulgaris</i>	10,4	16,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11,2	24,8
<i>Pseudomonas putida</i>	12,4	20,4
<i>Salmonella typhimurium</i>	10,4	16,8
<i>Salmonella typhi</i>	11,2	16

Toz hale getirilip kapalı kaplarda saklanan defne ve tetra tozları yemlemeden bir saat önce yemlere uygulanmıştır. Uygulamada ise % 0,5 ve % 1 oranında kullanılacak bitki tozları, 500 ml su içerisinde homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra her 500 ml sıvı karışım 25 kg yeme uygulanacak şekilde püskürtme yöntemiyle yemlere eklenmiştir. Uygulama sonrasında elde edilen karışım bir saat bekledikten sonra balıklara verilmiştir.

3.7. Balık Büyüme ve Yem Analizleri

3.7.1 Nem Tayini

Yem ve balığın nem içeriği A.O.A.C. (1990) prosedürüne göre belirlenmiştir. Özet olarak yem ve balık tartılmış ve fan destekli Scaltec etüvde sabit ağırlığa gelene kadar 105°C de kurutulmuştur. Örneklerin nem yüzdesi aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Nem (\%)} = (\text{Kuru örnek ağırlığı g} - \text{Yaş Örnek Ağırlığı g} / \text{Yaş Örnek Ağırlığı g}) \times 100$$

3.7.2. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması

Balık ve yem örneklerinin toplam yağ içeriği sokslet ekstrasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Sokslet ekstrasyon işlemini yürütmek amacıyla, 3 g kuru madde tartılmış ve aletin ayrıştırıcı kısmına yerleştirilmiştir. Örnek, 130 cm³ petrol eteri ile 40 dakika boyunca sifonlama işlemine tabi tutularak petrol eteri yağ baloncuğunda toplanmıştır. Bu işlemden sonra yaklaşık 70 dakika sirkülasyon olayı devam etmiştir. Bu periyottan sonra tekrar sifonlama işlemi yapılmış ve yağ baloncuğunda geriye kalan çözelti, buharlaşma yoluyla uzaklaştırılmıştır. Yağ baloncuğunun ağırlık değişimi örneğin yağ içeriğini orantılı olarak verir. Bu yüzden kuru maddedeki yağ oranı aşağıdaki formülde olduğu gibi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ham Yağ} = \text{Yağ baloncuğunda biriken yağ miktarı (g)} / \text{Örnek ağırlığı (g)} \times 100$$

3.7.3.Ham Kül İçeriğinin Saptanması

Kuru materyalin ihtiva ettiği kül içeriği A.O.A.C (1990) kitabına göre belirlenmiştir. 500 mg kuru örnek tartılmış ve bir porselen kaba konmuş ve NÜVE marka fırınında 525 °C'de 8 saat yakma işlemine tabii tutulmuştur. Porselen kapların ağırlık değişimine dayanarak örneğin kül içeriği aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ham Kül İçeriği} = \text{Porselen Kaptaki Ağırlık Değişimi} / \text{Örnek Ağırlığı} \times 100$$

3.7.4.Ham Protein İçeriğinin Saptanması

Yem örneklerinin protein içeriği Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir. Tipik olarak, sindirim tüpleri içerisine 500 mg kuru materyal üçlü tekerrür olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sonra tüpler içerisine 1 adet Kjeldahl katalizer tableti (3 g K₂SO₄, 105 mg CuSO₄, 5H₂O ve 105 mg TiO₂, Thompson and Capper Ltd, Runcorn, Cheshire) atılmış ve 15 ml sülfürik asit H₂SO₄ örnek ve katalizer tabletin üstüne eklenmiştir. Sindirim Gerhardt Kjeldatherm sindirim bloğunda gerçekleştirilmiştir. Sindirim tüpleri ilk önce 250 °C'de 30 dakika ardından da 380 °C'de 75 dakika yakılmıştır.

Sindirimden sonra soğuyan örnekler, Gerhardt Vapodest 3S distilasyon ünitesinde distile su ve nötröle edilmiş % 40'lık NaOH çözeltisi ile seyreltilmiştir. Örneklerdeki inorganik amonyum 25 ml doymuş orthoborik asit çözeltisine BDH '4,5' indikatörü eklenmiş

ve örneklerdeki inorganik amonyum toplanmıştır. Örnekler 0,1 mol'lük hidroklorik asit (HCl) ile titrasyon yapılmıştır.

Kuru örneklerdeki protein yüzdesi aşağıdaki şekilde olduğu gibi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ham Protein} = [\text{titrasyonda harcanan} - \text{kör örnek}] \times 0,1 \times 14,007 \times 6,25 / \text{örnek ağırlığı} \times 100$$

Formülde;

$$0,1 = \text{HCl mol olarak değeri}$$

$$14,007 = \text{Nitrojenin molekül kütlesi}$$

$$6,25 = \text{Örneğin nitrojen ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi belirleyen sabit katsayı}$$

3.7.5. Ham Selüloz İçeriğinin Saptanması

1 g kuru örnek 250 ml'lik bir behere tartılarak, üzerine 100 ml % 1,25'lik H₂SO₄ eklenip ısıtıcı üzerinde kaynatılmıştır. Kaynama sonrası, karışıma 10 ml % 28'lik KOH çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika daha kaynatılmıştır. Kaynatılan örnekler sıcak olarak süzülükten sonra üzerlerine 10 ml % 1'lik H₂SO₄, sıcak saf su, 10 ml % 1'lik NaOH, sıcak saf su, sonra tekrar % 1'lik H₂SO₄, 22 defa sıcak su ve son olarakta saf su eklenerek yıkanmıştır. Süzgeçte kalanlar 105 °C'lik etüvde 1,5 saat kurutulmuş, daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır. Bu birinci tartımdan sonra, 550 °C'lik kül fırınında 30 dakika yakılmış, desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır. Bu ikinci tartımdan sonra aşağıdaki formülle ham selüloz miktarı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ham Selüloz} = \text{Birinci Tartım (g)} - \text{İkinci Tartım (g)} / \text{Örnek Ağırlığı (g)} \times 100$$

3.7.6. Ortalama Bireysel Ağırlık (g)

$$\text{Tartılan Balıkların Toplam Ağırlığı (g)} / \text{Tartılan Balıkların Sayısı}$$

3.7.7. Canlı Ağırlık Artışı (%)

$$(\text{Son Ağırlık (g)} - \text{Başlangıç ağırlığı (g)}) / \text{Başlangıç Ağırlığı (g)} \times 100$$

3.7.8. Yem Değerlendirme Oranı (YDO) (%)

Yem değerlendirme oranı, tüketilen yem miktarı ile balıkların ağırlık kazanımının oransal ifadesidir.

$$\text{Yem Değerlendirme Katsayısı (YDO)} = \text{Tüketilen Yem (g)} / \text{Ağırlık Artışı (g)} \times 100$$

3.7.9. Spesifik Büyüme Oranı (SBO) (%)

Spesifik büyüme oranı herhangi bir periyotta günlük canlı ağırlık artışını yüzdelik olarak anlık büyümenin hesaplanmasında kullanılmıştır.

$$\text{Spesifik Büyüme Oranı (\% gün}^{-1}\text{)} = [\text{Ln (Son Ortalama Ağırlık g)} - \text{Ln (Başlangıçtaki ortalama Ağırlık g)}] / \text{Deneme gün sayısı} \times 100$$

3.8. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi

Bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimleri incelenmesi için her havuzdan alınan balıklar 33*33*50 cm ölçülerinde tam kapalı ağ torbalara 7'şer adet 1 tonluk tankın içine konulmuş, çiftliğin olduğu yerden 2 saat uzaklıkta İstanbul'da bulunan Beta-Lab Ltd. Şti.'ye ait ticari laboratuara götürülmüştür. Burada balıkların kan örnekleri kaudal venadan steril bir enjektör yardımıyla alınmıştır. Kan örnekleri alındıktan hemen sonra lökosit izolasyonu yapılmıştır. Bu aşamadan sonra hücre içi solunum etkisi, hücre dışı solunum etkisi, fagozitik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein oranı değerleri tespit edilmiştir. Çalışmada, tüm gruplar taşıma ve kan alımı esnasında strese maruz kalmışlardır.

3.8.1. Lökosit İzolasyonu

Lökositler kandan yoğunluk-eğim santrifüj metoduyla izole edilmiştir (Rowley, 1990; Jeney ve ark. 1997). pH 7.3 olan bakto hemaglutinasyon tampon solusyonu içeren 1ml histopaque

1.119 (Sigma, St. Louis, MO) silikon santrifüj tüpün dip kısmına konulmuştur. Sırasıyla baktı hemaglutinasyon tampon solüsyonu içeren 1ml histopaque 1.077 ve 1ml kan örneği katman oluşturacak şekilde dikkatlice tüpe eklenmiştir. Solüsyon $500 \times g$ +4 °C’ de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Lökosit arayüzünü oluşturan süspansiyon şırınga yardımıyla tüpten ayrılıp tüp içerisinde kalan hücreler fenol red-free Hank’s denge solüsyonu (HBSS) ile iki kez yıkanmış ve 2×10^6 yaşanabilir hücre/ml oranında eklenmiştir.

3.8.2. Solunum Etkisi (Respiratory Burst)

Fagositik hücrelerin bakteriyel aktiviteleri Chung ve Scombes (1988) tarafından belirlenen iki farklı metotla (hücre içi ve hücre dışı aktivite) tespit edilmiştir. Bu yöntemde, 100 µl phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, Sigma, 1 µg/ml) içeren sitokrom *c* solüsyonu (2 mg/ml HBSS solüsyonu) 100 µl’lik lökosit süspansiyonuna eklenmiştir. Başka bir deyişle, PMA içeren 100 µl sitokrom *c* solüsyonu ve superoksit dismutaz (SOD, Sigma, 300 U/ml) lökosit süspansiyonuna eklenmiştir (100 µl). Örnek karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 15 dakika tutulmuştur. Örnek çoklu taramalı spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda okunmuştur. Okuma esnasında kör örnek olarak sitokrom *c* solüsyonu kullanılmıştır. Okuma değerleri nanamol O_2^- değerlerine dönüştürülüp sonuçlar her 10^5 kan lökositini üretimi için nanamol O_2^- değeri şeklinde ifade edilmiştir. Superoksit anyonlarının hücre içi üretimleri formazan kristallerinin oluşması ile tespit edilmiştir. Bunun için, 100 µl lökosit solüsyonu 1 µg/ml PMA ve SOD (300 U/ml) 100 µl netroblue tetrazolium (NBT, (PBS içinde % 0,2)) ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 60 dakika inkübasyon sonrası karışım $500 \times g$ ’de 3 dakika santrifüj edilip tabaka oluşturan sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Santrifüj tüpü dibinde kalan hücreler HBSS solüsyonu ile iki kez yıkanmıştır ve % 70 metanol içinde sabitlenmiştir. Formazan kristalleri 120 µl 2M KOH ve 140 µl DMSO’dan oluşan solüsyon içinde çözülmüştür. İki solüsyonun karışımı sonrası renk turkuaza döndükten sonra absorbans 620 nm de KOH/DMSO (120 µl 2M KOH/140 µl DMSO) kör örneği ile okunmuştur.

3.8.3. Fagozitik Aktivite

Lökositlerin fagositik aktivitesi Seeley ve ark. (1990)'a göre tespit edilmiştir. Hücreler tarafından fagozite edilen Congo kırmızısı ile boyanmış maya hücreleri bu çalışmada kullanılmıştır. İlk olarak, maya hücreleri (*Saccharomyces cerevisiae*) Congo kırmızısı ile boyanmıştır. Boyama işlemi, % 0,87 PBS içinde 3 ml Congo kırmızısı 1,5 g maya hücresine eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığın 15 dakika bekletilmiştir. Karışımın üzerine 7 ml distile su eklenmiştir ve oluşan solüsyon karıştırılıp maya hücrelerinin ölmesi için 15 dakika otoklavlanmıştır. Hücreler HBSS içinde birkaç kez yıkandıktan sonra +4 °C kullanılarına kadar saklanmıştır. Kullanım esnasında hücreler 4×10^7 hücre/ml olacak şekilde HBSS içinde solüsyon haline getirilmiştir. 250 µl lökosit 500 µl Congo kırmızı ile boyanmıştır ve maya hücre solüsyonu otoklavlanmıştır (maya hücresi/lökosit 40/1). Karışım oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasında 1 ml HBSS ve 1ml histopaque (1.077) katman yapacak şekilde tüpün içine şırınga yardımıyla eklemiştir. Örnekler 850 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve bu şekilde makrofajlar ayrılmıştır. Makrofajlar HBSS ile iki kez yıkanmıştır. Hücrelere 1ml trypsin-EDTA solüsyonu eklenmiştir (5 g/l trypsin ve 2 g/l EDTA, Sigma) ve 37 C°'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Absorbans 510 nm'de trypsin-EDTA kör örneğine karşı okunmuştur.

3.8.4. Lizozim Aktivitesi

Lizozim aktivitesi Osseman ve Lawlor (1966) tarafından belirlenen ve Bagni ve ark. (2000) tarafından geliştirilen lysoplate metodu ile tespit edilmiştir. 50µl serum üçlü grup oluşturacak şekilde ekim kabına 50µl PBS (pH 5,8) ile karıştırılarak konulmuştur. Her karışımdan 50µl örnek alınarak 125µl *Micrococcus luteus* (75mg/ml fosfat denge) ile karıştırılmıştır. Örnekler 0-15 dakika içinde oda sıcaklığında ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda standart olarak yumurta beyazı lizozimi (Sigma USA) ile okunmuştur.

3.8.5. Toplam Protein Seviyesi

Plazmadaki toplam protein içeriği ticari Sigma, P 5656 protein kiti kullanılarak Lowry reaksiyonu prensibine göre yapılmıştır. Bovine serum albumin standart olarak kullanılmıştır ve ölçümler g/dl olarak verilmiştir (Düğenci ve ark., 2003).

3.9. İstatistiksel Analizler

Farklı bitkisel bağışıklık uyarıcıların büyüme performansları ve bağışıklık üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi Statgraphics 10.0 (Manugistics Incorporated, Rockville MD, USA) istatistik programı yardımıyla önce varyansların homojenlikleri Levene testi ile belirlenmiştir (Çizelge 6). Daha sonra varyans analizine (ANOVA) sonra da LSD Multiple Range Test'ine tabi tutularak yapılmıştır ($P < 0,05$) (Çizelge 7). Sonuçlar ortalama standart hata olarak verilmiştir.

Çizelge 6. Homojenite testi

Varyansların Homojenite Testi (Levene)				
	Levene Testi	df1	df2	Önem
Hücreiçi Solunum Etkisi	1,156	4	40	0,344
Hücre dışı Solunum Etkisi	2,054	4	40	0,078
Fagozitik Aktivite	0,369	4	40	0,829
Lizozim Aktivitesi	1,172	4	40	0,338
Total Protein Seviyesi	1,909	4	40	0,183

Çizelge 7. ANOVA testi

		ANOVA				
		Kareler Toplamı	Serbestlik derecesi	Karelerin Ortalaması	F	Önem
Hücreiçi Solunum Etkisi	Gruplar arası	5,117	4	1,279	53,942	0,000
	Gruplar içi	0,949	40	0,024		
	Toplam	6,065	44			
Hücre dışı Solunum Etkisi	Gruplar arası	0,114	4	0,028	53,962	0,000
	Gruplar içi	0,021	40	0,001		
	Toplam	0,135	44			
Fagozitik Aktivite	Gruplar arası	14,879	4	3,720	297,233	0,000
	Gruplar içi	0,501	40	0,013		
	Toplam	15,379	44			
Lizozim Aktivitesi	Gruplar arası	2405876,08 9	4	601469,022	31,872	0,000
	Gruplar içi	754851,111	40	18871,278		
	Toplam	3160727,20 0	44			
Total Protein Seviyesi	Gruplar arası	10,115	4	2,529	28,438	0,000
	Gruplar içi	3,557	40	0,089		
	Toplam	13,672	44			

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ticari Yemin Kimyasal Kompozisyonu

Çalışmada kullanılan Çamlı Yem A.Ş.'ne ait yemlerin analizi sonucu ham proteini % 45,8 ve toplam yağı % 18,1 oranında bulunmuş olup elde edilen kimyasal kompozisyonu Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 8. Deneme yeminin kimyasal kompozisyonu

Kimyasal Kompozisyon (%)	Deneme Yemi
Nem	10,1 ± 0,07
Ham Protein	45,8 ± 0,32
Ham Yağ	18,1 ± 0,24
Ham Selüloz	1,5 ± 0,21
Ham Kül	8,5 ± 0,03

Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir.

Aynı parti yemden 3 tekerrürlü analiz yapılmıştır.

Yem 4 mm büyüklüğündedir.

4.2. Bağışıklık Uyarıcıların Büyüme ve Yem Değerlendirmeye Etkisi

Çalışma sonunda gruplar arasındaki yem değerlendirme oranları ve spesifik büyüme oranları değerlendirilmiştir. Büyüme performansına bağlı veriler Çizelge 5'te verilmiştir.

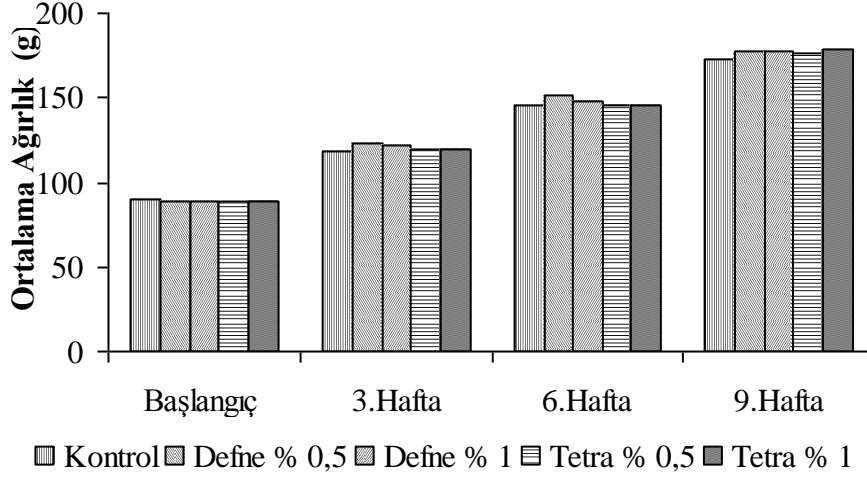
Çizelge 9. Denemede kullanılan bitkilerin büyüme performansına olan etkileri

	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
Başlangıç					
Ağırlığı (g)	89,53 ± 0,47	89,18± 0,07	88,96± 0,54	89,24± 0,05	89,32± 0,13
Son Ağırlık					
(g)	172,69± 2,98	177± 5,89	177,52± 3,22	176,38± 3,12	178,99± 5,23
SBO (%/gün)	1,04± 0,1	1,09± 0,11	1,10± 0,9	1,08± 0,11	1,10± 0,14
YDO	0,99± 0,11	1,02± 0,15	1± 0,12	1,05± 0,13	0,98± 0,11

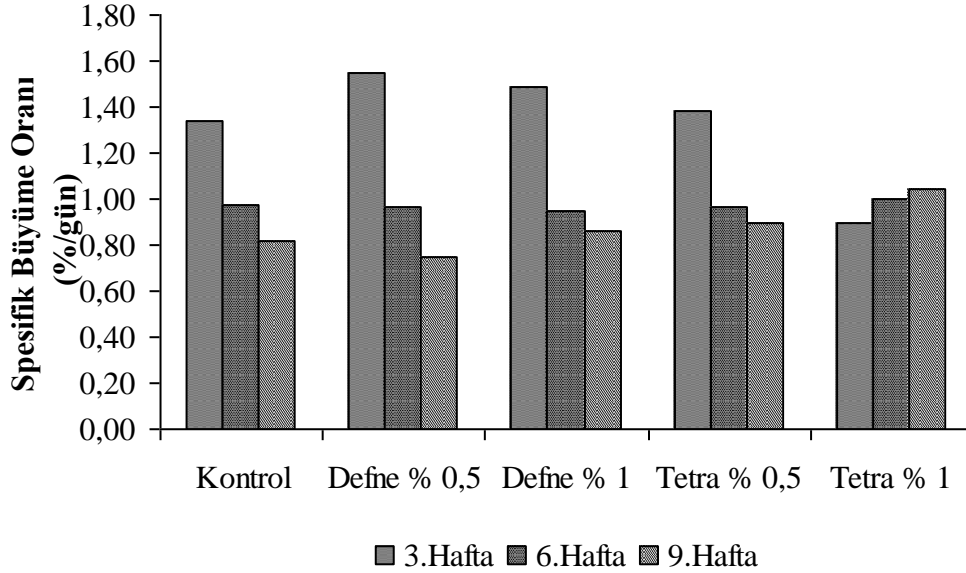
Tüm verilerin ortalamaları ve standart sapmaları verilmiştir. SBO: Spesifik büyüme oranı. YDO: Yem değerlendirme oranı.

Balık üretiminde iki önemli unsur balıkların hızlı büyümesi ve hastalıklara yakalanmamasıdır. Başarılı bir üretimin yapılabilmesi için bu iki temel etmenin sorunsuz şekilde sağlanması gerekir. Denemenin başlatıldığı ilk gün ve deneme sonu elde edilen verilere göre büyüme performansı açısından gruplar arasındaki son ortalama ağırlık, spesifik büyüme oranı ve yem değerlendirme katsayısı arasında istatistiksel olarak farklılık bulunamamıştır ($P > 0,05$). Çalışmada kullanılan defne ve tetra bitkilerinin büyümeye herhangi bir olumlu ya da olumsuz etkisi olmamıştır. Ashida ve ark. (2005), bağışıklık etkisini inceledikleri fermente edilmiş sebze ürünlerinin japon dil balığının (*Paralichthys olivaceus*) büyümesinde yaptığımız çalışmaya benzer olarak herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bunlardan farklı olarak, Li ve ark. (2006), bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan levamisolün çizgili levrek balıklarında (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*), Cook ve ark. (2003), ticari bir ürün olan EcoActiva®'nın mercan balıklarında (*Pagrus auratus*), Keleş ve ark. (2002), zeranolin alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeyi olumlu yönde etkilediğini tespit etmişlerdir. Düğenci ve ark. (2003), alabalıklar üzerinde kullandıkları zencefil, ökse otu ve ısırgan otunun büyüme parametrelerini optimum tuttuğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmada elde edilen spesifik büyüme oranları Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 6. Denemede kullanılan defne ve tetra bitkilerinin alabalıkların ortalama ağırlığına etkileri.



Şekil 7. Denemede kullanılan defne ve tetra bitkilerinin alabalıkların spesifik büyüme oranına etkileri.

Çalışmamızda yem değerlendirme katsayısı gruplar arasında farklılık göstermemiştir ($P > 0,05$).

4.3. Bağışıklık Sisteminde Meydana Gelen Değişimler

Araştırmada bağışıklık parametrelerinden hücre içi ve hücre dışı solunum etkisi, fagozitik aktivite ve lizozim aktivitesi kontrol edilmiştir.

4.3.1. Solunum Etkisi (Respiratory burst)

Solunum etkisi, etkinleştirilmiş oksijen türlerinin (süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit) farklı tipteki hücrelerden hızlı bir şekilde serbest bırakılmasıdır. Genellikle nötrofil ve monosit gibi bağışıklık hücrelerinden bu kimyasalların serbest bırakılmasını ifade eder. Vücuda yabancı amiller girdiği takdirde (bakteri, mantar, parazit) fagozitozis ile birlikte artış eğilimi gösteren bağışıklık tepkisini de ifade eder. Bu çalışmada süperoksit radikallerinin etkinliği hücre içi ve hücre dışı olarak incelenmiştir. Her iki araştırma şeklide solunum etkisini ifade etmektedir.

4.3.1.1 Hücre İçi Aktivasyon (Intracellular)

Çalışma sonucu haftalara bağlı olarak gruplar arasında elde edilen hücre içi solunum etkisindeki değişimler Çizelge 6'da gösterilmiştir.

Çizelge 6'da görüldüğü gibi 3 hafta sonunda elde edilen veriler ışığında % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra içeren yem uygulanan gruplarda hücre içi aktivitenin Kontrol ve Defne içeren gruplara oranla kayda değer arttığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Tetra uygulanan gruplarda ise aynı hafta içerisinde % 1 Tetra içeren yemlerin alabalıklarda hücre içi aktivasyonu % 0,5 Tetra grubuna göre daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre hücre içi aktivitenin 3. haftaya benzer olarak 6. ve 9. haftalarda yapılan ölçümlerinde de Defne gruplarında bir değişiklik olmazken Tetra gruplarında arttığı belirlenmiştir. Tetra grupları arasında da 3. haftaya benzer olarak 6. ve 9. haftalarda % 1 Tetra grubunun hücre içi aktivitesinin % 0,5 Tetra grubuna oranla kayda değer arttığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Çizelge 10. Zamana bağlı hücre içi solunum etkisi

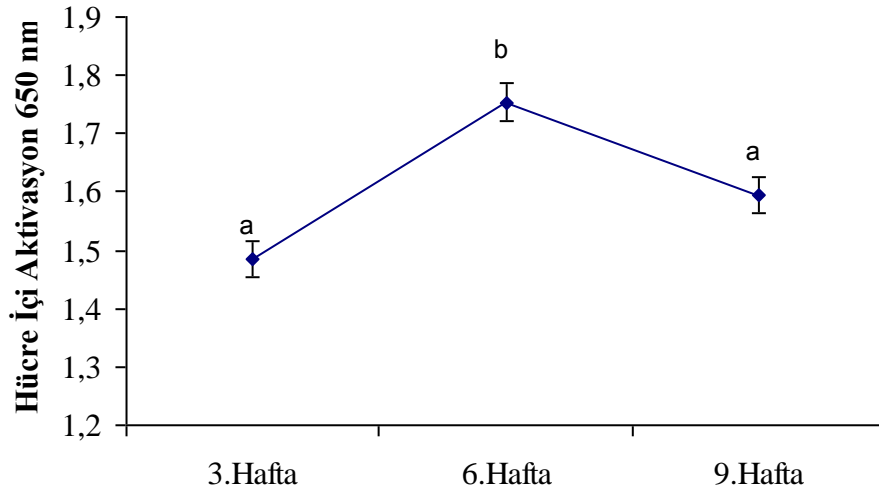
Hücre İçi Aktivasyon					
	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
3.Hafta	0,99 ^a ±0,03	0,94 ^a ±0,04	1,01 ^a ±0,11	1,49 ^b ±0,03	1,79 ^c ±0,04
6.Hafta	1,06 ^a ±0,01	1,16 ^a ±0,05	1,23 ^a ±0,12	1,75 ^b ±0,03	2,09 ^c ±0,04
9.Hafta	1,10 ^a ±0,03	1,05 ^a ±0,04	1,12 ^a ±0,11	1,59 ^b ±0,03	1,90 ^c ±0,04

Her haftalık dilimde kullanılan a,b ve c harfleri haftalara bağlı birbirinden bağımsız olarak istatistiksel farklılığı ifade eder (P< 0,05). n=9.

Dalmo ve ark. (1996), oral yolla uyguladıkları laminaranın aynı şekilde uygulanan dektran ve sodyum kloride oranla hücre içi solunum etkisinin çalışmamıza benzer olarak arttığını tespit etmişlerdir. Verlhac ve ark. (1998), C vitamini uygulamasının alabalıklarda solunum etkisini arttırdığını bununla birlikte glukanın etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Ortuno ve ark. (1999), C vitamininin yüksek dozlarda sekiz haftalık uygulama sonrasında, çalışmamızda % 0,5 ve % 1 Tetra içeren uygulamalara benzer olarak solunum etkisini arttırdıklarını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar % 0,5 ve % 1 Tetra içeren gruplardan elde ettiğimiz sonuçlarla örtüşmektedir. Cook ve ark. (2001), ticari bir ürün olan Ecoactiva[®]'nin mercan balıklarında solunum etkisini arttırdığını tespit etmişlerdir. Jeney ve Jeney (2002), farklı glukon dozlarının mersin balıklarında 8 haftalık uygulama sonrasında 2. haftada solunum etkisinin kayda değer oranda arttığını tespit etmişlerdir. İlerleyen haftalarda solunum etkisi azalmış ve kontrol grupları arasında farklılık gözlenememiştir.

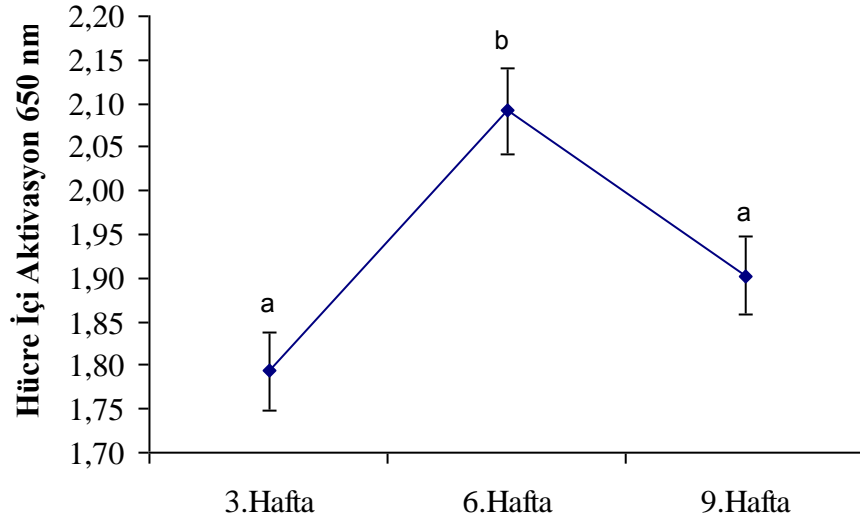
Çalışmada Tetra ile beslenen gruplardaki değişim fermente edilmiş sebzelerle beslenen Japon dil balıklarında (*Paralichthys olivaceus*) da gözlenmiştir (Ashida ve Okimasu, 2005). Gopalakannan ve Aru (2006), sazan balıklarında kitosan, kitin ve levamisolün solunum etkisini tetiklediğini bununla birlikte en yüksek hücre içi solunum etkisi artışının kitosan uygulanan balıklarda 30. günde gözlendiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda Defne içeren gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında haftalara bağlı olarak herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Esteban ve ark. (2005), benzer olarak laktoferin içeren yemlerle besledikleri çipuralarda solunum etkisinde bir değişiklik gözleyememişlerdir. Cuesta ve ark. (2005), arıların ürettikleri propolis maddesinin yemlerle çipuralara verilmesi sonucu solunum etkisinin değişmediğini tespit etmişlerdir. Ortuno ve ark. (2000), E vitaminin yüksek dozlarda uygulanması sonucu çipura balıklarında solunum etkisinin olumlu ya da olumsuz etkilenmediğini tespit etmişlerdir.



Şekil 8. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalara göre hücre içi solunum etkisinde meydana gelen değişimler Şekil 8’de gösterilmiştir. Burada da gözleneceği üzere haftalar birbirleriyle kıyaslandığında Tetra uygulamasının bitirildiği 3. hafta sonu ile 9. hafta sonunda elde edilen verilerde istatistikî açıdan önemli bir farklılık gözlenmemekle birlikte 6. hafta sonunda hücre içi aktivitenin 3. ve 9. haftadakine oranla kayda değer oranda arttığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Gatta ve ark. (2001), organik kromium uyguladıkları alabalıklarda çalışmamızdan farklı olarak 3. ve 6. haftalarda hücre içi aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir.

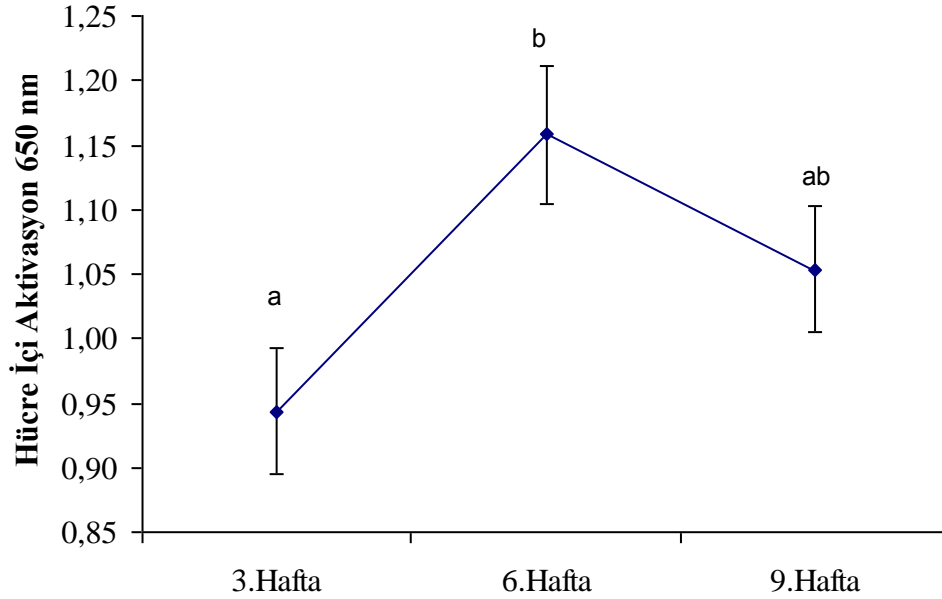


Şekil 9. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

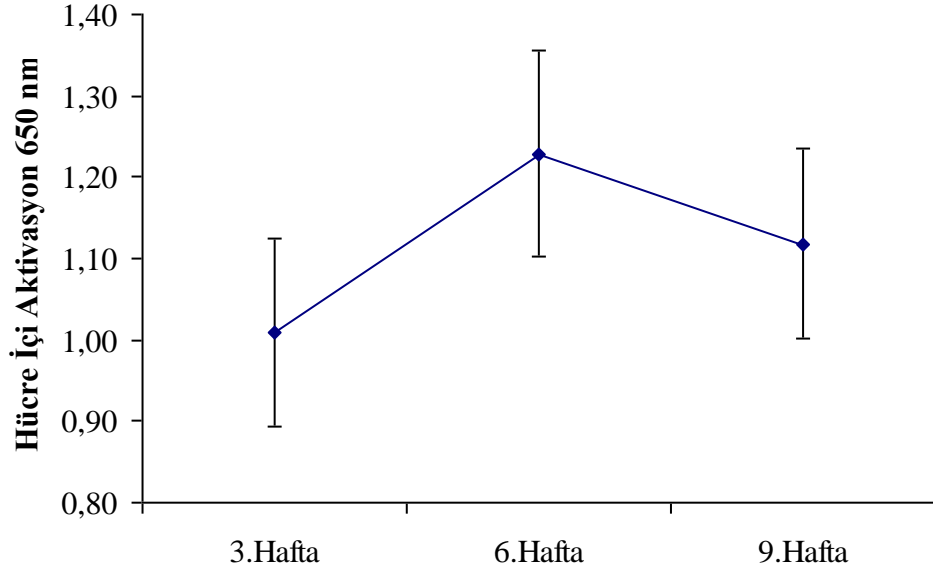
% 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalara göre hücre içi solunum etkisinde meydana gelen değişimler Şekil 9.’da gösterilmiştir. Bu grupta elde edilen veriler ışığında 3. ve 9. haftalar arasında önemli bir farklılık olmazken ($P>0,05$) 6. hafta elde edilen verilerin 3. ve 9. haftalardan farklı olarak hücre içi solunum etkisinin önemli

derecede arttığı görülebilmektedir ($P<0,05$). Bu durum benzer olarak % 0,5 Tetra içeren gruplarda gözlenmiştir. Bununla birlikte Çizelge 6'da da görüldüğü üzere % 1 Tetra içeren grupların hücre içi solunum aktiviteleri tüm haftalarda diğer gruplara göre önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0,05$).

Şekil 10'da % 0,5 Defne grubunda haftalara bağlı olarak hücre içi solunum aktivitesindeki değişimler gösterilmiştir. % 0,5 Defne uygulanan alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak tüm değerler önemli farklılık göstermektedir ($P<0,05$). 3. hafta elde edilen sonuçlar en düşük değerleri göstermekle birlikte Çizelge 6'da da görüldüğü üzere aynı dönemlerdeki Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kayda değer bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$). Gruplar arasında haftalara bağlı olan bu değişim kontrol altına alınamayan çevresel faktörlerden kaynaklanmış olabilir.



Şekil 10. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 11. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 11’de de açıkça gözleendiği üzere haftalara bağlı olarak grup içinde önemli farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$).

4.3.1.2. Hücre Dışı Aktivasyon (Extracellular)

Çalışma sonucu haftalara bağlı olarak gruplar arasında elde edilen hüce dışı solunum etkisindeki değişimler Çizelge 7’de gösterilmiştir.

Çizelge 11. Zamana bağlı hücre dışı solunum etkisi

Hücre Dışı Aktivasyon (nmol/O ₂ Lökosit)					
	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
3.Hafta	0,10 ^a ±0,01	0,12 ^a ±0,01	0,10 ^a ±0,02	0,18 ^b ±0,01	0,22 ^c ±0,03
6.Hafta	0,12 ^a ±0,02	0,15 ^b ±0,02	0,12 ^a ±0,01	0,21 ^c ±0,02	0,26 ^d ±0,02
9.Hafta	0,12 ^a ±0,01	0,15 ^a ±0,01	0,12 ^a ±0,03	0,20 ^b ±0,02	0,25 ^c ±0,02

Her haftalık dilimde kullanılan a,b,c ve d, haftalara bağlı birbirinden bağımsız olarak istatistiksel farklılığı ifade eder (P< 0,05). n=9.

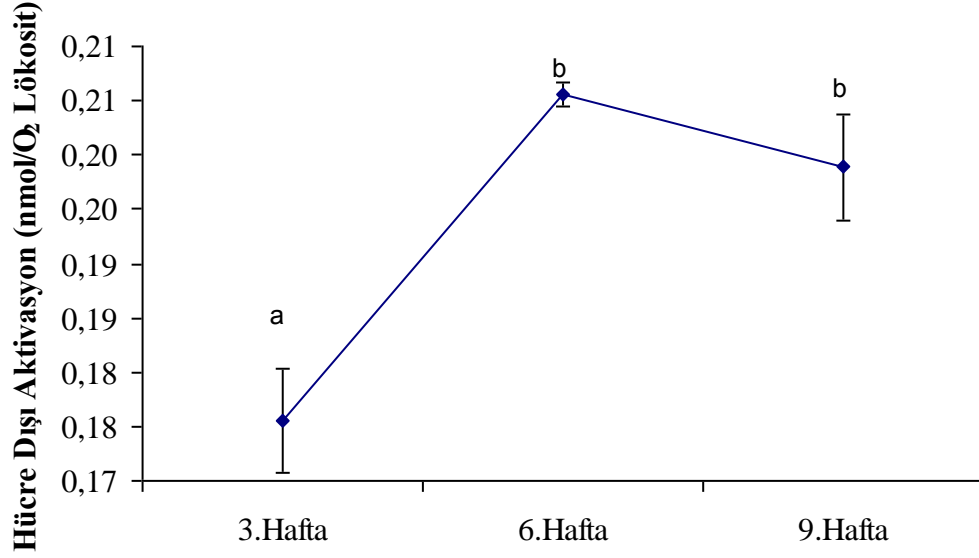
Çalışma sonunda hücre dışı solunum etkisinde zamana bağlı gruplar arasında meydana gelen değişimler Çizelge 7’de verilmiştir. Görüleceği üzere 3. hafta sonunda % 0,5 ve % 1 Defne içeren grupların hücre dışı solunum etkileri Kontrol grubu ile farklılık göstermemiştir (P>0,05). % 0,5 ve % 1 Tetra içeren gruplarda ise Kontrol grubundan farklı olarak hücre dışı solunum etkisinin arttığı gözlenmiştir (P<0,05). Bununla birlikte % 1 Tetra içeren grubun hücre dışı solunum etkisinin % 0,5 Tetra içeren gruba oranla kayda değer daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

6. hafta sonunda % 0,5 Defne içeren grubun hücre dışı solunum etkileri Kontrol grubu ile farklılık göstermiştir (P<0,05). % 1 Defne içeren grupta ise bir farklılık gözlenmemiştir. Aynı hafta içerisinde % 0,5 ve % 1 Tetra içeren gruplarda ise Kontrol grubundan farklı olarak hücre içi solunum etkisinin kayda değer arttığı gözlenmiştir (P<0,05). Bununla birlikte 3. haftada gözlendiği gibi % 1 Tetra içeren grubun hücre dışı solunum etkisinin % 0,5 Tetra içeren gruba oranla kayda değer daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

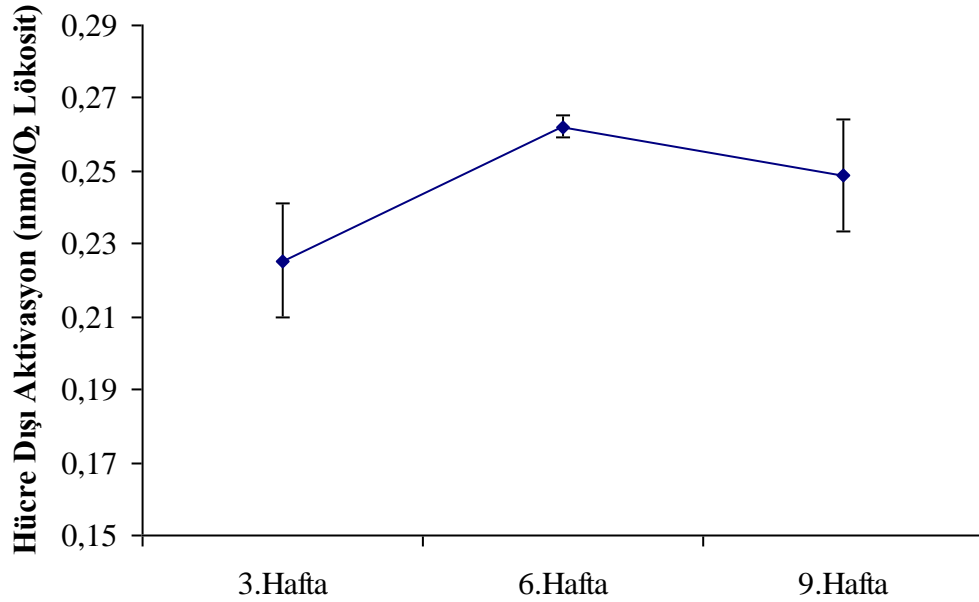
9. hafta sonunda 3. hafta sonuçlarına benzer olarak % 0,5 ve % 1 Defne içeren grupların hücre dışı solunum etkileri Kontrol grubu ile farklılık göstermemiştir ($P>0,05$). % 0,5 ve % 1 Tetra içeren gruplarda hücre içi solunum etkisinin Kontrol grubunda göre kayda değer olarak arttığı gözlenmiştir ($P<0,05$). Bununla birlikte % 1 Tetra içeren grubun hücre dışı solunum etkisinin % 0,5 Tetra içeren gruba oranla kayda değer oranda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Li ve ark. (2006), levamisol uygulamasının hücre dışı solunum etkisini kayda değer etkilediğini tespit etmişlerdir. Kunttu ve ark. (2009), genç alabalıklarda uyguladıkları β -glukan ve HMB (β -hydroxy- β -methylbutyrate) oral uygulamasının solunum etkisini tetiklediğini tespit etmişlerdir. Cerezuela ve ark. (2009), D_3 Vitamininin yüksek dozlarda uygulanması sonucu solunum etkisini çalışmamızda kullandığımız Tetra grubuna benzer olarak kayda değer arttırdığını tespit etmişlerdir ($P<0,01$). Aynı şekilde C vitamininin yüksek dozlarda kullanılması ile rohu (*Labeo rohita*) balıklarının solunum etkilerinin yükseldiği tespit edilmiştir (Tewary ve Patra, 2008). İnulin maddesinin de iki haftalık uygulama sonrası benzer olarak solunum etkisini arttırdığı tespit edilmiştir (Cerezuela ve ark. 2008).

% 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalara göre hücre dışı solunum etkisinde meydana gelen değişimler Şekil 12'de gösterilmiştir. Haftalar birbirleriyle kıyaslandığında Tetra uygulamasının bitirildiği 3. haftadan sonra 6. ve 9. haftalarda hücre dışı aktivasyonun kayda değer farklılık göstererek arttığı tespit edilmiştir ($P< 0,05$). % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen grupların solunum etkilerinin uygulama sonrasında yükselmesi ve bu durumu koruması ilgi çekicidir.

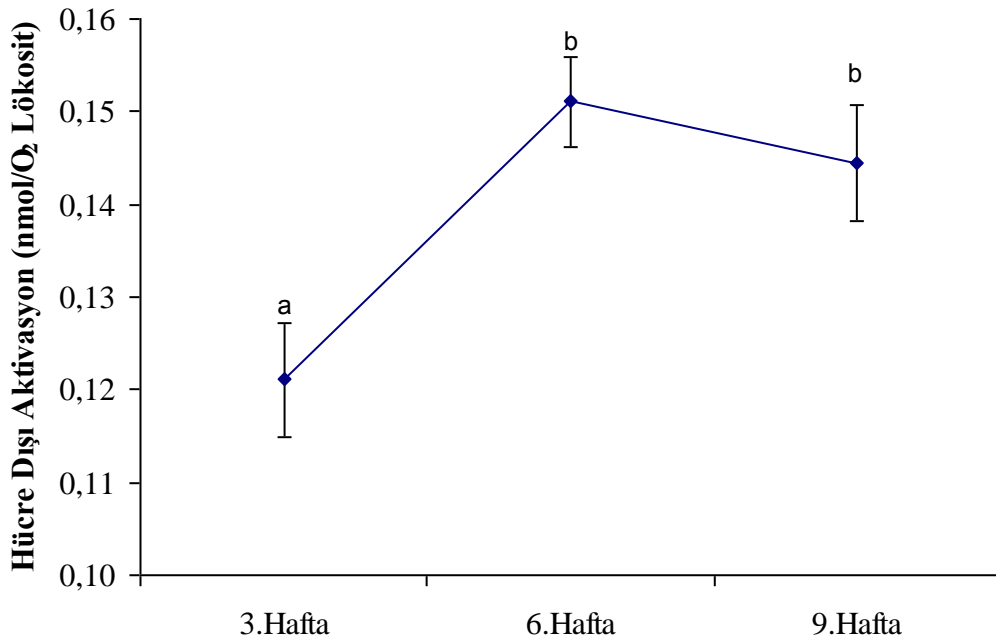


Şekil 12. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P < 0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



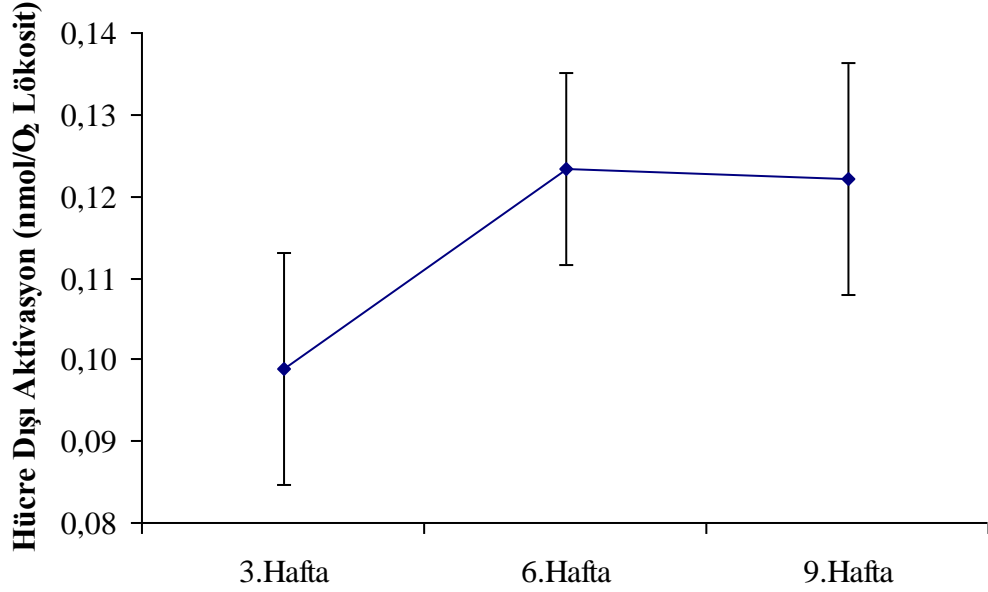
Şekil 13. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum etkilerinde haftalara göre birbiri arasında medya gelen değişimler Şekil 13'te gösterilmiştir. Bu grupta elde edilen verilen ışığında haftalara bağlı olarak % 1 Tetra içeren gruplar arasında kayda değer bir değişiklik gözlenmemiştir ($P>0,05$). Çizelge 7'de görüldüğü üzere % 1 Tetra içeren grupların hücre dışı solunum aktiviteleri uygulama sonrası yükselmiş ve tüm haftalarda diğer gruplara göre kayda değer yüksek olmuştur ($P<0,05$).



Şekil 14. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 14'de % 0,5 Defne grubunda haftalara bağlı olarak hücre dışı solunum aktivitesindeki değişimler gösterilmiştir. % 0,5 Defne uygulanan alabalıkların hücre dışı solunum aktiviteleri 3. haftadan sonra 6. ve 9. haftalarda yükselmiştir. 3. hafta elde edilen sonuçlar en düşük değerleri göstermekle birlikte Çizelge 7'de görüldüğü üzere aynı dönemlerdeki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kayda değer bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$).



Şekil 15. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 15’de % 1 Defne içeren grubun haftalara bağlı olarak hücre dışı solunum etkisinde meydana gelen değişimler gözlenmektedir. Şekilde gözlendiği üzere haftalara bağlı olarak grup içinde kayda değer herhangi bir değişim gözlenmemiştir ($P>0,05$).

Solunum etkisi, hem hücre içi hemde hücre dışı aktiviteler ile tespit edilen ve bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimlerin tespit edilmesinde özellikle kullanılan yöntemlerden birisidir. Yaptığımız çalışmada genel olarak bakıldığında hem hücre içi hemde hücre dışı aktivitelerin % 0,5 ve % 1 Tetra içeren gruplarda kayda değer yüksek çıkmıştır ($P<0,05$). Özellikle % 1 Tetra uygulanan gruplarda en yüksek seviyesine ulaşmıştır. Haftalara bakıldığında da aynı sonuç alınmıştır. Bağışıklık sisteminde bağışıklık uyarıcıların hangi etkilerle sistemi uyardığı konusunda hala net bilgiler yoktur. Genel parametrelerin takibi ile yorumlar yapılmaktadır. Çalışmamız için de geçerli olan bu durum, özellikle solunum etkisini Tetra bitkisinin hangi unsurlarıyla kayda değer bir şekilde uyardığı konusunda yorum yapmamızı engellemektedir. Bununla birlikte bağışıklık

uygulamalarında solunum etkisinin genel olarak arttığı bilinmektedir (Blazer ve ark. 1984; Sakai, 1999). Oral yollarla kullanılan tetranin bağırsak çeperlerinde bulunan bağışıklık mekanizmasında önemli rol alan makrofajları uyarması sonucu, solunum etkisinde meydana gelen yükselme açıklanabilir.

4.3.2. Fagozitik Aktivite

Fagozitozis balıkların savunma mekanizmasında gözlenen en temel aktivitedir. Fagozitozisin ilk adımı genellikle nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin yabancı amillere karşı harekete geçmesidir. Bu hücrelerin hareketi kemokinezis veya kemotaksi ile olur (Klesius ve Sealy, 1996). Fagozitozisteki ikinci adım amilin yutulmasıdır. Son adım ise yutulan amilin öldürülmesi ve sindirilmesi şeklindedir.

Çalışmamızda bağışıklık uyarıcı olarak kullandığımız defne ve tetra bitkilerinin uygulama sonrasında yapılan fagozitik aktivite testlerinin sonuçları Çizelge 8’de verilmiştir.

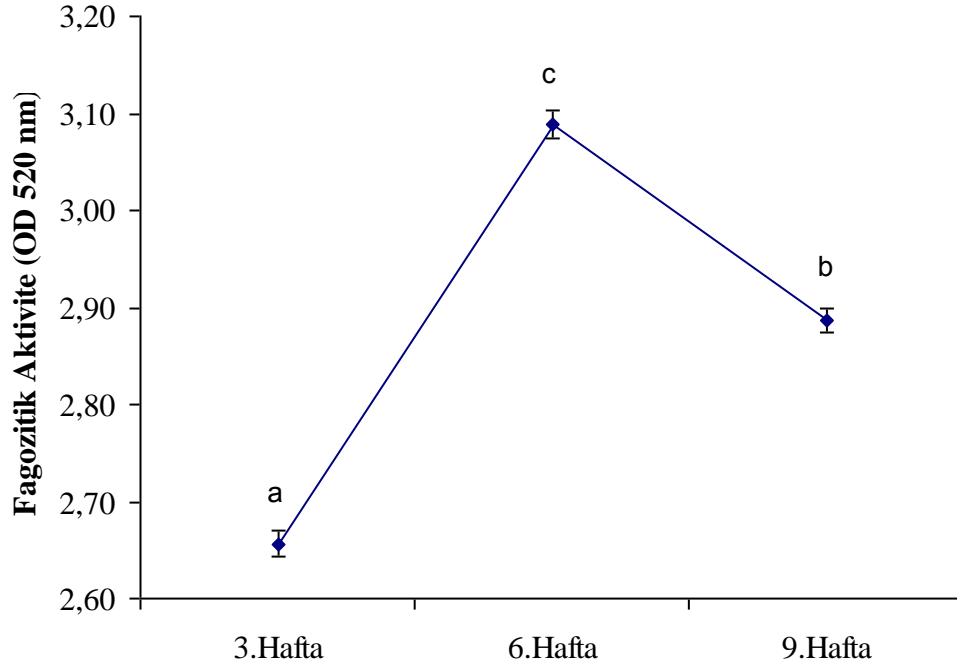
Çizelge 12. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen fagozitik aktivite

Fagozitik Aktivite (O.D 520 nm)					
	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
3.Hafta	1,37 ^a ±0,04	1,71 ^c ±0,05	1,54 ^b ±0,06	2,66 ^d ±0,01	2,73 ^d ±0,02
6.Hafta	1,79 ^a ±0,07	2,07 ^b ±0,06	1,91 ^a ±0,04	3,09 ^c ±0,01	3,17 ^c ±0,03
9.Hafta	1,60 ^a ±0,04	1,94 ^b ±0,05	1,77 ^a ±0,06	2,89 ^c ±0,01	2,96 ^d ±0,02

Her haftalık dilimde kullanılan a,b,c ve d, birbirinden bağımsız olarak istatistiksel farklılığı ifade eder (P< 0,05). n=9.

Çalışma sonuçlarına göre Çizelge 6'da da görüldüğü gibi bağışıklık uyarıcı olarak kullanılan defne ve tetra bitkilerinin ilk üç haftalık uygulanma sonrasında, % 0,5 Defne, % 1 Defne, % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra uygulanan gruplarda fagozitik aktivitenin kontrol grubuna oranla önemli farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0,05$). Aynı dönemde gruplara bakıldığında ise % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra uygulanan gruplarda fagozitik aktivite en yüksek değerlere ulaşmıştır. Bunlardan sonra en yüksek aktivite sırasıyla % 0,5 Defne ve % 1 Defne uygulanan gruplarda tespit edilmiştir.

Jeney ve ark. (1997), çalışmamıza benzer olarak farklı glukun oranlarının alabalıklarda fagozitik aktiviteyi artırdığını fakat glukun oranlarındaki değişimin çalışmamızdan farklı olarak fagozitik aktivitede herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. C vitamini dört haftalık uygulama sonrası çipuralarda fagozitik aktiviteyi artırdığını bununla birlikte 6, 8 ve 10 haftalık uygulamalarda ise fagozitik aktivitede herhangi bir değişiklik meydana getirmediği tespit edilmiştir (Ortuna ve ark. 1999). Ortuno ve ark. (2000) çalışmamızdan farklı olarak E vitamini 600 ve 1800 mg/kg uyguladıkları çipuralarda fagozitik aktivitede bir değişiklik tespit edemezken, çalışmamızda % 0,5 Defne uygulamasının % 1 Defne uygulamasından daha yüksek fagozitik aktivite göstermesine benzer olarak 1200 mg/kg E vitamini uygulanan gruplarda fagozitik aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir. Maya hücrelerinin RNA'sından izole edilen nükleotidlerin sazan balıklarında fagozitik aktiviteyi artırdığı tespit edilmiştir (Sakai ve ark. 2001). Çalışmamıza benzer olarak alabalıklarda kromyum kullanımı da fagozitik aktiviteyi pozitif etkilemiştir (Gatta ve ark. 2001). Alabalıklarda denenen bir diğer bağışıklık uyarıcı zerafol de dozajına bağlı olarak fagozitik aktiviteyi önemli derecede etkilemiştir (Keleş ve ark. 2002).

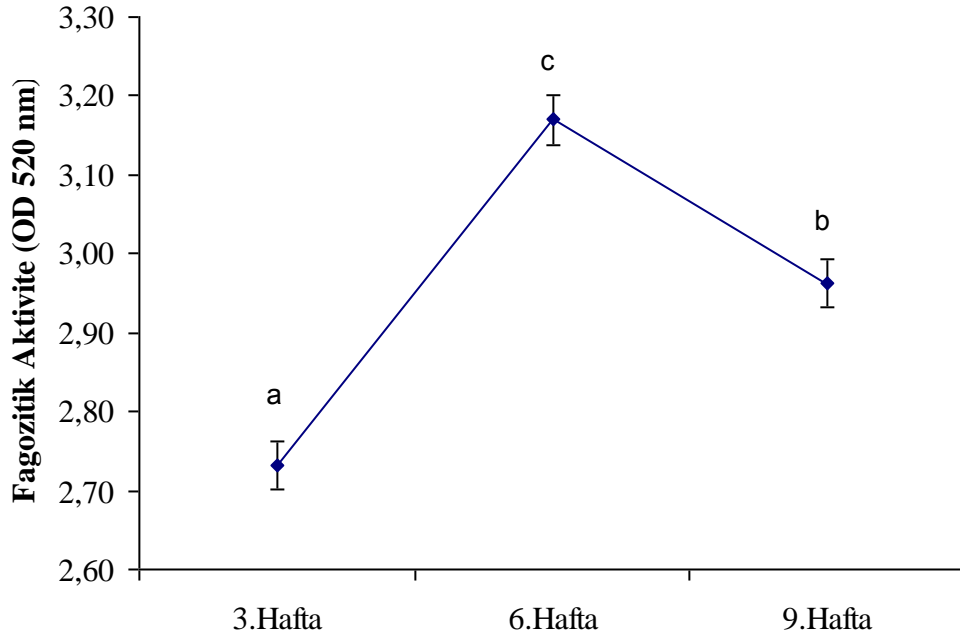


Şekil 16. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve c istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalara göre fagozitik aktivitelerinde meydana gelen değişimler Şekil 16’da gözleneceği üzere gruplar birbirleriyle kıyaslandığında % 0,5 Tetra uygulamasının haftalar arasında birbirinden bağımsız olarak değişkenlik göstermesidir. 3. hafta sonunda Çizelge 8’de görüldüğü gibi diğer gruplardan kayda değer oranda yüksek olan % 0,5 Tetra uygulaması 6. hafta en yüksek değerine ulaşmıştır. 9. hafta elde edilen fagozitik aktivite 6. haftadan düşük olmakla birlikte 3. hafta ile kıyaslandığında daha yüksek bir değer göstermiştir. Buradan da anlaşılacağı üzere % 0,5 Tetra uygulaması alabalıkların fagozitik aktivitelerini arttırmıştır. Bu durum çalışma sonlandırılana kadar etkinliğini korumuştur.

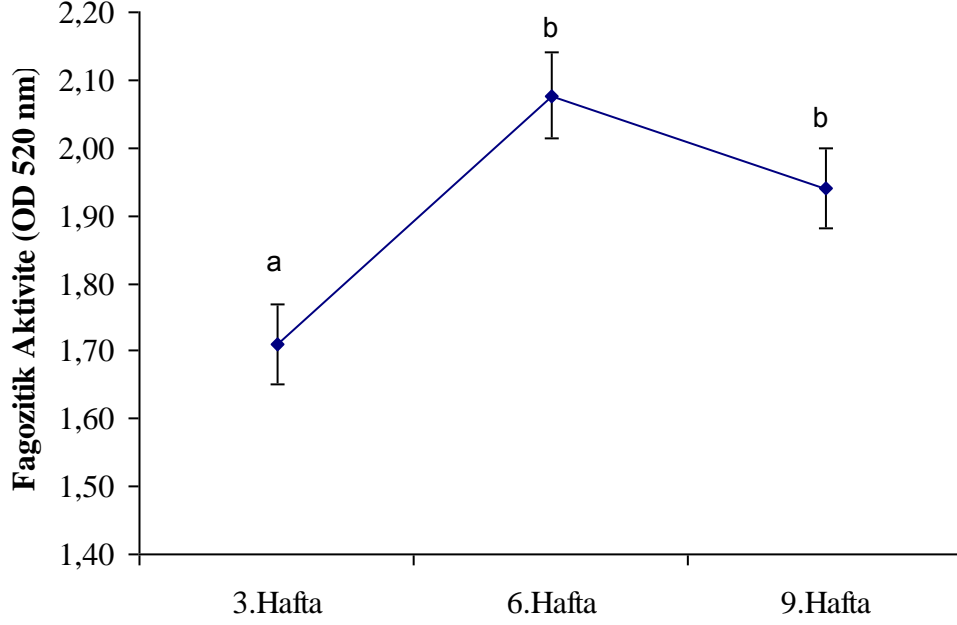
% 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalara göre fagozitik aktivitelerinde meydana gelen değişimler ise Şekil 17’de verilmiştir. % 1 Tetra uygulamasının haftalar arasında birbirinden bağımsız olarak değişkenlik göstermesi % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen gruba benzerlik göstermektedir. 6. hafta en yüksek değerine

ulaşan bu grupta 9. hafta elde edilen fagozitik aktivite 6. haftadan düşük olmakla birlikte 3. hafta ile kıyaslandığında daha yüksek bir değer göstermiştir. Bu durum göstermektedir ki % 1 Tetra uygulanan grupla % 0,5 Tetra uygulanan gruplar arasında zamana bağlı olarak da fagozitik aktivitenin değişmediği ve doz farkının önemsiz olduğu söylenebilir.



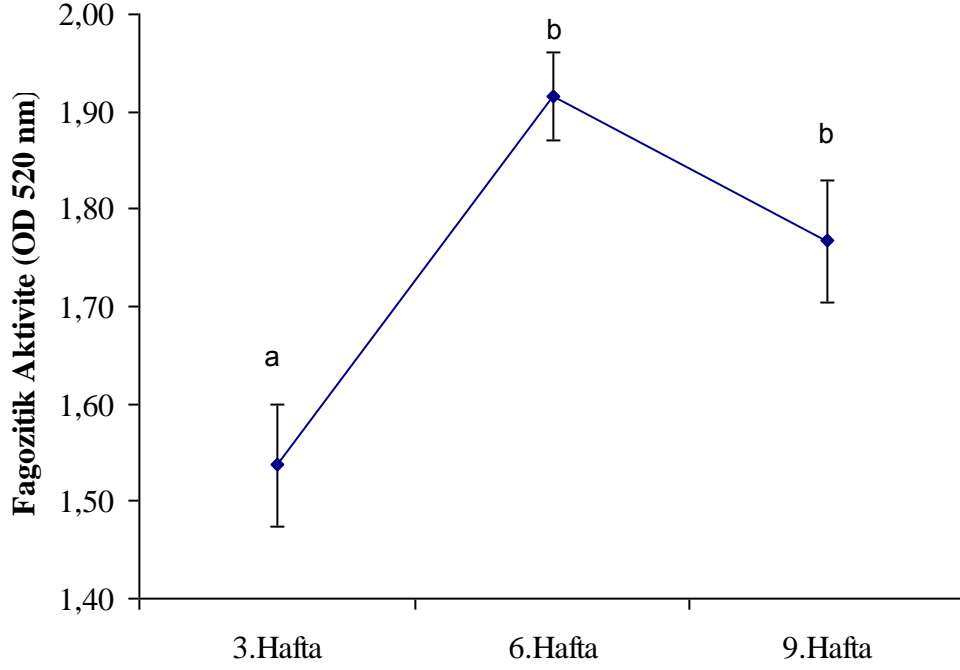
Şekil 17. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve c istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 18'de % 0,5 Defne içeren grupların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler gösterilmektedir.



Şekil 18. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 0,5 Defne içeren grubun fagozitik aktivitesi, 3. haftadan sonra 6. haftada yükselmeye devam etmiş ve bu durum 9. haftada korunmuştur. Benzer durum % 1 Defne içeren yemle beslenen alabalıklarda da gözlenmektedir (Şekil 19).



Şekil 19. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P < 0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Tüm gruplarda benzer gözlenen durum fagozitik aktivitenin uygulamalar bittikten sonraki haftalarda yapılan kontroller sonrasında yükselme eğilimine devam etmiş olmalarıdır. Özellikle % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra grupları fagozitik aktiviteyi uygulama sonrasında da kayda değer arttırmış ve bağışıklık tepkiyi olumlu yönde etkilemiştir.

4.3.3. Lizozim Aktivitesi

Lizozim tüm omurgalılarda gözlenen savunma faktörüdür. Çalışmada bağışıklık sisteminde meydana gelen değişimlerin incelenmesinde kullanılan diğer bir kıstas olarak tercih edilmiştir. Çalışma sonrası elde edilen serum lizozim aktiviteleri Çizelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 13. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen lizozim aktivitesi

Lizozim Aktivitesi (O.D 450 nm)					
	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
3.Hafta	1412,69 ^a ±18,7	1381,20 ^a ±69,5	1475,75 ^a ±57,2	1906,23 ^b ±88,1	1874,87 ^b ±41,8
6.Hafta	1575,44 ^a ±18,95	1643,22 ^a ±74,7	1744,89 ^a ±61,6	2138,78 ^b ±91,8	2064,00 ^b ±20,9
9.Hafta	1559,69 ^a ±18,76	1528,20 ^a ±69,5	1622,75 ^a ±57,2	2053,23 ^b ±88,1	2021,87 ^c ±41,8

Her haftalık dilimde kullanılan a,b ve c birbirinden bağımsız olarak istatistiksel farklılığı ifade eder (P< 0,05). n=9.

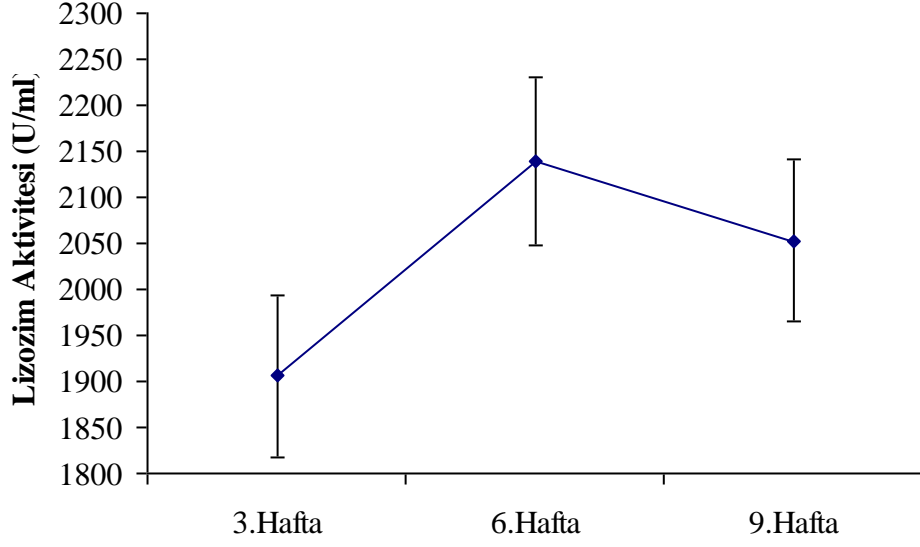
Çizelge 9’da da görüldüğü üzere, 3. hafta sonunda uygulamanın bitimi ile alınan sonuçlara göre % 0,5 Defne ve % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde kayda değer bir değişim gözlenmemiştir (P>0,05). Aynı dönemde % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra içeren grupların lizozim aktiviteleri birbirinden farklı olmamakla beraber Kontrol, % 0,5 Defne ve % 1 Defne gruplarına göre kayda değer yüksek bulunmuştur (P<0,05).

Uygulamanın yapılmadığı ve aktivitelerin kontrol edildiği 6. hafta sonrasında ise 3. haftaya benzer olarak % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra içeren grupların lizozim aktiviteleri birbirinden farklı olmamakla beraber Kontrol, % 0,5 Defne ve % 1 Defne gruplarına göre kayda değer yüksek olmuştur (P<0,05).

9.hafta sonuçlarına bakıldığında ise Defne grupları ile Kontrol grubu arasında farklılık olmazken 3. ve 6. haftada gözlenen sonuçlara benzer olarak Tetra gruplarının lizozim aktiviteleri kayda değer yüksek olmuştur (P<0,05).

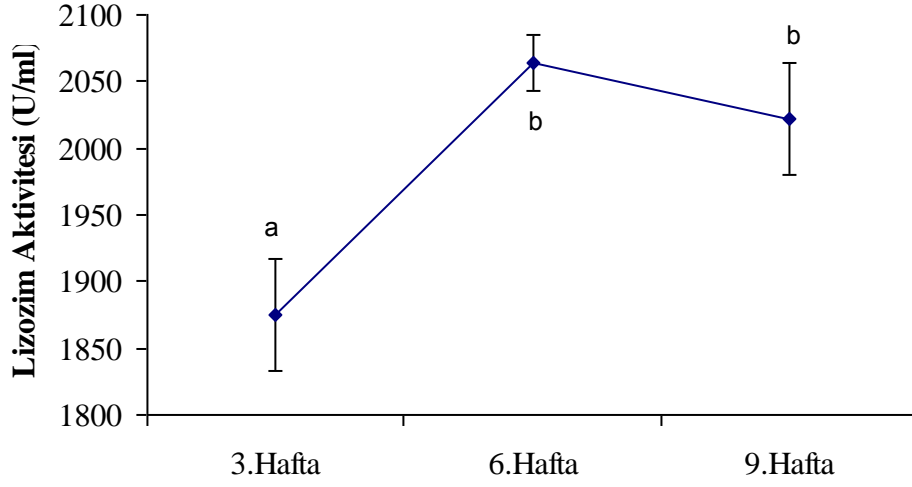
Lizozim aktivitesi, nötrofil, komplement ve fagozitik aktivite gibi bağışıklık sistemini ifade eden önemli bir unsurdur (Murray ve ark. 2003). Liang ve ark. (2006), protein hidralistatinin yemlere % 15 oranında katılarak japon levreklerine (*Lateolabrax japonicus*) uygulanması sonucu çalışmamıza benzer olarak lizozim aktivitesinin kayda değer arttığını tespit etmişlerdir. Gopalakannan ve Arul (2006), kitin, kitosan ve levamisolü yemlere katılarak sazan balıklarına uyguladıkları çalışma sonrasında çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak balıkların lizozim aktivitesinin arttığını (P<0,001) tespit etmişlerdir. Rairakhwada ve ark. (2007), mikrobiyal levanın % 0,5 oranında yemlere katılarak uygulanmasının sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) lizozim aktivitesini çalışmamıza benzer olarak arttırdığını tespit etmişlerdir. Divyagnaneswari ve ark. (2007), tilki üzümü olarak da bilinen *Solanum trilobatum*'un yaprak özütlerinin tilapia balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) lizozim aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir. Gupta ve ark. (2008), mikrobiyal levan (% 1,25) uygulamasının *Labeo rohita*'da lizozim aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir. Yin ve ark. (2009), *Astragalus radix* ve *Ganoderma lucidum* bitkilerinden oluşan karışımın yemlerle sazan balıklarında (*C. caprio*) uygulamaları sonucu lizozimi tetiklediğini belirtmişlerdir. Gatta ve ark. (2001), kromiumun yüksek dozda yemlere uygulanması sonucu çalışmamızda Tetra gruplarından elde ettiğimiz sonuçlara paralel olarak lizozim aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Li ve ark. (2006), çalışmamızdan farklı olarak levamisolün yemlerle verildiği hibrit çizgili levreklerde (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*) lizozim aktivitesini etkilemediğini tespit etmişlerdir. Li ve ark. (2009), β 1-3 glukan içeriğinin doza bağlı olarak uygulandığı hibrit çizgili levreklerde (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*) lizozim aktivitesini etkilemediğini tespit etmişlerdir. Asya kedi balıklarında (*Clarias batrachus*) yemlere 100 mg/kg laktoferin uygulaması sonrası yapılan testlerde lizozim seviyelerinin çalışmamızda % 0,5 ve % 1 Defne içeren gruplardan aldığınız sonuçlarla benzer olarak etkilenmediği tespit edilmiştir (Kumari ve ark. 2003). Laktoferin uygulaması yapılan çipuralarda (*Sparus auratus*) da benzer olarak lizozim aktivitesinin etkilenmediği tespit edilmiştir (Esteban ve ark. 2005). Bagni ve ark. (2005), ticari ürün olan Ergosan ve Macrogard'ın levrek balıklarında lizozim aktivitesini etkilemediğini bildirmişlerdir. Verlhac ve ark. (1998), yüksek C vitamini seviyelerinin alabalıkların lizozim aktivitelerini arttırdığını bununla birlikte β glukanların bir değişiklik göstermediğini tespit etmişlerdir.



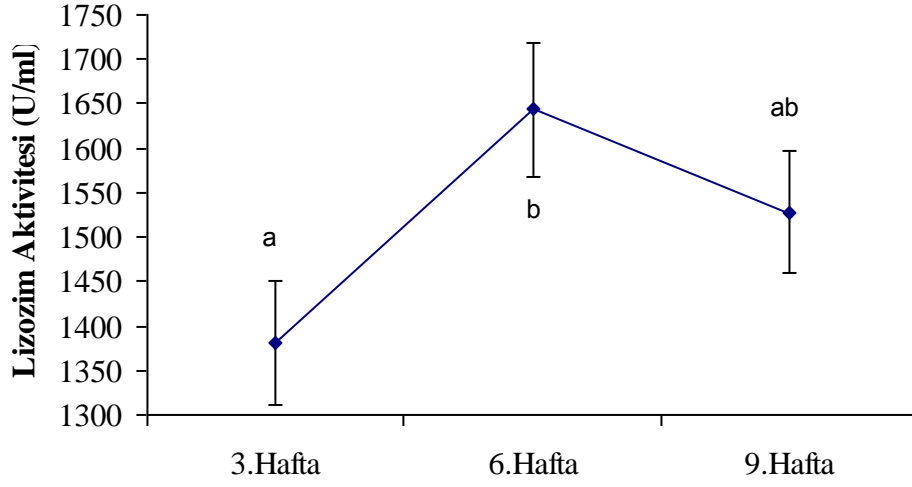
Şekil 20. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen balıkların haftalara bağlı olarak lizozim aktivitelerinde uygulamanın bittiği 3. haftadan sonra 6. hafta ve 9. haftada (Şekil 20) kayda değer bir değişim gözlenmemesi ($P>0,05$) bu grubun uygulama sonrası 9. haftaya kadar 3. hafta sonrası yükselmiş olan aktivitenin korunduğunu göstermektedir.



Şekil 21. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P < 0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

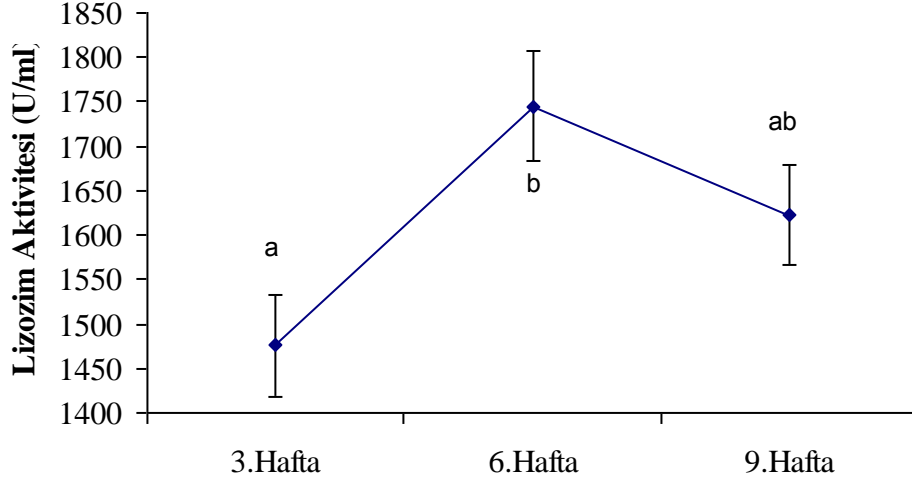
% 1 Tetra içeren yemlerle beslenen balıkların haftalara bağlı olarak lizozim aktivitelerinde uygulamanın bittiği 3. haftadan sonra 6. hafta ve 9. haftada (Şekil 21) kayda değer bir değişim gözlenmemesi ($P < 0,05$) bu grubun uygulama sonrası 9. haftaya kadar 3. hafta sonrası yükselmiş olan aktivitenin yükselerek korunduğunu göstermektedir.



Şekil 22. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

% 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen balıkların haftalara bağlı olarak lizozim aktivitelerinde meydana gelen değişim Şekil 22’de verilmiştir. Bu grupta oluşan değişiklikler Çizelge 9’da görüldüğü üzere Kontrol grubundan farklılık göstermemiştir. Fakat bununla birlikte başlangıçtan farklı olarak kendi içinde lizozimin arttığı gözlenmiştir.

% 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların haftalar arasında oluşan lizozim aktivitesi değişimleri % 0,5 Defne’ye benzer şekilde olduğu gözlenmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

4.3.4. Total Protein Seviyesi

Plazmada bulunan total protein seviyesi kanın ozmotik basıncını sağlamaya katkı, plazmada bulunan birçok maddeyi ilgili yerlere taşıma, plazma suyunu damar yatağı içinde tutma, kan viskozitesine etki, asit-baz dengesini sürdürmeye katkı, kanın süspansiyon stabilitesinin sürdürülmesi, dokuların protein ihtiyacını karşılama, organizmayı enfeksiyon ve zararlı maddelere karşı koruma gibi önemli olguların ifadesinde kullanılır (Luskova, 1997).

Çalışma sonunda elde edilen total protein seviyeleri Çizelge 10'da gösterildiği gibidir.

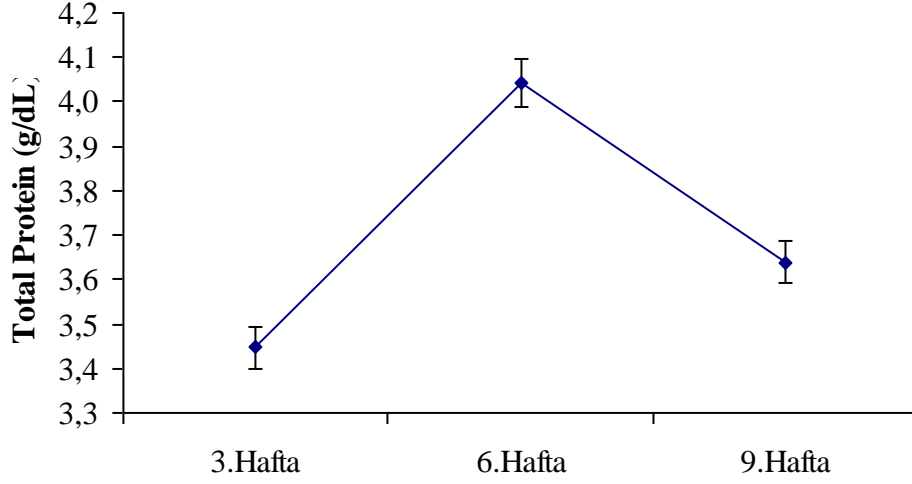
Çizelge 14. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen total protein seviyesi

Total Protein Seviyesi (g/dL)					
	Kontrol	Defne % 0,5	Defne % 1	Tetra % 0,5	Tetra % 1
3.Hafta	2,71 ^a ±0,08	2,54 ^a ±0,18	2,43 ^a ±0,06	3,45 ^b ±0,04	3,57 ^b ±0,16
6.Hafta	2,88 ^a ±0,1	3,03 ^a ±0,2	2,89 ^a ±0,07	4,04 ^b ±0,05	4,19 ^b ±0,17
9.Hafta	2,90 ^a ±0,08	2,73 ^a ±0,18	2,62 ^a ±0,06	3,64 ^b ±0,04	3,76 ^b ±0,16

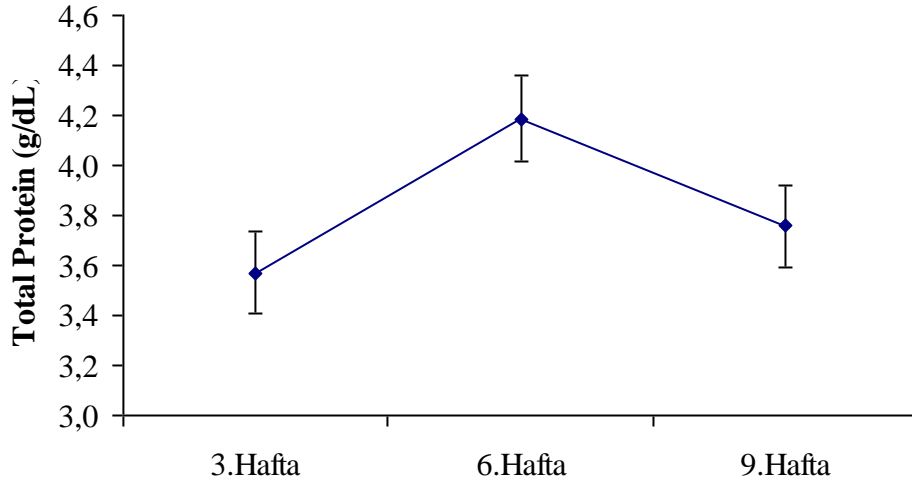
Her haftalık dilimde kullanılan a,b,c ve d, birbirinden bağımsız olarak istatistiksel farklılığı ifade eder (P< 0,05). n=9.

Haftalara bağlı olarak uygulamalar birbiriyle kıyaslandığında, 3. haftada % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra içeren grubun total protein seviyeleri Kontrol grubu ve % 0,5 Defne ve % 1 Defne içeren gruplara oranla kayda değer oranda arttığı gözlenmektedir (P<0,05). Aynı durum 6. ve 9. haftalarda da devam etmiştir. Bununla birlikte % 0,5 Tetra ve % 1 Tetra grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (P>0,05).

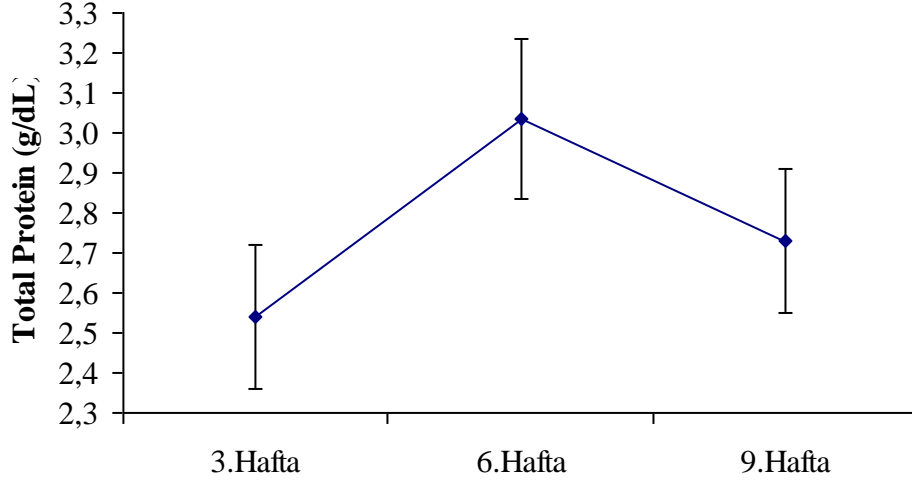
Grupların kendi içlerinde haftalara bağlı olarak total protein seviyelerinde meydana gelen değişimler Şekil 24,25,26,27’de verilmektedir. Buralardan da görüleceği üzere grupların kendi içlerinde de haftalara bağlı olarak total protein seviyelerinde herhangi değişim gözlenmemiştir.



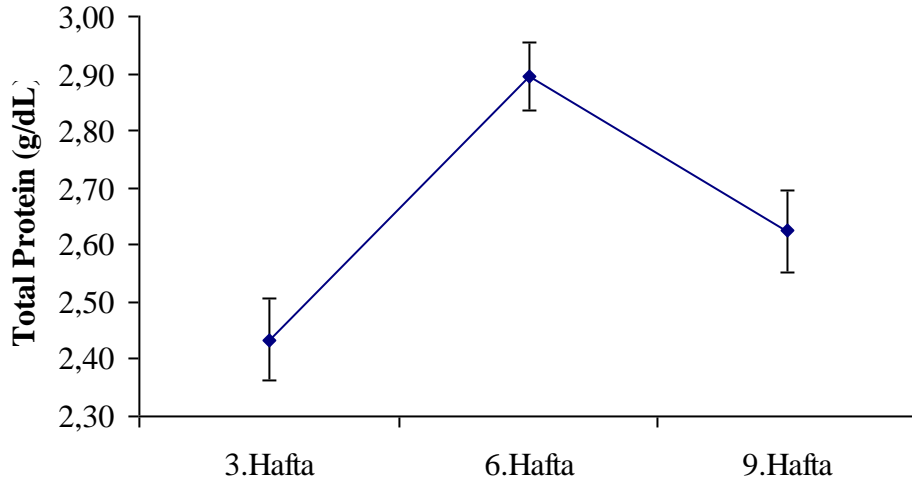
Şekil 24. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 25. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 26. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 27. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Tetranın biyokimyasal kompozisyonu kontrol edildiğinde fenilpropanoid içeriğinin yüksek olduğu gözlenmektedir. Fenilpropanoid özellikle antimikrobiyal, antifungal, antiviral ve bağışıklığı güçlendirici özellikleri arttırıcı etkiye sahiptir (Li ve ark., 2005). Tetra bitkisinin denemede elde edilen sonuçlara göre alabalıklarda kontrol edilen tüm bağışıklık parametrelerin yükselmesinde ana etken olabilir. Defne bitkisinde ise fenilpropanoid tetradaki kadar zengin değildir (Toroğlu ve ark., 2006). Tetrada yaprak verme döneminde fenilpropanoid ortalama % 25 oranında bulunurken bu miktar defne % 15 civarındadır. Tetranın diğer bir özelliği bağışıklığı tetikleyen polifenol açısından da zengin oluşudur (Ivanova ve ark., 2005). Bu etken maddelerin tetrada daha yüksek oranda bulunuşu özellikle % 1 tetra uygulanan gruplarda bağışıklık parametrelerinin yüksek oluşunu açıklayıcı olabilir.

BÖLÜM 5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Balık üretiminde ana sorun olan hastalıkların genel sağıtımlarında ana prensip ortam koşullarının en iyi şekilde ayarlanması ve balıkların bağışıklık sistemlerinin olabildiğince iyi olması yönündedir. Balıklar mümkün olduğu kadar stresten korunmalı ve ortam koşulları en uygun seviyede tutulmalıdır. Ardından yapılacak üretimin verimli olması beklenebilir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ışığında kontrol ve defne grupları ile karşılaştırıldığında, solunum etkisi, fagozitik aktivite ve lizozim aktiviteleri kontrol edilmiş olan balıklarda en iyi sonuçlar tetra ile beslenen gruplardan elde edilmiştir. Özellikle % 1 tetra kullanımının balıkların bağışıklık sistemini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Bağışıklık sisteminde meydana gelen bu durum tetranın bir bağışıklık uyarıcı olarak kullanılmasına olanak vermektedir. Özellikle hücre içi ve hücre dışı solunum etkisinde meydana gelen değişimler, fagozitik ve lizozim aktivitenin kontrol grubu ile kıyaslandığında çok yüksek olarak farklılık göstermesi bunun en önemli ispatıdır. Tespit edilen bir diğer önemli özelliği ise tetranın balıklara 3 hafta yem ile verildikten sonra uygulamanın bitirilip üzerinden 6 hafta geçmesine rağmen solunum etkisinin, lizozim aktivitesinin ve fagozitik aktivitenin yükselen değerlerini koruyarak ya da arttırarak devam etmesi ve bağışıklık tepkisinin yüksek olması uzun dönem etkili bir bağışıklık uyarıcı olarak kullanılmasını sağlayabilir.

Alabalık gibi kısa dönemli üretim süreci bulunan balıkların üretiminde tetra bağışıklık uyarıcı olarak tercih edilebilir. Alabalık üretiminde ülkemizde çok büyük sıkıntı olan ve yavru üretiminde baş gösteren alabalık soğuk su anemisi olarak da bilinen *Flexibater columnaris* hastalığından kaynaklanan kayıpları engellenmesinde de önemli rol oynayabilir. Bağışıklık tepkisini çok yükseltmesi viral hastalıklardan korunmada da etkili olabilir. Alabalık üretiminde özellikle yavru dönemi ve yavru dönemini çıkış sonrası büyütme havuzlarına alınan balıkların hastalıktan kaynaklanacak kayıplarının en aza indirilmesinde uzun süre koruyucu etkisi dikkate alınarak tetra içeren yemlerin balıklara belli dönemlerde verilmesi üretimi başarılı yönde etkileyebilir.

Bu çalışma alabalıklar üzerinde uygulamış olup öncelikli amaç tetra ve defne bitkilerinin bağışıklık etkinliğinin tespiti yönünde olmuştur. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre defnenin alabalıklar üzerinde etkin bir bağışıklık uyarıcı olmadığı bununla birlikte tetranın tam aksine iyi bir bağışıklık uyarıcı olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak diğer balıklar üzerinde defne ya da tetranın etkileri henüz bilinmemektedir. Alabalık üzerinde etkisi olmayan defnenin başka bir balıkta etken bir uyarıcı olabileceği gibi tetranın da aksine etki göstermemesi olabilecek durumlar arasındadır. Fakat özellikle tetranın levrek ve çipura balıklarında etkinliğinin araştırılması ve elde edilecek sonuçlara göre kullanım şeklinin belirlenmesi ülkemiz açısından alabalık ile birlikte ekonomik üretimi olan bu balıklarında üretim başarılarının artırılması noktasında faydalı olacağı düşünülmektedir.

Tetradan elde edilen veriler, piyasada bulunan ticari ürünlerle de kıyaslaması yapılacak bir ürün olduğunu göstermiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalar ile özellikle tetra bitkisinin belirli hastalık yapıcı etmenlere karşı etkilerinin kontrol testleriyle incelenmesi son derece faydalı olacaktır. Ülkemiz sınırları içinde yetişen ve Trakya bölgesinin doğu kısımlarında bulunan bu bitki milli ekonomi açısından da son derece önem kazanacaktır. Hastalık yapıcı amillere karşı yüksek etkisinin olmadığı yapılacak çalışmalara belirlense bile özellikle çalışmamızın sonuçları ışığında aşılarda kullanılabilir bir bağışıklık uyarıcı ya da antibiyotik uygulamaları sonucu yeni floranın oluşmasında ve bağışıklık direncin oluşmasında kesinlikle kullanılabilir bir ticari ürün olabileceği önem arz etmektedir.

Balıklar ile yapılan çalışmalarda özellikle β glukon içerikli ürünler kullanılmıştır. Bunun sebebi genel olarak bağışıklığı olumlu etkilemesi ve üretiminin belli bir standart halinde kolay olarak yapılabilmesidir. Bir bitki, kimyasal veya benzeri maddenin bağışıklık tepki uyandırması yanında ekonomik olması ve temininin kolay olması çok önemlidir. Dolayısıyla tetra bitkisinin Kırklareli ili sınırlarında kalan bölgede bol olarak yetişmesi ve yemlere katılarak kolayca balıklara verilebilmesi önemini bir kat daha arttırmaktadır.

Günümüzde balık üretiminde en yaygın kullanılan hastalıktan korunma yöntemi aşılama şeklindedir. Özellikle aşı ile ilgili olarak bir sanayi oluşmuştur. Her ne kadar aşı en iyi koruyucu önlem olsa da uygulamada ve maliyette yaşanan sıkıntılar üreticiler için sorun teşkil etmektedir. Dolayısıyla aşılama öncesi veya sonrası bağışıklık uyarıcıların kullanılması yaygın yöntemlerden biridir. Çalışmada bağışıklık uyarıcı etkisini ispatlamış olduğumuz tetra bitkisinin aşılama öncesinde balıklara uygulandıktan sonra aşılamanın yapılması da aşından elde edilecek sonuçları olumlu yönde etkileyebilir. Özellikle çiftliklerde yaşanabilecek hastalıklar sonrasında da bağışıklığın toparlanması için kullanılabilir. Diğer önemli bir özellik olarak hastalık dönemleri ve tarihleri genel olarak belirli olan bölgelerde hastalıklar gelmeden önce koruyucu olarak balıklara verilmesi sonucu hastalığın yaşanmadan ya da en az kayıpla atlatılması konusunda kullanım kolaylığı ile de yardımcı olacaktır.

Balık üretiminde hastalıkların kontrolünde bağışıklık uyarıcılar, aşılama ve antibiyotikler kullanılmaktadır. Daha önceden de belirtildiği gibi bilinen en uygun koruyucu yöntem aşılama değildir. Dolayısıyla bağışıklık uyarıcılardan aşının verdiği sonuçları beklemek yanlış olabilir. Fakat bazı immunostimlantlar bazı hastalıkların tedavisinde ve korunmasında kullanılabilir. Özellikle bazı antibiyotiklerin bağışıklık direnci artmış bakterilerde gösterdikleri etkisizlikler bu noktada bağışıklık uyarıcıların değerini ortaya koymaktadır. Bağışıklık uyarıcılar belki aşı ve antibiyotiklerin limitleyici unsurlarını ortadan kaldırabilir. Aşı ve bağışıklık uyarıcıların birlikte uygulanması aşılamanın etkinliğini artırabilir. Bu şekilde hastalıkların korunmasında önemli olabilirler.

Çalışmada elde edilen sonuçlar ışığında tetra bitkisinin aşılama ile kullanılması, kritik öneme sahip hastalıkların örneğin, *Myxobacter* enfeksiyonları, *Vibrio*, *Furunculosis*, *Aeromonas sp.* gibi korunmasında daha başarılı sonuçlar alınmasını sağlayabilir. Ayrıca hastalık tedavilerinde, antibiyotiklerle birlikte destekleyici olarak kullanılması son derece olumlu sonuçlar alınmasına sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Alexander J.B. ve Ingram G.A., 1992. Noncellular Nonspecific Defence Mechanisms Of Fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 2: 249-279.
- Anbarasu K. ve Chandran M.R., 2001. Effect Of Ascorbic Acid On The İmmune Response Of The Catfish, *Mystus gulio* (Hamilton), To Different Bacterins Of *Aeromonas Hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 11: 347-355.
- Anderson, A.A., Fletcher, T.C. ve Smith, G.M., 1979. The Release Of Prostaglandin E₂ From Skin Of The Plaice, *Pleuronectes platessa* L. *British Journal of Pharmacology*, 66: 547-552.
- Anderson D. P., 1992. Immunostimulants, Adjuvants, And Vaccine Carriers In Fish: Applications To Aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*, 281-307.
- Anderson D.P. ve Siwicki A.K., 1994. Duration Of Protection Against *Aeromonas salmonicida* In Brook Trout Immunostimulated With Glucan Or Chitosan By Injection Or Immersion. *Prog. Fish Cult.*, 56: 258-261.
- Anonim, 2008a. The State of World Fisheries and Aquaculture. *Food And Agriculture Organization Of The United Nations*. Rome. 10-30. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250e/i0250e.pdf>
- Anonim, 2008b. Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü verileri. 2 Mart 2009, http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=696
- Anonim, 2009. Su Ürünleri İstatistikleri. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. Haber Bülteni. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?tb_id=47&ust_id=13
- Aoki T., 1992. Chemotherapy And Drug Resistance In Fish Farms In Japan. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. _Eds., *Diseases in Asian Aquaculture* Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 519-529.
- Asbakk K. ve Dalmo R.A., 1997. Uptake Of Particles By Fish Epidermal Cells *in vitro*. *Journal of Marine Biotechnology*, 8: 123-131.
- Ashida T. ve Okimasu E., 2005. Immunostimulatory Effects Of Fermented Vegetable Product On The Non-Specific Immunity Of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 71: 257-262.
- Bagni, M., Romano N., Finioia M.G., Abelli L., Scapigliati G., Tiscar P.G., Sarti M. ve Marino G., 2005. Short- And Long-Term Effects Of A Dietary Yeast B-Glucan

- (Macrogard) And Alginic Acid (Ergosan) Preparation On Immune Response In Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & Shellfish Immunology*, 18: 311-325.
- Bagni N., Archetti L., Amadori M. ve Marino G., 2000. Effect of Long-term Oral Administration Of An Immunostimulant Diet On Innate Immunity In Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Vet. Med.*, B 47: 745-751.
- Bielek E., 1981. Developmental Stages And Localization Of Peroxidase Activity In The Leukocytes Of Three Teleost Species (*Cyprinus carpio* L., *Tinca tinca* L., *Salmo gairdneri* Richardson). *Cell and Tissue Research* , 220: 163-180.
- Blackstock N. ve Pickering A.D., 1980. Acidophilic Granular Cells In The Epidermis Of The Brown Trout, *Salmo trutta* L. *Cell and Tissue Resarch*, 220: 163-180.
- Blazer V.S. ve Wolke R.E., 1984. The Effects Of α -tocopherol On Immune Response And Non-Specific Resistance Factors Of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 37: 1–9.
- Bogner K.H. ve Ellis A.E., 1977. Properties And Function Of Lymphocytes And Lymphoid Tissues In Teleost Fish. *Fish and Environment*, 4: 59-72.
- Bricknell I. ve Dalmo R. A., 2005. The Use Of Immunostimulants In Fish Larval Aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology*, 19: 457-472.
- Bullock A.M. ve Marks R., 1978. The Cell Kinetics Of Teleost Fish Epidermis: Epidermal Mitotic Activity In Relation To Wound Healing At Varying Temperatures In Plaice (*Pleuronectes platessa*). *Journal of Zoology*, 185: 197-204.
- Cain D.K., Grabowski L., Reilly J. ve Lytwyn M., 2003. Immunomodulatory Effects Of A Bacterial-Derived β -1,3 Glucan Administered To Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) In a Spirulina-based Diet. *Aquaculture Research*, 34: 124-1244.
- Castro R., Couso N., Obach A. ve Lamas J., 1999. Effect Of Different β -Glucans On The Respiratory Burst Of Turbot (*Psetta maxima*) And Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) Phagocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 9: 529–541.
- Castro, R., Zarra, I. ve Lamas, J., 2004. Water-Soluble Seaweed Extracts Modulate The Respiratory Burst Activity Of Turbot Phagocytes. *Aquaculture*, 229: 67–78.
- Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J. ve Esteban M. A., 2008. Effects Of Inulin On Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Innate Immune Parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, 24: 663-668.
- Cerezuela R., Cuesta A., Meseguer J. ve Esteban M. A., 2009. Effects Of Dietary Vitamin D₃ Administration On Innate Immune Parameters Of Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 26: 243–248.

- Chang F.C., Su S.M., Chen Y.H., Lio C. I., 2003. Dietary β -1,3-Glucan Effectively Improves Immunity And Survival Of *Penaeus Monodon* Challenged With White Spot Syndrome Virus. *Fish & Shellfish Immunology*, 15: 297–310.
- Chen D. ve Ainsworth A. J., (1992). Glucan Administration Potentiates Immune Defence Mechanisms Of Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Journal of Fish Diseases*, 15: 295–304.
- Choudhurya D., Pala A.K., Saha N.P., Kumara S., Dasb S.S., Mukherjeeb S.C., 2005. Dietary Yeast RNA Supplementation Reduces Mortality by *Aeromonas hydrophila* In rohu (*Labeo rohita* L.) Juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 19: 281-291.
- Christiansen J.S., Dalmo R.A. ve Ingebrigtsen K., 1996. Xenobiotic Excretion In Fish With Aglomerular Kidneys. *Marine Ecology Progress Series*, 136: 303-304.
- Chu C.T., Oury T.D., Enghild J.J., ve Pizzo S.V., 1994. Adjuvant Free *in vivo* Targeting. Antigen Delivery By α_2 -macroglobulin Enhances Antibody Formation. *Journal of Immunology*, 152: 1538-1545.
- Chung C. ve Scombes C.J., 1988. Analysis Of Events Occurring Within Teleost Macrophages During The Respiratory Burst. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 89B: 539–544.
- Cofta J., Jacki J.K., Mackiewicz S.H. ve Wiktorowicz K.E., 1995. The Effect Of C-Reactive Protein (CRP) On Respiratory Burst Of Human Peripheral Blood Phagocytes. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 8: 95-102.
- Cook T.M., Hayball J.P., Hutchinson W., Nowak F.B. ve Hayball D.J., 2003. Administration Of A Commercial Immunostimulant Preparation, EcoActiva™ As A Feed Supplement Enhances Macrophage Respiratory Burst And The Growth Rate Of Snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider)) In Winter. *Fish & Shellfish Immunology*, 14: 333–345.
- Cook M.T., Hayball J.P., Hutchinson W., Nowak B. ve Hayball D.J., 2001. The Efficacy Of A Commercial β -Glucan Preparation, Ecoactiva®, On Stimulating Respiratory Burst Activity Of Head-Kidney Macrophages From Pink Snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae. *Fish & Shellfish Immunology*, 11: 661–672.
- Couso N., Castro R., Magarin B., Obachc A., Lamasa J., 2003. Effect Of Oral Administration Of Glucans On The Resistance Of Gilthead Seabream To Pasteurellosis. *Aquaculture*, 219: 99–109.

- Cuesta A., Rodriguez A., Esteban A.M. ve Meseguer J., 2005. In Vivo Effects Of Propolis, A Honeybee Product, On Gilthead Seabream Innate Immune Responses. *Fish & Shellfish Immunology*, 18: 71-80.
- Dabrowski K. ve Glogowski J., 1977. Studies On The Role Of Exogenous Proteolytic Enzymes In Digestion In Fish. *Hydrobiologia*, 54: 129-134.
- Dalmo A.R., Bogwald J., Ingebrigtsen K. ve Seljelid R., 1996a. The Immunomodulatory Effect Of Lamiran β 1-3-D-glucan On Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., Anterior Kidney Leucocytes After Intraperitoneal, Peroral And Peranal Administration. *Journal of Fish Diseases*, 19: 449-457.
- Dalmo R.A. ve Bogwald J., 1996. Distribution Of Intravenously And Perorally Administered *Aeromonas salmonicida* Lipopolysaccharide In Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. . *Fish & Shellfish Immunology*, 6: 427-441.
- Dalmo R.A., Ingebrigtsen K., Bogwald J., Horsberg T.E. ve Seljelid R., 1995. Accumulation Of Immunomodulatory Laminaran β 1-3-D-Glucan In The Spleen And Kidney Of Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 18: 545-553.
- Dalmo R.A., Ingebrigtsen K. ve Bogwald J., 1997. Non-specific Defence Mechanisms In Fish, With Particular Reference To The Reticuloendothelial System (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20: 241-273.
- Dalmo R.A., Ingebrigtsen K., Sveinbjornsson B. ve Seljelid R., 1996b. Accumulation Of Immunomodulatory Laminaran β 1-3-D-glucan In The Heart, Spleen And Kidney Of Atlantic Cod, *Gadus morhua* L. *Journal of Fish Disease*, 19: 129-136.
- Dalmo R.A., Ingebrigtsen K., Horsberg T.E. ve Seljelid R., 1994. Intestinal Absorption Of Immunomodulatory Laminaran and Derivatives In Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 17: 579-589.
- Dalmo R. A., McQueen L.R., Bogwald J., Horsberg T.E. ve Seljelid R., 1995a. Microspheres As Antigen Carriers: Studies On Intestinal Absorption And Tissue Localization Of Polystyrene Microspheres In Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 18: 87-91.
- Dannevig B.H. ve Berg, T., 1978. Uptake And Proteolysis Of Denatured Human serum Albumin By Kidneys In Chars (*Salmo alpinus* L.). *Comparative Biochemistry and Pyhsiology*, 59A: 299-303.

- Dannevig B.H., Lauve A., Pres C.McL. ve Landsverk T., 1994. Receptor-Mediated Endocytosis And Phagocytosis By Rainbow Trout Headt Kidney Sinusoidal Cells. *Fish & Shellfish Immunology*, 4: 3-18.
- Dannevig B.H., Struksnaes G., Skogh T., Kindberg G.M. ve Berg T., 1990. Endocytosis Via The Scavenger And The Mannose-Receptor In Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Pronephros Is Carried Out By Nonphagocytic Cells. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8: 229-238.
- De Kinkelin P. ve Dorson M., 1973. Interferon Production In Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Experimentally Infected With Egtved Virus. *Journal of General Virology*, 19: 125-127.
- Demers N.E., ve Bayne C.J., 1994. Plasma Proteins Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Immediate Response To Acute Stres. Models For Environmental Toxicology, Biomarkers, Immunostimulants. Vol. 1 SOS Publications, Fair Haven, NJ. 1-9.
- Divyagnaneswari M., Christyapita D., Michael R. D., 2007. Enhancement Of Nonspecific Immunity And Disease Resistance In *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* Leaf Fractions. *Fish & Shellfish Immunology*, 23: 249-259.
- Dorin D., Sire M.F. ve Vernier J.M., 1994. Demonstration Of An Antibody Response Of The Anterior Kidney Following Intestinal Administration Of Soluble Protein Antigen In Trout. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109B: 499-509.
- Düğenci K.S. ve Candan A., 2003. Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Bazı İmmunostimulanların Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. *Turk J. Vet. Anim. Sci*, 27: 1253-1260.
- Düğenci K.S., Arda N. ve Candan A., 2003. Some Medicinal Plants As Immunostimulant For Fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 99–106.
- Dülger B., Hacıoğlu N. ve Bilen S., 2009. Antimicrobial Activity Of *Cotinus coggyria* From Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5): 4139-4140.
- Edagawa T., Murata M., Hattori M., Onuma M. ve Kodama H., 1993. Cell Surface C-Reactive Protein Of Rainbow Trout Lymphocytes. *Developmental and Comparative Immunology*, 17: 119-127.
- Ellis A.E., 1976. The Ultrastructure Of Plaice (*pleuronectes platessa*) Leucocytes. *Journal of Fish Biology*, 8: 139-142.
- Ellis A.E., Munroe A.L.S. ve Roberts R.J., 1976. Defence Mechanisms In Fish. A Study Of The Phagocytic System And Fate Of Intraperitoneally Injected Particulate

- Material In The Plaice (*Pleuronectes plateaa* L.). *Journal of Fish Biology*, 8: 67-78.
- Engstad R. E. ve Robertsen B., (1993). Recognition Of Yeast Cell Wall Glucan By Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) Macrophages. *Developmental and Comparative Immunology*, 17: 319–330.
- Espelid S. ve Jorgensen T.O., 1992. Antigen Processing of *Vibrio salmonicida* By fish (*Salmo salar* L.) Macrophages *in vitro*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2: 131-141.
- Esteban A.M., Rodriguez A., Cuesta A. ve Meseguer J., 2005. Effects Of Lactoferrin On Non-Specific Immune Responses Of Gilthead Seabream (*Sparus auratus* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 18: 109-124.
- Fange R., 1984. Lymphomyeloid Tissues In Fishes. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk forening*, 145: 143-162.
- Ferguson H.W., 1975. Phagocytosis By The Endocardial Lining Cells Of The Atrium Of Plaice (*Pleuronectes platessa*). *Journal of Comparative Pathology*, 85: 561-569.
- Ferren F.A., 1967. Role Of Spleen In Immune Response Of Teleost And Elasmobranchs. *Journal of the Florida Medical Association*, 54: 434-437.
- Fletcher T.C. ve White A., 1973. Lysozyme Activity In The Plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Experientia*, 29: 1283-1285.
- Gatta P.P., Thompson K.D., Smullen R., Piva A., Testi S., ve Adams A., 2001. Dietary Organic Chromium Supplementation And Its Effect On The Immune Response Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 11: 371–382.
- Gjoen T. ve Berg T., 1992. Metabolism Of Low Density Lipoproteins In Rainbow Trout. *Fish Physiology and Biochemistry*, 9: 453-461.
- Gopalakannan A. ve Arul V., 2006. Immunomodulatory Effects Of Dietary Intake Of Chitin, Chitosan And Levamisole On The Immune System Of Cyprinus Carpio And Control Of *Aeromonas hydrophila* Infection In Ponds. *Aquaculture*, 255: 179–187.
- Gupta K.S., Pal K.A., Sahu P.N., Dalvi R., Kumar V. ve Mukherjee C.S., 2008. Microbial Levan In The Diet Of *Labeo rohita* Hamilton Juveniles: Effect On Non-Specific Immunity And Histopathological Changes After Challenge With *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fish Diseases*, 31: 649–657.

- Hampton J.A., Klaunig J.E. ve Goldblatt P.J., 1987. Resident Sinusoidal Macrophages In The Liver Of The Brown Bullhead (*Ictalurus nebulosus*): An Ultrastructural, Functional And Cytochemical Study. *Anatomical Record*, 219: 338-346.
- Hofer R. ve Schiemer F., 1981. Proteolytic Activity In The Digestive Tract Of Several Species Of Fish With Different Feding Habits. *Oecologia*, 48: 342-345.
- Iger Y. ve Abraham M., 1990. The Process Of Skin Healing In Experimentally Wounded Carp. *Journal of Fish Biology*, 36: 357-366.
- Imagawa T., Hashimoto Y., Kon Y. ve Sugimura M., 1990. Vascularization And Related Distribution Of Leucocytes In Carp, *Cyprinus carpio* L., Head Kidney. *Journal of Fish Biology*, 37: 357-366.
- Ingebrigtsen K., Horsberg T.E., Dalmo R. ve Seljelid R., 1993. Tissue Distribution Of The Immunomodulator Aminated β 1-3 Polyglucose In Atlantic Salmon (*Salmo salar*) After Intravenous, Intraperitoneal And Peroral Administration. *Aquaculture*, 117: 29-35.
- Iwai T., 1968. Fine Structure And Absorption Patterns Of Intestinal Epithelial Cells In Rainbow Trout Alevins. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 91: 366-379.
- Iwama G. ve Nakanishi T., 1996. The Fish Immune System. Organism, Pathogen, And Environment. Academic Press Limited 24-28 Oval Road, London NW1 7DX, UK. 380 p.
- Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T. ve Yankova T., 2005. Polyphenols And Antioxidant Capacity Of Bulgarian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 145–150.
- Jeney G., Galeotti M., Volpatti D., Jeney Z. ve Anderson D.P., 1997. Prevention Of Stress In Rainbow Trout (*O. mykiss*) Fed Diets Containing Different Doses Of Glucan. *Aquaculture*, 154: 1–15.
- Jeney G. ve Jeney Z., 2002. Application Of Immunostimulants For Modulation Of The Non-Specific Defense Mechanisms In Sturgeon Hybrid: *Acipenser ruthenus* X *A. baerii*. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 416–419.
- Jørgensen J. B., Lunde H. ve Robertsen B., (1993b). Peritoneal And Head Kidney Cell Response To Intraperitoneally Injected Yeast Glucan In Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 16: 313–325.

- Jørgensen J. B., Sharp G. J. E., Secombes C. J. ve Robertsen B., (1993a). Effect Of A Yeast-Cell Wall Glucan On The Bactericidal Activity Of Rainbow Trout Macrophages. *Fish & Shellfish Immunology*, 3: 267–277.
- Kajita Y., Sakai M., Atsuta S. ve Kobayashi M., (1990). The Immunomodulatory Effects Of Levamisole On Rainbow Trout. *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology*, 25: 93–98.
- Kaplan M.H. ve Volanakis J.E., 1974. Interaction Of C-Reactive Protein Complexes With The Complement System. Consumption Of Human Complement Associated With The Reaction With The Choline Phosphatides, Lecithin And Sphingomyelin. *Journal of Immunology*, 112: 2135-2147.
- Kelenyi G. ve Nemeth A., 1969. Comparative Histochemistry And Electron Microscopy Of The Eosinophil Leucocytes Of Vertebrates. A Study Of Avian, Reptile, Amphibian And Fish Leucocytes. *Acta Biologica, Academia Scientiarum Hungaricae*, 20: 405-422.
- Keleş O., Candan A., Bakırel T. ve Karataş S., 2002. Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Zeranolin Anabolik Etkinliği Ve Spesifik Olmayan Ümmun Sisteme Yönelik Etkisinin İncelenmesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 26: 925-931.
- Kindberg G.M., Dannevig B.H., Andersen K.J., ve Berg T., 1991. Intracellular Transport Of Ovalbumin After *in vivo* Endocytosis In Rainbow Trout Liver. *Fish Physiology and Biochemistry*, 9: 113-121.
- Klesius P.H. ve Sealy W.M., 1996. Chemotactic And Chemokinetik Responses Of Channel Catfish Macrophages To Exoantigen From *Edwardsiella ictaluri*. *J. Aquat. Anim. Health*, 8: 314-318.
- Kristjansson M.M. ve Nielsen H.H., 1992. Purification and Characterization Of Two Chymotrypsin-Like Proteas From The Pyloric Caeca Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 101B: 247-253.
- Kumari J. ve Sahoo P.K., 2005. Effects Of Cyclophosphamide On The Immune System And Disease Resistance Of Asian Catfish *Clarias batrachus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 19: 307-316.
- Kumari J. ve Sahoo P.K., 2006. Non-Specific Immune Response Of Healthy And Immunocompromised Asian Catfish (*Clarias batrachus*) To Several Immunostimulants. *Aquaculture*, 255: 133-141.

- Kumari J, Swain T, Sahoo PK. Dietary Bovine Lactoferrin Induces Changes In Immunity Level And Disease Resistance In Asian Catfish *Clarias batrachus*. *Vet Immunol Immunopathol*, 94: 1-9.
- Kunttu H.M.T., Valtonen E.T., Suomalainen L.R., Vielma J. ve Jokinen I.E., 2009. The Efficacy Of Two Immunostimulants Against *Flavobacterium Columnare* Infection In Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 26: 850-857.
- Kültür Ş., 2007. Medicinal Plants Used In Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111: 341–364.
- Lamers C.H.J. ve Parmentier H.K., 1985. The Fate Of Intraperitoneally Injected Carbon Particles In Cyprinid Fish. *Cell and Tissue Research*, 242: 499-503.
- Lappin D. ve Whaley K., 1982. Prostaglandin And Prostaglandin Synthase Inhibitors Regulate The Synthesis Of Complement Components By Human Monocytes. *Clinical and Experimental Immunology*, 49: 623-630.
- Lappin D. ve Whaley K., 1993. *Complement And The Mononuclear Phagocyte System*. *Blood Cell Biochemistry*, New York, NY. Vol. 5. 149-159 p.
- LeFevre M.E., Vanderhoff J.W., Laissue J.A. ve Joel D.D., 1978. Accumulation Of 2µm Latex Particles In Mouse Peyer's Patches During Chronic Latex Feding. *Experientia*, 34: 120-122.
- Leknes I.L., 1987. Endocytosis Of Horse-Spleen Ferritin By Bony Fish Endocardium. *Acta Histochemica*, 81:175-182.
- Liang M., Wang J., Chang Q. ve Mai K., 2006. Effects Of Different Levels Of Fish Protein Hydrolysate In The Diet On The Nonspecific Immunity Of Japanese Sea Bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1828). *Aquaculture Research*, 37: 102-106.
- Li P., Lewis D. H., Gatlin D. M., 2004. Dietary Oligonucleotides From Yeast RNA Influence Immune Responses And Resistance Of Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* X *Morone saxatilis*) To *Streptococcus Iniae* Infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 16: 561-569.
- Li P., Wang X. ve Gatlin M.D., 2006. Evaluation Of Levamisole As A Feed Additive For Growth And Health Management Of Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 251: 201–209.

- Li P., Wen Q. ve Gatlin M., 2009. Dose-Dependent Influences Of Dietary β -1,3-Glucan On Innate Immunity And Disease Resistance Of Hybrid Striped Bass *Morone chrysops* X *Morone saxatilis*. *Aquaculture Research*, 40: 1578-1584.
- Li Q., Li C., Li H., Caia M. ve Li Z., 2005. Total Synthesis Of Syringalide B, a Phenylpropanoid Glycoside. *Carbohydrate Research*. 340: 1601–1604.
- Luskova V., 1997. Annual Cycles and Normal Values of Hematological Parameters In Fishes. *Acta Sc. Nat. Brno*, 31 (5): 70.
(5): 70 p., 1997.
- Mackmull G. ve Michels, N.A., 1932. Absorption Of Colloidal Carbon From The Peritoneal Cavity In The Teleost *Tautogolabrus adspersus*. *American Journal of Anatomy*, 51: 3-47.
- Matsuyama H., Magindaan R. E. P. ve Yano T., (1992). Protective Effect Of Schizophyllan And Scleroglucan Against *Streptococcus* sp. Infection In Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*, 101: 197–203.
- Meseguer J., Esteban M.A. ve Agulleiro B., 1991. Stromal Cells, Macrophages And Lymphoid Cells In The Head Kidney Of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). An Ultrastructural Study. *Archives of Histology and Cytology*, 54: 299-309.
- Misra K.C., Das K.B., Mukherjee C.S., Pattnaik P., 2006. Effect Of Multiple Injections Of β -Glucan On Non-Specific Immune Response And Disease Resistance In *Labeo rohita* Fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*, 20: 305-319.
- Misra K.C., Das K.B., Pradhan J., Pattnaika P., Sethib S., Mukherjeeb C.S., 2004. Changes In Lysosomal Enzyme Activity And Protection Against *Vibrio* Infection In *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) Post Larvae After Bath Immunostimulation With β -glucan. *Fish & Shellfish Immunology*, 17: 389-395.
- Monaco J.J., 1995. Pathways For The Processing And Presentation Of Antigens To T-Cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 57: 543-547.
- Mori M., 1980. Studies On The Phagocytic System In Goldfish. Phagocytosis Of Intraperitoneally Injected Carbon Particles. *Fish Pathology*, 15: 25-30.
- Murai T., Kodama H., Naiki M., Mikami T. ve Izawa H., 1990. Isolation And Characterization Of Rainbow Trout C-Reactive Protein. *Developmental and Comparative Immunology*, 14: 49-58.
- Murray A.L., Ponnald J.P., Alcorn S.W., Fairgrieve W.T., Shearer K.D. ve Roley D., (2003). Effects Of Various Feed Supplements Containing Fish Protein

- Hydrolysate Or Fish Processing By Products On The Innate Immune Functions Of Juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 220: 643-653.
- Nakamura H. ve Shimozawa A., 1994. Phagocytic Cells In The Cell Heart. *Archives of Histology and Cytology*, 57: 415-425.
- Nikl L., Albright L. J. ve Evelyn T. P. T., (1991). Influence Of Seven Immunostimulants On The Immune Response Of Coho Salmon To *Aeromonas salmonicida*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 12: 7–12.
- Nilsen F., 1995. Description of *Trichodina hippoglossis* From Farmed Atlantic Halibut Larvae *Hippoglossus hippoglossus*. *Disease of Aquatic Organisms*, 21: 209-214.
- O'Donnell G.B., Smith P.R., Kilmartin J.J. ve Moran A.P., 1994. Uptake And Fate Of Orally Administered Bacterial Lipopolysaccharide In Brown Trout (*Salmo trutta*). *Fish & Shellfish Immunology*, 4: 285-299.
- Ortuno J., Esteban M. A. ve Meseguer J., 1999. Effect Of High Dietary Intake Of Vitamin C On Non-Specific Immune Response Of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 9: 429–443.
- Ortuno J., Esteban M. A. ve Meseguer J., 2000. High Dietary Intake Of α -Tocopherol Acetate Enhances The Non-Specific Immune Response Of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 10: 293–307.
- Osserman E.F., Lawlor D.P., 1966. Plasma And Urinary Lysozyme (muramidase) In Monocytic And Monomyelocytic Leukemia. *Journal of Experimental Medicine*, 124: 921-52.
- Pepys M.B., Dash A.C., Fletcher T.C., Richardson N. ve Munn E.A., 1978. Analogues In Other Mammals And Fish Of Human Plasma Proteins, C-Reactive Protein And Amyloid P Component. *Nature*, 273: 168-170.
- Press C.McL., Dannevig B.H. ve Landsverk T., 1994. Immune And Enzyme Histochemical Phenotypes Of Lymphoid And Nonlymphoid Cells Within The Spleen And Head Kidney Of Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 4: 79-93
- Puangkaew J., Kiron V., Somamoto T., Okamoto N., Satoh S., Takeuchi T. ve Watanabe T., 2004. Nonspecific Immune Response Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) In Relation To Different Status Of Vitamin E And Highly Unsaturated Fatty Acids. *Fish & Shellfish Immunology*, 16: 25–39.

- Raa J., Rørstad G., Engstad R. ve Robertsen B., (1992). The Use Of Immunostimulants To Increase Resistance Of Aquatic Organisms To Microbial Infections. *Diseases of Asian Aquaculture*, 1: 39–50.
- Rairakhwada D., Pal A.K., Bhathena Z.P., Sahu N.P., Jha A., Mukherjee S.C., 2007. Dietary Microbial Levan Enhances Cellular Non-Specific Immunity and Survival Of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 16: 1-10.
- Robertsen B., Rørstad G., Engstad R. ve Raa J., (1990). Enhancement Of Nonspecific Disease Resistance In Atlantic Salmon, *Salmo salar* L., By A Glucan From *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall. *Journal of Fish Diseases*, 13: 391–400.
- Roberts R.J., 1975. Melanin-Containing Cells Of Teleost Fish And Their Relation To Disease. In: Ribelin, W. R. ve Migaki, G. Eds. *The Pathology of Fishes*. University of Wisconsin Pres. Madison. 399-428.
- Robertsen B., Engstad R. E. ve Jørgensen J. B., (1994). β -glucans As Immunostimulants In Fish. *Modulators of Fish Immune Responses*, 1: 83–99.
- Rodriguez A., Cuesta A., Ortuno J., Esteban M.A. ve Meseguer J., 2003. Immunostimulant Properties Of A Cell Wall-Modified Whole *Saccharomyces Cerevisiae* Strain Administered By Diet To Seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96: 183–192.
- Rodriguez A., Cuesta A., Esteban M.A. ve Meseguer J., 2004. The Effect Of Dietary Administration Of The Fungus *Mucor circinelloides* On Non-Specific Immune Responses Of Gilthead Seabream. *Fish & Shellfish Immunology*, 16: 241–249.
- Roed K.H., Delhi A.K., Flengsrud R., Midthjell L. ve Rorvik K.A., 1995. Immunoassay And Partial Characterisation Of Serum Transferin From Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 5: 73-79.
- Rowley A., 1990. Collection, Separation And Identification Of Fish Leucocytes. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaattari, S.L., Rowley, A.F. Eds. *Techniques In Fish Immunology*. Fish Immunology Technical Communications. 113–136.
- Rowley A.F., Hunt T.C., Page M. ve Mainwaring G., 1988. Fish. In: Rowley, A. F. ve Ratcliffe, N. A., Eds. *Vertebrate Blood Cells*. Cambridge University Pres. Cambridge. 19-127.,.

- Sahoo P.K., 2003. Immunostimulating Effect Of Triiodothyronine: Dietary Administration Of Triiodothyronine In Rohu (*Labeo rohita*) Enhances Immunity And Resistance To *Aeromonas hydrophila* Infection. *J. Appl. Ichthyol.*, 19: 118–122.
- Sahoo P.K. ve Mukherjee S.C., 2001. Effect Of Dietary β -1,3 Glucan On Immune Responses And Disease Resistance Of Healthy And Aflatoxin B1-induced Immunocompromised Rohu (*Labeo rohita* Hamilton). *Fish & Shellfish Immunology*, 11: 683–695.
- Sakai M., 1999. Current Research Status Of Fish Immunostimulants. *Aquaculture*, 172: 63-92.
- Sakai M., Taniguchi K., Mamoto K., Ogawa H. ve Tabata M., 2001. Immunostimulant Effects Of Nucleotide Isolated From Yeast RNA On Carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases*, 24: 433-438.
- Santarem M., Novoa B. ve Figueras A., 1997. Effects Of β -glucans On The Non-Specific Immune Responses Of Turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 7: 429–437.
- Santos M.A. ve Hall A., 1990. Influence Of Inorganic Mercury, Under Different Temperatures, On The Biochemical Blood Composition In The Eel *Anguilla anguilla* L. *Revista de Biologia. Universidad de Aveiro*. 61-70.
- Scapigliati G., Mazini M., Mastrolia L., Romano N. ve Abelli L., 1995. Production And Characterisation Of A Monoclonal Antibody Against The Thymocytes Of The Sea Bass *Dicentrarchus labrax* (L.) (Teleostea, Percichthyidae). *Fish & Shellfish Immunology*, 5: 393-405.
- Secombes C. J., (1994). Enhancement Of Fish Phagocyte Activity. *Fish & Shellfish Immunology*, 4: 421–436.
- Seeley P.D., Gillespie D. ve Weeks B.A., 1990. A Simple Technique For The Rapid Spectrophotometric Determination Of Phagocytosis By Fish Macrophages. *Marine Environmental Research*, 30: 37–41.
- Seternes T., Dalmo R.A., Hoffman J. ve Bogwald J., 1996. Tissue And Cellular Localisation Of LPS (*Vibrio salmonicida*) Following Intravenous, Intraperitoneal And Peroral Administration In Atlantic Salmon And Cod. In: International Association of Biological Standardization: International Symposium in Vaccinology. Abstract Book. 95.
- Siwicki A., (1987). Immunomodulatory Activity Of Levamisole In Carp Spawners, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Biology*, 31A: 245–246.

- Siwicki A.K., 1989. Immunostimulating Influence Of Levamisole On Nonspecific Immunity In Carp *Cyprinus carpio*. *Developmental Comparison Immunology*, 13: 87–91.
- Siwicki A. K., Anderson D. P. ve Dixon O. W., (1990). *In vitro* Immunostimulation Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Spleen Cells With Levamisole. *Developmental and Comparative Immunology*, 4: 231–237.
- Skjermo J. ve Bergh O., 2004. High-M Alginate Immunostimulation Of Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) Larvae Using Artemia For Delivery, Increases Resistance Against Vibriosis. *Aquaculture*, 238:107– 113.
- Smedsrod B., Gjoen T., Sveinbjornsson B. ve Berg T., 1993. Catabolism Of Circulating Collogen In The Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Fish Biology*, 42: 279-291.
- Smedsrod B., Olsen R. ve Sveinbjornsson B., 1995. Circulating Collagen Is Catabolized By Endocytosis Mainly In Endothelial Cells Of Endocardium In Cod (*Gadus morhua*). *Cell and Tissue Research*, 280: 39-48.
- Smedsrod T., Dannevig B.H., Tolleshaug H. ve Berg T., 1984. Endocytosis Of Mannose-Terminated Glycoprotein And Formaldehyde-Treated Human Serum Albumin In Liver And Kidney Cells From Fish (*Salmo alpinus* L.). *Developmental and Comparative Immunology*, 8: 579-588.
- Smith H., 1975. Eosinophilic Granule Cells Of Salmonids. M.Sc. Thesis (Master Tezi), University of Stirling, UK.
- Starkey P.M. ve Barrett A.J., 1982. Evolution Of α_2 -macroglobulin. The Structure Of A Protein Homologous With Human α_2 -macroglobulin From Plaice (*Pleuronectes platessa* L.) Plasma. *Biochemical Journal*, 205: 105-115.
- Stensvag K., Bogwald J., Sterio K. ve Jorgensen T.O., 1995. *In vitro* Degradation Of *Aeromonas salmonicida* And *Limulus polyhemus* Hemocyanin By Atlantic Salmon, *Salmo salar* L. Macrophages. *Fish and Shellfish Immunology*, 5: 427-439.
- Stroband H.W.J., van der Meer H. ve Timmermans L.P.M., 1979. Regional Functional Differentiation In The Gut Of The Grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Histochemistry*, 64: 235-249.
- Sveinbjornsson B., Olsen R. ve Paulsen S., 1996. Immunocytochemical Localization Of Lysozyme In Eosinophilic Granular Cells (EGC_s) Of Atlantic Salmon *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 19: 349-355.

- Tamura S., Shimizu T. ve Ikegami S., 1993. Endocytosis In Adult Eel Intestine: Immunological Detection Of Phagocytic Cells In The Surface Epithelium. *Biological Bulletin*, 184: 330-337.
- Tewary A. ve Patra B.C., 2008. Use Of Vitamin C As An Immunostimulant. Effect On Growth, Nutritional Quality, And Immune Response Of *Labeo rohita* (Ham.). *Fish Physiol Biochem*, 34: 251–259.
- Tomonaga S., Kobayashi K., Hagiwara K., Yamaguchi K. ve Awaya K., 1986. Gut-Associated Lymphoid Tissue In Elasmobranch. *Zoological Science*, 3: 453-458.
- Toroğlu S., Dıǵrak M. ve Çenet M., 2006. Baharat Olarak Tüketilen *Laurus nobilis* Linn ve *Zingiber officinale* Roscoe Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Antibiyotiklere In-Vitro Etkilerinin Belirlenmesi. *Journal of Science and Engineering*, 9(1): 20-26.
- Udall J.N ve Walker W.A., 1993. The Physiologic And Pathologic Basis For The Transport Of Macromolecules Across The Intestinal Tract. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 1: 295-301.
- Vallejo A.N., Ellsaesser F., Miller N.W. ve Clem L.W., 1991a. Spontaneous Development Of Functionally Active Long-Term Monocyte-Like Cell Lines From Channel Catfish. *In vitro Cellular and Developmental Biology*, 27A: 279-286.
- Vallejo A.N., Miller N.W. ve Clem L.W., 1991b. Phylogeny Of Immune Recognition: A Role Of Alloantigens In Antigen Presentation In Channel Catfish Immune Responses. *Immunology*, 74: 165-168.
- Vallejo A.N., Miller N.W. ve Clem L.W., 1992. Antigen Processing And Presentation In Teleost Immune Responses. *Annual Review of Fish Disease*, 2: 73-89.
- Vallejo A.N., Miller N.W., Jorgensen T. ve Clem L.W., 1990. Phylogeny Of Immune Recognition: Antigen Processing/Presentation In Channel Catfish Immune Responses To Hemocyanins. *Cellular Immunology*, 130: 364-377.
- Verlhac V., Obach A., Gabaudan J., Schuep W. ve Hole R., 1998. Immunomodulation By Dietary Vitamin C And Glucan In Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 8: 409–424
- Villamil L., Figueras A. ve Novoa B., 2003. Immunomodulatory Effects Of Nisin In Turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 14: 157–169.
- Walker W.A. ve Isselbacher, K.J., 1974. Uptake And Transport Of Macromolecules By The Intestine. Possible Role In Clinical Disorders. *Gastroenterology*, 67: 531-550.

- Walker W.A., ve Bloch K.J., 1983. Intestinal Uptake Of Macromolecules: *in vitro* And *in vivo* Studies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 409: 593-602.
- Walsh K.A., 1970. Trypsinogens And Trypsins In Various Species. *Methods In Enzymology*, 19: 41-63.
- Watanuki H., Ota K., Tassakka A.R.A.C.M., Kato T. ve Sakai M., 2006. Immunostimulant Effect Of Dietary *Spirulina platensis* On Carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 258: 157-163.
- Wolke R.E., 1992. Piscine Macrophage Aggregates: A Review. *Annual Review of Fish Disease*, 2: 91-108.
- Yang C.Z. ve Albright L.J., 1994. Anti-phytoplankton Therapy Of Finfish: The Mucolytic Agent L-cysteine Ethyl Ester Protects Coho Salmon *Oncorhynchus kisutch* Against The Harmful Phytoplankter *Chaetoceros concavicornis*. *Disease of Aquatic Organisms*, 20: 197-202.
- Yano T., Matsuyama, H. ve Mangindaan, R. E. P., (1991). Polysaccharide-induced Protection Of Carp, *Cyprinus carpio* L., Against Bacterial Infection. *Journal of Fish Diseases*, 14: 577–582.
- Yin G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z. ve Jeney, G., 2009. Chinese Herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) Enhance Immune Response Of Carp, *Cyprinus carpio*, And Protection Against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 26: 140–145.
- Zapata A., 1979. Ultrastructural Study Of The Teleost Fish Kidney. *Development and Comparative Immunology*, 3: 55-65.

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 1. 2006 yılında en fazla su ürünleri üretimi yapan ülkeler (Anonim, 2008a).....	2
Çizelge 2. Türkiye’deki toplam su ürünleri üretimi (ton) (1997–2008) (Anonim, 2009).....	4
Çizelge 3. Balık üretiminde kullanılan bazı bağışıklık uyarıcılar.....	18
Çizelge 4. Defne (<i>Laurus nobilis</i>) antimikrobiyal aktivitesi.....	35
Çizelge 5. Tetra (<i>Cotinus coggyria</i>) antimikrobiyal aktivitesi (Dülger ve ark., 2009).....	36
Çizelge 6. Homojenite testi.....	42
Çizelge 7. ANOVA testi.....	43
Çizelge 8. Deneme yeminin kimyasal kompozisyonu.....	44
Çizelge 9. Denemede kullanılan bitkilerin büyüme performansına olan etkileri.....	45
Çizelge 10. Zamana bağlı hücre içi solunum etkisi.....	48
Çizelge 11. Zamana bağlı hücre dışı solunum etkisi.....	53
Çizelge 12. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen fagozitik aktivite.....	58
Çizelge 13. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen lizozim aktivitesi.....	64
Çizelge 14. Uygulama sonrası gruplarda gözlenen total protein seviyesi.....	70

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Su ürünleri üretiminin 2006 yılındaki bölgesel dağılımı (Anonim, 2008a).....	1
Şekil 2. Türlerle göre 2007 yılındaki su ürünleri yetiştiriciliğinin oransal dağılımı (Anonim, 2008b).....	3
Şekil 3. Defans mekanizmasının sadeleştirilmiş görünümü. RES DO sistemin dördüncü hattını oluşturabilir (Dalmo ve ark., 1997).....	6
Şekil 4. Defne (<i>Laurus nobilis</i>).....	33
Şekil 5. Tetra (<i>Cotinus coggyria</i>).....	34
Şekil 6. Denemede kullanılan defne ve tetra bitkilerinin alabalıkların ortalama ağırlığına etkileri.....	46
Şekil 7. Denemede kullanılan defne ve tetra bitkilerinin alabalıkların spesifik büyüme oranına etkileri.....	46
Şekil 8. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	46
Şekil 9. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	50
Şekil 10. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	51
Şekil 11. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre içi solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	52
Şekil 12. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	55

- Şekil 13. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....55
- Şekil 14. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....56
- Şekil 15. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların hücre dışı solunum aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....57
- Şekil 16. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve c istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....60
- Şekil 17. % 1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve c istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....61
- Şekil 18. % 0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....62
- Şekil 19. % 1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların fagozitik aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....63
- Şekil 20. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....66
- Şekil 21. %1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde

haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a ve b istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	67
Şekil 22. %0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	68
Şekil 23. %1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların lizozim aktivitelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. a, b ve ab istatistiksel farklılığı ifade eder ($P<0,05$). Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	69
Şekil 24. % 0,5 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	71
Şekil 25. %1 Tetra içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	71
Şekil 26. %0,5 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	72
Şekil 27. %1 Defne içeren yemlerle beslenen alabalıkların total protein seviyelerinde haftalara bağlı olarak meydana gelen değişimler. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.....	72

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Soner BİLEN

Doğum Yeri : Keşan

Doğum Tarihi : 11.01.1980

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce-Japonca

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI –Diğer

1- Dulger, B., Gonuz, A., **Bilen, S.**, 2005. Antimicrobial Studies On Three Hypericum Species From Turkey. *South African Journal of Botany*, 71 (1): 100-103.

2- Bulut, M., Çelik, I., **Bilen, S.**, Sepehr, M. S., Ghorbanli, M., 2005. Formation of Catechin in Callus Cultures and Micropropagation of *Rheum ribes* L. *Pakistan Journal of Biological Science*, 8 (10): 1346-1350.

3- Bulut, M., Çelik, I., **Bilen, S.**, 2005. Biochemical Composition of Fertilized Striped Bream *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) Eggs. *Pakistan Journal of Biological Science* 8 (10): 1342-1345.

4- Bulut, M., Mendes, M., **Bilen S.** ve Çelik, S., 2008. Investigation on Relations of Blood Chemistry Parameters in Bluefish (*Pomatomos saltatrix* L. 1758) Using Multidimensional Scaling Technique. *Asian Journal of Chemistry*, 20 (3): 2264-2274.

5- Dulger, B., Hacıoğlu, N., **Bilen, S.**, 2009. Antimicrobial Activity Of *Cotinus coggyria* From Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (5): 4139-4140.

b) Bildiriler -Uluslararası –Ulusal

Tekeşoğlu, H, Çelik, İ., Kut, B., Soyutürk, M., **Bilen, S.**, 2005. Karides üretimi ve Türkiye'deki durumu. XIII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. (Poster).

Tekinay, A. A., Odabaşı, D., **Bilen, S.**, Güroy, D., Kut, B. (2004). Çanakkale Bölgesi Su Ürünleri Yetiştiriciliği Potansiyeli ve Durumu. Deniz Kuvvetleri Komutanlığı, Denizcilik Gücü Sempozyumu 05-06 Nisan. Tuzla/İstanbul

Alpaslan, M., **Bilen, S.**, 2004. Çanakkale Limanı Katı Atık Kompozisyonu. SBT Sempozyumu. Sayfa 63-67.

c) Katıldığı Projeler

1. Denizde Yetiştiriciliği Yapılan Gökkuşuğu Alabalıklarının Büyüme ve Et Kalitesi Üzerine Bir Araştırma (Proje No: 2002/17, Yardımcı araştırmacı).
2. Dardanos Rekreasyon Alanının Bentik Biyolojik Çeşitliliği (Proje No: 2002/51, Yardımcı Araştırmacı)
3. Kaynak (*Salvelinus fontinalis* Mitchell, 1814) ve Dere Alabalıklarının (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) Kaz Dağları (Çanakkale) Koşullarına Adaptasyonu ve Büyüme Performanslarının İrdelenmesi (Proje No: 2003/01, Yardımcı Araştırmacı)
4. Farklı Protein Kaynaklarının Japon Balıklarının (*Cyprinus auratus* Linnaeus, 1758) Yem Tüketimi ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri (Proje No: 2003/03, Yardımcı Araştırmacı).
5. Türkiye’de üretilen balık yemlerinin çevresel etkileri. Tubitak Projesi, Proje Araştırmacısı 2005.
6. Fındık küspesinin gökkuşuğu alabalığının yem tüketimi, büyümesi ve yem değerlendirilmesi üzerine etkileri. ÇOMÜ Döner Sermaye İşletmesi Müdürlüğü Projesi, Proje Araştırmacısı, 2004.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

- | | |
|------------|--|
| 1996-1997 | : Kılıç Deniz Ürünleri A.Ş. (Teknisyen) |
| 1999-2000 | : Özmandalinci Su Ürünleri İth. İhr. ve Ltd. Şti. (Teknisyen) |
| 2000-2001 | : Orfoz Su Ürünleri İth. İhr. Ve Ltd. Şti. (Mühendis) |
| 2001-2003 | : Gelidonya Su ve Sağlık Ürünleri İth. İhr. San. Ltd. Şti. (İşletme Müdürü) |
| 2003- 2007 | : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi (Araştırma Görevlisi) |
| 2006-2007 | : Filiz Su Ürünleri Tur. San. Tic. Ltd. Şti. (İşletme Müdürü) (Alabalık-Somon Kuluçkahanesi) |
| 2007-2008 | : Gelidonya Su Sağlık Ürünleri İth. İhr. Ltd. Şti. (Danışman) |
| 2007-2009 | : Aquavet Su Ürünleri ve Vet. Hiz. (Balık Hastalıkları Teşhis, Ürün Pazarlama ve Danışmanlık) |
| 2009-..... | : Denizsan Denizcilik A.Ş. (Gemide Alabalık ve Somon Üretimi, Supervisor.) |

İLETİŞİM

E-posta Adresi : soner_bilen@yahoo.com

