

757908

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELÇUK DUMAN

β-GLUCAN' IN SAĞLIKLI NİL TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARINDA
BAZI HEMATOLOJİK VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2004

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

β-GLUCAN' IN SAĞLIKLI NİL TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARINDA
BAZI HEMATOLOJİK VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ

SELÇUK DUMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 12/01/2004 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

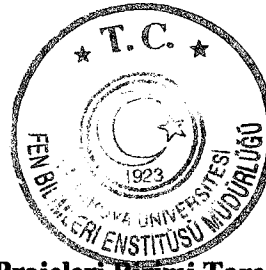
İmza.....
Yrd.Doç.Dr. Aysel ŞAHAN
DANIŞMAN

İmza.....
Prof.Dr. İbrahim CENGİZLER
ÜYE

İmza.....
Yrd.Doç.Dr. Ercüment GENÇ
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No: 2294



İmza.....
Prof.Dr. Fikri AKDENİZ
Enstitü Müdürü
İmza Mühür

Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE-2002-YL-211

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	8
3.1. Materyal.....	8
3.1.1. Kullanılan Balık Materyali ve Deney Havuzları.....	8
3.1.2. Beta-Glucan.....	8
3.2. Yöntem.....	9
3.2.1. Beta-Glucan' ın Yeme Karıştırılması.....	9
3.2.2. Kan Alınması.....	9
3.2.3. Hemoglobin (Hb) Miktarı Tayini.....	9
3.2.4. Hematokrit (Hct) Tayini.....	10
3.2.5. Fagositosis Deneyi.....	10
3.2.6. İstatistiki Analizler.....	11
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	12
4.1. Bulgular.....	12
4.1.1. Hematokrit Miktarı.....	13
4.1.2. Fagositik Aktivite.....	13
4.1.3. Hemoglobin Miktarı.....	14
4.2. TARTIŞMA.....	15
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	18
KAYNAKLAR.....	20
ÖZGEÇMİŞ.....	26

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**β-GLUCAN' IN SAĞLIKLI NİL TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)' LARINDA
BAZI HEMATOLOJİK VE İMMÜNOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ**

SELÇUK DUMAN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SU
ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Yrd.Doç.Dr. Aysel ŞAHAN

Yıl 2004, 26

Jüri : Yrd.Doç.Dr. Aysel ŞAHAN

Prof.Dr. İbrahim CENGİZLER

Yrd.Doç.Dr. Ercüment GENÇ

Bu araştırmada, bir immünoestimülant olan beta-glucan' ın Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)' larına farklı dozlarda uygulanması sonrası hematolojik ve immünolojik parametreler üzerine olan etkileri incelenmiştir. Glucan balıkların yemlerine %0.5, %0.1 oranlarında karıştırılmıştır. İki hafta boyunca günlük olarak canlı ağırlıklarının %2 'si kadar yem ile beslenen balıklarda hematokrit (Hct), hemoglobin (Hb) ve fagositik aktivite değerleri incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda %0.5 ve %0.1 oranında glucan uygulanan balıkların hematokrit (Hct) ve fagositik aktivite değerlerinde kontrol grubuna göre artış olduğu saptanmıştır. Bütün grupların hemoglobin (Hb) değerlerinde ise bir farklılık gözlenmemiştir .

Anahtar Kelimeler: Nil Tilapiası (*Oreochromis niloticus* L.), İmmünoestimülant, Beta-Glucan, Hematoloji, İmmün Sistem

ABSTRACT

MSc THESIS

INFLUENCE OF β -GLUCAN ON SOME HAEMATOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF HEALTHY NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)

SELÇUK DUMAN

**DEPARTMENT OF FISHERIES INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES UNIVERSITY OF CUKUROVA**

Supervisor : Asist.Prof.Dr. Aysel ŞAHAN

Year 2004, 26

Jury : Asist.Prof.Dr. Aysel ŞAHAN

Prof.Dr. İbrahim CENGİZLER

Asist.Prof.Dr. Ercüment GENÇ

In this study, effect of beta-glucan on immunological and haematological parameters in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) after different levels of administrations were investigated. Fish were fed the control and experimental diets containing glucan at 0.5 %, 0.1 % levels for two weeks and the feeding rate was 2 %. During experiment hematocrit (Hct), haemoglobin (Hb), and the values of phagocytic activities were determined. At the end of the investigations, hematocrit and phagocytic activity values of fish fed with the diets containing two levels of glucan were higher than that of fish fed with control diet. There was no any significant difference on the haemoglobin values of different groups.

Key Words : Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.), Immunostimulant, Beta-Glucan, Haematology, Immun System

TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamamda maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Aysel ŞAHAN' a, alanımda yetişmem için üzerimde büyük emeği olan Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekan Yardımcısı ve Hastalıklar Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. İbrahim CENGİZLER' e çok teşekkür ederim.

Tezin hazırlanmasında her zaman yanımda olan ve sıkıntılarımı paylaşan annem, babam ve kardeşime de teşekkürü bir borç bilirim.



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No

Sayfa No

Çizelge 4.1. Farklı Dozlarda β -glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama

Hematokrit (%), Fagositik Aktivite (510 nm) ve Hemoglobin

(gr/100 ml) Değerlerinin Karşılaştırılması.....

12



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Farklı Dozlarda β -Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Hematokrit Değerleri (%).....	13
Şekil 4.2. Farklı Dozlarda β -Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Fagositik Aktivite Değerleri.....	14
Şekil 4.3. Farklı Dozlarda β -Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Hemoglobin Değerleri (gr/100 ml).....	15



1. GİRİŞ

Bütün canlılar gibi balıklar da çevreleri ile olan etkileşimleri sonucu hastalanırlar. Hastalıklarla mücadele diğer türlerde olduğu gibi balık yetiştiriciliğinde de çok önemlidir. Başarılı bir yetiştiricilik balıkların hastalanmasının önlenmesiyle ve hastalanan balığın derhal tedavi edilmesiyle mümkündür. Sıcak ülkelerde tatlı su balık yetiştiriciliğinde tilapia önemli bir yer tutar. Dünyada tilapia üretimi, 1970 yılında 122.100 ton, 1975 yılında ise 116.773 ton olarak tespit edilmiştir (Alpbaz ve Hoşsucu, 1996). Nil tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)'sı yetiştiriciliği yapılan tilapia türleri arasında %80' lik bir oranla ilk sırayı alır (Anonymous 2003).

Canlılar sürekli bakteri, virüs, mantar ve parazit gibi fırsatçı mikroorganizmaların saldırısı altındadırlar. İmmün sistem saldırılara karşı fagositoz, doğal öldürücü hücreler (NK), komplement, lizozim ve antikor aktivitesi gibi yanıtlarla cevap verir. Fagositoz balıklarda ve memelilerde extra-cellular bakteriyel patojenlerin yok edilmesi için çok önemli bir mekanizmadır (Secombes ve Fletcher 1992). Hayvanların evrimi sırasında onların immün sistem mekanizmaları kimyasal yapıları algılamak, tanımak için gelişmiştir ve bu kimyasal yapılar, tehlikeli mikroorganizmalara karşı alarm sinyalleri gibi kullanılırlar (Raa, 2000). Özel immün yanıt ve özel olmayan savunma mekanizması özellikle enfeksiyonun erken aşamalarında enfeksiyon ile mücadelede çok önemli bir role sahiptir.

İmmünostimülanlar su ürünleri yetiştiriciliğinde ve genel hayvancılık sektöründe enfeksiyonlardan kaynaklanan mortaliteyi azaltmak ve hayvanın genel performansını düzeltmek için kullanılır (Raa 1996). Konakçı zayıfladığında veya strese girdiğinde fırsatçı patojenler hastalıklara yol açarlar ve mortaliteye neden olurlar. İmmünostimülanlar savunma mekanizmasını güçlendirir ve güçlenen bu mekanizma fırsatçı enfeksiyonları önler, büyümeyi ve genel performansı düzelterek üretim aşamasındaki kayıpları azaltır.

İmmünostimülanlar aşılarda adjuvant olarak da kullanılır. Beta-1,3/1,6-glucan iyi bir adjuvant etkisi gösterir ve antikor üretimini artırır. Beta-1,3/1,6-glucan

sadece aşılar ile verildiğinde değil, aynı zamanda besinler ile verildiğinde de antikor üretiminde artış gözlenir (Verlhac ve ark. 1998).

Bu araştırmada immünostimülant olarak kullanılan beta-glucan, bitkilerden çıkarılan bir polisakkarid grubudur. Beta-glucan' ın molekül ağırlığı genellikle 6500' ün üzerindedir ve erimemiş veya jel gibi partiküller halindedir. Beta-glucan bazı özel maya türleri, mantar ve mantarimsi bitkilerin hücre duvarında bulunur. (Anonymous 2003).

Beta-glucan hayati öneme sahip olan immün sistemi aktive eder. Kimyasal terminolojiye göre beta-1,3-glucan diye tanımlanır. Beta-1,3-glucan; glikoz molekülüleri ile bağlanmış bir makromoleküldür bu yüzden beta-1,3-bağlantılı denir. Beta-1,3-glucan sadece makrofaj aktivitesinde değil B-lenfositler ve T-baskılayıcı hücreler üzerinde de bir etkiye sahiptir. Glucan aynı zamanda dolaşımdaki nötrofillerin sayısını önemli oranda artırır (Anonymous 2002). Yapılan bir çalışmada glucan (Beta-1,3) makrofaj fonksiyonunda önemli bir artış sağlamış ve bakteriyel, viral, fungal ve parazitik enfeksiyonlarda da canlının özel olmayan konakçı direncinde artış göstermiştir (Anonymous 2002).

Bu çalışmada, beta-glucan'ın farklı dozları tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)' lara oral yolla verilmiş ve sonrasında balıklardaki bazı hematolojik ve immünolojik parametreler üzerindeki etkisi saptanmaya çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Glovsky ve ark. (1983), beta-1,3-Glucan'ın insanlar, fareler ve domuzların immün sistemleri üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Beta-1,3-Glucan'ın, enfeksiyonlarda komplement aktivasyonu üzerinde olumlu etkilerini gözlemişler ve vücutta oluşan tümörlerin büyümesini engellediğini bildirmişlerdir.

Rorstad ve ark. (1993), atlantik salmonu (*Salmo salar* L.) 'nda furunculosis'e karşı uygulanan aşılar da beta-1,3-1,6-glucan' ın adjuvant etkisinin olduğunu saptamışlardır.

Tsuchiya ve ark. (1993), farelere glucan uygulayarak doğal öldürücü hücreler (NK) 'in aktivasyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonunda glucan 'ın doğal öldürücü hücreler (NK)' in aktivasyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

Jorgensen ve ark. (1993), gökkuşağı alabalığında *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı glucan'ın bakterisidal aktivite ve ön böbrekteki makrofajların O₂ üretimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Bakterisidal aktivite ve ön böbrekteki makrofajların O₂ üretiminde artış olduğunu saptamışlardır.

Jeney ve Anderson (1993), glucan' ın gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' na enjeksiyon ve banyo yoluyla uygulanması sonucu, özel olmayan immün yanıtta, nötrofil aktivasyonunda ve fagositik aktivitede artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Siwicki ve ark. (1994), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) 'nda Macrogard, Evetsel ve Chitosan gibi immünostimulantları kullanarak, patojeni *Aeromonas salmonicida* olan furunculosis hastalığına karşı önemli bir direnç sağlamışlardır.

Aakre ve ark. (1994), adjuvant olarak kullanılan β -1,3-M-Glucan' ın *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı Atlantik salmonu (*Salmo salar* L.) 'nda antikör üretimini ve immün cevabı artırdığını tespit etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda *Aeromonas salmonicida* enfeksiyonuna karşı bir koruma oluştuğunu belirlemişlerdir.

Azizoğlu ve Cengizler (1996), Sağlıklı nil tilapiası (*Oreochromis niloticus* L.)’ nda bazı hematolojik parametrelerin saptanmasına yönelik bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar bu türün bireylerinde eritrosit, lökosit, hemoglobin, hematokrit, glikoz, protein miktarı, lökosit hücrelerinin oranları ve kandaki şekilli elemanların büyüklüklerini saptamaya çalışmışlardır.

Raa (1996), immünoestimülant maddelerin çeşitlerini ve nasıl elde edildiklerini açıklamış, yoğun olarak kültürü yapılan balıklarda immünoestimülant maddelerin kullanımını ve bu maddelerin balıkların sağlığı üzerindeki faydalı etkilerini belirtmiştir.

Verlhac ve ark. (1996), kültürü yapılan önemli balık türlerinden gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ‘nın enterik kızılagız hastalığına karşı, C vitamini ve β -glucan içerikli yemlerle beslenmesi ile makrofaj aktivitesinde ve özel immün antikor yanıtta artış olduğunu saptamışlardır.

Albores ve ark. (1997), beyaz karides (*Penaeus vannamei*)’ de beta-1,3-glucan ‘ın immün parametreler üzerindeki etkisini incelemişler ve immün parametrelerde artış olduğunu belirtmişlerdir.

Jeney ve ark. (1997), gökkuşağı alabalığında stresin önlenmesi amacı ile beta-glucan’ı oral olarak bu türün bireylerine farklı dozlarda vermişlerdir. Kandaki kortizol, glikoz, protein değerlerindeki değişimleri ve lökosit kompozisyonunu incelemişlerdir.

Siwicki ve ark. (1998), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ‘na *Aeromonas salmonicida* patojenine karşı KLP-602 immünoestimülantını enjekte etmişler ve bu maddenin furunculosis’ e karşı koruma sağladığını tespit etmişlerdir.

Verlhac ve ark. (1998), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’ na vitamin C ve Glucan’ ın besinlerle verilmesinin sıvısal ve hücresele immün yanıt üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Makrofaj aktivitesi, komplement aktivasyonu, lizozim seviyesi ve antikor titresini incelemişler, vitamin C ve glucan’ın özel olmayan immün yanıtı artırdığını tespit etmişlerdir.

Lapatra ve ark. (1998), gökkuşağı alabalığında IHN virüs enfeksiyonuna karşı glucan'ın koruyucu etkisini incelemişlerdir. Glucan uygulanan bireylerde hayatta kalma oranının, glucan uygulanmayan bireylere göre daha yüksek olduğunu belirtmişler ve doğal immünitinin güçlendiğini saptamışlardır.

Robertsen (1999), balıklarda mikrobiyal enfeksiyonlara karşı β -glucan ve LPS gibi immünostimülantları kullanarak makrofaj, fagositik aktivite, doğal öldürücü hücreler (NK), sitokinlerdeki artışları saptamış ve özel olmayan immünitinin güçlendiğini belirtmiştir.

Cleary ve ark. (1999), farelerde yapılan deneylerde β -1,6-glucan 'ın eosinofil, nötrofil, makrofaj ve kök hücrelerin aktivasyonunu artırdığını tespit etmişlerdir.

Keller ve Pharm (2000), mantarlardan elde edilen β -1,3-D-glucan' ın makrofajlar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. β -1,3-D-Glucan' ın insan ve hayvanlarda benzer şekilde makrofajların yabancı hücreleri tanıma yeteneğini ve fagositik aktiviteyi artırdığını tespit etmişlerdir.

Raa (2000), beta-1,3-1,6-glucan' ın immün sistem üzerinde zararlı etkilerinin olup olmadığını, insanlar ve hayvanlar üzerindeki biyolojik etkilerini, kültür hayvanlarının genel performansını ve sağlığını düzelttiği konusunda araştırmalar yapmıştır.

Medzhitov ve Janeway (2000), doğal immüniteyi incelemişler ve immün sistemin antijenlere karşı nasıl cevap verdiğini açıklamışlardır.

Cook ve ark. (2001), ticari bir ürün olan ve beta-glucan içeren EcoActiva 'nın mercan (*Pagrus auratus*) 'ın bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini incelemişler ve EcoActiva' nın mercan' da makrofaj aktivitesini artırdığı, non-spesifik immüniteyi stimüle edebildiğini saptamışlardır.

Sritunyalucksana ve ark. (2002), kaplan karidesi (*Penaeus monodon*)' ne *Vibrio harvey* patojenini enjekte etmişler ve daha sonra beta-1,3-glucan içerikli yemlerle beslemişlerdir. Deney gruplarında kontrol gruplarına göre yüksek oranda antikör titresi ölçmüşler ve deney gruplarının daha dirençli olduklarını saptamışlardır.

Engstad ve ark. (2002), fareler üzerinde yapılan klinik çalışmalarda beta-1,3-glucan ve lipopolysaccharide (LPS)' nin gram-negatif enfeksiyonlarda cytokin üretimini artırdığı, farelerin yaşamsal faaliyetlerini güçlendirdiğini ve enfeksiyonlara karşı koruma sağladığını tespit etmişlerdir.

Magnelli ve ark. (2002), bir ekmek mayası türü olan *Saccharomyces cerevisiae* 'nin hücre duvarından beta-1,6-glucan' ın izole edilmesi yöntemini açıklamışlardır.

Keleş ve ark. (2002), gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Zeranol' ün anabolik etkinliğini ve spesifik olmayan immün sisteme yönelik etkilerini incelemişlerdir.

Hultmark (2003), hastalık yapıcı patojen ile bağışıklık sistemi arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, sıvısal ve hücrel immün yanıtın nasıl gerçekleştiği, sitokinlerin türlerini ve hangi sitokinin nasıl bir görevi olduğunu belirleme konusunda çalışmalar yapmışlardır.

Smith ve ark. (2003), krustase' lerin immün sistemlerini incelemişler ve immünostimülant' ların crustase' lerde hastalıklara karşı nasıl bir koruma sağladığını araştırmışlardır.

Couso ve ark. (2003), deniz levreği' ne glucan' ın oral yolla verilmesi ile pasteurellosis' e karşı bir direnç oluşturmuşlardır. Glucan balıklara farklı dozlarda verilmiş ve pasteurellosis' e karşı en iyi direnci gösterecek optimum dozaj belirlenmeye çalışılmıştır. Glucan verilen balıklarda mortalite' nin azaldığını belirtmişlerdir.

Cain ve ark. (2003), beta-1,3-glucan' ın tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)' lara oral olarak verilmesi ile özel olmayan immün sistemin güçlendiğini ve glikoz ve kortizol seviyelerindeki değişimler aracılığıyla stres 'in azaldığını belirlemişlerdir.

Düğenci ve Candan (2003), beta-glucan ve S. pombe P450 gibi immünostimülantları gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda farklı dozlarda uygulamışlar ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisini incelemişlerdir.

Bu immünoestimülanların hücre içi solunum aktivitesini ve fagositik aktiviteyi artırdığını saptamışlardır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Balık Materyali ve Deney Havuzları

Araştırmada 60 adet deney ve 30 adet kontrol olmak üzere toplam 90 adet Nil Tilapiası (*Oreochromis niloticus* L. 1758) kullanılmıştır. Tilapia Afrika kökenli bir balıktır ve 1940' tan sonra Hindistan, Japonya, Endonezya ve Tayvan gibi Asya ülkeleri tarafından ithal edilmiş ve buralarda yetiştirilmeye başlanmıştır. En iyi gelişmeyi 26-30 °C civarındaki su sıcaklıklarında gerçekleştirirler. Ülkemizde genel olarak Akdeniz sahil kuşağı ve Ege bölgesi tilapia yetiştiriciliği açısından uygundur. Tilapia' lar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su Araştırma ve Üretim istasyonundan sağlanmış ve aynı ünitadaki beton havuzlara konularak iki hafta boyunca uyumları sağlanmıştır. Adaptasyon ve deneme süresi boyunca balıklar günde iki kez olmak üzere vücut ağırlıklarının % 2' si oranında pelet yem ile beslenmişlerdir.

Araştırmada, üç ayrı uygulama için 100 x 170 x 75 cm ebatlarında 9 adet beton havuz kullanılmıştır. Deneme her bir havuza 10 adet balık / ton olacak şekilde üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Beta-Glucan

Gerekli olan beta-glucan için ticari bir kuruluşun "İmuneks 10 mg kapsül" isimli ürünü kullanılmıştır. Her kapsül ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) hücre duvarından elde edilen 10 mg saf beta-glucan içermektedir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Beta-Glucan' ın Yeme Karıştırılması

Araştırmada ticari bir firmadan alınan sazan yemi kullanılmıştır. Pelet halde bulunan yemler bir öğütücü vasıtası ile toz hale getirilmiştir. Daha sonra önceden hazırlanmış olan beta-glucan % 0,1 ve % 0,5 oranlarında yeme ilave edilerek, 20 dakika karıştırılmış ve uygun boyda pelet hale getirilerek 40 °C etüvde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan yemler ise kullanılıncaya kadar cam kavanozlarda + 4 °C' de saklanmıştır (Düğenci ve Candan, 2003; Jeney ve ark., 1997).

3.2.2. Kan Alınması

Balıklardan kan, kuyruk bölgesinden içi heparinli bir enjektör yardımıyla alınmıştır. Kan almak için balıklar MS-222 ile bayıltılmışlardır. Anestezik madde suya 10 mg/lt oranında karıştırılmış ve banyo tarzında uygulama ile balıklar bayıltılmıştır (Anonymous 2003).

3.2.3. Hemoglobin (Hb) Miktarı Tayini

Araştırmada hemoglobin miktarı tayini için Syanmethemoglobin yöntemi uygulanmıştır. 0,02 ml EDTA' lı kan özel Hb pipeti aracılığı ile deney tüpüne alınmış ve üzerine 5 ml drabkin eklenmiştir. Araştırma için kullanılan drabkin solüsyonu laboratuvar koşullarında aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

50 mg	Potasyum cyanid
200 mg	Potasyum ferricyanid
1,0 gr	Sodyum bikarbonat
1 lt	Distile su

Drabkin ile deney tüpü içerisindeki kanın karışıp Syanmethemoglobin' e dönüşebilmesi için karışım 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra bekletilen kan karışımının bir kısmı alınarak özel spektro küvetlerine konulmuş ve spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda okumaya alınmıştır. Okunan değer önceden hazırlanmış standart skala ile karşılaştırılarak, skalaya karşılık gelen değer ifade edilmiştir. (Şahan ve Cengizler, 2002; Blaxhall ve Daisley, 1973; Tanyer, 1985).

3.2.4. Hematokrit (Hct) Tayini

Araştırmada, Hct tayini için "Mikrohematokrit Teknikten" yararlanılmıştır. Hematokrit tayininde kanın pıhtılaşması istenmediği için, kan içi heparinli kılcal pipetler (mikrohematokrit pipetler) yardımıyla kuyruk kısmından alınmıştır. Her bireyden üçer adet pipet $\frac{3}{4}$ 'üne kadar doldurularak kansız uçları cam macunu ile kapatılarak 12.500 rpm hızda 5-7 dakika çevrilmiştir. Okunan değerler tüm kanın yüzdesi olarak ifade edilmiştir (Şahan ve Cengizler, 2002; Tanyer, 1985).

3.2.5. Fagositoz Deneyi

Hemaglütinasyon tampon çözeltisi içeren Histopaque 1.119 (Sigma) ve Histopaque 1.077 (Sigma) tabaka oluşturacak şekilde silikonlu tüplere ilave edilmiştir, daha sonra en üstte yine tabaka oluşturacak şekilde 1 ml kan dikkatli bir şekilde eklenmiştir. Örnekler 500 g 'de 15 dakika (4 °C) santrifüj edilmiş ve lökositler özenle ayrılmıştır. İki kez HBSS ile yıkanmış ve lökositlerin fagositik aktivitesinin incelenmesi için hücre sayısı $2 \times 10^6 / \text{ml}$ 'ye ayarlanmıştır.

Fagositoz deneyi kongo kırmızısı ile boyanmış maya hücrelerinin lökositler tarafından fagosit edilen düzeylerinin spektrofotometrik ölçümü prensibine dayanır. 250 µl lökosit solüsyonu, otoklavlanmış ve kongo kırmızısı ile boyanmış 500 µl maya hücresi süspansiyonu ile karıştırılmıştır (maya hücresi/lökosit sayısı 40/1

oranında). Bu karışım oda sıcaklığında bir saat süresince inkübe edilmiş, sonra karışımın üzerine 1 ml HBSS, dip kısmına ise 1 ml Histopaque 1.077 (Sigma) ilave edilmiştir. Örnekler, maya hücrelerinden lökositleri ayırmak için 850 g 'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen lökositler HBSS' de iki kez yıkanmış ve 1 ml tripsin-EDTA solüsyonu (5.0 g/l tripsin ve 2.0 g/l EDTA, Sigma) ile karıştırılarak 12 saat süresince 37 °C' de bekletilmiştir. Tripsin-EDTA körüne karşı spektrofotometrede 510 nm 'de okunmuştur (Jeney ve ark., 1997).

3.2.6. İstatistikî Analizler

Sonuçların değerlendirilmesi için Duncan Çoklu Aralık Testi (Duncan Multiple Range Test) uygulanmıştır (Hayran ve Özdemir, 1995). Deney grupları arasında oluşan farklılıklar ve bu farklılıkların önem düzeyleri belirlenmiştir ($P < 0.05$, $P > 0.05$). Bu istatistikî değerlendirmeler için "SPSS 8.0 for Windows" paket programından yararlanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Balıkların beta-glucan ile yemlenmeye başlandığı Ağustos 2003 tarihinden itibaren beton havuzlardaki su sıcaklığı ve oksijen miktarı ölçülmeye başlanmıştır. Ölçüm yemlemenin sona erdiği ve balıkların analize alındığı Eylül 2003 tarihine kadar iki hafta boyunca her gün yapılmıştır. Deney süresince su sıcaklığı 26 ± 2 °C olarak, çözünmüş oksijen miktarı ise $6,1 \pm 1,5$ mg/l olarak ölçülmüştür.

Ayrıca kullanılan nil tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)' sı bireylerinde ölçülen total boy ve ağırlık ortalamaları ise; $18,17 \pm 2,7$ cm boy ve $111,78 \pm 9,6$ gr ağırlık olarak saptanmıştır.

Yapılan ekto-parazit kontrolünde balıklarda herhangi bir parazite rastlanmamıştır.

Çizelge 4.1. Farklı Dozlarda β -glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Hematokrit (%), Fagositik Aktivite (510 nm) ve Hemogloblin (gr/100 ml) Değerlerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	(Kontrol)	% 0,1 Glucan (Uygulama)	% 0,5 Glucan (Uygulama)
	(Ort $\pm$ SD)	(Ort $\pm$ SD)	(Ort $\pm$ SD)
Hematokrit (%)	$38 \pm 1,8$	$40,6 \pm 1,8$ *	$38 \pm 1,4$
Fagositik Aktivite (510 nm)	$0,40 \pm 1,6$	$0,55 \pm 2,4$ *	$0,44 \pm 2,1$ *
Hemogloblin (gr/100 ml)	$8,52 \pm 0,2$	$8,58 \pm 0,4$	$8,47 \pm 0,2$

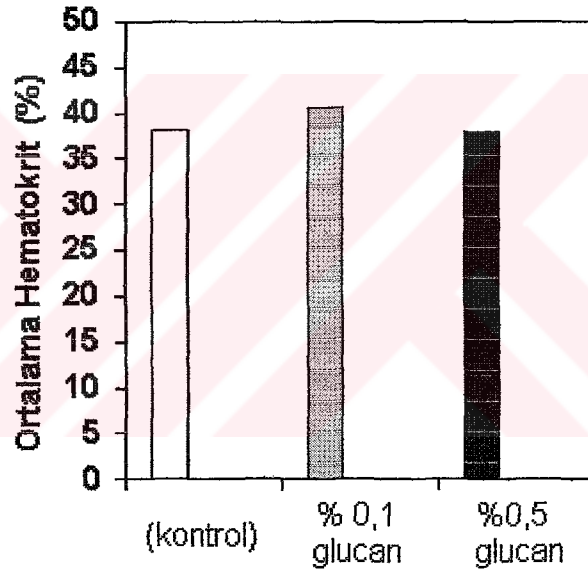
* : Önem seviyesi ($P < , > 0,05$)

SD : Standart sapma

Ort : Ortalama değer

4.1.1. Hematokrit Miktarı

İki hafta boyunca balıklar, beta-glucan' ın farklı dozlarını içeren yemle beslendikten sonra ölçülen hematokrit değerleri Şekil 4.1' de verilmiştir. Bu değerler verilen beta-glucan dozlarına bağlı olarak karşılaştırıldığında % 0,5 beta-glucan uygulanan grup ile kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmezken, %0,1 beta-glucan uygulanan gruptaki hematokrit değerleri daha yüksek çıkmıştır ($P < 0,05$).

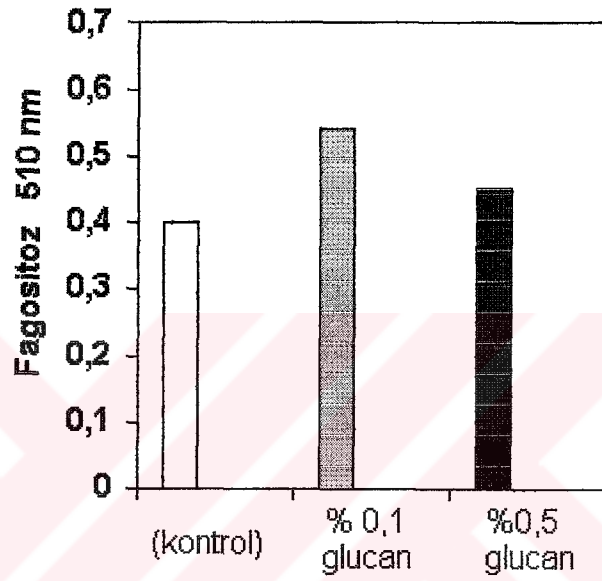


Şekil 4.1. Farklı Dozlarda Beta-Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Hematokrit Değerleri (%).

4.1.2. Fagositik Aktivite

Bu çalışmada farklı dozlarda beta-glucan içeren yemler ile beslenen balıklarda ölçülen fagositik aktivite değerleri Şekil 4.2.' de verilmiştir. Kontrol grubu ile % 0,5 ve % 0,1 beta-glucan uygulanan gruplar karşılaştırıldığında,

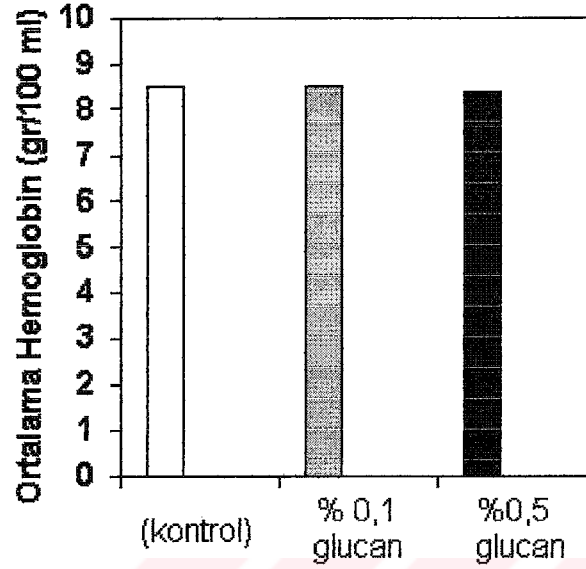
immünostimülant uygulanan gruplarda, fagositik aktivitenin daha yüksek çıktığı görülmüştür ($P < 0,05$). % 0,1 β -glucan uygulanan grubun özellikle diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir ($P < 0,05$).



Şekil 4.2. Farklı Dozlarda β -Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Fagositik Aktivite Değerleri.

4.1.3. Hemogloblin Miktarı

Farklı dozlarda beta-glucan uygulanan gruplar ve kontrol grubu birbirleri arasında Hb miktarı açısından karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda ölçülen ortalama değerler Şekil 4.3.' de verilmiştir. Karşılaştırılan gruplar arasında Hb miktarı bakımından istatistiki bir fark bulunamamıştır ($P > 0,05$). Çizelge 4.1.' de ise, bahsedilen üç uygulamanın ele alınan parametreler üzerindeki karşılaştırması verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı Dozlarda β -Glucan Uygulanan Gruplarda Ortalama Hemoglobin Değerleri (gr/100 ml).

4.2. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*)'nın hücre duvarından elde edilen ticari bir ürün olan "İmuneks 10 mg" (β -glucan) nil tilapiaları'nın yemlerine farklı dozlarda ilave edilmiştir. İki hafta süresince balıklara verilerek balıklar üzerindeki hematolojik ve immünolojik farklılıklar belirlenmiştir. Beta-glucan'ın özel olmayan savunma sisteminin ve enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasında önemli bir role sahip olan fagositik hücrelerin aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Lökositlerin maya hücrelerini fagosit etme yeteneğinin % 0,1 ve % 0,5 beta-glucan ile beslenen gruplarda, kontrol grubuna oranla yüksek olduğu saptanmıştır. Yemlerine immünostimülant karıştırılan gruplarda fagositoz oranında meydana gelen artış, bu maddenin balıkların immün sistemini uyardığının en iyi göstergesidir. Daha önceki çalışmalarda da β -glucan'ın oral olarak balıklara verilmesiyle fagositozda önemli bir artış olduğu bildirilmiştir (Jeney ve ark., 1997).

Beta-glucan ile beslenen nil tilapia' larında, kontrol grubuna oranla özel olmayan savunma mekanizmasının uyarıldığı görülmüştür.

İmmünostimülant maddelerin düşük dozda verilmesi ile immün yanıtın uyarıldığı, yüksek dozlarda verilmesinde ise immün baskılamaya neden olduğu bildirilmektedir (Raa, 1996). Raa yaptığı araştırmaları sonucunda beta-glucan' ın hastalık direncinde önemli role sahip savunma hücrelerinin aktivitesini artırdığını belirlemiştir (Raa, 2000). Kültür balıkçılığında beta-glucan kullanımı hastalıkların önlenmesi veya azaltılmasında da önemli bir role sahiptir (Jeney ve ark., 1993).

Diğer bir araştırmalarda ise; deniz levreği, pasteurellosis hastalığına karşı β -glucan içerikli yemlerle beslenmiştir. Pasteurellosis' e karşı immünostimülant ile beslenen balıklarda, kontrol grubuna oranla daha yüksek bir koruma sağladığı belirlenmiştir. Yapılan analizlerde beta-glucan ile beslenen balıklarda fagositik aktivite kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır. Araştırmacılar beta-glucan' ın pasteurellosis' den dolayı deniz levreğinde oluşacak mortaliteyi azaltacağını veya önleyeceğini öne sürmüşlerdir (Couso ve ark. 2003). Gökkuşığı alabalığında yapılan diğer bir çalışmada ise maya hücresinden elde edilen beta-glucan balıkların yemlerine farklı dozlarda karıştırılmış ve balıklar bu yemler ile beslenmiştir. beta-glucan' ın deney grubundaki immün parametreler üzerindeki etkisinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Verlhac ve ark., 1996). Özellikle fagositik aktivite açısından diğer çalışmalarda elde edilen bulgular, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Hematokrit değeri anemi ve diğer bazı hastalıkların tanısında önemli bir kriter olarak kabul edilir ve kandaki şekilli elemanların plazmaya oranını ifade eder. Herhangi bir nedenle dışarıdan verilen karma yemlerin içeriklerindeki dengesizlik yada balığın yaşadığı ortamdaki koşulların optimumdan sapması (kirlilik, oksijen miktarı, su sıcaklığı gibi) durumunda balık bunun üstesinden gelebilmek için bir seri fizyolojik ve biyokimyasal değişimler geçirir ve sonuçta strese girer. Balıklar patojenler veya diğer çevresel faktörler tarafından strese girdikleri zaman, hematokrit seviyelerinde farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Siwicki ve ark. 1994). Vitamin C ve

vitamin E farklı dozlarda immünoestimülant madde olarak yeme karıştırılarak hibrid levreklerle verilmiştir, hematokrit seviyeleri ve bazı immünolojik parametreler incelenmiştir. İmmünoestimülantların çeşitleri ve dozları arasında hematokrit değerleri bakımından farklılıklar olduğu belirlenmiştir. İmmünoestimülant verilen levreklerde hematokrit seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Sealey ve Gatlin, 2002). Diğer bir çalışmada ise, furunculosis patojenine karşı gökkuşağı alabalığına Macrogard, Evetsel ve Chitosan gibi immünoestimülantlar farklı dozlarda verilmiştir. Hematokrit değeri bakımından uygulama grupları ve kontrol grubu arasında farklılıklar tespit edilmiştir (Siwicki ve ark. 1994). Farklı dozlarda immünoestimülant verilen balıklarda hematokrit değerleri, daha önceki yapılmış çalışmalar ile paralellik gösterecek şekilde bizim çalışmamızda da kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır.

Kanda bulunan hemoglobin miktarı, kanın O₂' ni bağlama kapasitesi ile ilişkilidir. % 0,1 ve % 0,5 β-glucan içerikli yemler ile beslenen balıklarda hemoglobin için ölçülen parametreler açısından istatistiksel fark bulunamamıştır. β-glucan' ın balıklardaki hemoglobin düzeyinde gösterdiği farklılıklar daha önceden konuyla ilgili yapılmış yeterli çalışma olmaması nedeni ile tartışma düzeyinde ele alınamamıştır. Ancak yaptığımız çalışmada ise β-glucan' ın kontrol grubuna göre Hb değerleri üzerinde önemli düzeyde bir farklılık göstermediği sonucuna varılmıştır (P > 0,05).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmada beta-glucan' ın özel olmayan immün sistemi etkilediği ve enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasında etkin unsurlar olarak kabul edilen fagositik hücrelerin aktivitesini artırdığı saptanmıştır. Lökositlerin maya hücrelerini fagosit etme yeteneği β -glucan' ın % 0,1 ve % 0,5 dozlarıyla önemli düzeyde uyarılmıştır.

Gelecekte immünostimulant' ların optimum dozlarının kullanılması ile balık hastalıklarına karşı maksimum bir koruma sağlanacağı düşünülebilir. Büyük miktarda üretim yapan balık çiftliklerinde hastalıkların önlenmesi için immünostimulant' ların yeme karıştırılarak oral yolla verilmesi önerilebilir. Büyük çaplı haçeri ve balık çiftliklerinde hastalıklarla mücadele için balıklara bireysel enjeksiyon uygulanması çok pahalı olup; Ayrıca immersiyon, banyo ve püskürtme teknikleri de balıklarda strese neden olur. İmmünostimülantın en iyi uygulama yolu ise, yeme karıştırılıp oral olarak verilmesidir (Siwicki ve ark., 1994).

Eğer üreticiler balıklarını zamanında ve uygun dozlarda immünostimulant içeren yemler ile beslerlerse yüksek miktarda oluşabilecek kayıplardan da kaçınmış olabilirler. Beta-glucan' ın kültür balığı yetiştiriciliğinde fırsatçı patojen mikroorganizmalara karşı koruyucu bir role sahip olabileceği ve yetiştiriciliğin ilk aşamasında spesifik immünitenin henüz gelişmemiş olmasından kaynaklanan yüksek kayıpları düşürebileceği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca deneysel koşullarda farklı dozlarda β -glucan ilave edilmiş yemler ile beslenen nil tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1758)' sında hematokrit değerleri ile fagositik aktivite gibi özel olmayan bağışıklık sistem parametresini artırdığı, ancak hemoglobin miktarı üzerine etkisi olmadığı araştırmanın elde edilen en önemli bulgusu olmuştur.

Çalışmamızda, Chichlidae familyasının ticari açıdan değerli bir türü olan ve 1990' lı yıllarda, geleceğin hayvansal protein açığının kapatılmasında etkinliği ısrarla vurgulanan *Oreochromis niloticus*' un, immün sistem etkinliğinin artırılması

hedeflenmiştir. Yetiştiricilikte, direnç kaybı ile şekillenebilen enfeksiyonların neden olduğu ekonomik kayıpların giderilmesi konusunda uygulamaya yönelik etki getirmesi ve ileride yapılacak araştırmalara veri sunması açısından önemli görülmektedir.



KAYNAKLAR

- AAKRE, R., WERGELAND H. I., AASJORD, P. M., ENDRESEN, C., 1994.** Enhanced Antibody Response in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) to *Aeromonas salmonicida* Cell Wall Antigens Using a Bacterin Containing β -1,3-M-Glucan as Adjuvant. Fish & Shellfish Immunology, Volume 4, Issue 1, 47-61.
- ALPBAZ, A., HOŞSUCU, H., 1996.** İç Su Balıkları Yetiştiriciliği, (2. Baskı). Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:12(3). İzmir, 221 s.
- ALBORES, F. V., VEGA F. J., PLASCENCIA G. M. Y., 1997.** Purification and Comparison of β -1,3-Glucan Binding Protein From White Shrimp (*Penaeus vannamei*). Comp. Biochem. Physiol. Vol. 116B, No. 4, pp. 453-458.
- ANONYMOUS, 2002.** <http://www.globefish.org/presentations/hjtilapia>
- ANONYMOUS, 2002.** <http://www.alphazee.com/beta-glucan/bg.html>
- ANONYMOUS, 2003.** <http://www.marine-monsters.com/front/products/glucan2.html>
- ANONYMOUS, 2003.** <http://www.alpharmaanimalhealth.co.uk/DOCS/home.htm>
- AZİZOĞLU, A., CENGİZLER, İ., 1996.** Sağlıklı *Oreochromis niloticus* (L.) Bireylerinde Bazı Hematolojik Parametrelerin Saptanması Üzerine bir Araştırma. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, Ankara, (20), 425-431
- BLAXHALL, P. C., DAİSLEY, K. W., 1973.** Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. J. of Fish Biol. England, (5), p. 771-882

- CAIN, K. D., GRABOWSKI, L., REILLY, J., LYTWYN, M., 2003.,**
Immunomodulatory Effect of A Bacterial-derived β -1,3-Glucan Administered to Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in A Spirulina-Based Diet. *Aquaculture Research*, 34, 1241-1244.
- CLEARY, J. A., KELLY, G. E., HUSBAND, A. J., 1999.** The Effect of Molecular Weight and β -1,6-Linkages on Priming of Macrophage Function in Mice by (1,3)- β -D-Glucan. *Immunology and Cell Biology*, 77, 395-403.
- COOK, M.T., HAYBALL, P. J., HUTCHINSON, W., NOWAK, B., HAYBALL, P. 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., MAGARINOS, B., OBACH, A., LAMAS, J., 2003.**
Effect of Oral Administration of Glucans on the Resistance of Gilthead Seabream to Pasteurellosis. *Aquaculture*, 219, 99-109.
- DÜĞENCİ, S. K., CANDAN, A., 2003.** Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Bazı İmmünostimülant' ların Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. *Türk J Vet Anim Sci*, 27, 1253-1260.
- ENGSTAD, C. S., ENGSTAD, R. E., OLSEN, J. O., OSTERUD, B., 2002.** The Effect of Soluble β -1,3-Glucan and Lipopolysaccharide on Cytokine Production and Coagulation Activation in Whole Blood. *International Immunopharmacology*, 2, 1585-1597.

GLOVSKY, M. M., CORTES, L., GHEKIERE, L., ALENTY, A., WILLIAMS, D. L., DILUZIO, R., 1983. Effect of Particulate Beta-1,3-Glucan on Human, Rat and Guinea Pig Complement Activity. J Reticuloendothel Soc. 33(5): 401-13.

HAYRAN, M., ÖZDEMİR, O., 1995. Bilgisayar İstatistik ve Tıp. Hekimler Yayın Birliği HYB. Medikal Araştırma Birimi MEDAR, Ankara, 484 s.

HULTMARK, D., 2003. Drosophila Immunity: Paths and Patterns. Current Opinion in Immunology, 15, 12-19.

JENEY, G., ANDERSON, D. P., 1993. Glucan Injection or Bath Exposure Given Alone or in Combination with A Bacterin Enhance the Non-Specific Defence Mechanisms in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Aquaculture, 116, 315-329.

JENEY, G., GALEOTTI, M., VOLPATTI, D., JENEY, Z., ANDERSON, D.P., 1997. Prevention Of Stress In Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Diets Containing Different Doses Of Glucan. Aquaculture, 154, 1-15.

JORGENSEN, J. B., SHARP, G. J. E., SECOMBES, C. J., ROBERTSEN, B., 1993. Effect of A Yeast-Cell-Wall Glucan on the Bactericidal Activity of Rainbow Trout Macrophages. . Fish & Shellfish Immunology, Volume 3, Issue 4, 267-277.

KELLER, T., PHARM, B. S., 2000. Compounding With β -1,3-D-Glucan. International Journal of Pharmaceutical Compounding, Vol. 4, No. 5, 342-345.

- KELEŞ, O., CANDAN, A., BAKIREL, T., KARATAŞ, S., 2002.** Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Zeranol' ün Anabolik Etkinliği ve Spesifik Olmayan İmmün Sisteme Yönelik Etkisinin İncelenmesi. Türk J Vet Anim Sci, 26, 925-931.
- LAPATRA, S.E., LAUDA, K. A., JONES, G. R., SHEWMAKER, W. S., BAYNE, C. J., 1998.** Resistance to IHN Virus Infection in Rainbow Trout is Increased by Glucan while Subsequent Production of Serum Neutralizing Activity is Decreased. Fish & Shellfish Immunology, 8, 435-446.
- MAGNELLİ, P., CIPOLLO, J. F., ABEIJON, C., 2002.** A Refined Method for the Determination of *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall Composition and β -1,6-Glucan Fine Structure. Analytical Biochemistry, 301, 136-150.
- MEDZHITOV, R., JANEWAY, C., 2000.** Innate Immunity. The New England Journal of Medicine, Volume 343, Number 5, 338-344.
- RAA, J., 1996.** The Use of Immunostimulatory Substances in Fish and Shellfish Farming. Reviews in Fisheries Science, 4(3): 229-288.
- RAA, J., 2000.** The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds. Fifth Int. Symposium on Aquaculture Nutrition, Yucatan.
- ROBERTSEN, B., 1999.** Modulation of the Non-Specific Defence of Fish by Structurally Conserved Microbial Polymers. Fish & Shellfish Immunology, 9, 269-290.

RORSTAD, G., AASJORD, P. M., ROBERTSEN, B., 1993. Adjuvant Effect of A Yeast Glucan in Vaccines Against Furunculosis in Atlantik Salmon (*Salmo salar* L.). Fish & Shellfish Immunology, Voluma 3, Issue 3, 179-190.

SEALEY, W. M., GATLIN, D. M., 2002. Dietary Vitamin C and Vitamin E Interact to Influence Growt and Tissue Composition of Juvenile Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* x *M. saxsatilis*). The American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr. 132, 748-755.

SECOMBES, C. J., FLETCHER, T. C., 1992. The Role of Phagocytes in the Protective Mechanisms of Fish. Ann. Rev. Fish Dis. 2, 53-71.

SIWICKI, A. K., ANDERSON, D. P., RUMSEY, G. L., 1994. Dietary Intake of Immunostimulants by Rainbow Trout Affects Non-Specific Immunity and Protection Against Furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology, 41, 125-139.

SIWICKI, A. K., KLEIN, P., MORAND, M., KICZKA, W., STUDNICKA, M., 1998. Immunostimulatory Effect of Dimerized Lysozyme (KLP-602) on the Non-Specific Defense Mechanisms and Protection Against Furunculosis in Salmonids. Veterinary Immunology and Immunopathology, 61, 369-378.

SMITH, V. J., BROWN, J. H., HAUTON, C., 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does It Really Protect Against Infection?. Fish & Shellfish Immunology, 00, 1-20.

SRITUNYALUCKSANA, K., LEE, S. Y., SÖDERHALL, K., 2002. β -1,3-Glucan Binding Protein From the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. Developmental and Comparative Immunology 26, 237-245.

ŞAHAN, A., CENGİZLER, İ., 2002. Seyhan Nehri (Adana Kent İçi Bölgesi)' nde Yaşayan Benekli Siraz (*Capoeta barroisi* Lorted, 1894) ve Kızılgöz (*Rutilus rutilus*, Linnaeus, 1758)' de Bazı Hematolojik Parametrelerin Belirlenmesi. Türk J Vet Anim Sci, 26, 849-858.

TANYER, G., 1985. Hematoloji ve Lobaratuvar. Ders Kitabı. Ayyıldız A.Ş. Ankara. 109-148

TSUCHİYA, Y., YANG, Z., NAKAHASHI, S., ARIKA, T., 1993. Acceleration of Natural Killer (NK) Cell Recovery by A Glucan, Sizofiran, in Anti-Asialogmi Antibody Treated Mice. International Journal of Immunopharmacology, Volume 15, Issue 7, 783-792.

VERLHAC, V., GABAUDAN, J., OBACH, A., SCHÜEP, W., HOLE, R., 1996. Influence of Dietary Glucan and Vitamin C on Non-Specific and Specific Immune Responses of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 143, 123-133.

VERLHAC, V., OBACH, A., GABAUDAN, J., SCHÜEP, W., HOLE, R., 1998. Immunomodulation by Dietary Vitamin C and Glucan in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & Shellfish Immunology, 8, 409-424.

ÖZGEÇMİŞ

15.07.1977 yılında Sivas'ın Keklice köyünde doğdum. 1996 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesine girip, 2000 yılında Su Ürünleri Mühendisi olarak mezun oldum ve aynı yıl Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladım. Halen özel bir şirkette bilgi-işlem sorumlusu olarak çalışmaktayım.

