



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TAVŞANLARDA SPIRULINA PLATENSIS VE CANLI MAYA KÜLTÜRÜ  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE'NİN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ VE BÜYÜME  
PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİSİ**

**Nilay SEYİDOĞLU**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2015**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

TAVŞANLARDA SPIRULINA PLATENSIS VE CANLI MAYA KÜLTÜRÜ  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE'NİN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ VE BÜYÜME  
PERFORMANSI ÜZERİNE ETKİSİ

Nilay SEYİDOĞLU






(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Nurten GALİP

Bursa-2015

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Nilay SEYİDOĞLU tarafından hazırlanan "Tavşanlarda *Spirulina Platensis* Ve Canlı Maya Kültürü *Saccharomyces Cerevisiae*'nin Bağışıklık Sistemi Ve Büyüme Performansı Üzerine Etkisi" konulu Doktora tezi 22/10/2015 günü, 10:00-11:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Nurten GALİP	
Üye	Prof. Dr. Fahrünisa CENGİZ	
Üye	Doç. Dr. Ferah BUDAK	
Üye	Prof. Dr. Muharrem BALKAYA	
Üye	Doç. Dr. Hümeysra ÜNSAL	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ülgen GÜNAY

Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	I
İNGİLİZCE ÖZET.....	II
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
Spirulina Platensis.....	4
Saccharomyces Cerevisiae.....	8
SP ve SC'nin Büyüme Performansı Üzerine Etkileri.....	11
SP ve SC'nin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri.....	14
SP ve SC'nin Et Kalitesi Üzerine Etkileri.....	18
GEREÇ ve YÖNTEM.....	20
Hayvan materyali.....	20
Yem materyali.....	20
Deney Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi.....	21
Araştırma Rasyonunun Hazırlanması.....	21
Bazı Performans Değerlerinin Belirlenmesi.....	21
Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi.....	22
Lenfosit Alt Gruplarının ve Sitokin Düzeylerinin Belirlenmesi.....	24
Et Kalitesinin Değerlendirilmesinde Bazı Kimyasal Özelliklerin Belirlenmesi.....	26
İstatistik Analizler.....	28
BULGULAR.....	29
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	39
SP ve SC'nin Büyüme Performansına Etkileri.....	39
SP ve SC'nin Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri.....	42
SP ve SC'nin Bazı Lenfosit Alt Tipleri ve Sitokin Düzeylerine Etkileri.....	43
SP ve SC'nin Etin Bazı Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri.....	46
KAYNAKLAR.....	48
TEŞEKKÜR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	57

## ÖZET

Günümüzde doğal katkı maddelerinden *Spirulina platensis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve bunların içerikleri, büyüme performansı ve bağışıklığı ve böylece yaşam kalitesini arttırıcı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada *S. cerevisiae* (SC) ve *S. platensis* (SP) kombinasyonunu büyüme performansı ve bağışıklığın düzenlemesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada 40 adet, 5-6 haftalık, erkek beyaz Yeni Zellanda tavşanı kullanılmıştır. Gruplar sırasıyla; I. Kontrol (bazal yem), II. SC (kg yeme 3 g ilave), III. SP (kg yeme %5 oranında ilave), IV. SC ve SP grubu (kg yeme 3 g SC ve %5oranında SP ilave). 90 günlük çalışma süresince, 15 günde bir tavşanlar tartılarak canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışları belirlenmiştir. Yemliklerdeki artan yemler de tartılarak bu dönemlere ait yem tüketim değerleri ve yemden yararlanma oranları saptanmıştır. Kan örnekleri, 90. günde kulak venasından alınarak hematokrit değer, hemoglobün miktarı, alyuvar sayımı, akyuvar sayımı ve formül lökosit değerleri belirlenmiştir. Alınan kan örneklerinden serum ayrılarak CD4+, CD8+ ve CD4+/CD8+ T lenfosit değerleri flow sitometri ile sitokinler (IFN- $\gamma$  and IL-4) ise ELİSA yöntemiyle belirlenmiştir. Deneme sonunda, her gruptan ortalama canlı ağırlığa yakın olan 7 tavşan seçilerek toplam 28 hayvanda hizmet alımı şeklinde et analizleri yaptırılmıştır.

Sonuçlara göre büyüme performansında, hematolojik parametrelerde ve tavşan eti analizlerinde istatistiksel önemde bir farklılık saptanmamıştır. Bununla beraber, serum sitokin ekspresyonlarında herhangi bir farklılık gözlenmezken, SP ve SC+SP gruplarındaki hayvanlarda CD4+/CD8+ T lenfosit değerinin arttığı gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). Bu nedenle *S. platensis*'in immun arttırıcı olarak kullanımı önerilebilir. Ancak bu katkı maddelerinin farklı özellikte hayvan materyallerinde kullanımı ile ilgili daha derin ve ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar sözcük: Tavşan, *Saccharomyces cerevisiae*, *Spirulina platensis*, bağışıklık, büyüme

## SUMMARY

### **Effect Of *Spirulina Platensis* And *Saccharomyces Cerevisiae* Live Yeast Cell Culture On Immune System And Growth Performance In Rabbits**

Nowadays, natural additives *Spirulina platensis*, *Saccharomyces cerevisiae* and their contents have been applied to determine the effects on the growth performance and immune system and thereby life quality of the rabbits. This study is explored to effects of *S. cerevisiae* (SC), *S. platensis* (SP) and their combination on growth performance and regulation of immune.

Forty, male New Zealand white rabbits, aged 5-6 weeks, were divided in 4 equal groups. The groups; I. Control (basal diet), II. SC (added 3 g/kg), III. SP (added 5%), IV. SC and SP (added 3 g/kg SC and 5% SP of the diet), respectively. Body weight and weight gain were evaluated at every 15 days of the 90 day trial. Feed efficiency and feed conversion ratio were determined from the remaining feed. Blood samples were obtained by ear venipuncture on the 90th day, and some haematological parameters (haematocrit, haemoglobin, erythrocyte-leukocyte counts and leukocyte formula) were evaluated. CD4+, CD8+ and CD4+/CD8+T lymphocyte values were determined by flow cytometry and cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-4) were determined by ELISA. At the end of the study, on 28 rabbits, 7 from each group which in average weight were selected for meat analyses performed by hiring service.

According to the results, there were no significant differences occurred in the growth, haematological parameters and rabbit meat analyses. Although there were no differences in expression of cytokines, serum CD4+/CD8+ increased in SP and SC+SP groups, significantly ( $p < 0.05$ ). So, *S. platensis* may be used as an immune enhancer. However, more studies on other animal species would be necessary to clarify the effects of these supplements.

Key words: Rabbit, *Saccharomyces cerevisiae*, *Spirulina platensis*, immunity, growth

## GİRİŞ

Hayvan yetiştiriciliğinde hizmete sunulan enzimler, organik asitler, bazı bitkisel ürünler ve probiyotikler hem doğal olmaları hem de insan ve hayvan sağlığı açısından kullanılmaları sakınca taşımadıkları için en önemli yem katkı maddeleri arasında sayılmaktadır. Hayvan yetiştiriciliğinde verimi artırması ve sağlık alanlarında uygulanabilirliğinden dolayı bu ürünlerle ilgili bir çok araştırma yapılmakta ve kullanımı yaygınlaşmaktadır. Ayrıca insan sağlığı açısından da immün sisteminin kuvvetlendirilmesinde ve diğer bir çok önemli kullanım alanına sahiptir.

Tek başına bir yem olarak kabul edilmeyen yem katkı maddeleri, yem tüketimini ve yemden yararlanmayı artırmanın yanında, et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerin kalitesini iyileştirme gibi bir çok yararlar sağlamaktadır. Yem katkı maddelerinin bir kısmı doğal ve zararsız olmasına karşın, çoğu sentetik kimyasallardan oluşmakta ve hayvanlarda ve hayvansal ürünleri tüketen insanlarda ciddi sağlık sorunları yaratabilmektedir. Yem katkı maddeleri içerisinde insan sağlığı açısından en tehlikeli görülen ikisi hormonlar ve antibiyotiklerdir (1). 1949 yılında kanatlılar üzerinde yapılan bir deneme sırasında tesadüfen deney hayvanlarında büyüme artışının gözlenmesi antibiyotiklerin çiftlik hayvanlarında büyüme faktörü olarak kullanılmasını başlatmıştır (2). Antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılmasıyla büyüme ve yemden yararlanmayı arttırmak, subklinik hastalıkları önlemek, bazı hastalıklara karşı koruyucu etki oluşturmak, toksinleri engellemek ve besin maddelerinin bağırsaklardan emilimini arttırmak amaçlanmıştır. Ancak, antibiyotiklere karşı gelişen mikroorganizma direnci ve hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntılarının ciddi boyutlarda olması ve buna bağlı olarak insan ve hayvan sağlığını tehdit altında bırakması nedenleriyle kullanımları kısıtlanmış ve 2006 yılından itibaren tamamen kaldırılmıştır. Bununla beraber hormon ve hormon benzeri yem katkı maddeleri de insanlar üzerinde kanserojenik etki yapabileceği düşüncesiyle 1973 yılında çıkartılan yem kanunu ile yemlere hormon, antihormon ve hormon benzeri maddelerin katılması yasaklanmıştır. Artık günümüzde bunların yerine enzimler, probiyotikler, organik asitler, oligosakkaritler, tıbbi ve aromatik bitkiler ve ekstraktlarının kullanımı artmıştır (1).

Ekonomisi büyük ölçüde tarım ve hayvancılığa dayalı olan ülkemizde enzim üretiminin, özellikle düşük değerli tarımsal yan ürünleri kullanarak ekonomik yarar sağlayacağı yadsınamaz. Bu ürünlerin, yemlerdeki sindirimi güç ham sellüloz unsurları ile diğer organik ve inorganik unsurlardan daha iyi yararlanılmasını sağlamaktadır. Enzim kullanımı ile hayvanların yeterince veya hiç salgılayamadıkları enzimlerin eksikliği tamamlanmış olmaktadır. Enzimlerin insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bulunmamasına karşın, ithal oluşları ve etkilerini yitirmeden korumayla ilgili sorunlar daha fazla yaygınlaşmalarını engellemektedir (3, 4) .

Yem katkı maddesi olarak kullanılan organik asitler sindirim kanalında pH'yı düşürerek asit ortam yaratırlar. Asit ortam zararlı bakterilerin yaşamasını engellerken yararlı organizmaların yaşamasını sağlamaktadır. Bu özelliğinden dolayı organik asitler hayvanlarda verim artışı amacıyla kullanılmaktadır. Kolay bulunabilmeleri, ucuz olmaları ve kolay uygulanabilmeleri nedenleriyle yaygın olarak kullanılabilir ürünlerdir (1). Diğer yem katkı maddesi olan oligosakkaritler, 2-10 arasında değişen sayıda monosakkarit içeren karbonhidratlar olup ya bitkisel kaynaklardan ekstraksiyon yoluyla ya da polisakkaritlerin enzimatik parçalanması veya enzimatik sentez yoluyla elde edilirler. Yemlere katılıp yedirildiklerinde bağırsak pH'sını düşürerek zararlı bakterilerin yaşamasını engellerken yararlı mikroorganizmaların yaşamasını ve çoğalmasını sağlarlar. Yan etkileri yoktur ve üretim maliyetleri düşüktür (4).

Yem katkı maddesi bitki ve bitki ekstraktları ise yıllardan beri pek çok ülkede tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Sindirim sistemi rahatsızlıklarında, antiseptik, sedatif, antidiyaretik, analjezik, ekspektoran, diüretik ve böbrek taşı düşürücü, antiparazitik, antihelmintik olarak ve karaciğer rahatsızlıklarında kullanılmaktadır. Ülkemiz bu bitkiler açısından Dünya'nın en zengin yerleri arasındadır. Bunlardan elde edilen fenolik bileşikler, organik asitler ve esansiyel yağlar, bunlara ek olarak tarçın, karanfil, kekik, yenibahar ve çeşitli deniz yosunları gibi şifalı bitkilerin antimikrobiyal etkileri, dolayısıyla da yem katkı maddesi olarak kullanılabilmesi üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda bu ürünlerin patojen mikroorganizmaların sindirim sisteminde yerleşmelerini engellediği, immün sistemi güçlendirdiği ve yemden yararlanmayı arttırdığı sonuçları elde edilmiştir. Ancak, henüz ticari olarak bu ürünlerin yem katkı maddesi olarak kullanılmaları fazla yaygın değildir (1, 5). Bu ürünlerden yirmibirinci yüzyılda dikkatleri üzerine çeken tatlı su yosunu *Spirulina platensis* (SP) önemli bir protein kaynağı olarak doğal yem katkı maddeleri arasında sayılmaktadır. SP,



protein, vitamin ve mineral bakımından da zengin bir besindir. Yapılan araştırmalar sonunda; SP'nin antiviral, antikanserojen, antidiyabetik, kardiyovasküler sistem koruyucu, antioksidan, prebiyotik, probiyotik, immün sistemi güçlendirici, hipokolesterolemik ve antialerjik etkileri bulunmuştur (6, 7). SP uzun zamandan beri açık havuzlarda fotoototrofik olarak yetiştirilmektedir. SP sıcağı seven ve güneş ışığı kullanılarak organik madde üretebilen, ekonomik değeri olan bir türdür. Gıda endüstrisinde, bazı kimyasalların ve hayvan yemlerinin üretiminde kullanılmaktadır (8, 9).

Yem katkı maddelerinden en çok bilineni probiyotikler ise bağırsaklarda yerleşebilen “faydalı mikroroganizmalar” olarak tanımlanabilirler. Bunlar, içine karıştırıldıkları yemlerle ince bağırsağa ulaşıp orada yaşamlarını sürdürür ve antibiyotik özellikli maddeler üreterek zararlı mikroroganizmaların yaşamasına izin vermezler. Büyümeyi hızlandırma ve hastalıklara dayanıklılığı artırma yetenekleri vardır. Hiç bir yan etkileri ve zararlı etkileri yoktur (3).

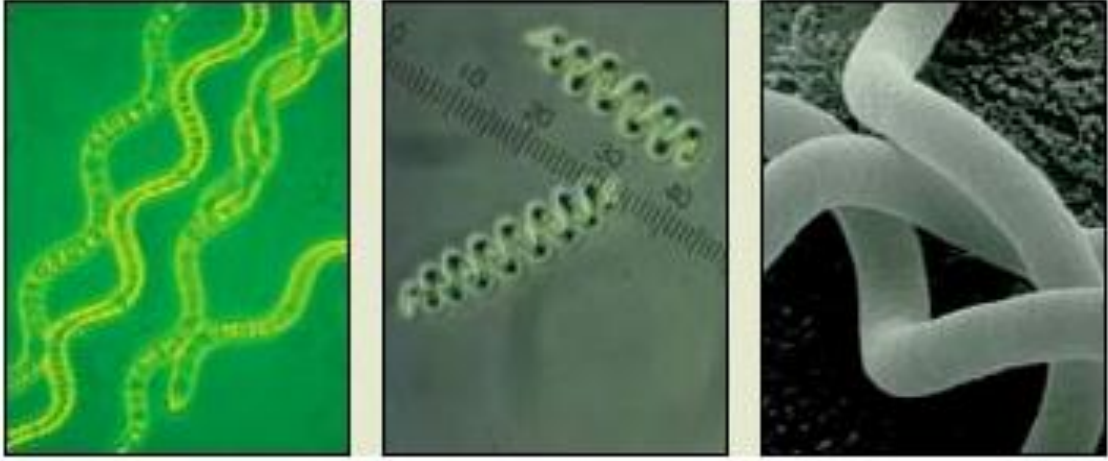
Probiyotik olarak kullanılan canlı bakteriler, mantar ve mayaların etkilerini gösterebilmeleri için depolama, uygulama sırasında ve bağırsak ortamında canlılığını koruması gerekir. Günümüzde en çok kullanılan probiyotik, mikrobiyel yem katkı maddesi olan *Saccharomyces cerevisiae* (SC) canlı maya kültürüdür (10-13). SC çok yönlü kullanımı olan zararsız bir mikroorganizmadır ve eskiden beri insan ve hayvan yiyeceklerinde kullanılmaktadır. Biyoteknolojideki gelişmelerde mayaların değişik amaçlarda kullanılmak üzere özel türlerinin üretildiği bildirilmiştir (14). Aktif kuru maya (%95 kuru madde) yem endüstrisinde kullanılabilen bir canlı mayadır. Maya Kültürü sadece maya hücresi içermeyip özel bir fermantasyon sürecinde sonuçlanan fermentasyon metabolitlerini sağlamak için tasarlanan tek maya fermente ürünüdür. Canlı maya kültürleri, amilaz, maltaz, sukraz, laktat ve lipaz gibi sindirim enzimlerini içerirler ve sindirimin yüksek düzeyde olmasını sağlarlar. Maya kültürleri toksinlere ve patojen organizmaları bağlama ve adsorbe etme yeteneğine sahiptirler.

## GENEL BİLGİLER

### 1.1. *Spirulina Platensis*

*Spirulina platensis* (SP) proteinler, vitaminler ve mineraller bakımından zengin doğal bir besin olarak günümüzde ilgi odağı haline gelmiştir. *Spirulina platensis* (=Arthrospira), en fazla kültürü yapılan, kozmetikte, tıpta, insan ve hayvan gıdası olarak çeşitli sanayi alanlarında yaygın olarak kullanılan Cyanophyceae (mavi-yeşil algler) sınıfından ipliksi, spiral şekilli bir prokaryotik organizmadır. Mavi-yeşil algler, hücrelerinin prokaryotik doğası nedeniyle ‘siyanobakteriler’ olarak da isimlendirilirler. Siyanobakteriler fotosentez özelliğe sahiptir, hücre duvarının yapısında peptidoglikan mevcuttur ve bu nedenle gram negatif bakterilere benzerlik gösterirler. SP, çok hücreli silindirik trikomların kendi uzunluğu boyunca heliks biçiminde dizilişi ile tanınan filamentli bir siyanobakterdir. Filamentleri tektir, kendi ekseni etrafında kayarak hareket eder ve heterosistleri yoktur. Tek düzlemde ikili bölünmeye uğrayan vejetatif hücrelerden oluşan mavi-yeşil heterosistsiz filamentleri ayıran çeperler, ışık mikroskobu altında kolayca görülür. Trikomların genişliği 6-12 mikrometre arasında değişir. Filamentlerin uzunluğu 200-300 mikrometre, heliks çapı ise 30-70 mikrometre arasında değişir. SP’in elektron mikroskop incelemelerinde ise hücre dışında Gram negatif tipte bir zar yapısına sahip olduğu; hücresel organizasyonunda morfolojik olarak sınırlandırılmış bir nukleus ve plastid mevcut olmadığı bildirilmiştir (29). Sitoplazma bölgesi esas olarak poliglukan tanecikleri ve gaz vezikülleri ile doludur. Ayrıca küçük ozmofilik granüller, fibriller ve yağ damlacıkları da vardır. Çevresel ve merkezi sitoplazma arasında yer alan tillakoid membranlar paralel olarak dizilmişlerdir ve birleşik vaziyette elektronları geçirmeyen fikobilizomları vardır. Tillakoidler, hücre duvarının uzun kenarına paralel, filamentleri ayıran çepere ise çaprazlama uzanan düz veya bükümlü desteler olarak görünürler. Düşük elektron yoğunluğuna sahip tillakoid içermeyen alanlar ribozomlar ve DNA fibrilleri ile doludur (30). Klorofil ve karotenoid pigmentler “lamella” adı verilen hücre yüzeyi membranında, fikosiyanin ve fikoeritrin gibi pigmentlerde fikobilisomlarda bulunur. Fikobilisomlar

tillakoid membran yüzeyinde bulunurlar. Fikobilizomlar ışığın tutulması ve genellikle fotosisteme enerji transferinde fonksiyon gösteren protein kompleksleridir. Biliproteinleri fikobilizomların çözülmüş ürünleri olarak elde edilir.



Şekil-3 *Spirulina platensis*'in mikroskopta görünüşü (8)

Mavi yeşil alglerden mikroskobik bir yosun türü olan SP, doğadaki en zengin biyolojik değerlerde bitkisel proteine sahip olan besindir (31). Bazı besin maddelerinin ortalama protein içeriklerine baktığımızda; dana eti %19, balık %24, peynir % 25, soya %30-34 protein içerirken, SP'nin içerdiği protein oranı %60-70'dir. Bu rakam en yakın rakibi olan soya fasulyesinin yaklaşık iki katıdır. SP, yüksek miktarda ve kaliteli protein içeriği nedeniyle beslenmede çok faydalı ve ekonomik bir bitkidir. Gıda ve özel besleme amaçlı olarak ticari üretimi son 20 yıla dayanmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda bir gıda takviyesi amacıyla kullanılması oldukça yenidir.

SP bitkisi yüksek ve kaliteli protein içermesinin yanında demir, selenyum, magnezyum, kalsiyum gibi birçok mikro ve makro minerallerin kaynağı durumundadır. Ayrıca doğadaki en zengin provitamin A, E vitamini, tiyamin, kobalamin, biyotin ve inozitol kaynağıdır (32-34). Bununla birlikte son zamanlarda ön plana çıkan 2000'den fazla enzim (Super Oksit Dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz, non-spesifik peroksidaz, vb.), gamma-linolenik asit, alfa-linolenik asit, linoleik asit, stearidonik asit,

icosapentaenoik asit, docosahexaenoik asit ve araşidonik asit gibi birçok esansiyel yağ asitleri ile antioksidan pigmentler (klorofil-a, ksantofil, betakaroten) içermektedir. Büyütme faktörleri ve nükleik asitlerin yanı sıra dengeli, yüksek biyolojik değerlikli esansiyel aminoasit içermesi (glutamik asid, aspartik asid, lysine, alanine, glycine gibi) bu mikroalgi benzersiz kılmaktadır (33, 35).

SP ve içinde bulunan besin maddeleri bilim camiasında büyük ilgi görmektedir. Spirulinanın hücre duvarı mukopolisakkaritlerden oluşur, yapısında selüloz yoktur. Bu yapısal özellik, spirulinayı kolay sindirilebilir ve hazmedilebilir yapar. Bu özellik intestinal malabsorbsiyon ( emilim bozukluğu ) şikayeti olan insanlar ve yaşlılar için önemlidir. Spirulina koyu rengini, güneş ışığının değişik dalga boylarında üretilen doğal pigmentlerden alır. Pigmentler insan metabolizmasında gerekli çok sayıda enzimin sentezlenmesinde yardımcıdırlar. Phycocyanin spirulinanın yapısında demir içeren en önemli pigmenttir. Bu pigment spirulinanın tüm ağırlığının % 14'ünü oluşturur. Ayrıca Spirulina % 1'lik klorofil oranıyla en yüksek klorofil pigmenti içeren besinlerden biridir. Klorofil pigmenti temizleyen ve detoksifiye eden bitkisel besin olarak bilinir. Spirulinanın pigmentlerinden yarısı karotenlerden oluşur. Bu karotenlerden beta-karoten en iyi bilinendir. Beta-karoten dışında spirulina zengin antioksidan özellikte en az 10 çeşit karotenoid içerir. Bu karotenler ve ksantofiller vücudun değişik alanlarında fonksiyon gösterir ve diğer esansiyel vitaminler ve minerallerle birlikte etki ederler (36). Antioksidanların sağlıklı yaşamda oynadığı rol daha iyi anlaşıldıkça, karotenoidler de beslenmenin yeni yıldızları haline gelmektedir. Karotenoid zengini bir beslenme rejiminin epidemiyolojik olarak birçok hastalığa yakalanma riskinin azalması ile doğrudan bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (37, 38).

Yapılan çalışmalarda spirulina'daki sulfolipidlerin ve polisakkaritlerin kanser tedavilerinde dikkat çekici ölçüde aktif oldukları, düzenli dozlarda alınmasının antiviral faaliyetleri hızlandırdığı, immün sistemi teşvik ettiği, böbrek toksisitesini ve radyasyon kaynaklı hastalıkların şiddetini azalttığı bildirilmiştir (39, 40, 41). Rahatlıkla sindirilebilen SP, gastrit, ülser gibi mide rahatsızlıklarında destek tedavi olarak önerilmektedir. Mide ameliyatları sonrası hastalara ilk besin olarak Spirulina verilmesi halinde ameliyat komplikasyonlarının en aza indirildiği de belirlenmiştir. Ayrıca Birleşmiş Milletler ve Dünya Sağlık Örgütü, Spirulina'nın çocuklar ve yetişkinler için doğal ve güvenli bir besin olduğunu yayınlamışlardır (42).

Spirulina tarihte ilk olarak Maya'lar tarafından M.S. 300-900'lü yıllarda kullanılmıştır. 9. y.y.da Çad gölü çevresinde yetiştirildiği ve burada yaşayan Kanembular (Afrikalı bir kabile) tarafından protein ve vitamin kaynağı olarak tüketildiği bildirilmiştir. 16. yy.da ise Texcoco gölü kıyısında yaşayan Aztekler tarafından "tekuitlatl" olarak isimlendirilmiş ve besin olarak kullanılmıştır (43). Bununla beraber Spirulina'nın izolasyonu ilk olarak 1827'de P.J. Turpin tarafından gerçekleştirilmiştir. 1844'te Wittrock ve Nordstedt, Montevideo civarında *Spirulina jenniferi f. platensis* olarak adlandırılan helikal, mavi-yeşil bir mikroalgin bulunduğunu bildirmişlerdir. Ancak, 1852'de Stizenberg ilk taksonomik raporu hazırlamış ve morfolojik yapısından dolayı bu genusa Arthrospira adını vermiştir (31, 44). SP ile ilgili bilimsel çalışmalar 1962 yılında Fransız Petrol Araştırma Enstitüsü'nün yayınladığı çarpıcı bilgiden sonra oluşmuştur. Bu bültende araştırmacılar laboratuvarlarında ürettikleri Spirulina'da yaptıkları analizler sonucunda %60-70 oranında protein tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Daha sonra ise NASA, uzay araştırmalarında kullanmak üzere besin tabletleri yapmak için konuyu sahiplenmiştir. Bu tarihten sonra üretim kapasitesini artırma ve kullanım alanlarını geliştirme yolunda çalışmalar hız kazanmıştır.

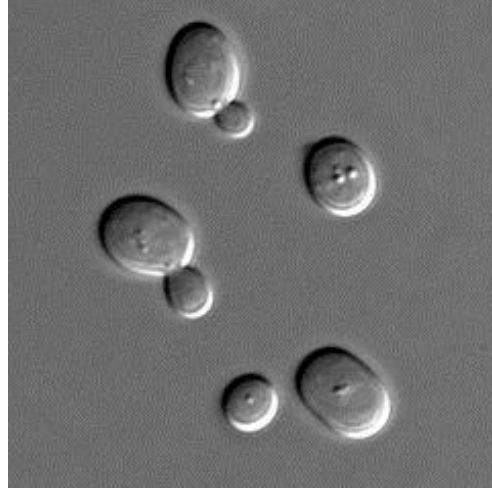
SP, Türkiye'de de ilk olarak Ege üniversitesi danışmanlığıyla üretilmiştir. Üretim çalışmaları 1999'da başlamış ve ilk ürünleri 2000'de vermiştir. Denemeler ve Tarım Bakanlığı'ndan izin alma süreci ise 2005 yılında tamamlanmıştır. Ülkemiz iklim koşulları bakımından Spirulina kültürü için uygun şartlara sahiptir (45). Bu tür 35-38 °C arası optimum sıcaklığa gereksinim göstermesi nedeniyle, önceleri daha ılıman iklim şartlarına sahip Ege ve Akdeniz bölgelerinde üretilmekteydi, fakat günümüzde bir çok şehrimizde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizin güney kesimlerine nazaran daha sert bir kış dönemine sahip Marmara bölgesinde ise bu türün üretimi Çanakkale'de başlanmış ve kış döneminde kültürler sera içinde üretilmiştir. Gerçekleştirilen denemelerde özellikle Ocak ve Şubat aylarındaki yoğun kar yağışına ve hava sıcaklığının - 8 °C gibi dondurucu değerlere ulaşmasına rağmen, spirulina kültürünün bozulmadan bu olumsuz koşulları atlatmayı başardığı ve Spirulina'nın Marmara Bölgesinde de tüm sene boyunca üretilebileceği bildirilmiştir (46).

## 1.2. *Saccharomyces cerevisiae*

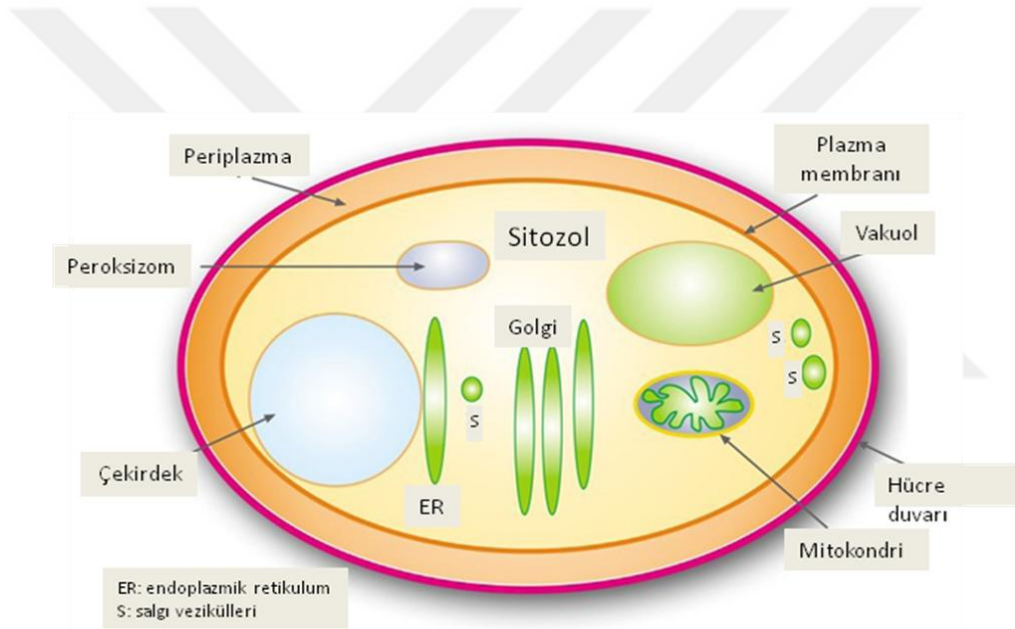
En iyi bilinen ve endüstride en çok kullanılan maya, bira ya da ekmek mayası olan *Saccharomyces cerevisiae*'dir. "*Saccharomyces*" sözcüğü Yunanca ve Latince'den türetilmiştir ve "şeker mantarı" demektir; "*cerevisiae*" ise Latince "biradan" anlamına gelmektedir. Pasteur tarafından 1857'de fermentasyon etmeni olarak tanımlanmış ve 1888 de izole edilmiştir.

*Saccharomyces cerevisiae* (SC), tomurcuklanan bir maya türüdür. Ökaryotik organizmalar arasında yer alır. SC hem kültürlenmesi kolaydır, hem de bir ökaryot olduğundan dolayı hayvan ve bitkilerin karmaşık hücre içi yapılarına sahiptir. SC hücreleri yuvarlak, oval ve silindir biçiminde bir görünümdeydir. Boyutları, genellikle bakterilerden daha büyüktür. Türler ve kültür koşullarına bağlı olarak, 2-10 x 3-16 mikrometre arasında değişmektedir. Bazı koşullarda, çok sayıda hücre yan yana gelerek uzun zincirler oluşturabilirler. Hücre duvarı, maya hücrelerine şekil verir ve oldukça sert bir kimyasal yapıdadır. Bileşiminde glikoz ve mannoz polimerleri (mannan) ile birlikte az oranda lipid, protein ve kitin bulunmaktadır. Sitoplazma zarı hücre duvarının hemen altında yer alır. Sitoplazma zarı üç katmandan oluşmuştur, iki protein tabakası arasında fosfolipid tabakası yer alır. Bu yapı seçici geçirgen özelliğindedir.

Maya hücrelerinde etrafında delikli bir membrana (nükleer membran) sahip ve çapı 1 mikrometre civarında olan bir çekirdek bulunur. Çekirdeğin en belirgin görevi çoğalmayı sağlamasıdır. Hücre içinde üremenin aktif olduğu dönemde sayıları az olan ve üremenin sonuna doğru artan sayıda granül ve globüllere rastlanılmaktadır. İçlerinde transparent bir sıvı bulunan büyükçe vakuoller, boyutları 0.25 x 0.5 mikrometre kadar olan mitokondriyumlar ve çok sayıda ribozomlar da yer almaktadır (15).



Şekil-1 *Saccharomyces cerevisiae* hücresi – Differansiyel kontrast mikroskopideki görüntüsü (12)



Şekil-2 *Saccharomyces cerevisiae* hücre yapısı (15)

Probiyotik olan SC, barsak mikrobiyal dengesini geliştirerek konakçı hayvanda yararlı etkiler oluşturan canlı mikrobiyal yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Başta laktik asit olmak üzere asetik asit ve formik asit gibi organik asitler üreterek barsak pH'sını düşürür ve böylece nötr ve bazik ortamda yaşayan zararlı etkisi bulunan Gram (-) patojen mikroorganizmaların üremesini engellerler.  $H_2O_2$  üreterek antibakteriyel etki meydana getirirler. Amonyak, indol, skatol ve sülfidler gibi toksik maddeler üreten mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederler. Bununla beraber safra tuzlarını ve yağ

asitlerini enteropatojen mikroorganizmaların etkisinden korurlar. Ayrıca immünstimulan etkileri ile mukozal savunma sistemini güçlendirirler.

Yem katkı maddesi olarak kullanılan canlı maya kültürleri maya ve mayanın çoğalma ortamı olan vasattan oluşur. Bu ürünler fermentasyon aktiviteleri korunmuş bir şekilde kurutulurlar. Doğada yaygın olarak kullanılan birçok maya türü bulunmaktadır. Tahıl tanelerinde, tahıl yan ürünlerinde, silajlarda, çayırlarda ve hatta suda ve toprakta da mevcuttur. Çeşitli gıda içeriklerinin gramında birkaç binden bir milyonun üstüne kadar maya bulunduğu tespit edilmiştir. Maya türlerinin çok azı ticari olarak kullanılmaktadır. “Ekmekçi mayası” olarak da bilinen SC en yaygın ticarileştirilmiş maya türlerinden biridir. Maya ve maya kültürleri sindirim kanalında canlılıklarını kaybedene kadar (ortalama 30 saat) probiyotik etki yapmalarının yanında % 40-60 ham protein içermeleri nedeniyle rasyonda protein kaynağı olarak da kullanılabilir (16). Ruminantlarda yapılan bazı çalışmalarda da SC'nin bağırsaklarda 30 saat süresince %17-34 oranında canlılığını koruduğu bildirilmiştir (17, 18).

SC çok iyi bir protein ve amino asit kaynağıdır. Soya fasülyesinde bulunan proteine yaklaşık eşdeğerde protein içerir. Rasyonda tahıllardan kaynaklanan lizin eksikliği maya ile tamamlanabilir. Mayalar özellikle B grubu vitaminler, E ve H vitamini açısından zengindir. Ayrıca fosfor, potasyum, magnezyum, çinko, krom, selenyum, demir ve manganez de içermektedir. Mayalar doğal bağırsak mikrobiyotasının yararlılığını pH kontrolü ile artırmaktadır. Ortamdaki serbest oksijeni depolayarak zararlı anaerob mikroorganizmaların (özellikle enterobakteriler) üremelerini azaltmak şeklinde etki gösterirler. Aynı zamanda doğal B grubu vitamin kaynağı olan mayalar, ayrıca vücutta şekerler ile yağların parçalanmasına ve emilimine, hücrel oksidasyon ve protein transportunun düzenlenmesine de yardımcı olurlar (19).

Mayalar üremek için su, karbon ve azot kaynakları ile mineral ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar. Ayrıca SC'nin glikoz, galaktoz, gliserol, rafinoz gibi karbon kaynaklarını kullanma özelliğine sahip olduğu bildirilmektedir (20). SC çok yönlü kullanımı olan zararsız bir mikroorganizmadır ve çok eskiden beri insan ve hayvan yiyecelerinde kullanılmaktadır. Biyoteknolojideki gelişmeler mayaların değişik amaçlarla kullanılmak üzere özel türlerinin üretilmesini sağlamıştır (14).

SC hücresinin temel bileşimi karbonhidrat, protein ve nükleik asittir. Bunun yanı sıra mayalar, bitkinin topraktan minerali almasına benzer bir şekilde, çoğaldıkları ortamdaki inorganik mineralleri kendi bünyelerinde toplayarak organik forma metabolize



edebilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle rasyonlarda organik selenyum ve organik krom kaynağı olarak da kullanılmaktadırlar (21). Maya hücre duvarında bulunan aktif bileşikler mannanoligosakkarit (MOS) ve beta glukandır. Bunlar nişasta veya selüloza benzer yapıda olan yapısal polisakkaritlerdir. Beta-glukanlar nişasta gibi glukoz moleküllerinin zincirleridir, fakat şeker zinciri yapısı diğerlerinden farklıdır ( $\alpha$ - 1,4 ve 1,6 bağı yerine beta- 1,3 ve 1,6 bağı). Bu şekerlerin emilebilmesi için farklı enzimlere gereksinim bulunmaktadır. MOS, çiftlik hayvanlarında çok sayıda faydaları gözlenen bir çeşit karbonhidrat olarak kabul görmekte ve bu özellikleri ile de broyler ve hindilerde büyüme performansı, yemden yararlanma ve yaşama gücünün artırılmasında; yumurta tavukları ve damızlıklarda ise yumurta veriminin artırılmasında kullanılması önerilmektedir (22-25).

Maya hücre duvarları sindirim kanalında özellikle toksinler, antivitaminler, viruslar ve patojenik bakteriler gibi zararlılara bağlanma ve adsorbe etme yeteneğine sahiptir. Maya hücre duvarının mannan unsuru yararlı bakteriler tarafından da tüketilmektedir. Yararlı bakteriler, Salmonella gibi bazı zararlı bakterileri baskılayıp, ortadan kaldırırlar. Genellikle bu etkiler fruktooligosakkarit veya FOS olarak adlandırılan ürünler ile aynı şekilde değerlendirilmektedir (14). Oligofruktoz ya da oligofruktan olarak da adlandırılan fruktooligosakkaritler (FOS), yapay ya da alternatif tatlandırıcı olarak kullanılan oligosakkarit sınıfındadırlar. FOS, kalın bağırsakta mikrobiyota için substrat görevi yapar ve sindirim sistemi sağlığının artmasını sağlar. FOS'un bu özelliğinden dolayı faydalı bakterilerin büyümeleri desteklenmekte ve patojenik etkenlerin gelişimi engellenebilmektedir (26). Mayaların hücre duvarından ekstrakte edilen MOS ve FOS'lar (yer elması, şeker pancarı, muz, arpa, sarımsak, soğan gibi bitkilerde bulunanlar gibi) mide ve duodenumdaki enzimler tarafından tam olarak fermente edilmeden kalın bağırsaklara geçer. Kalın bağırsaklardaki *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* spp gibi yararlı kolon bakterileri tarafından fermente edilip besin maddesi olarak kullanılmasıyla probiyotik bakterilerin sayısının artmasına neden olduğu bildirilmektedir. (27, 28).

### **1.3. SP ve SC'nin Büyüme Performansı Üzerine Etkileri**

SP, hücre duvarında selüloz içermez. Bu sayede bağırsaklardan sindirimi, içerdiği besinlerin emilimi ve dolayısıyla faydası artmaktadır (64). Araştırmalardan alınan

sonuçlara göre Spirulina bağırsak fonksiyonlarını ve sindirim hızını arttırmaktadır. Spirulina, *E.coli* ve *Candida* gibi zararlıları durdurucu, *Lactobasillus* ve *Bifidobacteria* gibi yararlı mikroorganizmaları harekete geçirici etkidedir. Ayrıca, sindirim sisteminde laktobasillus popülasyonunun artmasıyla, gıdaların sindirim ve emiliminin iyileştiği bildirilmiştir (65-67).

SP ile yapılan bir çalışmada Moreira ve arkadaşları (68) ,Wistar sıçanların yemine %8.8, %17.6 ve %26.4 oranlarında SP katmıştır. 45 günlük çalışma boyunca haftalık canlı ağırlıkları tartılmış ve ağırlık kazancı değerlendirilmiştir. Canlı ağırlık kazancında bir azalma gözlenmiş, ancak sadece %17.6 SP katkılı gruptaki farklılığın anlamlı düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Araújo ve arkadaşları da Wistar sıçanlarda %5 ve 10 oranlarında spirulina ile çalışmışlardır. Bu çalışmada vücut ağırlığı ve yemden yararlanmada herhangi bir fark gözlenmediği bildirilmiştir (69). Ancak %10 SP verilen grupta vücut ağırlığında artma eğilimi olduğu tespit edilmiştir.

Becker ve arkadaşları (70) ise 4 hafta süre çalışmada SP'nin obez hastaların vücut ağırlığında anlamlı bir kilo kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Balıklarda yapılan bir çalışmada Dernekbaşı ve arkadaşları (71), 90 günlük deneme süresince yeme %10-20-30 ve 40 oranlarında SP katmışlardır. Çalışma sonunda büyüme parametreleri değerlendirilmiş ancak gruplar arasında bir farklılık gözlenmediği belirtilmiştir. Ancak, %40 oranına SP verilen grupta gelişimin diğerlerine oranla daha iyi olduğu da bildirilmiştir.

SC, bir probiyotik olarak gıdaların sindiriminde bağırsaklara yardımcı olur ve sağlıklı bir metabolik aktivitenin oluşmasını sağlar. Bu şekilde beslenmeye ve büyümeye yardım etmektedir. Bağırsaklarda selüloz ve diğer sindirilemeyen gıda bileşenlerini parçalayarak sindirim sistemine yardımcı olur. Ayrıca antibiyotik kullanımında veya günlük yaşamın getirdiği koşullara bağlı olarak bozulan doğal bağırsak florasının oluşmasına da yardımcı olmaktadır. İstenmeyen bakterilerin, mayaların ve küflerin çoğalmasını kontrol altında tutarak doğal bağırsak florasının bozulmasını engeller. Normal koşullarda SC sindirim sisteminde kolonize olmaz ve önemli bir kısmı dışkı içinde canlılığını korur (47).

SC doğal bağırsak mikroflorasının yararlılığını pH kontrolü ile artırmaktadır. Ortamdaki serbest oksijeni depolayarak zararlı aerob mikroorganizmaların (özellikle enterobakteriler) üremelerini azaltmak şeklinde etki gösterirler. Aynı zamanda doğal B grubu vitamin kaynağı olan SC, vücutta şekerler ile yağların parçalanmasını ve emilimini

sağlar ve hücrel oksidasyon ve protein transportunun düzenlenmesine de yardımcı olur (48). Bu maddeler yapılarına ve tüketim miktarlarına bağlı olarak etkinlik gösterir. Patojenlere karşı koyma, gelişim performansını destekleme gibi etkilerinin yanı sıra antibiyotiklere alternatif olabilecek düzeyde büyütme faktörü olarak da görev yapabilmektedirler.

Mayalar, özellikle SC canlı maya kültürü genellikle koyun ve süt sığırlarında kullanılmış ve verimi arttırıcı etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır (49-52). Rumen üzerinde olumlu etkileri, SC'nin rumen pH'sını, rumende mikrobiyal protein akışını ve ince barsaklara gelen aminoasit miktarını arttırması ile açıklanmıştır (53). Bununla beraber kanatlı rasyonlarında tek hücre protein kaynağı olarak kullanılan önemli bir yem katkı maddesidir. Kanatlılarda sağlık, verim ve performansdaki olumlu etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (54-57).

SC'nin tavşanlar üzerine etkisi konusunda literatür araştırması yapılırken ruminantlara göre çok daha az sayıda araştırmaya rastlanılmıştır. Onifade ve arkadaşları (58), 5-6 haftalık Yeni Zelanda tavşan rasyonlarına 56 günlük deneme süresince 0, 1.5 ve 3.0 g/kg düzeylerinde *Saccharomyces cerevisiae* ilave etmiştir. Rasyonlarında maya kültürü bulunan grupların canlı ağırlık, yem tüketimi ve yemden yararlanma bakımından kontrol grubuna göre daha iyi olduğu ( $p<0.05$ ) kaydedilmiştir. Bu araştırmada, soya küspesi yerine katılan ekmekek mayasının (SC) büyümekte olan tavşanlarda besi performansı ve besin maddelerinin sindirilme dereceleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonunda maya kültürünün büyümede uyarıcı etkiye sahip olduğu ve etki düzeyinin rasyondaki maya kültürü konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir.

Carregal ve Fonseca (59), Yeni Zelanda tavşanları ile yaptıkları bir çalışmada rasyonlara soya küspesi proteini yerine %0, 25, 50, 75 ve 100'ü kuru maya proteini ilave etmişlerdir. Rasyonunda soya küspesi proteininin %75'i yerine maya proteini bulunan grupta canlı ağırlık artışı daha yüksek bulunmuş, yemden yararlanma değeri de olumlu yönde etkilendiği bildirilmiştir.

SC'nin büyümeyi ve yem alımını desteklediğini bildiren Kimse ve arkadaşlarının (60) çalışmasında ise, 30 adet tavşanın 35 günlük yaştan 70 günlük yaşa kadar günlük 45 gr SC ile beslenmesi yapılmıştır. Çalışma sonunda optimal bakım koşullarında günlük *Saccharomyces cerevisiae* alımının büyüme performansı, canlı ağırlık artışı ve yem alımını etkilediği belirtilmiştir. García-Ruiz ve arkadaşları (63) da SC'nin canlı ağırlık kazancı

ve yem tüketimi artışına neden olduğunu, büyüme performansının iyileştirilmesinde tavsiye edilebileceğini bildirmiştir.

Buna karşın, Lambertini ve arkadaşları (61) krom ilaveli ve ilavesiz SC ile besleme yapılan 98 adet tavşanda çalışmıştır. 44 günlük deneme süresi boyunca, hayvanlara SC ve kromla zenginleştirilmiş SC ile *ad libitum* besleme yapılmıştır. Çalışma sonucunda günlük ağırlık artışı, yem alımı ve kesim ağırlığı değerlerine bakılmış ve krom ve mayanın büyüme performansın herhangi bir katkısı olmadığı bildirilmiştir.

Yine başka bir çalışmada ( 62) tavşanlara ağız yoluyla günlük  $5 \times 10^8$  CFU miktarında SC verilmiştir. Maya kültürü katımının ağırlık artışında ya da besinlerin sindiriminde bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

#### **1.4. SP ve SC'nin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri**

Konak savunma mekanizması, enfeksiyonlara karşı ilk koruyucu engeli oluşturan “doğal immün sistem” ve sonrasında işleme daha yavaş karışan ancak enfeksiyonlara karşı daha özgül ve etkin savunma sağlayan “edinsel immün sistem”den oluşmaktadır. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisindedir. Doğal immün yanıt, bir patojenle karşılaşınca ilk cevabı doğumdan itibaren oluşturabilen, genetik olarak belirlenmiş immün özellikleri içeren ve konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemidir. Doğal immün yanıt sağlıklı bireylerde her zaman bulunur ve enfeksiyon gelişiminden itibaren görev alır. Mikropların konak dokularına girişini engellemeye ve konak dokularına girmeye başlayan mikropları hızla yok etmeye hazırdır. Bu yanıtta rol oynayan hücreler ve moleküller olarak makrofajlar, nötrofiller, doğal öldürücü hücreler (Natural Killer, NK), komplemanın alternatif ve lektin yolları sayılmaktadır.

Edinsel immün yanıt ise, belirli bir antijene özgün olup, antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü cevap oluşturma gibi üstünlüklere sahiptir. Bu olaya antikör ve T lenfositleri aracılık eder ve sorumlu hücreler özgül bir antijen için uzun vadeli belleğe sahiptir. Edinsel immün yanıt birbirinden ayrı evrelerden ibarettir. İlk üçü antijen tanıma, lenfositlerin etkin kılınması ve antijenin uzaklaşmasıdır (etkin evre). Yanıt, antijenle-uyarılmış lenfositlerin apoptoz ile ölmesi ile söner, bazal düzeyi sürekli dengede

tutulan durumun yeniden onarılması yaşam dengesi olarak adlandırılır ve yaşamını sürdüren antijen-özgül hücreler bunu oluşturmaktan sorumludur. Her evrenin süresi farklı immün yanıtlara göre değişir. Bu ilkeler hem B lenfositlerinin aracılık ettiği hümmoral immüniteye hem de hümmresel immüniteye (T hümmrelerin aracılık ettiği) uygulanabilir. Edinsel immün yanıt, hümmoral ve hümmresel immün yanıtta oluşur, her iki immünite değişik hümmreler ve moleküller aracılığı ile sırasıyla hümmre dışı ve hümmre içi mikroplara karşı savunmayı sağlarlar. Hümmre aracılı immün yanıt esas olarak T lenfositlerden kurulu iken antikör aracılı (hümmoral) immün yanıt B lenfositleri ve B lenfositlerden farklılaşan plazma hümmrelerinden kuruludur. Hümmresel immün yanıtta rol oynayan hümmrelerin üzerlerinde bulunan moleküller yapıdaki antijenler "clusters of differentiation" (CD) olarak adlandırılır ve hümmrelerin tanınmalarında birer belirteç görevini üstlenirler. Kemik iliğinde pre-T lenfositler halinde farklılaşan hümmreler insan, memeli hayvanlar ve kanatlılarda dolaşıma geçerek timusun korteksine giderler. Timusa gelen hümmreler hızla gelişir ve olgunlaşırlar. Olgunlaşma timusun korteksinde başlar. Timusta olgunlaşma aşamalarında bazı spesifik yüzey molekülleri (TCR, CD) kazanarak antijenik uyarımlara yanıt verebilecek bir yeteneğe kavuşurlar. T lenfositler medullaya gelince özellikle CD ler iki farklı karakter gösterirler. CD4+ yapısı gösterenler yardımcı T lenfositleri, CD8+ yapısı gösterenler ise sitotoksik/baskılayıcı T lenfositleri şekillendirirler. Bu yüzey farklılaşma antijenleri aynı zamanda bu iki lenfosit fonksiyonel olarak da birbirinden ayırır (72, 73).

T yardımcı hümmreleri olarak adlandırılan CD4+ hümmreleri enfeksiyonlara karşı vücudun cevabını başlatırlar. Etkinleştirildiklerinde, hızla çoğalıp sitokinler salarlar ve bu sitokinler efektör lenfosit fonksiyonunu düzenler veya yardım eder. CD4+ Yardımcı T hümmreleri savunma sistemindeki diğer hümmreleri yönlendirerek immün yanıtı kontrol ederler. Bu hümmreler sitokin sinyalleri ile makrofajların mikrobisidal fonksiyonunu arttırır, öldürücü T hümmrelerini uyarır ve antikör üreten B hümmrelerinin etkinleştirilmesini sağlar. Bu hümmreler sitotoksik değildirler ve enfekte hümmreleri öldürmezler ya da patojenleri temizlemezler, ancak diğer hümmreleri bu işleri yapmaya yönlendirerek immün yanıtı yönetirler. CD4+ Yardımcı T hümmreleri tayini hastanın immün sistem hasarının gösterilmesi açısından değerlidir. CD8+ Sitotoksik T hümmreleri ise enfekte hümmreleri yok eder. Bu hümmreler kanser ve virüslerle mücadeleye aracılık ederler. CD8+ T-lenfositlerinin etkin sitotoksik-T lenfositlerine dönüşümünü sağlarlar. Sitotoksik T hümmreleri sitoplazmalarında mikropları harmanlayan hümmreleri doğrudan doğruya öldürürler.

CD4+ ve CD8+ T hücreleri immün yanıtın oluşmasında önemli görevler üstlenirler. Çoğu T lenfositlerinin antijen reseptörleri, yalnızca protein yapısındaki antijenlerin peptid parçalarını tanır; bu peptidler antijen-sunan hücreler (ASH) olarak tanımlanan bir grup özelleşmiş hücrelerde bulunan majör doku uyumluluk antijenleri (MHC) adı verilen özel peptid-sunan moleküllere bağlı durumdadırlar. CD4+ T lenfositleri MHC Sınıf II aracılığı ile antijen tanırken, CD8+ T hücreleri MHC Sınıf I aracılığı ile antijen tanımaktadırlar. Birçok faktör CD4+ T lenfosit ve CD8+ T lenfosit sayısını etkilemektedir. Hastalarda ve normal kişilerde bakteriyel, viral, paraziter ve mantar enfeksiyonları, analiz yöntemleri ve biyolojik faktörler T-lenfosit subtiplerinin sayısını etkilemektedir. Analiz yöntemlerinden en önemlisi çalışma ortamının ısısı, antikoagülan kullanımı ve kan alındıktan belli bir süre sonra sayımın yapılmasıdır. Analitik yöntemler yanında biyolojik yöntemler de etkili olmaktadır. Fiziksel ve psikolojik streslerden sonra bu hücrelerin sayısında geçici değişiklikler olabilmektedir. Stres sonucu artan noradrenalin CD8+ sayısını artırmakta, buna bağlı olarak CD4+/CD8+ T hücresi oranı azalmaktadır (74).

İnterlökin (IL), beyaz kan hücrelerinden eksprese edilen sitokinlerin bir grubudur. Sitokinlerin hedef hücreleri; salındıkları hücre (otokrin etki), yakınındaki hücre (parakrin etki) veya dolaşıma girmiş sitokinlerle uyarılan uzaktaki bir hücredir (endokrin etki). Önceleri B lenfosit gelişim faktörü-1 olarak adlandırılmış olan IL-4, yardımcı T lenfositler, mast hücreleri ve NK hücrelerde üretilir (75), T ve B hücre büyüme faktörü olarak görev alır ve IgE reaksiyonlarının artırılmasında rol oynar. IL-4 B hücreler için gelişme faktörüdür. Antijenlere yanıtta B hücrelerden antikor üretimi ve B hücre çoğalması için gereklidir. İmmünoglobülin E (IgE) üretimi için anahtar faktör olarak bilinmektedir. B lenfositlerin uyarılmasında ise IL-2 ile sinerjik etki gösterdiği kaydedilmektedir (72, 76). IL-4 makrofajların etkinliğini sağlayan IFN- $\gamma$  ile antagonistik etki göstererek IL-1 ile TNF üretimini azaltmaktadır (77). Ayrıca IL-4'ün lenfosit ve monositlerin endotel hücrelere yapışmasına neden olduğu, sitotoksik T lenfositlerin etkinliğini artırdığı da bildirilmektedir (78).

İnterferon (IFN) vücut hücrelerinin çoğu tarafından sentezlenen bakterilere, parazitlere, virüslere ve tümörlere karşı etki gösteren bir proteindir. Sitokin olarak bilinen, lipoproteinlerin en büyük sınıfı altında incelenirler. IFN- $\gamma$  T lenfositlerce üretilir. IFN- $\gamma$  hemen hemen tüm CD8+ T, bazı CD4+ T (özellikle Th1 grubu) hücreleri ile küçük miktarlarda da NK hücreleri tarafından sentez edilir. Fagositik etkinliğini artırır. Bu hücrelerin mikroorganizmaları ve tümör hücrelerini öldürme yeteneğini artırır. IFN- $\gamma$

bilinen en güçlü makrofaj aktivatörüdür. IFN- $\gamma$ 'ya maruz kalma sonucunda; makrofajların mikrobisidal aktiviteleri, daha düşük seviyede de sitotoksik kapasiteleri artar. IFN- $\gamma$  makrofajları etkileyerek; IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin salınmasına yol açar. IFN- $\gamma$  normalde kanda dolaşmaz ve fizyolojik olarak otokrin veya parakrin mekanizmalarla etki eder.

SP'nin immün sistemi üzerine etkileri henüz tam olarak tanımlanamamıştır. İlk deneysel çalışma 1994 yılında fareler üzerinde gerçekleştirilmiş ve farelerde antikor üretimini desteklediği bildirilmiştir (85). 2001 yılında Missisipi Üniversitesi Eczacılık Okulunda yapılan bir çalışmada, SP bitkisinden "İmmulina" adını verdikleri bir polisakkarid ekstre edilmiştir. Bu polisakkaridin monosit ve makrofajların aktivasyonu yoluyla güçlü immünstimulan aktivite gösterdiği ve IL-1b'yi arttırdığı belirtilmiştir (86). Çin'de Yangzhou Üniversitesi Medikal ve Farmasötikal Akademisi'nde fareler ve köpekler üzerinde yapılan bir araştırmada ise, SP'de bulunan polisakkaridlerin, kandaki kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri ve hemoglobin seviyesini ve ayrıca köpeklerde kemik iliği hücrelerini de arttırdığı gözlenmiştir (87). Başka bir çalışmada ise yine SP'de bulunan polisakkaritlerin hem spesifik humoral immün yanıtın hem de hücrel immün yanıtın işlevini arttırdığı bildirilmiştir (88).

SP yapısında bulunan diğer bir madde, antioksidan özellikte ve yangı giderici etkiye sahip olan Phycocyanin'dir (89, 90). Phycocyanin eritropoietin aktivitesini olumlu etkileyen bir maddedir. Phycocyanin ve polisakkaritlerin kemik iliğinde eritrosit, granülosit ve monosit hücrelerin proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (85). Farelerde yapılan bir çalışmada SP'nin, makrofaj fonksiyonlarını, lökosit aktivitesini, fagositozu, IL-1 üretimini ve immün yanıtı uyardığı tespit edilmiştir (91).

SP'nin T-hücrelerinin ve sitokinlerin üretimini arttırdığı bazı çalışmalarla bildirilmektedir. (92, 93). Hirahashi ve arkadaşları (93) Spirulina'nın insan immün sistemini destekleyici etkisinin moleküler mekanizmasını açıklamışlardır. Spirulina ilavesinden sonra IFN- $\gamma$  üretiminin geliştiğini, IFN- $\gamma$  üretiminin NK fonksiyonunu temsil ettiğini bildirmişlerdir. İnsanlarda yapılan bir çalışma da SP'nin mononükleer hücrelerde sitokinlerin (IL-1, IL-4, IFN- $\gamma$ ) sekresyonunu modüle etmede etkili olduğu da bildirilmiştir (94).

Terapötik uygulamalar için etkin bir potansiyele sahip bir bitki olmasına rağmen, SP ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bu konuda özellikle immün yanıtın gelişimi ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması gerekmektedir (33).

Mayanın, ileumdaki M hücreleri ile karşılaştığında kandaki T lenfositlerin peyer plaklarına göçünü arttırarak immün sistemi desteklediği bildirilmektedir (79). Fakat mayanın lenfosit alt tiplerine nasıl etkilediği konusunda kesin bir bilgi yoktur. Ancak maya hücre duvarı materyalinin immün sistem üzerine etkisi uzun zamandır çalışılmaktadır (80). İmmün sisteme etkisi maya hücre duvarının iç kısmında bulunan glukanlardan kaynaklanmaktadır. Bu makromoleküller, memelilerde immün sistemi özellikle retikuloendotelyal sistemi ve enflamatuvar yanıtı stimule etmektedir. İnflamatuvar yanıtın stimülasyon mekanizması periferel kandaki lökositler ve ekstravaskuler makrofajlarda bulunan spesifik glukan reseptörü ile karakterize edilmektedir. Bu glukan reseptörünün aktive edilmesi, makrofaj ve sitokinler gibi makrofajdan türemiş hücreler aracılığı ile bir dizi interaksyonu içeren konakçı savunma sistemini stimule eder.

Maya ve derivatlarının immün sistem üzerine etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Shen ve arkadaşları (81) SC ilavesinin domuzlarda serum IFN- $\gamma$  konsantrasyonunu ve aynı zamanda plazmada CD4+ T hücre konsantrasyonunu azalttığını saptamıştır. SC'nin balıklarda oral olarak kullanımının non-spesifik ve spesifik immüniteyi etkilediği de yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (82, 83). Bu çalışmalarda maya hücre duvarının makrofajların fonksiyonel aktivitesini harekete geçiren bir immünstimulant gibi çalıştığı gösterilmiştir. Guo ve arkadaşlarının (84) çalışmasında SC duvarında bulunan  $\beta$ -glukanın immün sistemi destekleyici potansiyele sahip olduğu ve CD4+, CD8+ ve CD4+/CD8+ T hücre yüzdesini arttırdığı öne sürülmüştür.

### **1.5. SP ve SC'nin Et Kalitesi Üzerine Etkileri**

Dünya nüfusunun hızla artış gösterdiği çağımızda insanların beslenmesi ve hayvansal protein ihtiyacının karşılanması sorunu büyük bir öneme sahiptir. Hızlı nüfus artışı, gıda kaynaklarının azalması ve dengeli beslenmenin öneminin artması, yeni gıda kaynaklarının harekete geçirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Hayvansal protein yetersizliği söz konusu olduğunda, mevcut hayvansal orjinli gıdaların üretim ve verimliliğinin arttırılması ve hayvansal protein içeren yeni kaynaklara yönelmesi gerekmektedir. Üreme sürecinin kısalığı, bir doğumda birkaç yavru



alınabilmesi ve bakım kolaylığı gibi durumlar göz önüne alındığında tavşan en uygun hayvanlardan biri olabilir.

Tavşan eti protein içeriğinin yüksekliği, daha iyi besleyici özelliğe sahip olması, yağ içeriğinin düşük olması, fosfor ve kalsiyum bakımından zengin olması ve niasin vitaminini yüksek düzeyde içermesi diğer türlerin etlerine göre avantaj sağlar (95, 96). Tavuk eti gibi beyaz renkte olan tavşan eti oldukça lezzetli olup, sindirilmesi kolaydır. Ayrıca yağ içeriği düşük olduğundan kilo artışına yol açmaz ve aynı zamanda zayıflama kürlerinde insanlara önerilebilecek etlerden biridir. Tavşan etinin pişirilme süresinin kanatlı etlerinin yarısı kadar olduğu bildirilmiştir. Et üretimi amacıyla yetiştirilen tavşanların kas lifleri arasında bir miktar yağ depolandığından, bu hayvanların etleri oldukça yumuşak ve lezzetli hal alır (95).

Tavşan eti düşük yağ oranı ve sahip olduğu az doymuş yağ asitleri gibi özellikleri nedeniyle besin değeri yüksektir. Bu nedenle insanlarda doymamış yağ asitleri açısından zengin besin kaynaklarından biri haline gelmiştir (99-101). Peiretti ve arkadaşlarının (102) 40 adet tavşanda yaptıkları çalışmada, yeme sırasıyla 0, 5, 100 ve 150 g/kg SP katılmıştır. Çalışma sonunda tavşanlardan alınan etlerde yapılan analizlerde, et protein değerinde bir değişiklik olmazken; et yağ asitlerinin, SP ilavesiyle arttığı bildirilmiştir. Yine Meineri ve arkadaşları (103), yaptıkları çalışmada spirulinanın tavşanlarda yağ miktarı üzerine herhangi bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Lambertini ve arkadaşları (61) maya verilen tavşanlarda et lipid ve protein konsantrasyonlarını değerlendirmiş, maya verilen gruplarla kontrol grubu arasında bir fark gözlemlenemediklerini bildirmişlerdir. Et kalitesinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise 100 gün boyunca 24 tane Kamieniec rki koyun SC ile beslenmiştir. Çalışma sonunda yapılan analizlerde et protein miktarında artış olduğu bildirilmiştir (97). Paryad ve Mahmoudi (98)'nin 1-42 günlük 240 adet broyler civcivlerle yaptığı bir çalışmada deneme gruplarının rasyonlarına hacim olarak %0.5, 1.5, 2.0 SC katılmıştır. Deneme sonunda göğüs ve kalça etinde yapılan analizlerde et protein ve yağ miktarları değerlendirilmiştir. %1.5 ve %2.0 maya ilaveli gruplarda göğüs eti protein miktarında istatistik olarak artma, yağ miktarında ise azalma gözlenirken, kalça etinde hem protein hem de yağ miktarlarında artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada, tavşan rasyonlarına ayrı ayrı ve birlikte katılan *Saccharomyces cerevisiae* ve *Spirulina platensis*'in performans, canlı ağırlık ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca SC ve SP'nin ayrı ayrı ya da

kombine olarak et protein ve yağ değerleri üzerine etkilerinin olup olmadığı da araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Hayvan Materyali

Denemede toplam 40 adet 30-35 günlük Yeni Zellanda ırkı beyaz erkek tavşan kullanılmıştır. Tavşanlar Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Merkezi'nde bireysel kafesler içinde barındırılmıştır. Araştırma her biri 10 adet hayvandan oluşan 1 kontrol ve 3 deneme grubu olmak üzere 4 grup halinde yrtlmştır.

### 2.2. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan tavşan rasyonu, enerji düzeyi 2500 kcal/kg, ham protein düzeyi %16 olacak şekilde içeriği özel bir yem fabrikasında hazırlatılmıştır (104). Tavşanların yemlerine *Spirulina platensis* (SP) ve *Saccharomyces cerevisiae* (SC) katıldı.

Gruplar sırasıyla ;

Kontrol

I. Grup : SC (kg yeme 3gr SC katıldı)

II. Grup : SP (kg yeme %5 oranında SP katıldı)

III. Grup : SP ve SC ( kg yeme %5 oranında SP ve 3gr SC katıldı)

Bu alışma Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulundan alınan 2010-09/01 onay numara izni ile Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Merkezi'nde ve

Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### **2.3. Deney Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi**

Deneyde hayvanlar 90 gün süreyle tüketebilecekleri yem ve su sürekli olarak önlerinde bulundurulup, *ad libitum* besleme programı uygulanmıştır. Uygulamadan önce 1 haftalık adaptasyon döneminde, hayvanların içme suyuna koksidiyoz hastalığı riskine karşı 3 günde 1 olmak üzere 3ml/l su düzeyinde Coxidin ( Sulfoquinoxalin) katılmıştır.

### **2.4. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması**

Araştırmada kullanılan pelet yem özel bir yem fabrikasından temin edilmiştir. Canlı maya kültürü *Saccharomyces cerevisiae* kg yeme 3 gr; tatlı su yosunu *Spirulina platensis* kg yeme %5 oranında ve tüm katkı maddeleri yem üzerine serpmeye olarak katılmıştır.

*Saccharomyces cerevisiae* CFU miktarı,  $1 \times 10^9$  /g dır. Deneyde kullanılan rasyon bileşimi ve kimyasal yapısı tablo 1 ve 2 de gösterilmiştir.

### **2.5. Bazı Performans Değerlerinin Belirlenmesi**

#### ***Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışının Belirlenmesi***

Deneyin başından sonuna kadar tavşanlar her onbeş günlük dönemlerde yapılan bireysel tartımlarla canlı ağırlıkları belirlenmiştir. Tartımlar arasındaki farktan canlı ağırlık değişimleri hesaplanmıştır.

### ***Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi***

Yem tüketiminin belirlenmesi amacıyla her hayvanın onbeş günlük dönemler içerisinde verilen yem miktarından yemlik içerisinde kalan yem miktarı çıkarılmıştır. Hayvanların, deney başlangıcından itibaren onbeş günlük dönemlerde olmak üzere iki tartım aralığında tükettikleri yem miktarı, yine bu iki tartım aralığında belirlenen canlı ağırlık artışına bölünerek yemden yararlanma oranları hesaplanmıştır.

### **2.6. Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi**

Deney sonunda hayvanlar kesilmeden önce kulak venalarından, içerisinde 2 mg EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) bulunan tüplere 5'er ml kan alınarak hematokrit değeri, hemoglobin miktarı, alyuvar, lökosit sayısı ve lökosit alt tiplerine ( lenfosit, monosit, nötrofil, bazofil ve eozinofil) bakılmıştır. Hematokrit ölçümünde heparinli kapillar tüpler kullanılmıştır. Tüplerin  $\frac{3}{4}$  üne kadar kan ile doldurulmuş ve 12000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Plazma ve kan hücrelerinin arasındaki sınır değeri hematokrit cetvelinde ölçülmüştür.

Hemoglobin miktarı Sahli yöntemine göre belirlenmiştir. Dereceli hemoglobin tüpünün 2 çizgisine kadar 1/10 Normalitede HCl (hidroklorik asit) konulmuş, üzerine hemoglobin pipetine çekilen 20 mikrolitre kan ilave edilerek karıştırılmış ve 1 dakika bekletilmiştir. Daha sonra damla damla distile su ilave edilerek hemoglobinometrede bulunan kontrol çubuklarındaki rengine eşitlenmiştir. Renk eşitliği sağlanınca karışımın üst sınırına gelen rakam okunarak 100ml de gram cinsinden hemoglobin miktarı bulunmuştur.

Alyuvar sayımı için hayvanlardan alınan kandan, alyuvar pipetinin 0.5 çizgisine kadar çekilip, pipetin ucundaki kan silinmiştir. Üzeri 101 işaretine kadar Hayem eriyiği ile tamamlanarak kan 1/200 oranında sulandırılmıştır. Karıştırıcıda 3-4 dakika karıştırıldıktan sonra thoma lamındaki sayma alanına doldurulmuştur. Sayım için Thoma lamında sayma alanları bulunmuş ve mikroskopta 40lık objektifte çalışılmıştır. Thoma lamında köşelerde ve bir de ortada olmak üzere toplam 5 adet orta kare (80 adet küçük kare) içindeki

alyuvarlar sayılarak formüldeki yerine konmuş ve 1 mm<sup>3</sup> kandaki alyuvar sayısı bulunmuştur.

$$\text{Alyuvar sayısı} = \frac{\text{Sayılan alyuvar} \times \text{Sulandırma oranı} \times 4000}{\text{Sayılan küçük kare adedi}}$$

Akyuvar sayımı için beyaz boncuklu sulandırma pipetinin 1 çizgisine kadar kan çekilerek ucu silinmiş ve 11 çizgisine kadar Türk eriyiği eklenmiş ve kan 1/10 oranında sulandırılmıştır. Karıştırıcıda üç dört dakika karıştırıldıktan sonra thoma lamındaki sayma alanına doldurulmuştur. Sayım için Thoma lamında sayma alanları bulunmuş ve mikroskopta 40'lık objektifte çalışılmıştır. Thoma lamında sayım alanına düşen akyuvarların tümü sayılmıştır. Bulunan akyuvar sayısı formüldeki yerine konmuş ve 1 mm<sup>3</sup> kandaki akyuvar sayısı hesaplanmıştır.

$$\text{Akyuvar sayısı} = \frac{\text{Sayılan akyuvar} \times 10 \times 4000}{400}$$

Akyuvar yüzde oranları Pappanheim'in panoptik boyama yöntemi ile boyanmış sürme kan frotilerinde belirlenmiştir (105).

## 2.7. Lenfosit Alt Gruplarının ve Sitokin Düzeylerinin Belirlenmesi

### *Lenfosit alt gruplarının belirlenmesi*

Flow sitometri ile lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi aşamasında antikoagülan olarak Asit Sitrat Dekstroz (ASD) içeren tüplere alınan kan örnekleri bekletilmeden aynı gün çalışıldı.

CD4 için, her örnekten 2 ayrı flow sitometri tüpü (70x15 mm) hazırlandı. Tüplere 50'şer µl ASD'li kan ilave edildi. Birinci tüpe 10 µl izotip kontrol (Mouse IgG2a:sc3878, Santa Cruz Biotechnology, USA) ve ikinci tüpe ise 50 µl 1/100 CD4 antikor (Anti CD4, Ken-4, Novus Biologicals, LLC, USA) eklendi. Tüpler, 15 dakika buz üzerinde inkübe edildi. Daha sonra 3 kez 1500 rpm'de 5 dakika 4<sup>0</sup>C'de cell wash ile santrifüj edilerek yıkama yapıldı. 1/100 oranında sulandırılmış konjugatdan (Goat anti Mouse IgG2a-FITC, Santa Cruz Biotechnology, USA) her iki tüpe 50 µl eklenerek buz üzerinde 15 dakika karanlıkta inkübe edildi. Sonrasında 2 ml FACS lyse (Becton Dickinson, USA) solüsyonu ile eritrositleri lize etmek için 10 dakika inkübe edildi ve iki kez 1500 rpm'de 5 dakika 4<sup>0</sup>C da santrifüjlenerek yıkandı. En son olarak 200 µl cell wash eklenerek flow sitometride (BD FACSCanto<sup>TM</sup>, BD Biosciences, ABD) sayım yapıldı (106).

CD8 için, yine her örnekten 2 ayrı flow sitometri tüpü (70x15 mm) hazırlandı. Tüplere 50'şer µl ASD'li kan ilave edildi. Birinci tüpe 10 µl izotip kontrol (Mouse IgG1:sc3877, Santa Cruz Biotechnology, USA) ve ikinci tüpe ise 50 µl 1/100 CD4 antikor (Anti CD8, 12.C7, Novus Biologicals, LLC, USA) eklendi. Tüpler 15 dakika buz üzerinde inkübe edildi. Daha sonra 3 kez 1500 rpm'de 5 dakika 4<sup>0</sup>C'de cell wash ile santrifüj edilerek yıkama yapıldı. 1/100 oranında sulandırılmış konjugatdan (Goat anti Mouse IgG1-PE, Santa Cruz Biotechnology, USA) her iki tüpe 50 µl eklenerek buz üzerinde karanlıkta 15 dakika inkübe edildi. Sonrasında 2 ml FACS lyse (Becton Dickinson, USA) solüsyonu ile 10 dakika daha inkübe edildi ve iki kez 1500 rpm'de 5 dakika 4<sup>0</sup>C da santrifüjlenerek yıkandı. En son olarak, 200 µl cell wash eklenerek flow sitometride (BD FACSCanto<sup>TM</sup>, BD Biosciences, ABD), sayım yapıldı (106).

### *Sitokin düzeylerinin belirlenmesi*

Tavşanlardan alınan kan örneklerinden serum ayrıldı ve çalışma yapılacağı güne kadar -20°C'de saklandı. Bu serum örneklerindeki sitokin düzeyleri (IFN-γ ve IL-4) ticari kantitatif sandviç enzyme immünosorbentassay (ELISA, Cusabio Biotech Co., Ltd,

China) kitleri kullanılarak; üretici firma tarafından önerilen protokole göre ölçüldü. Bu kitlerle saptanabilir en düşük düzeyler IFN- $\gamma$  için 6.1 pg/ml; IL-4 için 14.2 pg/ml olarak belirtilmiştir. Ancak çalışmada sonuçları ölçülebilen değerlerin altında çıktığı için değerlendirme yapılamadı.

#### Solüsyonların hazırlık aşaması

- Standartlar 1 ml standart dilüent ile sulandırıldı. ( Standartlar, hazırlandıktan 15 dakika içinde kullanıldı).
- Assay dilüent 1'e 1 oranında distile su ile sulandırıldı.
- Detection reagent A ve B 1/100 oranlarında assay dilüent ile sulandırıldı ( deneyde kullanılmadan hemen önce hazırlandı).
- Wash buffer (yıkama solüsyonu) 1/30 oranında distile suyla sulandırıldı.
- Substrat solüsyonu ve stop solüsyonu ticari firmadan hazır olarak alındı.

#### Deney aşaması

Prospektüse uygun şekilde sulandırılmış olan standartlar blank ve örnekler plaktaki kuyulara 100'er  $\mu$ l pipetlendi ve üzeri kapatılarak 37 <sup>0</sup>C'de 2 saat inkübe edildi. Supernatant plaktan dökülerek her bir kuyuya 100'er  $\mu$ l detection reagent A eklendi. Plağın üzeri kapatılıp 37 <sup>0</sup>C'de 1 saat inkübe edildi. Supernatantın dökülmesinden sonra hazırlanan yıkama solüsyonundan 350'şer  $\mu$ l eklenerek 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra kuyulara 100'er  $\mu$ l detection reagent B ilave edildi, plağın üzeri kapatıldı ve 37 <sup>0</sup>C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama yapıldı. Yıkamadan sonra 90  $\mu$ l substrat solüsyonu ilave edildi. Plak kapatılarak karanlıkta 37 <sup>0</sup>C'de inkübe edildi (IL-4 için 15 dakika; IFN- $\gamma$  için 25 dakika). En son olarak 50  $\mu$ l stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Spektrofotometrede 450 nm'de okuma yapıldı.

#### Sonuçların hesaplanması

Yapılan okuma sonucunda kontrol ve standartlardan elde edilen optik dansite değerleri ile Excel programı kullanılarak grafiği oluşturuldu. Grafikten elde edilen formülden yararlanarak sonuçlar hesaplandı ve değerlendirilmesi yapıldı (106).

## 2.8. Et Kalitesinin Değerlendirilmesinde Bazı Kimyasal Özelliklerin Belirlenmesi

Deney sonunda her gruptan 7 tavşan rastgele seçilerek toplam 28 adet hayvan islami kurallara göre kesilmiştir. Kesim işlemi, tavşan başlarının kesilip ayrılması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kan akıtıldıktan sonra hayvanların derisi soyularak iç organlarından ayrılmıştır. Karkas üzerinde arka bacak, sırt ve ön kol bölgesinden 3'er gr et parçası alınarak tartılmış ve poşetlenmiştir. Alınan et numunelerinde protein ve yağ analizleri T.C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Bursa Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezinde yaptırılmıştır. Et protein konsantrasyonu Dumas (107) metoduna göre ve Leco FP 528 nitrojen/protein analizatör cihazı (Leco Instruments UK, Ltd., Cheshire, UK) ile tespit edilmiş; et yağ analizinde ise Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır (108). Nem oranının %10'un altında olması için örnek bir kurutma kabına konarak 800<sup>0</sup> C'den fazla olmayan sıcaklıkta etüvde kurutuldu. Hava geçirmeyen bir kap içinde muhafaza edildi. Öğütücüye bir miktar örnek konularak öğütüldü. Daha önce etüvde kurutulmuş ve desikatörde soğutulmuş olan ve içinde iki tane cam boncuk bulunan balon 1mg duyarlılıkta tartılarak darası alındı. Örnek, öğütüldükten sonra yaklaşık 5-10 g ± 0.5 mg duyarlılıkta tartıldı. Tartılan numune, çözücü ile ıslatılmış küçük bir parça pamuk tampon kullanılarak kartuşa konuldu. Kullanılan pamuk tampon ile kartuş kapatıldı. Kartuş ekstraktöre yerleştirildi. Balona yeterli miktarda (yaklaşık 150 ml-1.5 sifon hacmi) çözücü ilave edildi. Balon, ekstraktör ve soğutucu birbirine bağlandı. Su banyosu veya ısıtıcı tabla üzerine yerleştirildi. Çözücü yavaş kaynayacak şekilde sıcaklık ayarlandı. Geri damıtma hızı dakikada en az üç damlaya göre ayarlandı. 6-8 saatlik süre ile ekstraksiyon uygulandı. Süre sonunda ekstraksiyon durduruldu. Balonun içerisindeki çözücünün büyük bir kısmı damıtılarak geri alındı. Bu işlem sırasında yağ balonu içerisinde toplanan yağın yanmamasına dikkat edildi. Geriye kalan az miktardaki çözücünün uzaklaştırılması için cam balon 103±20<sup>0</sup>C'ye ayarlı etüve kondu. Süre sonunda desikatörde en az bir saat süreyle soğutulan balon 1mg duyarlılıkta tartıldı. Balon tekrar aynı sıcaklıktaki etüve kondu ve 10 dakika beklendikten sonra soğutulup ikinci kez tartıldı. İki tartım arasındaki farkın 10 mg'dan fazla olmamasına dikkat edildi. Eğer fark varsa 10 mg'dan az oluncaya kadar balon 10'ar dakikalık süreyle tekrar etüve konularak düzeltildi. Balonun son ağırlığı kaydedildikten sonra içindeki yağ miktarı % yağ olarak formülden hesaplandı.



*Yağ Tayini:*

$$\% \text{ Yağ (g /100 g)} = \frac{M_2 - M_1}{m} \times 100$$

$M_1$  = Sabit tartıma getirilmiş balonun ağırlığı (g).

$M_2$  =Balonda son tartımda bulunan toplam yağ miktarı (g).

$m$  = Alınan örneğin ağırlığı (g)

Kuru madde ve ham kül tayini ise kurutma metodu ile yapıldı (109). Bu amaçla kesilen her tavşandan arka bacak, sırt ve ön kol bölgesinden 2'şer gr et parçası tartıldı. Öncelikle kuru madde kapları sabit ağırlığa getirmek için 105 derecelik etüvde kurutulmuş ve sonra desikatörde soğutularak darası alındı. Mikserde karıştırılarak homojenize edilen numuneler, suyunun tasfiye edilmesi için 103-104 derecede etüvde kurutuldu. Daha sonra desikatörde soğutulan numuneler tartılarak kuru madde miktarları belirlendi. Kuru madde miktarı belirlenmiş olan örnekler 3 saat boyunca 550 derece kül fırınında yakıldı. Yakma işleminden sonra oda sıcaklığına kadar soğutularak tartıldı ve elde edilen sonuçlar formülze edilerek kül miktarı belirlendi.

*Kuru madde tayini:*

$$\% \text{ Nem} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

$$\% \text{ Kuru Madde} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

$\% \text{ Toplam Kuru Madde Miktarı (g/100 g)} = 100 - \% \text{ Nem miktarı}$

m1: Kurutulmuş boş kurutma kabı ve kapağın ağırlığı (g)

m2: İçerisinde deney örneği bulunan kurutma kabı ve kapağının kurutma işlemi öncesi ağırlığı (g)

m3: İçerisinde deney örneği bulunan kurutma kabı ve kapağının kurutma işlemi sonrası ağırlığı (g)

*Ham kül tayini:*

$$\% \text{ Kül} = \frac{M2-M1}{m} \times 100$$

M2 = Yakmadan sonraki kroze ve kül ağırlığı (g)

M1 = Sabit tartıma getirilen krozenin ağırlığı (g)

m = Alınan örnek ağırlığı (g)

## 2.9. İstatistik Analizler

İstatistik analizler SPSS (110) programında gerçekleştirilmiştir. Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için Anova, gruplar arasındaki farkın önemlilik kontrolü için Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.  $P < 0.05$ 'e göre önem bulunması halinde Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir (111). Gruplara ait ortalamalar ve standart hatalar hesaplanarak ilgili tablolarda gösterilmiştir.

## BULGULAR

Araştırmada gruplarda elde edilen ortalama canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı ile ilgili değerler sırasıyla Tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4’de ve Şekil-5’de gösterilmiştir. 90 gün devam eden çalışmada iki haftalık periyotlarda ve çalışma sonunda elde edilen verilere göre gruplar arasında istatistik bakımından bir fark görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Çalışma sonunda kontrol, grup SC, SP ve SC+SP’de ortalama canlı ağırlıkları sırası ile  $2662.40\pm 48.37$ ,  $2717.78\pm 83.42$ ,  $2704.40\pm 80.01$  ve  $2718.80\pm 100.50$  g olarak saptanmıştır. Ortalama canlı ağırlık artışları bakımından da gruplar arasında fark görülmemiştir (Tablo-3.2,  $P>0.05$ ). Deney sonundaki canlı ağırlık artışları ise kontrol ve grup SC, SP ve SC+SP’de sırası ile  $1653.20\pm 83.78$ ,  $1680.22\pm 69.89$ ,  $1695.20\pm 82.56$ ,  $1709.60\pm 77.93$  g olarak tespit edilmiştir. Yine gruplar arasında iki haftalık değerler incelendiğinde, gruplar arasında yem tüketimi ve yemden yararlanma bakımından önemli farklılık bulunamamıştır (Tablo-3.3 ve 3.4.,  $P>0.05$ ). Sadece dördüncü iki haftalık periyotta yem tüketiminde istatistiksel fark tespit edilmiştir ( $p:0,009$ ). Gruplar arasında istatistiksel karşılaştırmalarda ise SC ve SC+SP gruplarında kontrol grubuna göre önemli fark olduğu belirlenmiştir ( $p:0,004$ ;  $p:0.013$ ). Doksan günlük çalışma sonundaki yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı sırasıyla; kontrol grubu  $7785.40\pm 236.97 - 4.79\pm 0.22$ ; grup SC’de  $8108.00\pm 246.20 - 5.08\pm 0.22$ ; grup SP’de  $7641.00\pm 330.67 - 4.48\pm 0.25$ ; grup SC+SP’de ise  $7815.80\pm 317.52 - 4.61\pm 0.16$ ’dır.

Deney gruplarında çalışma sonunda alınan kanlardan elde edilen bazı kan parametrelerine (hematokrit değer, hemoglobin miktarı, alyuvar sayımı, akyuvar sayımı ve formül lökosit) ait veriler Tablo 3.5’de verilmiştir. Araştırma sonunda, kontrol ve grup SC, SP ve SC+SP’e ait kanlarda  $CD4^+$  ve  $CD8^+$  T hücreleri konsantrasyon düzeyleri, gruplar sırasıyla;  $CD4^+$  T hücresi için %34.39, %35.73, %36.04, %35.98 ve  $CD8^+$  T hücresi için %19.37, %20.50, %16.36, %16.54 olarak bulunmuştur.  $CD4^+/CD8^+$  T hücre değerleri ise kontrol grubu için 1.80, grup SC, SP ve SC+SP için sırasıyla 1.91, 2.28 ve 2.29 olarak tespit edilmiştir (Tablo-3.6., Şekil-7). Her grup için çalışılan örneklerden FSC/SSC histogramlarındaki lenfosit görünümleri ve alınan kapılar ile lineer histogramlardaki  $CD4^+/CD8^+$  T hücre ekspresyonları Şekil 4’ de gösterilmiştir.

Deney sonunda alınan et numunelerinde yapılan analizler sonucunda ise protein ve yağ değerleri kontrol ve grup SC, SP ve SC+SP’de sırasıyla; protein için  $\%24.54\pm 0.21$ ,

%24.90±0.27, %25.07±0.12, %24.72±0.14 ve yağ için %4.39±0.08, %4.19±0.10, %4.11±0.74, %4.33±0.07 olarak tespit edilmiştir. Et kuru madde miktarları kontrol grubunda %27.59±0.83 ve grup SC, SP ve SC+SP için sırası ile %29.24±0.69, %27.62±0.79, %26.70±0.59 olarak bulunmuştur. Ham kül miktarları ise kontrol ve grup SC, SP ve SC+SP sırasıyla %5.29±0.12, %5.30±0.18, %5.40±0.06, 5.27±0.15'dir. Grupların et kalitesinin değerlendirilmesinde kimyasal parametreler açısından gruplar arasında istatistik fark bulunmamıştır (Tablo-3.7., Şekil-6, P>0.05).

Araştırma süresince hayvanlarda herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamış ve ölüm görülmemiştir.



Tablo-1 Bazal diyetin bileşimi (% Kuru Madde)

	Diyet
Kuru madde %	88,89
Ham selüloz %*	10,95
Ham protein %*	16,00
Yağ %*	3,52
Kül	7,68

\* % Kuru Madde baz alınmıştır.

Tablo-2 Yem bileşenleri (%)

İçerik	Oran, %
Arpa	30,00
Mısır	17,61
Pirinç kepeği	10,00
Mısır kepeği	3,60
Yonca	25,00
Soya unu 46	10,83
Mermer tozu	1,40
DCP 18	0,28
Tuz	0,80
Methionin	0,09
Antikoksidial	0,03
Vitaminpremik*	0,25
Antioksidial	0,03
Toplam	100,00

\* Premiks: Vit A 4.800.000 IU, Vit D 800.000 IU, Vit E 14.000 mg, Biotin 18 mg, CH-CL 50.000 mg, Folik asit 400 mg, Niasin 8.000 mg, Pant.asit 4.000 mg, Riboflavin 2.800 mg, Thiamin 1.200 mg, Pridoksin 2.000 mg, Vit K 1.600 mg, Çinko 24.000 mg, Demir 2.000 mg, İyot 400 mg, Mangan 32.000 mg, Selenyum 60 mg, Bakır 24.000 mg.

Tablo-3.1. Grupların iki haftalık ortalama canlı ağırlıkları (g) ( ortalama ± standart hata )

Dönem (gün)	Kontrol Grubu				
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	P
Başlangıç	1009,20±73,94	1037,56±76,15	1009,20±75,45	1009,20±78,57	0,985
0-15	1460,6±65,85	1496,66±69,02	1475,20±61,35	1476,60±82,78	0,933
15-30	1771,6±44,61	1859,55±63,03	1847,60±63,52	1824,20±82,00	0,805
30-45	2093,20±40,22	2134,88±73,77	2164,0±66,85	2156,20±84,98	0,931
45-60	2353,60±38,16	2398,44±83,05	2386,6±70,12	2398,80±95,17	0,879
60-75	2539,0±42,02	2601,11±75,79	2596,60±741,23	2598,40±92,86	0,799
75-90	2662,40±48,37	2717,78±83,42	2704,40±80,01	2718,80±100,50	0,927

Gruplar arasındaki fark önemsizdir ( P>0.05) n=10

Tablo-3.2. Grupların iki haftalık canlı ağırlık artışları (g) ( ortalama ± standart hata )

Dönem (gün)	Kontrol Grubu				
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	P
0-15	421,40±22,76	459,11±18,67	466,0±27,78	467,40±20,78	0,432
15-30	341,0±35,80	362,89±36,45	372,40±19,74	347,60±25,04	0,879
30-45	321,60±16,70	275,33±31,81	316,40±27,77	332,0±25,51	0,824
45-60	260,40±9,32	263,56±13,73	222,60±31,06	242,60±26,24	0,264
60-75	185,40±12,46	202,67±17,29	210,0±23,98	199,6±13,73	0,764
75-90	123,40±18,96	116,67±20,25	107,80±14,42	120,4±15,95	0,986
0-90	1653,20±83,78	1680,22±69,89	1695,20±82,56	1709,60±77,93	0,945

Gruplar arasındaki fark önemsizdir ( P>0.05) n=10

Tablo-3.3. Grupların iki haftalık yem tüketimi (g) ( ortalama ± standart hata )

Dönem (gün)	Kontrol Grubu				P
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	
0-15	660,80±20,97	649,55±47,65	679,75±29,29	669,60±30,84	0,908
15-30	567,80±52,054	627,63±42,76	498,75±42,76	585,80±79,67	0,342
30-45	701,60±19,74	705,45±62,71	718,00±34,40	628,20±42,85	0,239
45-60	1080,60±57,50 <sup>a</sup>	1142,91±±62,75 <sup>ab</sup>	852,00±69,68 <sup>a</sup>	902,20±62,65 <sup>ab</sup>	0,009**
60-75	819,40±53,11	664,00±50,35	697,75±73,95	719,40±38,83	0,372
75-90	615,60±53,06	686,18±60,35	597,75±55,87	668,40±39,83	0,774
0-90	7785,40±236,97	8108,00±246,20	7641,00±330,67	7815,80±317,52	0,551

a,b : Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımından önemlidir (\*\*): P<0.05

Tablo-3.4. Grupların iki haftalık yemden yararlanma oranları (kg yem / kg canlı ağırlık artışı) ( ortalama ± standart hata )

Dönem (gün)	Kontrol Grubu				P
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	
0-15	1,60±0,09	1,50±0,08	1,41±0,13	1,44±0,05	0,660
15-30	2,01±0,43	2,02±0,29	1,38±0,15	1,62±0,16	0,420
30-45	2,24±0,16	2,74±0,26	2,39±0,20	1,97±0,16	0,109
45-60	4,19±0,26	4,66±0,42	4,40±0,56	4,34±0,72	0,731
60-75	4,63±0,44	3,67±0,48	3,53±0,48	3,84±0,42	0,394
75-90	5,81±0,76	9,33±3,30	6,75±1,63	6,32±0,87	0,811
0-90	4,79±0,22	5,08±0,22	4,48±0,25	4,61±0,16	0,379

Gruplar arasındaki fark önemsizdir ( P>0.05) n=10

Tablo-3.5. Gruplarda deneme sonu bazı hematolojik kan parametreleri (ortalama  $\pm$  standart hata)

	Kontrol Grubu				P
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	
Hematokrit (%)	41,60 $\pm$ 0,58	41,33 $\pm$ 0,90	40,90 $\pm$ 0,62	41,80 $\pm$ 0,80	0,87
Hemoglobin (gr/100ml)	12,50 $\pm$ 0,25	12,71 $\pm$ 0,27	12,10 $\pm$ 0,29	12,00 $\pm$ 0,25	0,15
Alyuvar ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	6,30 $\pm$ 0,19	6,12 $\pm$ 0,19	6,33 $\pm$ 0,28	6,55 $\pm$ 0,21	0,50
Akyuvar ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	6860,00 $\pm$ 191,60	7011,11 $\pm$ 228,18	7010,00 $\pm$ 211,58	6780,00 $\pm$ 222,51	0,76
<i>Formül Lökosit</i>					
Lenfosit (%)	63,10 $\pm$ 3,85	73,11 $\pm$ 2,34	63,20 $\pm$ 3,32	69,50 $\pm$ 2,29	0,07
Nötrofil (%)	31,00 $\pm$ 2,99	22,89 $\pm$ 2,79	32,00 $\pm$ 3,50	27,20 $\pm$ 2,26	0,09
Eozinofil (%)	3,10 $\pm$ 0,87	1,33 $\pm$ 0,62	2,10 $\pm$ 0,75	1,40 $\pm$ 0,50	0,40
Bazofil (%)	0,80 $\pm$ 0,33	0,56 $\pm$ 0,24	0,70 $\pm$ 0,26	0,70 $\pm$ 0,21	0,96
Monosit (%)	2,00 $\pm$ 0,00	2,11 $\pm$ 0,39	2,00 $\pm$ 3,65	1,20 $\pm$ 0,33	0,17

Gruplar arasındaki fark önemsizdir ( $P > 0.05$ )  $n=10$

Tablo-3.6. Grupların ortalama lenfosit alt tip düzeyleri (ortalama  $\pm$  standart hata)

	Kontrol Grubu				P
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	
CD4 <sup>+</sup>	34,39 $\pm$ 1,82	35,73 $\pm$ 1,74	36,04 $\pm$ 1,69	35,98 $\pm$ 1,59	0,941
CD8 <sup>+</sup>	19,37 $\pm$ 1,07	20,50 $\pm$ 2,17	16,36 $\pm$ 1,37	16,54 $\pm$ 1,44	0,280
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> **	1,80 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	1,91 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	2,28 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	2,29 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	0,041

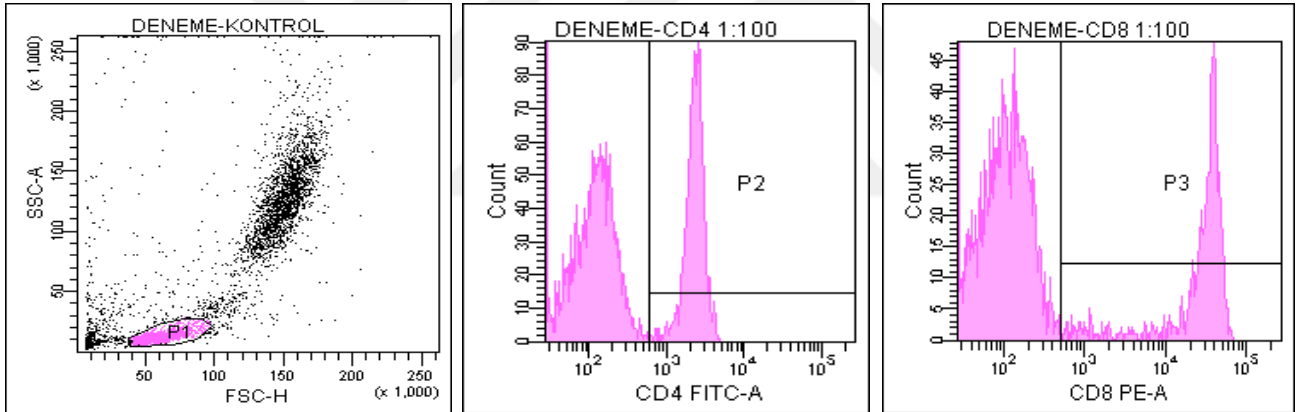
a,b : Aynı sırada farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımından önemlidir (\*\*):  $P < 0.05$   $n=10$



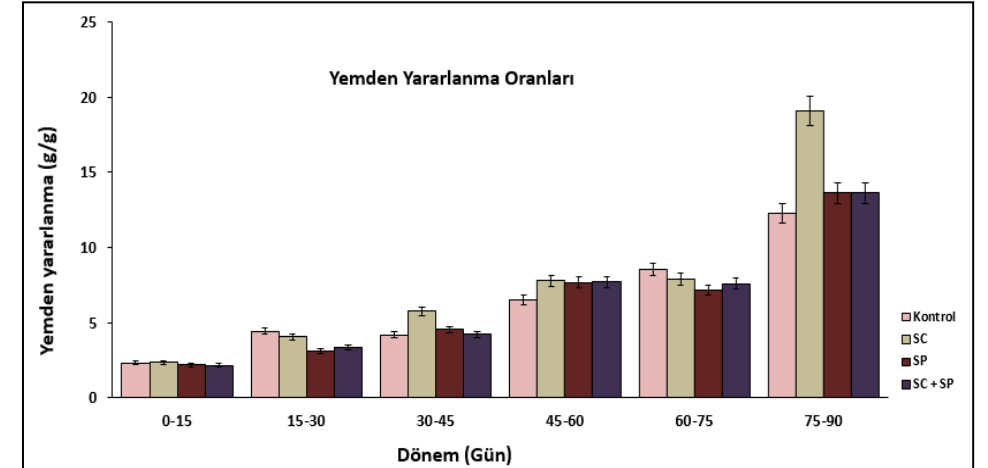
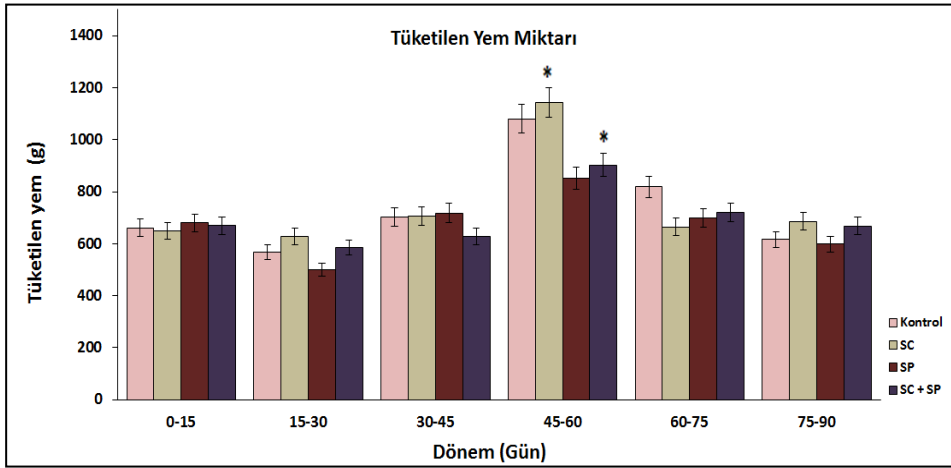
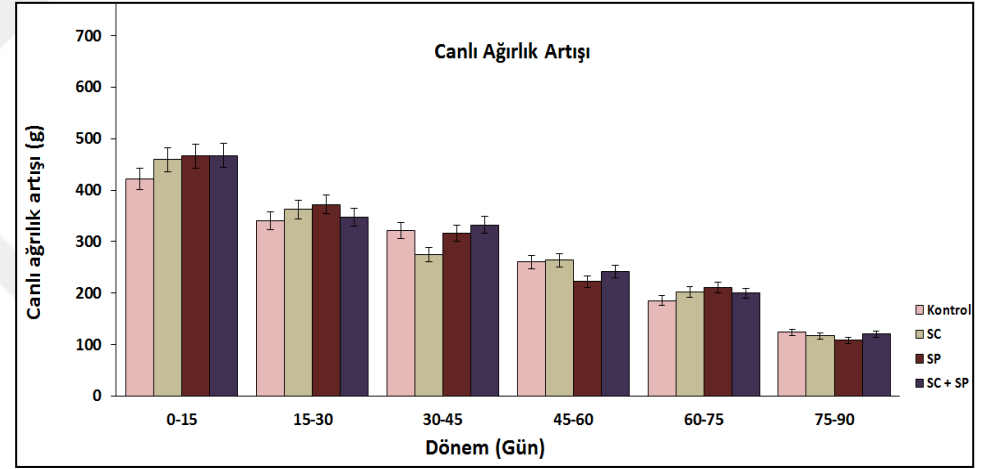
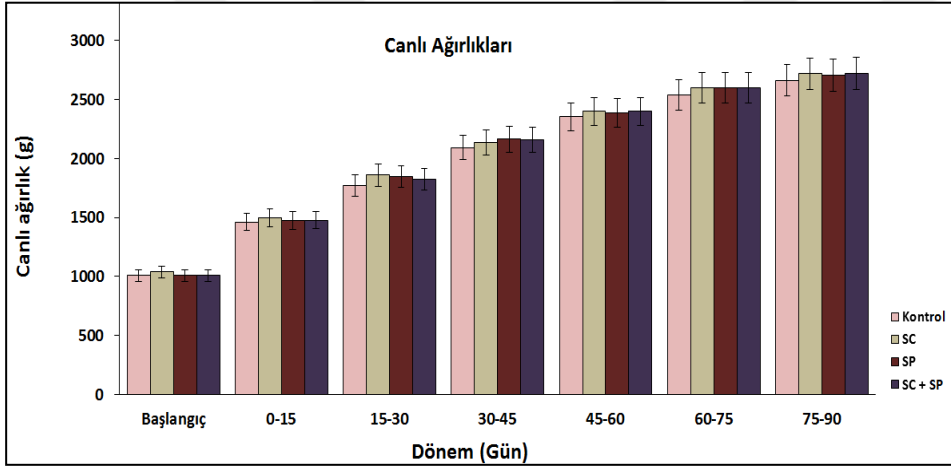
Tablo-3.7. Grupların et kalitesinin değerlendirilmesinde kimyasal parametreler( ortalama ± standart hata )

	Kontrol Grubu				P
		Grup SC ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Grup SP ( <i>Spirulina platensis</i> )	Grup SC + SP	
Et protein %	24,54±0,21	24,90±0,27	25,07±0,12	24,72±0,14	0,29
Kuru madde %	27,59±0,83	29,24±0,69	27,62±0,79	26,70±0,59	0,10
Ham kü l%	5,29±0,12	5,30±0,18	5,40±0,06	5,27±0,15	0,95
Et yağ %	4,39±0,08	4,19±0,10	4,11±0,74	4,33±0,07	0,10

Gruplar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05) n=7

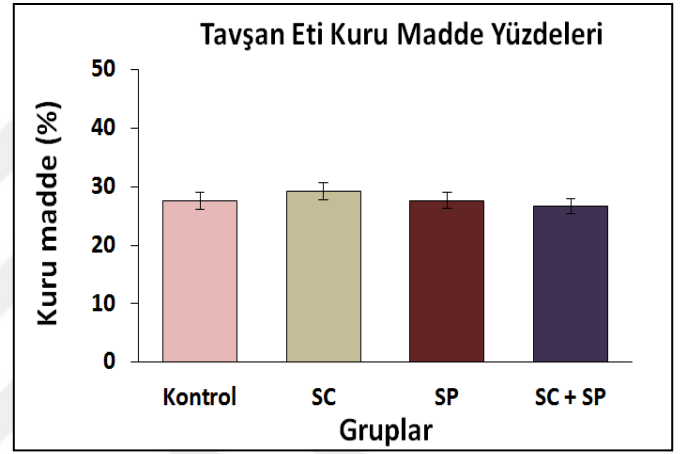
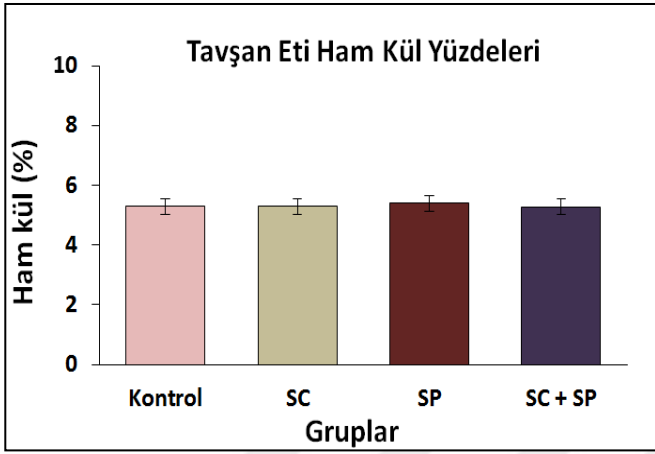
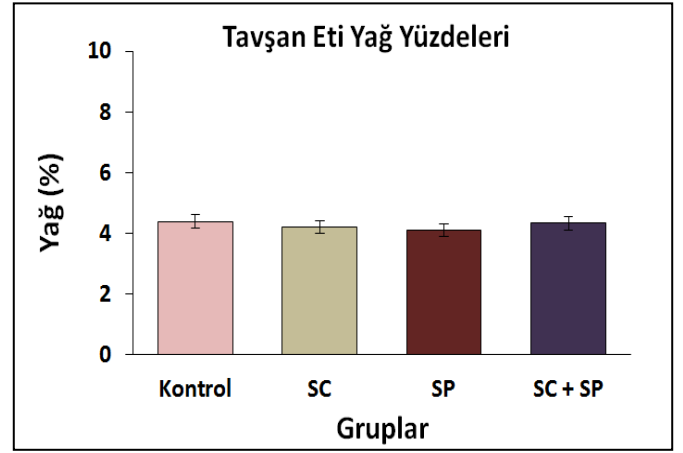
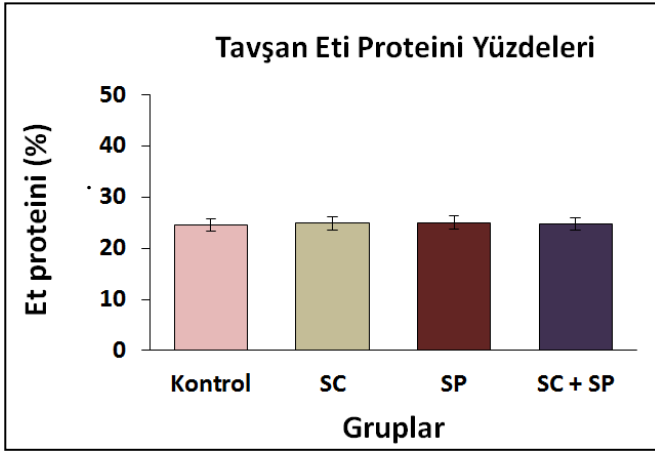


Şekil-4. Çalışılan bir örnekte FSC/SSC histogramında lenfositlerin görünümü ve kapı alınması, diğer lineer histogramlarda CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri ekspresyonunun gösterilmesi.



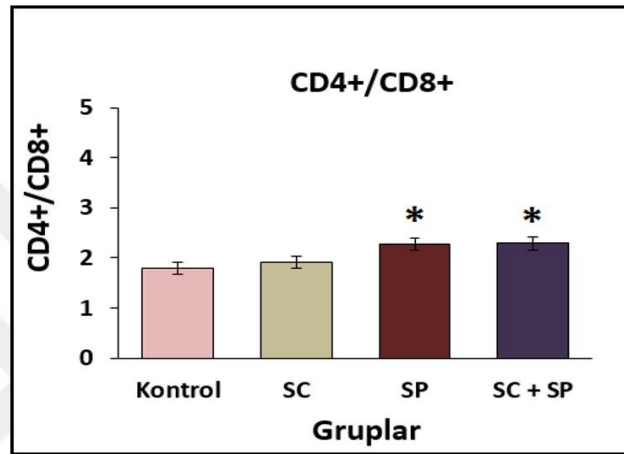
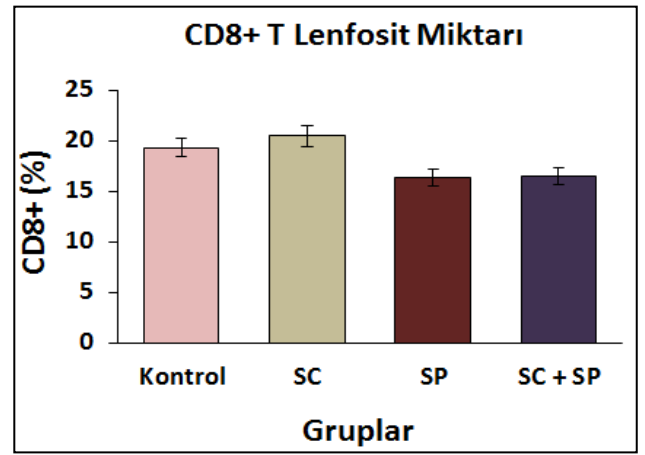
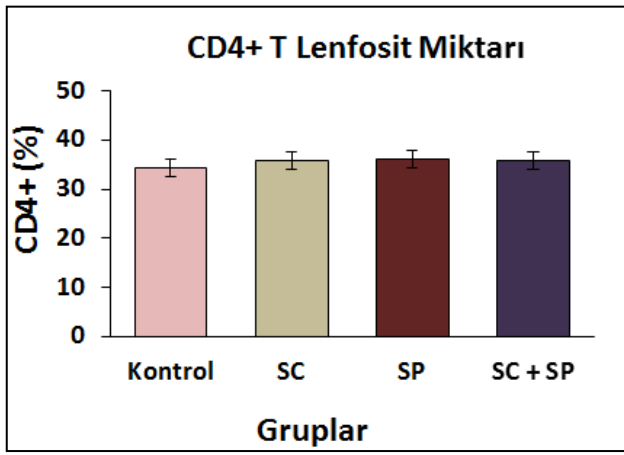
Şekil-5. Büyüme parametreleri grafikleri.

Veriler: ortalama±standart hata, n:40. C, kontrol grup (bazal yem). SC, Saccharomyces cerevisiae grubu (kg yeme 3g ilave edildi). SP, Spirulina platensis grubu (gr yeme % 5 oranında ilave edildi). SC+SP, Saccharomyces cerevisiae ve Spirulina platensis grubu (sırasıyla kg yeme 3g SC ve %5 oranın SP ilave edildi). Farklılıklar, kontrol gruba ve P<0.05'e göre düzenlenmiştir.



Şekil-6. Tavşan eti parametreleri grafikleri.

Veriler: ortalama±standart hata, n:40. C, kontrol grup (bazal yem). SC, *Saccharomyces cerevisiae* grubu (kg yeme 3g ilave edildi). SP, *Spirulina platensis* grubu (gr yeme % 5 oranında ilave edildi). SC+SP, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Spirulina platensis* grubu (sırasıyla kg yeme 3g SC ve %5 oranın SP ilave edildi). Farklılıklar, kontrol gruba ve  $P<0.05$ 'e göre düzenlenmiştir.



Şekil-7. CD4+ ve CD8+ T hücre sayısı ve CD4+/CD8+ T hücre oranı grafikleri.

Veriler: ortalama±standart hata, n:40. C, kontrol grup (bazal yem). SC, *Saccharomyces cerevisiae* grubu (kg yeme 3g ilave edildi). SP, *Spirulina platensis* grubu (gr yeme % 5 oranında ilave edildi). SC+SP, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Spirulina platensis* grubu (sırasıyla kg yeme 3g SC ve %5 oranın SP ilave edildi). Farklılıklar, kontrol gruba ve  $P<0.05$ 'e göre düzenlenmiştir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırma, tavşanlarda canlı maya kültürü *Saccharomyces cerevisiae* ve tatlı su yosunu *Spirulina platensis*'in büyüme performansına (canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yemden yararlanma), bazı kan parametrelerini, kanda lenfosit alt tipleri ve serum sitokin seviyeleri ile tavşan etinin kimyasal özelliklerine ilişkin etkilerini saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

### 4.1. SP ve SC'nin Büyüme Performansına Etkileri

Tavşanlarda yapılan araştırmada, yemlere etken madde olarak 3 g *Saccharomyces cerevisiae* ve %5 düzeyinde *Spirulina platensis* beraber ve ayrı ayrı katılması ile gerçekleştirilen 90 günlük deney sonucunda kontrol, SC, SP ve SC+SP gruplarındaki canlı ağırlık değerleri sırasıyla 2662.40, 2717.78, 2677.00 ve 2718.80 g olarak bulunmuştur. Bu verilerin gruplar arasında istatistik olarak fark göstermediği de tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ).

Araştırma süresince kontrol, SC, SP ve SC+SP gruplarının 12 haftalık ortalama canlı ağırlık artışı değerleri sırasıyla 1653.20, 1680.22, 1695.20 ve 1709.60 g olarak saptanmış olup, gruplar arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Yem tüketimi ve yemden yararlanma değerleri ise sırasıyla kontrol grubu  $7785,40\pm 236,97$  ve  $4.79\pm 0.23$ ; grup SC  $8108,00\pm 246,20$  ve  $5.08\pm 0.22$ ; grup SP  $7641,00\pm 330,67$  ve  $4.48\pm 0.25$ ; grup SC+SP  $7815,80\pm 317,52$  ve  $.61\pm 0.16$  olarak hesaplanmıştır. Yem tüketimi ve yemden yararlanma bakımından gruplar arasında istatistik bir fark bulunamamıştır. Ancak iki haftalık yem tüketimi incelendiğinde 45-60 günlük dönemde SC ve SC+SP gruplarında yem tüketimi diğer gruplara göre istatistik düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p:0,009$ ). Bununla birlikte aynı dönemdeki tavşanların canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranlarında istatistik düzeyde bir fark gözlenmemiştir (Tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4).

SP ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında farklı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Peiretti ve Meineri (115)'nin tavşanlarda yaptıkları araştırmaya göre tavşanlarda düşük dozlarda SP uygulamasının büyüme performansında olumlu etkileyebileceği vurgulanmıştır. Bu araştırmacılar, tavşanlarda SP'nin yeme %5, %10 ve %15 oranlarında katılmaları ile canlı ağırlık artışının ve yemden yararlanma oranlarının istatistik bakımından önemli oranda değişmediğini, ancak 24 gün süren deneme sonunda en fazla yem alımının %10 SP içeren grupta olduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar araştırmamızın bulgularına benzerlik göstermektedir. Bununla beraber farklı sonuçlar bir çok araştırmacı tarafından da bildirilmektedir. Moreira ve arkadaşları (68) yaptıkları çalışmada 6 adet Wistar rattan oluşan 4 grup oluşturmuş; yemlerine sırasıyla 0, %8.8, %17.6 ve %26.4 oranlarında SP ilave edilmiştir. 45 gün süren deneme sonucunda %17.6 oranında SP verilen grupta istatistiksel olarak canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışında azalma görüldüğü bildirilmiştir.

Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise (69) %5 ve %10 oranlarında SP verilmiş; istatistiksel olarak canlı ağırlık ve yemden yararlanma bakımından bir fark görülmemesine karşın, %10 SP verilen grupta istatistiksel olmasa da canlı ağırlığın arttığı bildirilmiştir.

Heidarpour'un ineklerde yaptığı bir çalışmada ise (116) günlük 0, 2, 6 ve 25 g *Spirulina* verilen dört grup oluşturulmuş ve deneme boyunca 15 günlük periyotlarda büyüme performanslarına bakılmıştır. Gruplar arasında canlı ağırlık artışı, günlük yem alımı ve yemden yararlanma bakımından istatistik bir fark gözlenmediği bildirilmiştir.

Grinstead ve arkadaşlarının (117) yaptıkları bir çalışmada ise birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada sütten kesilen domuzlarda 3 deneme grubu oluşturulmuş ve büyüme performansı değerlendirilmiştir. Birinci denemede sütten kesilmiş domuzlarda 0-14 günlük periyoda büyüme performansında herhangi bir fark görülmemesine karşın, 14-28 günlük periyoda 2 g/kg yem *Spirulina platensis* verilen grupta canlı ağırlık artışı ve yem alımında istatistik olarak artış tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmanın diğer denemesinde ise 0-14 günlük dönemde yine fark gözlenmemiş, ancak 14-28 ve 0-28 günlük dönemlerde 1 ve 2 g/kg yem *Spirulina platensis* verilen gruplarda canlı ağırlık artışı ve yem alımında istatistiksel artış bulunmuştur. Çalışmanın 3.denemesinde ise 11-12 günlük yaştaki domuzlara 28 gün boyunca 2g/kg yem SP verilmiş ancak büyüme performansında istatistiksel bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Maya ile yapılan çalışmalara bakıldığında ise; canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışına ilişkin elde edilen bulgular Caudhary ve arkadaşlarının (62) 6 haftalık Yeni Zellanda beyazı tavşanlarda yaptıkları çalışmadan elde edilen verilerle örtüşmektedir; 12 hafta süren

ve hayvan başına  $5 \times 10^8$  CFU miktarında SC kullanılan bu çalışmada son canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem alımı bakımından bir fark görülmediği bildirilmiştir.

Kimse ve arkadaşları (60) ise tavşan yemlerine  $1 \times 10^6$  ve  $1 \times 10^7$  CFU/g miktarlarında SC (Biosaf) katmışlardır. Bu çalışma sonunda maya verilen her iki grupta da son canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem alımı ve yemden yararlanma bakımından fark olmadığı bildirilmiştir.

Bununla beraber, Onifade ve arkadaşları (58) tavşanlarda kullanılan SC'nin büyüme performansını olumlu etkilediğini bildirmektedir. Bu etkinin ise mayanın yem ve protein alımını artırmasıyla oluştuğu belirtilmiştir. Ayrıca, tavşanlarda verilecek olan maya ilavesinin optimum değerinin belirlenmesi için daha fazla çalışma gerektiğinin önemli olduğu vurgulanmıştır.

Tavşanlarda yapılan diğer bir çalışmada ise Lambertini ve arkadaşları (61) tavşan rasyonlarına 400g /kg yem düzeyinde SC ilave etmişlerdir. Deneme sonunda, canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışı üzerine istatistik bakımdan önemli fark bulunmadığı, ancak mayanın yemden yararlanma oranını istatistiksel olarak arttırdığı bildirilmiştir.

Paryad ve Mahmoudi (98) yaptıkları çalışmada broilerde yeme % 1.5 düzeyinde ilave edilen SC'nin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmayı arttırdığını belirtmiştir. Ancak aynı çalışmada maya düzeyi %2.0 olan rasyonla beslenen broilerlerde canlı ağırlık artışı ve yem alımında diğer gruplara göre herhangi bir fark görülmediği bildirilmiştir. Onifade de (112) benzer bir çalışmada yakın sonuçlar elde etmiş ve kanatlılarda 1.5 , 3.0, 4.5 ve 6.0 g/kg oranlarında yeme katılan SC'nin en iyi sonucunu 3.0 g/kg miktarında verdiğini bildirmiştir.

Hadadd ve Goussous (113) yaptıkları çalışmada Awassi ırkı koyunlarda günlük 3 ve 6 g canlı maya kültürü SC vermiştir. 3g maya verilen hayvanlarda canlı ağırlık artışı istatistiksel olarak önemli olmakla beraber; 6 g maya verilen gruptaki hayvanlarda canlı ağırlık artışı bakımından kontrol grubu ile arasında önemli bir fark görülmemiştir. Yine ruminantlarda yapılan bir çalışmada Kumar ve arkadaşları (114), bufalo sığırlarda, 180 gün boyunca hayvan başına günlük 0.25 g SC vermiş; günlük canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma bakımından istatistiksel fark bulunduğunu bildirmiştir.

Bugüne kadar yapılmış olan araştırmalar ve bu çalışmanın sonunda elde edilen veriler SC ve SP'nin canlı ağırlık, yemden yararlanma ve kan değişkenleri üzerine etkilerinin tartışılmalı doğasını göstermektedir. Bu farklılığın hayvan yada cinsiyete bağlı olmadığı, çevre koşulları ve ayrıca SC ve SP'nin optimum etkin dozlarının henüz kullanılmamış

olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda istatistik bakımdan önemli fark bulunmasa da SC ve SP'nin canlı ağırlık artışını, hem ayrı ayrı hem de birlikte verildiği gruplarda arttırdığı görülmüştür.

#### **4.2. SP ve SC'nin Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri**

On iki haftalık deneme sonunda tavşanlardan alınan kanlardan elde edilen hematolojik kan parametreleri (hematokrit ve hemoglobin değerleri, alyuvar ve akyuvar sayıları ve formül lökosit) sonuçlarına göre kontrol ve deney grupları arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Deney sonu hematolojik kan parametreleri tavşanlarda bildirilen normal değişim sınırları içerisinde (Tablo 3.5). Araştırmada lenfosit sayısında istatistiksel önemde olmamakla birlikte SC ve SC+SP gruplarında artma saptanmıştır (p:0,07). Lenfosit değerleri sırasıyla kontrol, SC, SP ve SC+SP gruplarında 63.10, 73.11, 63.20 ve 69.50 olarak bulunmuştur.

Şimşek ve arkadaşları (121) çalışmasında 30 gün boyunca, 30 adet Wistar rata, günlük 300mg/kg SP'yi suya karıştırarak vermiştir. Denemenin 0., 15. ve 30. günlerinde alınan kan örneklerinde eritrosit ve lökosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu, hematokrit ve ortalama hemoglobin konsantrasyonu değerlendirilmiştir. Tüm çalışma boyunca alyuvar sayısı ve hemoglobin konsantrasyonunda gruplar arasında bir farklılık gözlenmediği ancak hematokrit değerinde istatistiksel olarak azalma görüldüğü bildirilmiştir. Ortalama hemoglobin konsantrasyonunda ise zamana bağlı olarak artış saptanmıştır. Lökosit sayısı hariç nötrofil ve lenfosit sayısının ise istatistiksel olmamakla beraber, deneme başlangıcından sonuna kadar kademeli olarak arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar SP'in kemik iliği kök hücrelerinin aktivitesini arttırabileceği ve dolayısıyla organizmanın bağışıklığını kuvvetlendirebileceğini belirtmişlerdir.

Promya ve Chitmanat (122), yayın balıklarında yaptıkları çalışmada kontrol grubu, %3 SP, %5 SP ve %5 Cladophora grubu oluşturmuştur. 60 günlük deney sonunda %5 oranında SP ilave edilmiş diyetlerle beslenen hayvanlarda kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin sayısında istatistiksel olarak artış olduğu bildirilmiştir.



Yeme %5 düzeyinde SP'nin katılmasının kan parametreleri üzerine bir etkisi olmadığı görülmüştür. Lenfosit sayısındaki istatistik olmayan artış ise savunma sistemi ile ilişkilendirilebilir. Kısmi olarak bağışıklığın artmasıyla bağdaştırabiliriz.

Çalışmamıza benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Shareef ve Al-Dabbagh'ın (118) broiler tavuklarda yaptıkları çalışmada %2 oranında maya verilen grupta kan parametrelerinde hemoglobin hariç diğerlerinde herhangi bir fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada tüm gruplarda akyuvar tipleri yüzdelerinde fark olmadığı da bildirilmiştir. Saied ve arkadaşlarının (119) broiler tavuklarda maya kültürü ile yaptıkları çalışmada hematokrit değer ve hemoglobin konsantrasyonlarında farklılık görülmediği bildirilmiştir.

Bununla beraber bu çalışmanın bulguları, Onifade ve arkadaşlarının (58) tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda elde edilen bulgularla çelişki oluşturmaktadır. İlgili çalışmada hematokrit değer ve hemoglobin miktarlarında istatistiksel önemde arttığı saptanmış ve bu artışın maya kültürü ilavesinin yem kalitesini artırması nedeniyle olabileceği bildirilmiştir. Wohlt ve arkadaşlarının (120) sığırlarda yaptıkları bir araştırmada ise hematokrit değerinde istatistiksel olarak azalma olduğu bildirilmiştir. Bu azalmayı, mayanın süt verimindeki artışına bağlı olarak protein ihtiyacının artmasının bir sonucu olarak değerlendirmişlerdir. Tavşanlarda yapılan bu araştırmada ise böyle bir durum ile karşılaşılmamıştır. Bu farklılığın hayvanın türüne, rasyonun yapısı ve bileşimine ve kullanılan maya kültürüne bağlı olabileceği düşünülmektedir.

#### **4.3. SP ve SC'nin Bazı Lenfosit Alt Tipleri ve Sitokin Düzeylerine Etkileri**

Araştırma sonunda, kontrol ve deney gruplarına (SC, SP ve SC+SP) ait kanlarda CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfosit düzeyleri sırasıyla, CD4<sup>+</sup> için %34.39, %35.73, %36.04 ve %35.98; CD8<sup>+</sup> için %19.37, %20.50, %16.36 ve %16.54'tür. Elde edilen verilere göre CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfosit düzeylerinde gruplar arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Ancak, SP verilen grupta CD4<sup>+</sup> T lenfosit düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artış gözlenmiştir. Bununla beraber, gruplar arasında CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücresi oranlarına bakıldığında ise kontrol grubuna göre SP grubunda (2.28; p:0.019) ve SC+SP grubunda

(2.29; p:0.015) anlamlı artış tespit edilmiştir. CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T lenfosit değeri ise kontrol ve deneme gruplarında (SC, SP ve SC+SP) sırasıyla, %1.80, %1.91, %2.28 ve %2.29'dur.

SP'nin ağız yoluyla alındığında kanda T-hücre reseptörleri sayesinde yanıt sağlayarak immün sistemde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (86). Ayrıca SP'nin T ve B hücrelerini aktive ettiği de saptanmıştır. Hirahashi ve arkadaşlarının çalışmasında (93) sağlıklı insanlarda SP ekstraktı uygulanmıştır. Deneyde 12 adet sağlıklı insana 50 ml ekstrakt oral olarak verilmiş, deneme başında ve sonunda kan alınmıştır. Çalışmanın 3 aylık uygulaması sonrasında IFN- $\gamma$ 'nın istatistiksel olarak arttığı belirlenmiş ve bu çalışma ile, SP'nin direkt olarak myeloid dokuya etkide bulunduğu bildirilmiştir. Zhu ve Li (123) çalışmasında ise, farelere SP uygulamış ve periferik kanda ve immün organlardaki etkilerini değerlendirmiştir. SP ve kompleks ilaçlarının kullanıldığı çalışma sonunda periferik kandaki CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T lenfosit değeri *Spirulina platensis* verilen grupta daha düşük bulunduğu bildirilmiştir.

Bununla beraber SP'nin yapısında bulunan polisakkaritler ve pikosiyanın da immün fonksiyonu arttırdığı da çalışmalarla bildirilmiştir. Oral olarak verilen *Spirulina* polisakkaritlerinin ve pikosiyanın, T lenfosit yüzdesini arttırdığı; bunu da lökosit ve kemik hücre gelişimini tetikleyerek gerçekleştirebileceği bildirilmiştir (85, 88).

Çalışmamıza benzer bir araştırmada (79), 48 adet domuzda yeme %0,3 oranında SC (Sc47) canlı maya katılmış ve alınan kan örneklerinde T lenfosit alt tipleri flow sitometri ile değerlendirilmiştir. Periferik kandan alınan örneklerde yapılan analiz sonucunda CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücresi değerlerinde istatistiksel olarak artış olduğu bildirilmiştir. Maya ilavesinin T lenfosit sayısını arttırdığı, buna bağlı lenfosit alt tiplerinin artmasını ve bununda plazma hücrelerinde antikor üretimini stimule ettiği belirtilmiştir. Domuzlarda yapılan başka bir araştırmada ise kg yeme 2.5, 5, 10 ve 20 g SC verilmiş ve kandaki CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre düzeylerine bakılmış ve deneme gruplarının kontrol grubuna göre CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre oranında istatistiksel olarak artma saptanmıştır (81).

SC beta glukan, nükleik asitler, mannan oligosakkaritler ve kitin gibi çeşitli immünstimulantlar içermektedir. İn vitro ve hayvan denemelerinde maya ve mayalardan elde edilen 1,3 beta-glukanların bağışıklıkla ilgili hücrelerin fonksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Ancak çalışmaların çoğunda hücre duvarı yapısında bulunan beta glukan kullanılmıştır (82-84). Çalışmamızla benzer bir araştırmada tavuklarda başlangıç ve büyütme yemlerine 0, 20 ve 40 mg dozlarında SC derivatı olan beta glukan verilmiş ve beta glukanın immünmodilatör etkisi değerlendirilmiştir (84). Guo ve Qureshi'nin(84)

yaptığı bu araştırmada intestinal intraepitelyal lökositlerdeki CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T lenfosit yüzdelerinin arttığı bildirilmiştir. Bu araştırma sonuçlarının çalışmamızdaki sonuçlarla ilgili tam bir bağdaşma olmamasının nedeni olarak kullanılan protokol ve kullanılan hazır maya belirtilebilir. Yapılan bu çalışmalarla mayanın immün sistemin modülasyonu üzerine pozitif etkisi olabileceği rapor edilmiştir.

Normalde CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre oranının 1,5-2 arasında olması gerekmektedir. İmmün yetmezliğe bağlı fırsatçı enfeksiyonlarda bu oran CD8<sup>+</sup> lehine değişmektedir. Çeşitli çalışmalara göre CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre oranının 3,5-4'ün üzerinde olmasının sarkoidozis tanısında; oranın düşük olması ise hipersensitivite pnömonisi, diffüz parabronşiolit ve lenfoma lehine olduğu görülmüştür. T lenfosit alt grupları ile ilgili çalışmalarda CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre oranları AIDS'li hastalarda immün eksikliğin ölçümünde ve renal transplant sonrası immün durumun izlenmesinde kullanılmıştır. Düşük CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T hücre oranları AIDS'li hastalarda (0,5), yüksek oranlar ise otoimmün hastalıklar ve renal alfogreft rejeksiyonunda bildirilmiştir (124, 125).

Metabolizmada, özellikle inflamasyon ve sitokinlerin (IFN- $\gamma$  gibi) salınımı otoimmünite oluşum nedenlerinden birisi olarak da bilinmektedir. IFN- $\gamma$  hemen hemen tüm CD8<sup>+</sup> T, bazı CD4<sup>+</sup> T (özellikle Th1 grubu) hücreleri ile küçük miktarlarda da NK hücreleri tarafından sentez edilir. IFN- $\gamma$  bilinen en güçlü makrofaj aktivatörüdür ve bu özelliği ile bazı sitokinlerin salınmasına yol açar. Bunun yanısıra proteolitik enzimler, transkripsiyon faktörleri de sentezleyerek özellikle intrasellüler bakterilerin yol açtığı hastalıkların kontrolünde önemli rol oynar (126). Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre SP ve SC'nin sitokin seviyeleri üzerine etkisi olmadığı görülmüş; yani sitokin düzeylerindeki değerlendirmede anlamlı ekspresyonlara rastlanmamıştır. Bu sonucun bu doğal katkı maddeleri için uygulanan doza bağlı olabileceği düşünülebilir.

Bilindiği üzere CD8<sup>+</sup> T lenfositleri, CD4<sup>+</sup> T lenfositlerinin farklılaşması ve regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bununla beraber CD8<sup>+</sup> T lenfositleri dolaylı bir şekilde antijen sunan hücrelerin davranışını değiştirerek hasarlı ve enfekte hücreleri öldürür. Bu nedenledir ki, CD8<sup>+</sup> T lenfosit ve CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T lenfosit değerleri immünitinin güçlü yada zayıf oluşunu anlatan birer indikatördür (129). Bu araştırmada elde edilen bulgulara dayanarak SP'nin immün sistemine olumlu yönde etkileyebileceği sonucuna varılmıştır. SP bu etkisini, içeriğindeki fikosiyanın ve polisakkaritin kemik hücrelerinin ve lökosit üremesine olan olumlu etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir. Yapılan literatür taramalarında, çalışmamıza benzer, SP uygulanarak sitokinlerin ve

monoklonal antikorların değerlendirildiği çalışmalara fazla rastlanılmamıştır. Ancak SP'nin, hem hümmoral immünteysi hem de hüccresel immünteysi arttırdığı diğler bazı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir. Bu çalışma bu konudaki literatürece bir katkı sağladığı düşünölmektedir.

#### 4.4. SP ve SC'nin Etin Bazı Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri

Doksan günlük çalışma sonunda et kalitesini belirlemek için her gruptan rastgele 7 adet tavşan kesilmiş ve SP ve SC ilavesinin et protein, yağ, ham kül ve kuru madde bakımından bir etkisi olmadığı görölmüştür (Tablo-3.4.). Bununla beraber, SP ve SC 'nin ayrı ayrı yada birlikte verildiği gruplarda, et proteininde istatistik olarak önemli olmasa da bir artış gözlenmiş ve ayrıca et yağ miktarında da yine istatistiksel olmasa da azalma olduğu saptanmıştır.

SP yüksek protein içeriğinden dolayı insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir hammadde olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonunda etlerde protein ve yağ değerleri incelenerek, etkisi tartışılmıştır. Bu çalışmadakine benzer bulgular, Meineri ve arkadaşları (103) tarafından da bildirilmiştir. Meineri ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tavşan gruplarına düşük ve yüksek yağ içerikli yemler vermiş; bu yemlere ayrıca %1 oranında SP katmıştır. Aynı çalışmada longissimus dorsi kası ve perirenal yağ dokusunda yağ asitleri profili değerlendirilmiş ve SP'nin her hangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Yine araştırmamızda elde edilen sonuçlara benzer olarak Toyomizu ve arkadaşlarının (130) çalışmasında ise tavuklara 0, 40 ve 80 g miktarlarında *Spirulina platensis* verilmiş ve deney sonunda abdominal yağ oranlarında istatistik bir fark gözlenmediği bildirilmiştir.

Peiretti ve Meineri (102), tavşanlarda yaptıkları diğler bir çalışmada ise artan değerlerde verilen SP'nin (0, 50, 100 ve 150g/kg dozlarda) et kalitesi üzerine etkisini değerlendirmiştir. Perirenal yağ dokusu ve longissimus dorsi kasının yağ, protein, kül ve kuru madde içeriği incelenmiş; SP'nin perirenal dokuda ve ette total lipidi istatistiksel olarak arttırdığı bildirilmiştir.

Balıklarda yapılan bir çalışmada ise, % 0, 20, 40,60 ve 80 oranında SP verilmiş; 50 gün süren çalışma sonunda SP verilmiş gruplarda et ham protein ve kül miktarlarında artma olduğu bildirilmiştir (131).

Çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olarak Lambertini ve arkadaşları (61) da tavşanlarda SC'nin et protein ve yağ oranlarında gruplar arasında fark görülmediğini tespit etmiştir. Tavşanlarda yaptıkları çalışmada 4 grup oluşturulmuş; bir gruba 4g/kg SC, diğer gruplara ise yüksek kromlu mayadan 2g/kg ve 4 g/kg ve ayrıca 0.40 mg/kg ve 0.80 mg/kg krom verilmiştir. 4 haftalık deneme sonunda arka bacadan et numuneleri alınmış; yapılan protein ve yağ analizlerinde gruplar arasında herhangi bir fark olmadığı bildirilmiştir. Buna karşın Paryad ve Mahmoudi (98)'nin broiler tavuklarda yaptıkları bir çalışmada ise rasyona %1.5 ve %2.0 oranlarında SC katılmış ve aynı gruptan kalça bölümünden alınan etlerde yapılan analizlerde, et protein ve yağ oranlarında artış olduğu; göğüs etinde ise proteininde artma, yağ miktarında azalma olduğu bildirilmiştir.

Milewski ve arkadaşları (97) ise, 100 gün boyunca koyunlara SC vermiş ve deneme sonunda etin kimyasal kompozisyonu, fizikokimyasal özelliklerini ve et yağ asitleri profilini değerlendirmiştir. Maya verilen koyunlarda etin kuru madde, yağ içeriği ve protein miktarları maya ilavesi yapılmayan gruplara göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, tavşan yemlerine etkin madde miktarı olarak 3 gr *Saccharomyces cerevisiae* ve %5 oranında *Spirulina platensis* katılmasının 12 haftalık deneme sonunda canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma üzerine önemli bir etkisi görülmemiştir. Deneyde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* ve *Spirulina platensis* katkısının alyuvar ve akyuvar sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değeri ve formül lökosit üzerine istatistiksel önemde bir etkisi olmamıştır. Ayrıca tavşan eti protein ve yağ değerlerinde de önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla beraber *Spirulina platensis* verilen gruplarda CD4<sup>+</sup> T lenfosit düzeyinde anlamlı olmasa da artış gözlenmiştir. Ayrıca yine *Spirulina platensis* verilen gruplarda CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T lenfosit değerinde istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edilmiştir. Farklı tür ve cinsiyetteki deneklerde ve değişik düzeylerde *Saccharomyces cerevisiae* ve *Spirulina platensis*'in kullanıldığı çalışmalarda farklı sonuçlara ulaşıldığı görülmektedir. Bu katkı maddelerinin farklı türlerdeki kullanımı ile ilgili daha derin ve ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği ifade edilebilir.

## KAYNAKLAR

1. ÖZEN N, KIRKPINAR F, ÖZDOĞAN M, ERTÜRK MM, YURTMAN İY, Hayvan Besleme. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Ankara, sayfa 1-1264, 2005.
2. AYDIN G, KOÇAK D. Bazı Antibiyotiklerin Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımlarındaki Sakıncalar ve Avrupa Birliği 'nin Bu Konuda Aldığı Kararlar, VİV. Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul, sayfa 316-320. 1999.
3. TUNCER ŞD, ŞANLI Y, KÜÇÜKERSAN K, FİLAZİ A. Stabilize Rumen Ekstraktının Broyler Rasyonlarında Kullanılması. VİV. Poultry Yutav'99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, İstanbul, sayfa 287-293, 1999.
4. SARGIN S, ÖNGEN G. Kanatlı Yemi Katkısı Olarak Kullanılan Ksilanaz Enziminin Katı Kültür Fermantasyon Yöntemi ile Üretiminde Ölçek Büyütme Çalışmaları. Ege Üniversitesi Dergisi, 40 (3): 145-152, 2003.
5. KAHRAMAN Z, Bitkisel yem katkı maddelerinin yumurta tavuğu yemlerinde kullanımı. Tavukçuluk Araştırma Dergisi, cilt 8, sayı 1 sayfa 34-41, 2009.
6. ARMSTRONG DG. Gut-active growth promoters, control and manipulation of animal growth. Editor: BUTTERY PJ, LINDSAY D, HAYNES NB. Butterworths, London, 21-37, 1986.
7. GALİP N. Effect of supplemental yeast culture on ruminal protozoa and blood parameters in Rams. Revue de Medecine Veterinaire, 157 (11): 519-524, 2006.
8. VONSHAK A. Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry, *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, cell-biology and biotechnology, Vonshak, A. (Ed.), Vol:1, Taylor and Francis publishers, London, page 233, 1997.
9. LEE YK. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and Potential, Journal of Applied Phycology, 13: 307-315, 2001.
10. GALİP N. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* live yeast culture on ruminal digestion and protozoa count in rams. Revue de Medecine Veterinaire, 157 (12): 609-613, 2006.
11. GALİP N. Effect of supplemental yeast culture and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and blood variables in Rams. Animal Physiology and Animal Nutrition, 90: 446-452, 2006.
12. WILLAMS PEV, NEWBOLD CJ. Rumen probiosis: The effect of novel microorganism on rumen fermentation and ruminant productivity. Editor. HARESİNG W, COE DJA, Recent Advance Animal Nutrition, Butterworths, London, 211- 227, 1990.
13. GALİP N, AYDIN C, TÜRKMEN İİ, YALÇIN M, BİRİCİK H. Effects of Supplemental Yeast Culture on Blood Parameters. Indian Veterinary Journal, 81: 1235-1238, 2004.
14. STONE CW. Yeast Products in the Feed Industry: A Practical Guide for Feed Professionals. Diamond V Mills Incorporated, USA, page: 1-16, 1998.
15. ARDA M. Mantarların Morfolojik Özellikleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Temel Mikrobiyoloji kitabı, Medisan Yayın Serisi no 46,. Medisan Yayınevi, Ankara, sayfa 248, 2000.
16. NURSOY H, BAYTOK E. Ekmek mayasının süt ineği rasyonlarında kullanılmasının süt verimi, bazı rumen sıvısı parametreleri ve kan metabolitleri üzerine etkisi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 27: 7-13, 2003.
17. FİEMS LO, COTTYN BG, DUSSERT L, VANACKER JM. Effect of a viable yeast culture on digestibility and rumen fermentation in sheep fed different types of diets. Reproduction, Nutrition, Development, 33(1):43-49, 1993.

18. DURAND-CHAUCHEYRAS F, FONTY G, BERTIN G, THÉVENIOT M, GOUET P. Fate of Levucell SC I-1077 yeast additive during digestive transit in lambs. *Reproduction, Nutrition, Development*, 38(3): 275-80, 1998.
19. KATIRCIOĞLU H, AKSÖZ N. Tek Hücre proteini, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1. Sayı, sayfa: 34-49, 2003.
20. BARNETT JA, PAYNE RW, YARROW D. *Yeast characteristics and identification*. 2nd edition, Cambridge University Press, page 1150, 1990.
21. INGLEDEW WM. Yeast - could you base a business on this bug? Editors: LYONS TP, JACQUES KA. *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium*, page 22-47, 1999.
22. SPRING P. Modes of action of dietary mannan oligosaccharide as a growth enhancer. *Zootech Int*, 22: 34-36, 1999.
23. SIRAKAYA S, KÜÇÜK O. Effects of Mannan Oligosaccharides and Chromium on Performance and Some Blood Levels Parameter of Calves Consuming Milk. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 18(2): 81-87, 2009.
24. DAVIS M E, MAXWELL CV, BROWN DC, DE RODAS BZ, JOHNSON ZB, KEGLEY EB, HELLWIG DH, DVORAK RA. Effect of dietary mannanoligosaccharides and (or) pharmacological additions of coppersulfate on growth performance and immunocompetence of weanling and growing / finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 80: 2887-2894, 2002.
25. LEMIEUX FM, SOUTHERN LL, BIDNER TD. Effect of mannan oligosaccharides on growth performance of weanling pigs. *Journal Of Animal Science*, 81: 2482-2487, 2003.
26. ROBERFROID M, GIBSON GR, DELZENNE N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutrition Reviews*, 51(5): 137-46, 1993.
27. BLEZINGER SB. Yeast products can have positive effects on cattle performance. *Cattle Today Online*, June, page 489, 2006.
28. ORAL G, GÜLMEZ M. Gıda kaynaklı patojenler için kesim öncesi dekontaminasyon uygulamaları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(1): 77-84, 2006.
29. CHRONAKIS IS, GALATANU AN, NYLANDER T, LINDMAN B. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air-water interface, *Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects* 173: 181-192, 2000.
30. KORU E. *Earth Food Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Standards*, Food Additive, Prof. Yehia El-Samragy (Ed.), ISBN: 978-953-51-0067-6, InTech, 2012.
31. CIFERRI O. *Spirulina, the edible microorganism*. *Microbiology Reviews*, 47: 551-578, 1983.
32. KAY RA. Microalgae as food supplement. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30: 555-573, 1991.
33. BELAY A, TOSHIMITSU K, YOSHIMICHI O. *Spirulina (Arthrospira): Potential application as an animal feed supplement*. *Journal of Applied Phycology*, 8: 303-311, 1996.
34. BELAY A. Mass culture of *Spirulina (Arthrospira)* outdoors – The Earthrise Farms Experience. Editor: VONSHAK A, *Spirulina platensis (Arthrospira), Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*, Taylor&Francis group, London, page 131-158, 1997.
35. COHEN Z. The chemicals of *Spirulina*. Editor: VONSHAK A, *Spirulina platensis (Arthrospira), Physiology, cell-biology and biotechnology.*, Taylor&Francis group, London, page: 175-204, 1997.

36. BABADZHANOV AS, ABDUSAMATOVA N, YUSUPOVA FM, FAİZULLAEVA N, MEZHLUMYAN L. G, MALİKOVA M KH. Chemical Composition of *Spirulina Platensis* Cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds*, 40: 3, 2004.
37. STAHL W, SIED H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740 (2): 101-107, 2005.
38. CHEW BP, PARK JS. Carotenoid action on the immune response. *Journal of Nutrition*, 134 (1): 257-261, 2004.
39. IJIMA N, FUGII I, SHIMAMATSU H, KATOH S. Anti-tumor agent and method of treatment therewith. U.S. Patent Pending, page 1150, 1982.
40. ZHANG HQ, LIN AP, SUN Y, DENG YM. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22(12): 1121-1124, 2001.
41. MISHIMA T, MURATA J, TOYOSHIMA M, FUJII H, NAKAJIMA M, HAYASHI T, KATO T, SAIKI I. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from blue-green alga, *Spirulina patensis*. *Clinical and Experimental Metastasis*, 16 (6): 541-50, 1998.
42. MICHAELSEN KF, HOPPE C, ROOS N, KAESTEL P, STOUGAARD M, LAURITZEN L, MØLGAARD C, GIRMA T, FRIIS H. Choice of foods and ingredients for moderately malnourished children 6 months to 5 years of age. *Food and Nutrition Bulletin*, 30: 3, 2009.
43. ABDULQADER G. BARSANTIL. TREDICI MR. Harvest of *Arthrospiraplatensis* from Lake Kossoram (Chad) and its household usage among the Kanembu. *Journal of Applied Phycology*, 12: 493-498, 2000.
44. SANCHEZ M, CASTILLO-BERNAL J, ROZO C, RODRIQUEZ I. *Spirulina (Arthrospira): An edible microorganism. A review.* *Universitas Scientiarum*, 8 (1): 1-16, 2003.  
URL: <http://yvalor.yru.ac.th/~dolah/notes/SPIRULINA.pdf>
45. DALAY MC, CIRIK S, KORU E. Türkiye Ege Bölgesi İklim Koşullarında Açık Hava Kültürleri İçin Uygun *Spirulina platensis* (Stiz.) Geitl, 1930 Suşunun Tespiti. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18 (3-4): 523-528, 2001.
46. BİLTEK, Alg Teknolojisi ve *Spirulina*. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Şubat 2003 sayısı, sayfa 28, 2003.
47. OUWEHAND AC, NIEMI P, SALMINEN SJ. The normal microflora does not affect the adhesion of probiotics bacteria in vitro. *FEMS Microbiology Letters*, 177: 35-38, 1999.
48. KAY J, CZOP JK. Enhancement of human monocyte f-glucan receptors by glucocorticoids. *Immunology*, 81: 96-102, 1994.
49. BEHARKA AA, NAGARAJA TG, MORRILL JL. Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Journal of Dairy Science*, 74 (12): 4326-4336, 1991.
50. BEHARKA AA, NAGARAJA TG. Effect of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. *Journal of Dairy Science*, 81 (6): 1591- 1598, 1998.
51. KREHBIEL CR, RUST SR, ZHANG G, GILLILAND SE. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *Journal of Animal Science*, 81 (14): 120-132, 2003
52. WALLACE RJ, NEWBOLD CJ. Microbial feed additives for ruminants. *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*, WALLACE RJ, CHESSON A. Nutrition Division, Rowett Research Institute, Scotland, page 101-125, 2007.



53. ERASMUS LJ, BOTHA PM, KISTNER A. Effect of yeast culture supplementation on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 75: 3056-3065, 1992.
54. GÜÇLÜ BK. Effects of probiotic and prebiotic (mannanoligosaccharide) supplementation on performance, egg quality and hatchability in quail breeders. *Ankara Üniversitesi veteriner Fakültesi Dergisi*, 58: 27-32, 2011.
55. YALÇINKAYA İ, GÜNGÖR T, BAŞALAN M, ERDEM E. Mannan Oligosaccharides (MOS) from *Saccharomyces cerevisiae* in Broilers: Effects on Performance and Blood Biochemistry. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32 (1): 43-48, 2008.
56. KURTOĞLU V, KURTOĞLU F, SEKER E, COSKUN B, BALEVİ T, POLAT ES. Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Additives and Contaminants*, 21 (9): 817-823, 2004.
57. YALÇIN S, KOCAOĞLU GÜÇLÜ B, KARAKAŞ OĞUZ F, YALÇIN S. Yumurta tavuğu rasyonlarında enzim, probiyotik ve antibiyotik kullanılması, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 49: 135-141, 2002.
58. ONIFADE AA, OBIYAN RI, ONIPEDE E, ADEJUMO DO, ABU OA, BABATUNDE GM. Assesment of the effects of supplementig rabbit diets with a culture of *Saccharomyces cerevisiae* using growht performance, blood composition and clinical enzyme activities. *Animal Feed Science And Technology*, 77 (1-2): 25-32, 1999.
59. CARREGAL RD, FONSECA TZ. Partial and total replacement of soybean meal protein by dried yeast protein in diets for growing rabbits. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 19, (3) : 197-200, 1991.
60. KIMSÉ M, BAYOURTHE C, MONTEILS V, GIDENNE T. Live Yeast Stability In The Digestive Tract Of The Rabbit: Relationship With Digestion, Growth And Digestive Health. *Nutrition and Digestive Physiology*, 9th World Rabbit Congress , Verona, Italy, Page 695-700, 2008.
61. LAMBERTIINIL, VIGNOLA G, BEONE GM, ZAGHINI G, FORMIGONI A. Effects of chromium yeast supplementation on growth performances and meat quality in rabbits. *World Rabbit Science*, 12: 33-47, 2004.
62. CHAUDHARY LC, SINGH R, KAMRA DN, PATHAK NN. Effect of oral administration of yeast ( *Saccharomcyes cerevisiae*) on digestibility and growth performance of rabbits fed deist of different fibre content. *World Rabbit Science*. 3(1): 15-18, 1995.
63. GARCIA-RUIZ AI, PÉREZ-BONİLLA A, PÉREZ DE AYALA P, EISSEN J. Effect of yeast  $\beta$ -glucans on rabbit performances and mortality from 35 to 63 days of age. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, page 673-676, 2008.
64. RICHMOND A. Mass culture of cyanobacteria. Editors: MANN N, CARR N, *Photosynthetic prokaryotes*, 2nd edition, Plenum Press, New York, page 181-210, 1992.
65. PULZ O, GROSS W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65: 635-48, 2004.
66. VURAL T, ÇELEN E. Gastrointestinal Sistemle Dost Mikroorganizmalar ve Probiyotikler, *Güncel Gastroenteroloji*, 9(3): 115-123, 2005.
67. DOĞAN M. Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7, (1): 20-27, 2012.
68. MOREIRA LM, ROCHA ASR, RIBEIRO CLG, RODRIGUES RS, SOARES LS. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Spirulina platensis*. *African Journal of Food Science*, 5 (15): 799-805, 2011.

69. ARAÚJO KGL, FACCHINETTI AD, SANTOS CP. Influence of intake of *Spirulina* biomass on body weight and feed intake in rats. *Sci. Technol. Food*, 23 (1): 6-9, 2003.
70. BECKER E, JAKOBER B, LUFT D, SCHMULLING RM. Clinical and biochemical evaluations of the alga *Spirulina* with regard to its application in the treatment obesity. A double blind crossover study. *Nutrition Reports International*, 33: 565-574, 1986.
71. DERKENBAŞI S, ÜNAL H, KARAYÜCEL I, ARAL O. Effect of Dietary Supplementation of Different Rates of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) on Growth and Feed Conversion in Guppy (*Poecilia reticulara* Peters, 1860). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (9): 1395-1399, 2010.
72. ARDA M, MİNBAY A, AYDIN N, AKAY Ö, İZHÜR M, DİKER KS. *İmmunoloji*. Medisan 1.baskı, yayınevi, Ankara, 119-150, 1994.
73. DİKER KS, *İmmunoloji*. 1.baskı. Medisan yayınevi, Ankara.s 22-59, 1998.
74. LAURENCE J. T-Cell subsets in health, infectious disease, and idiopathic CD4 T lymphocytopenia. *Ann Intern Med*, 119: 55-62, 1993.
75. STEIN RC, DALGLEISH AG. Immunomodulatory agents: The cytokines. *Euro J Cancer* 30A: 400-404, (1994).
76. LORENTZ A, BISCHOFF SC. Regulation of human intestinal mast cells by stem cell factor and IL-4. *Immunol Rev*, 179: 57-60, 2001.
77. BABIUK LA, SORDILLO MC, HUGHES HPA, ROSSI-CAMPOS A, HARLAN R. Immunobiology of cytokines and their application in disease prevention in dairy cattle. *Symposium 74*: 4385- 4398, 1991.
78. AKYOL G, ŞENGİL, , BAYSAL B. *İnterlökınler*. S.Ü. Tıp Fak Derg, 10: 117-123, 1994.
79. SALAZAR-MONROY HG., PEREZ-SOTELO L., HERNANDEZ-GONZALEZ Y., VAUGHAN G., BERNABE-LAGUNAS S., IBARNGÜENGOYTÍA-CUARON J., MONTANO-HİROSE JA., ALONSO-FRESAN MU., PRADAL-ROA P., VAZQUEZ-CHAGOYAN JC. Effects of a live yeast dietary supplement of fecal coliform counts and on peripheral blood CD4 and CD8 lymphocyte subpopulations in nursery pigs. *Journal of Swine Health and Production*, 20, 6: 276-282, 2012.
80. PILLEMER L, BLUM L, LEPOW IH, ROSS OA, TODD EW, WARLAW AC. The properdin system and immunity. I. Demonstration and isolation of a new science, *American Association for the Advancement of Science Stable*, page 279-285, 1954.
81. SHEN YB, PIAO XS, KIM SW, WANG L, LIU P, YOON I, ZHEN YG. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 87: 2614-2624, 2009.
82. SELVARAJ V, SAMPATH K, SEKAR V. Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, p: 19, 2005.
83. DEVONITA P, SIDDHARTHA NJ, BARUN R. Yeast cell wall preparation from *Saccharomyces cerevisiae* enhances immune effector cells of Indian major carp, *Catla catla* (Hamilton), *Indian Journal of Fisheries*, 56 (1): 33-38, 2009.
84. GUO Y, ALİ RA, QURESHI MA. The influence of  $\beta$ -glucan on immune responses in broiler chicks. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 25 (3): 461-472, 2003
85. CHENG-WU Z, CHAO-TSI T, ZHEN ZTY. The effects of polysaccharide and phycocyanin from *Spirulina platensis* on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice. *National University of Singapore*, page 58, 1994.
86. PUGH N, ROSS SA, ELSOHLY MA, PASCO DS. Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina*

- platensis, aphanizomenon flos-aquae and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta Medica*, 67 (8): 737-742, 2001.
87. ZHANG HQ, LIN AP, SUN Y, DENG YM. Chemo-and radio-protective effects of polysaccharide of *Spirulina platensis* on hemopoietic system of mice and dogs. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22 (12): 1121-1124, 2001.
88. BAOJIANG G. Study on effect and mechanism of polysaccharides of *Spirulina platensis* on body immune functions improvement. Book of Abstracts, Second Asia Pacific Conference on Algal Biotechnology, page 24, 1994.
89. ROMAY C, LEDON N, GONZALEZ R. Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. *Journal of Inflammation Research*, 47: 334-338, 1998.
90. ROMAY C, LEDON N, GONZALEZ R, REMIREZ D, RIMBAU, V. C-phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*, 4 (3): 207-216, 2003.
91. HAYASHI O, KATO T, OKUWAKI Y. Enhancement of antibody production in mice by dietary *Spirulina platensis*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 40 (5): 431-441, 1994.
92. ISHII K, KATOCH T, OKUWAKI Y, HAYASHI O. Influence of dietary *Spirulina platensis* on IgA level in human saliva. *Journal of Kagawa Nutrition University*, 30: 27-33, 1999.
93. HIRAHASHI T, MATSUMOTO M, HAZEKI K, SAEKI Y, UI M, SEYA T. Activation of the human innate immune system by *Spirulina* augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology*, 2: 423-434, 2002.
94. MAO TK, VAN DE WATER J, GERSHWIN ME. Effect of *Spirulina* on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Medicinal Food*, 13: 135-140, 2000.
95. HERNANDEZ P. Enhancement of Nutritional Quality and Safety in Rabbit Meat. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, page 1287-1300, 2008.
96. XICCATO G. Feeding and Meat Quality in Rabbits: A Review. *World Rabbit Science*, 7(2): 75-86, 1999.
97. MILEWSKI S, ZALESKA B. The effect of dietary supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* dried yeast on lambs meat quality. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20: 537-545, 2011.
98. PARYAD A, MAHMOUDI M. Effect of different levels of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, blood constituents and carcass characteristics of broiler chicks. *African Journal of Agricultural Research*, 3 (12): 835-842, 2008.
99. HERNÁNDEZ, P. Enhancement of nutritional quality and safety in rabbitmeat. Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy, page 1287-1299, 2008
100. DAL BOSCO A, CASTELLINI C, BIANCHI L, MUGNAI C. Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Science*, 66: 407-413, 2004.
101. KOUBA M, BENATMANE F, BLOCHET JE, MOUROT J. Effect of a linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat. *Meat Science*, 80: 829-834, 2008.
102. PEIRETTI PG, MEINERI G. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of growing rabbits. *Livestock Science*, 140: 218-224, 2011.

103. MEINERİ G, INGRAVALLE F, RADİCE E, ARAGNO M, PEIRETTI G. Effects of High Fat Diets and Spirulina platensis Supplementation in New Zealand White Rabbits. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (12): 2735-2744, 2009.
104. NRC. National Research Council, Nation Academy of Science, page 4 , Table 1, 1977.
105. KONUK, T. Pratik Fizyoloji 1,2.Baskı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 378, ders kitabı: 276, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara. Sf: 55, 1981.
106. DAVIS WC, HAMILTON MJ. Use of flow cytometry to develop and characterize a set of monoclonal antibodies specific for rabbit leukocyte differentiation molecules. Journal of Veterinary Science, 9 (1): 51-66, 2008.
107. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Combustion Method (990.03), 17th edition, 1st revision, Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities, 2002.
108. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Official Method 991.36. Gaithersburg, MD, 2000.
109. GIDENNE T., PEREZ M.J., XICCATO G., TROCINO A., CARABANO R., VILLAMIDE M.J., BLAS E., CERCERA C., FALCAO L.C., MAERTENS L. Harmonization of chemical analyses for feed evaluation. E.G.R.A.N. European Group on Rabbit Nutrition. World Rabbit Science, 9(2): 57-64, 2001.
110. SPSS - Version 17.0; SPSS software package for Windows, Chicago, IL.
111. DAWSON B, TRAPP RG: Basic & Clinical Biostatistics. (3rd edition): Lange Medical Books/McGraw International Editions, New York, 2001.
112. ONIFADE AA. Growth performance, carcass characteristics, organs measurement and haematology of broiler chickens fed a high fibre diet supplemented with antibiotics or dried yeast. Nahrung 41 (6): 370-374, 1997.
113. HADDAD SG, GOUSSOUS SN. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. Animal Feed Science and Technology, 118: 343-348, 2005.
114. KUMAR DS, PRASAD JR. RAO ER. Effect of Dietary Inclusion of Yeast Culture (*Saccharomyces Cerevisiae*) on Growth Performance of Graded Murrah Buffalo Bull Calves. Buffalo Bulletin, 30, 1: 63-66, 2011.
115. PEIRETTI PG, MEINERİ G. Effects of diets with increasing levels of Spirulina platensis on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. Livestock Science 118: 173–177, 2008.
116. HEIDARPOUR A., FOUROUZANDEH-SHAHRAKI AD. EGHBALSAIED S. Effects of Spirulina platensis on performance, digestibility and serum biochemical parameters of Holstein calves. African Journal of Agricultural Research, 6(22): 5061-5065, 2011.
117. GRINSTEAD GS, TOKACH MD, DRITZ SS, GOODBAND RD, NELSEN JL. Effects of Spirulina platensis on growth performance of weanling pigs. Animal Feed Science and Technology, 83: 237–247, 2000.
118. SHAREEF AM, AL-DABBAGH AAS. Effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of broiler chicks. Iraqi Journal of veterinary Science, 1: 23-29, 2009.
119. SAIED JM, AL-JABARY QH, THALIJ KM. Effect of Dietary Supplement Yeast Culture on Production Performance and Hematological Parameters in Broiler Chicks. International Journal of Poultry Science, 10 (5): 376-380, 2011.

120. WOHLT JE, CORCIONE TT, ZAJAC PK. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed with diets based on corn silage during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 80: 1345–1352, 1997.
121. SIMSEK N, KARADENIZ A, KARACA T. Effects of the *Spirulina platensis* and Panaxginseng oral supplementation on peripheral blood cells in rats *Revue de Médecine Vétérinaire*, 158 (10): 483-488, 2007.
122. PROMYA J, CHITMANAT C. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 13: 77–82, 2011.
123. ZHU M, LI H. The Effect of *Spirulina* and it's Complex Prescription on the Immune Organs and T Cell Subsets from their Peripheral Blood of Overtrained Mice. *Journal of Guangzhou Physical Education Institute*, 05, page 10, 2004.
124. GAVSE WC, MOUNTZ JD, STEINBERG AD. Subpopulation of CD4, CD8 thymocytes. *European J Immunology*, 17, 1387, 1987.
125. WOLF GT, SCHAMALTS S, HUDSON J ROBSON H, STACKHOUSE T, PETERSON KA, POORE JA, MCCLATCHEY KD.; Alterations in T-lymphocyte subpopulations in patients with head neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1987; 113: 1200- 1206
126. KAYACAN O, KARNAK D. Plevra Hastalıkları. *Candan İ. Medikal tedavi. Antip AŞ Ankara* 2003, 579-599.
127. WASZKIEWICZ-ROBAK B, KARWOWSKA W. Brewer's yeast as an ingredient enhancing immunity. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13(SI-2): 85-87, 2004.
128. COLLIER CT, CARROLL JA, BALLOU MA, STARKEY JD, SPARKS JC. Oral administration of *Saccharomyces cerevisiae boulardii* reduces mortality associated with immune and cortisol responses to *Escherichia coli* endotoxin in pigs. *Journal of Animal Science*, 89: 52-58, 2011.
129. BROERE F, APASOV SG, SİTKOVSKY MV, VAN EDEN W. T cell subsets and T cell-mediated immunity. *Principles of Immunopharmacology*, 15-27, 2011.
130. TOYOMIZU M, SATO K, TARODA H, KATO T, AKIBA Y. Effect of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *British Poultry Science*, 42: 197–202, 2001
131. AHMADZADENIA Y., NAZERADL K., GHAEMMAGHAMI HEZAVE S., HEJAZI M. A., ZAMANZAD GHAVIDEL S., HASSANPOUR S. , CHAICHISEMSARI M. Effect of replacing fishmeal with *Spirulina* on Carcass composition of Rainbow trout. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 6: 6, 2011.

## TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamın tüm aşamalarını titizlikle izleyen, bilimsel uyarı ve eleştirileriyle yönlendiren ve destek olan danışman hocam Prof. Dr. Nurten GALİP'e teşekkür ederim. Araştırmalarımnda bilimsel önerilerini ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Fahrünisa CENGİZ ve Prof. Dr. Cenk AYDIN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Murat YALÇIN, Yard. Doç. Dr. Füsun AK SONAT'a, Araş.Gör. Burçin ALTINBAŞ'a, laboratuvar teknik desteklerini sağlayan laborantımız Orhan ÖZKAN'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesi üyesi hocam Doç Dr. Ferah BUDAK'a, İmmunoloji Anabilim Dalı laboratuvarında teknik desteklerini sağlayan laborant Figen AYMAK'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamın analiz kısımlarında laboratuvarında çalışabilme imkanı veren ve manevi desteklerini esirgemeyen T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Bursa Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi müdürü sayın Harun SEÇKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her adımında maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen rahmetli anneannem Nezaket ÇELİK'e ve bugünlere erişmemi sağlayan canım annem Dilek ÇELİK'e ve tüm aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılı Artvin doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Bursa’da tamamladım. 1997 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazanarak lisans eğitimime başladım. 2002 yılında Veteriner Hekim olarak mezun olduktan sonra özel sektörde bazı ilaç ve gıda firmalarında Veteriner Hekim olarak çalıştım. 2009 yılında Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Doktora eğitimine başladım ve halen Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.