



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**LİPOPOLİSAKKARİT EPRÜVASYONU YAPILAN
BROYLERLERDE GLUTAMİN VE KUERSETİNİN
PERFORMANS, BAĞIRSAK HİSTOMORFOLOJİSİ,
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE İMMUN YANIT
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Furkan DİLBER

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gültekin YILDIZ

ANKARA

2021

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPOPOLİSAKKARİT EPRÜVASYONU YAPILAN
BROYLERLERDE GLUTAMİN VE KUERSETİNİN
PERFORMANS, BAĞIRSAK HİSTOMORFOLOJİSİ,
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE İMMUN YANIT
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Furkan DİLBER

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ**

**ANKARA
2021**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Lipopolisakkarit Epruvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmun Yanıt Üzerine Etkileri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Furkan DİLBER

Tarih: 22.03.2021

İmza:

KABUL VE ONAY

Tavunma Tarihi: 13.2023

Prof. Dr. Gültekin ALDIZ
Kara Elazığ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Hastalıkların Beslenme ve Hastalıkları Bilim Dalı
Başkanı

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Hayvan Besleme ve Sağlık	1
1.2. Sindirim Sisteminin Kanatlı Beslenmesindeki Rolü	3
1.2.1. Bağırsak Gelişimi ve Sağlık	4
1.3. Kanatlıların Beslenmesinde Oksidatif Stresin Önemi	7
1.3.1. Yem Toksinleri Kaynaklı Oksidatif Stres	9
1.3.2. Kanatlı Sindirim Sistemindeki Antioksidan Sistemler	10
1.3.3. Oksidatif Stresi Azaltma Potansiyeline Sahip Araçlar	10
1.4. Kanatlılarda Bağışıklık Sistemi	11
1.5. Kanatlı Beslemede Amino Asitler	13
1.5.1. Glutamin	14
1.5.2. Glutaminin Sinyal Molekül Olarak İşlevi	15
1.5.3. L-Glutamin Metabolizması	16
1.5.4. L-Glutaminin İmmun Sistem Üzerine Etkileri	18
1.5.5. Kanatlılarda L-Glutaminin Çalışmaları	19
1.6. Kanatlı Beslemede Antioksidanlar	22
1.6.1. Kuersetin	22
1.6.2. Kuersetinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	23
1.6.3. Kuersetin Kaynakları	24
1.6.4. Kuersetinin Antioksidan Etkisi	25
1.6.5. Kuersetinin Kardiyovasküler Sağlık ve Kan Basıncı Üzerine Etkisi	27
1.6.6. Kuersetinin Antidiyabetik ve Antiobezite Etkileri	30
1.6.7. Kuersetinin Anti-inflamatuar ve İmmünomodülatör Etkileri	31
1.6.8. Kanatlılarda Kuersetin Çalışmaları	32
1.7. Lipopolisakkarit	35
1.8. Çalışmanın Hipotezi ve Amacı	36
2. GEREÇ ve YÖNTEM	38
2.1. Gereç	38
2.1.1. Hayvan Materyali	38
2.1.2. Yem Materyali	38
2.2. Yöntem	39
2.2.1. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi	39
2.2.2. Deneme Düzeni	40
2.2.3. Karma Yemlerin Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi	40

2.2.4. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması	41
2.2.5. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışının Belirlenmesi	44
2.2.6. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi	44
2.2.7. Ölüm Oranının Belirlenmesi	44
2.2.8. Kesim İşlemi	44
2.2.9. Sıcak Karkas Randımanlarının Belirlenmesi	45
2.2.10. Yaşama Gücünün Belirlenmesi	45
2.2.11. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörünün (EPEF) Belirlenmesi	45
2.2.12. Total Bağırsak, Karaciğer, Kalp, Taşlık, Dalak ve Bursa Fabricius Ağırlığının Belirlenmesi	46
2.2.13. Kan ve Doku Analizleri	46
2.2.14. İstatistik Analizler	57
3. BULGULAR	59
3.1. Performans	59
3.1.1. Canlı Ağırlık (CA)	59
3.1.2. Canlı Ağırlık Artışı (CAA)	60
3.1.3. Yem Tüketimi (YT)	60
3.1.4. Yemden Yararlanma Oranı (YYO)	61
3.1.5. Mortalite Oranı	62
3.1.6. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF)	62
3.2. Sıcak Karkas Ağırlığı ve Randımanı	63
3.3. Karkas Parametreleri ve İç Organ Ağırlıkları	64
3.4. Kanda İmmunglobulin Y (IgY) Seviyesi	64
3.5. Jejenum Histomorfolojisi	65
3.6. Karaciğerde Antioksidan Kapasitesi	67
4. TARTIŞMA	75
4.1. L-Glutamin ve Kuersetinin Broylerlerde Performansa Etkileri	76
4.2. Çalışmada Kullanılan L-Glutamin ve Kuersetin Düzeyleri	82
4.3. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde Karkas ve İç Organ Ağırlıklarına Etkileri	83
4.4. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde İmmunoglobulin Y (IgY) Düzeyine Etkileri	86
4.5. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde Jejenum Histomorfolojisine Etkileri	89
4.6. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde Antioksidan Parametrelerine Etkileri	91
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	95
ÖZET	98
SUMMARY	100
KAYNAKLAR	102
EKLER	126
Ek-1 Ankara Üniversitesi HADYEK Etik Kurul Kararı	126
Ek-2 Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvar Kullanımına İlişkin Akademik Kurul İzin Kararı	128

Ek-3 Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvar Kullanımına İlişkin	
İzin Kararı	130
ÖZGEÇMİŞ	131



ÖNSÖZ

Dünya üzerinde her geçen gün artmaya devam eden insan nüfusunun yeterli ve dengeli beslenebilmesi için her yıl milyarlarca etlik piliç, milyonlarca çiftçi, kümes sahibi, meslek insanı ve bilim adamı, binlerce uluslararası hammadde, yem, yem katkı, ilaç, ileri et işleme vb firması, yüzlerce üniversite ve enstitü, onlarca ülke yüksek gayretlerle çalışmaya ve üretime katkı sağlamaktadır. Dünya üzerinde özellikle 2020 yılının başından itibaren Covid-19'un da etkili olması ile birlikte kanatlı sektörünün önemi daha da artmış ve insanlığın beslenmesindeki kilit rolü bir kez daha kendisini göstermiştir.

Ülkemizde kanatlı hayvan gruplarının rasyonlarında temel olarak dane mısır ve türevleri ile soya fasulyesi küspesi ve türevleri kullanılmaktadır. Dünya üzerinde her geçen yıl daha belirgin bir şekilde etkisi hissedilen küresel ısınma ve iklim değişiklikleri nedeniyle tarımsal ekim alanları ve rekoltelerde azalmalar görülmektedir. Bu durumlar çerçevesinde her geçen yıl yem hammaddelerinde yaşanan dalgalı üretim verilerinin yanında parabolik bir şekilde artarak devam eden hammadde talebinden söz etmek mümkündür. Ülkemizdeki etlik piliç üretimi, entegre firmaların desteği ve organizasyonları ile birlikte artan nüfusumuz ve ihracatımızın da etkisiyle neredeyse yarım yüzyıldır kesintisiz olarak büyümeye devam etmektedir. Bu üretimin temelinde yer alan yem hammaddeleri ve yem katkıları üzerinde her yıl binlerce çalışma yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmaların ortak noktasını hayvansal ürünlerin üretimini daha verimli ve sürdürülebilir olmasını sağlamak şeklinde özetleyebiliriz. Sağlıklı bir etlik piliç üretiminde enfeksiyonlara karşı bağışıklık sisteminin güçlü olması, entansif yetiştiricilikte sıklıkla karşılaşılan kalabalık sürü, patojen etkenlerin varlığı, yönetim hataları vb nedenlere bağlı olarak yaşanabilen hataları minimize edebilmekte büyük rol oynamaktadır. Etlik piliçlerin beslenme dönemleri içerisinde yaşanan her türlü stres sonrasında doku yenilenmesini artıran, performans kayıplarını ve ölüm oranlarını azaltan yem katkı maddelerinin son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda daha fazla yer edindiği görülmektedir. Bilimsel olarak yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ışığında reel sektörde etlik

piliçlerin beslenmesi için hazırlanan yem katkı maddelerinin önemi daha da artmaktadır. Bu nedenle yürütülen bu araştırmada lipopolisakkarit (LPS) eprüvasyonuna maruz bırakılarak immun sistemi uyarılan etlik piliçlerin L-glutamin aminoasiti ve kuersetin antioksidan katkıları ile performans, bağırsak sağlığı, bağışıklık sistemi ve antioksidan kapasitesi üzerine olan etkileri incelenerek, etlik piliçlerin beslenmesinde besleme ve bağışıklık ilişkisi konusunda literatür birikimine katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her daim ilgisini, tecrübesini, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen, her zaman yenilikçi bakış açısı ile beni mesleğimde cesaretlendiren, her seferinde iyiliğimi düşünerek bana şefkatli bir şekilde varlığını hissettiren ilk danışman hocam Sayın Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez yazım sürecinde ve düzenlemelerde yardımcı olan, bana her zaman moral ve motivasyon sağlayan ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sakine YALÇIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez yazım sürecinde ve düzenlemelerde yardımcı olan, bana her zaman hem akademik hem de özel sektöre yönelik moral ve motivasyon sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gültekin YILDIZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim dalında asistanlığım sırasında benden bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, birbirinden değerli hocalarım, Sayın Prof. Dr. Ahmet ERGÜN'e, Prof. Dr. Şakir Doğan TUNCER'e, Prof. Dr. İrfan ÇOLPAN'a, Prof. Dr. M. Kemal KÜÇÜKERSAN'a, Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN'a, Prof. Dr. Adnan ŞEHU'ya ve Doç. Dr. Özge SIZMAZ'a, tezimin şekillenmesinde emeği olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU'na, tez çalışmalarım sırasında hiçbir bilgi ve tecrübesini esirgemedi her zaman yanımda olan kıymetli hocam Doç. Dr. Ali ÇALIK'a, değerli mesai arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Hıdır GÜMÜŞ'e, Arş. Gör. Dr. Emre Sunay GEBEŞ'e, Dr. Öğr. Üyesi Özlem DURNA AYDIN'a, Vet. Hek. Dr. Oğuz Berk GÜNTÜRKÜN'e, Öğr. Gör.

Muhammad Shazaib RAMAY'a, Vet. Hek. Mahlagha PİRPANAHI'ye, Anabilim dalımızın çok kıymetli idari personelleri Zir. Müh. Ayşe AKSOY'a, Cemil SÖYLEMEZOĞLU'na ve Serpil KOÇYİĞİT'e ve emeğini, katkılarını her zaman hatırlayacağım Hatice TURŞUCU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Histomorfolojik analizlerin yapılmasında emeği geçen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet CEYLAN'a ve Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Levent ERGÜN'e, Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarındaki imkânları kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Arif ALTINTAŞ'a, biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesinde katkıda bulunan Doç. Dr. Mert PEKCAN'a, Arş. Gör. Dr. Efe KURTDEDE'ye, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ender YARSAN'a, Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN'e ve Arş. Gör. Dr. Sedat SEVİN'e, Anatomi Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Sayın Doç. Dr. Okan EKİM'e ve Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi Öğr. Gör. Uzm. Vet. Hek. Dr. Burcu EKİM'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde deneme gruplarında kullandığım yem katkı maddelerinin yurtdışından ithalatını gerçekleştiren Femto Teknik Engineering LTD.'ye ve civcivleri sağlayan Beypi A.Ş.'ye teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim kıymetli annem Fatma DİLBER'e, kıymetli babam Zir. Müh. Özay DİLBER'e, sevgili kardeşlerim Talha DİLBER ile Tuba DİLBER'e, bana tarım ve hayvancılığın temelini öğreten kıymetli dedem Necip DİLBER'e ve kıymetli babaannem Şadiye DİLBER'e, tezimin şekilsel düzenlemelerinde yardımcı olan değerli baldızım Merve ÖZTÜRK'e, tezimin basılması ve fakülte içindeki elden evrak takibinde yardımcı olan değerli kayınbiraderim Alişan ÖZARSLAN'a, her zaman varlığını yanımda hissettiğim kıymetli eşim Mukadder DİLBER'e ve bu çalışmadan dolayı bazen zaman ayırmakta zorlandığım sevgili evlatlarım Yiğit Ömer DİLBER ile Yusuf Emir DİLBER'e şükranlarımı sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
<i>Ad libitum</i>	Serbest Yemleme
AOAC	Association of Official Analytical Chemists (Resmi Tarım Kimyacıları Derneği)
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
AST	Aspartat Transaminaz Enzim
CA	Canlı Ağırlık
CAA	Canlı Ağırlık Artışı
°C	Santigrat
CO ₂	Karbondioksit
CRP	C-reaktif Protein
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EGTA	Ektazik asit (Aminopolikarboksilik asit)
EPEF	European Production Efficiency Factor (Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü)
EU	Endotoksin Ünitesi
°F	Fahrenheit
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
G	Glutamine
g	Gram
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GDH	Glutamik Dehidrogenaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz Enzim
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HP	Ham Protein
IgA	İmmünoglobülin A
IgG	İmmünoglobülin G

IgM	İmmünoglobülin M
IgY	İmmünoglobülin Y
IL	İnterlökin
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
IU	International Units (İnternasyonal Ünite)
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
K	Kontrol
kcal	Kilokalori
KD	Kript Derinliği
kDa	Kilo Dalton
kg	Kilogram
l veya L	Litre
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
L-Gln	L-Glutamin
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
ME	Metabolik Enerji
mg	Miligram
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
MOS	Mannan Oligosakkarit
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
NADP(H)	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
ND	Veri Yok
ng	Nanogram
NH ₄	Amonyum
NK	Natural Killer (Doğal öldürücü)
nm	Nanometre
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O ₂	Oksijen
OH	Hidroksil

P	P İstatistiksel Değeri
PBS	Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
pH	Hidrojen İyonu Konsantrasyonu
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids (Çoklu Doymamış Yağ Asiti)
Q	Kuersetin
RNT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismütaz
SR	Serbest Radikaller
S $\bar{x}$	Standart Hata
T-AOC	Toplam Antioksidan Kapasite
TCA	Trichloroacetic Acid
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
VG	Villus Genişliği
VY	Villus Yüksekliği
VY:KD	Villus Yüksekliği/Kript Derinliği Oranı
$\bar{x}$	Aritmetik Ortalama
YT	Yem Tüketimi
YYO	Yemden Yararlanma Oranı
%	Yüzde

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Bağırsak sağlığını etkileyen faktörler arasındaki denge	5
Şekil 1.2.	L-Glutamin ve D-Glutaminin kimyasal formu ve özellikleri	15
Şekil 1.3.	Memeli hücrelerinde glutamin ve glutamat metabolizması	18
Şekil 1.4.	Kuersetin ve türevlerinin moleküler yapısı	23
Şekil 1.5.	Antioksidanların reaktif oksijen türlerinin nötralizasyonundaki fonksiyonu ile neden olduğu biyolojik etkiler	27
Şekil 2.1.	21 günlük yaştaki etlik piliçlerde jejenum histomorfolojisi	50
Şekil 2.2.	Jejenum'daki histomorfolojik incelemelerde ölçülen parametreler	51
Şekil 3.1.	Gruplarda 0-21. günler ortalama Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü	71
Şekil 3.2.	Gruplarda 21-42. günler ortalama Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü	71

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Bazı sebze ve meyvelerin kuersetin içeriği	25
Çizelge 2.1.	Deneme gruplarının rasyonları 0-21 gün	42
Çizelge 2.2.	Deneme gruplarının rasyonları 21-42 gün	43
Çizelge 2.3.	Trolox standart hazırlama	55
Çizelge 3.1.	Glutamin ve/veya kuersetinin 0-21 günlük yaşta broylerlerin canlı ağırlık artışı (CAA), yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine etkisi	69
Çizelge 3.2.	Glutamin ve/veya kuersetinin 21-42 günlük yaşta broylerlerin canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık artışı (CAA), yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine etkisi	70
Çizelge 3.3.	Glutamin ve kuersetin ilavesinin Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) üzerine etkisi	71
Çizelge 3.4.	Deneme gruplarına yapılan FTS ve LPS enjeksiyonun çeşitli karkas parametreleri ve organ ağırlıkları üzerine etkisi	72
Çizelge 3.5.	Glutamin ve/veya kuersetinin 21 günlük yaşta broylerde bağırsak histomorfolojisi üzerine etkileri	73
Çizelge 3.6.	Deneme gruplarına yapılan FTS ve LPS enjeksiyonunun karaciğer antioksidan kapasitesi ve kan serumunda IgY düzeyine etkisi	74

1. GİRİŞ

1.1. Hayvan Besleme ve Sağlık

Hayvan sağığı ve refahı, hayvan besleme alanının öncelikleri arasında yer almış ve bu alanda önemli düzeyde bilgi birikimi ve gelişmeler kaydedilmiştir. Yem katkı maddeleri olarak antibiyotik ve benzeri büyüme ve performansı artırıcı maddeler ile çinko oksit ve bakır gibi katkı maddelerinin Avrupa'da yasaklanması sonucu bu alandaki araştırmalar farklı alanları da içine alacak şekilde ilerlemiştir (Castanon, 2007). Hayvan sağığı ile doğrudan ilintili olan insan (tüketici) ve çevre sağığı konusundaki kaygıların artması ile diğer ülkelerde de Avrupa Birliğı kadar sıkı olmasa da yeni denetim mekanizmaları yürürlüğe sokulmuştur. Tüm bu yeni kısıtlamalar hayvan sağığı ve üretkenliğinin hayvan besleme yoluyla iyileştirilmesine yönelik yeni araçların araştırılması yolunu açmıştır. Hayvan sağığı ve üretimi temelinde, hayvan besleme alanındaki bilimsel çalışmalar yem tüketimi, sindirim sistemi sağık durumu, bağışıklık sistemi, metabolizmanın regülasyonu, oksidatif stresin olumsuz etkilerinin önlenmesi ve anti-nütrisyonel faktörlerin bertaraf edilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Salobir ve ark., 2012).

Beslemenin sağık üzerine olan bir diğer etkisi oksidatif stres ile olan ilişkisidir. Bazı önemli biyolojik moleküllerin oksidasyona maruz kalması doku ve organların fonksiyonlarında sorunlara ve üretkenliğin azalmasına yol açmaktadır (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007). Koksidiyoz ve mastitis gibi birçok hastalık ve uygun olmayan çevre koşulları (sıcaklık stresi) oksidatif stres ile ilintilidir. Bu nedenle iyi bir antioksidan savunma mekanizması çiftlik hayvanlarının sağığında ve üretkenliğinde anahtar bir rol oynamaktadır. Antioksidanlara gereksinimin arttığı stres, hastalık gibi koşullarda oksidatif stresle mücadele amacıyla antioksidan vitaminler yanında antioksidanca zengin bitki-bitki özleri veya bunların aktif antioksidan yapıları kullanılmaktadır. Bu çerçevede bazı bitki özlerine yoğun araştırmalar mevcuttur (Frankič ve Salobir, 2011).

Bazı yem kaynakları sağlık üzerine pozitif etkilere sahip maddeler içermektedir. Bu maddelere örnek olarak immunoglobulinler, hormonlar, büyüme faktörleri, biyolojik olarak aktif peptidler ve bağışıklık sistemini düzenleyen moleküller ve laktoz verilebilir. Fizyolojik olarak gelişme döneminde olan ve sütten kesim gibi stres doğuran uygulamalara maruz kalan hayvanlarda bağırsak fizyolojisi, morfolojisi ve metabolizması ve mikroflorasında ani değişimler bazı enfeksiyonlar ile ishal ve mortalitede artış şeklinde kendisini göstermektedir (Miller ve Slade, 2003). Bu bağlamda bağırsak sağlığını dikkate alan besleme uygulamalarına başvurulması sorunların azaltılmasına olanak sağlayabilmektedir (Deprez ve ark., 1987).

Hayvan besleme ve sağlık ilişkisi bağlamında bir diğer önemli konu yemlerde bulunan antintrisyonel faktörlerdir. Bunlar, hayvan sağlığını ve üretkenliğini olumsuz yönde etkileyen mikotoksinler, proteaz inhibitörleri, alkaloidler, glikozitler, lektinler, erusik asit, sinapinler, taninler gibi antintrisyonel faktörlerden oluşmaktadır (Mosenthin ve Jezierny, 2010). Bunların olumsuz etkileri rasyon içindeki paylarının azaltılması yanında ısı muamelesi ve ekstraksiyon gibi teknolojik yöntemler ile bu faktörleri bağlayacak veya hidrolize (enzimler, silikalar) edecek araçların kullanılması ile azaltılma yoluna gidilmektedir. Bitki ıslahı konusundaki gelişmelerde antinutrisyonel maddelerin miktarlarının azaltılmasına olanak sağlamıştır (rneğin kolzada glikosinolatlar ve erusik asitin azaltılarak kanolanın geliştirilmesi) (Bell, 1993).

Antibiyotiklerin 2004 yılında Avrupa Birliği içerisinde yasaklanmasından sonra bu tür maddelerin yerine kullanılabilecek ürünlere yönelik arayışlar artmıştır. Bu çerçevede geliştirilen ve hayvansal üretimde kullanılan ürünlerin başında organik asitler, probiyotikler, prebiyotikler ve simbiyotikler (pro- ve prebiyotiklerin kombinasyonu) gelmektedir. Bu maddeler, mide pH'nın düşürülmesi, sindirim sistemindeki mikrofloranın uyarılması, sindirim sistemi ve bağışıklık sisteminin uyarılması ve gelişmesi şeklinde hayvan sağlığına katkıda bulunmaktadırlar (Gaggia ve ark., 2010).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, hayvanlar tarafından sentezlendiği için esansiyel olmadığı kabul edilen bazı moleküllerin sanıldığından çok daha önemli işlevlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, normal koşullar altında yeteri düzeyde sentezlenen glutamin ve nükleotidlere, büyüme ve bazı dokuların tamiri gibi dönemlerde nükleik asit ve proteinlerin sentezi amacıyla çok daha fazla gereksinim duyulması nedeniyle esansiyel molekül çerçevesinde bakılmaktadır. Bu çerçevede yapılan bir çalışmada, Sauer ve ark. (2011), sütten kesim döneminde domuzlara nükleotid verilmesinin bağırsak yapısı, fonksiyonları ve mikroflorasını iyileştirebileceğini; metabolik olaylar ve bağışıklık sistemini etkileyerek üretkenliği artırabileceğini öne sürmüştür.

Aktif moleküller içeren doğal yem katkı maddelerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Sahip oldukları aktif maddeler sayesinde oksidatif stres, bağışıklık sistemi direnci, bağırsak sağlığı, mikrobiyal populasyon, yem tüketimi ve verim temelinde biyolojik etkinlik üzerine olumlu etkileri nedeniyle önem kazanmaktadırlar. İkincil bitki metabolitlerince (karotenoidler ve polifenoller) zengin gıdaların insanlar tarafından tüketimine yönelik tavsiyeler olmasına rağmen, bu maddelerin hayvanlar tarafından tüketimine yönelik genel tavsiyeler henüz oluşturulamamıştır (Salobir ve ark., 2012).

1.2. Sindirim Sisteminin Kanatlı Beslenmesindeki Rolü

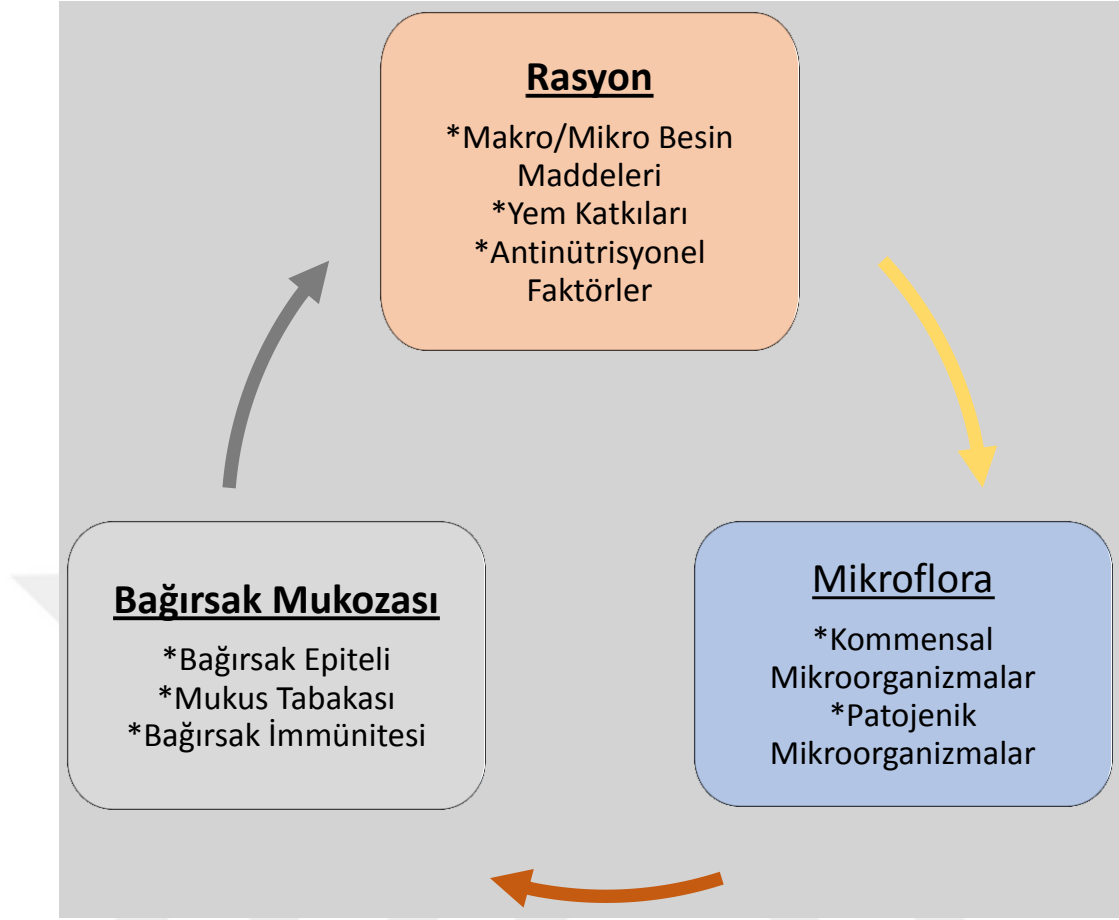
Et ve yumurta üretimi amacıyla yapılan kanatlı yetiştiriciliğinin en önemli giderlerinin başında %70-75 oranla yem bulunmaktadır. Kanatlıların büyümesinde ve sağlığında gerekli olan yaşamsal besinler yem içerisinde verilmektedir. Bu bağlamda, bu gruptaki hayvanlar sindirim sistemi aracılığı ile geniş yelpazede yer alan bir dizi olaylara maruz kalmaktadır (Yegani ve Korver, 2008). Sindirim sistemi aynı zamanda patojenlerle karşı karşıya kalan bir ana bölge olarak hareket etmektedir. Bunun doğal bir sonucu olarak, sindirim sistemi sağlığı kanatlı üretiminde optimum üretim düzeyinin ve refahının yakalanmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Sindirim sistemi sağlığı ile yemlerin sindirimi, besin maddelerinin emilimi ve

metabolizması, enerji ve protein kullanımı, bağışıklık tepkisi ve hastalıklara direnç arasında önemli ilişkiler bulunmaktadır (Kelly ve Conway, 2001 ve Yegani ve Korver, 2008). Kanatlıların doğru bir şekilde beslenmesinin hayvan sağlığını olumlu şekilde etkileyeceği, buna karşın bu konuda yapılacak hataların bağışıklık sistemine ve üretkenliğe olumsuz yansıyacağı bildirilmektedir (Dibner ve Richards, 2004).

1.2.1. Bağırsak Gelişimi ve Sağlık

Sindirim sistemi kanatlılar ile çevresi arasında seçici bir bariyer olarak hareket etmektedir. Kanatlıların ihtiyaç duyduğu besin maddeleri sindirim sonrasında emilerek hedef doku ve organlara gönderilirken zararlı olan maddeler sindirim sisteminden dışarı atılmak suretiyle sistemden elemine edilmektedir. Sindirim sisteminin gelişimi ve sağlığının sürdürülmesi hayvanın sağlığı ve gelişiminin desteklenmesinde de önemli rol oynamaktadır (Choct, 2009).

Sindirim sistemi sağlığı, rasyon kalitesi, mikrobiyal populasyon ve bağırsak mukozası arasındaki karmaşık ilişkiler arasında var olan dinamik bir denge içerisinde sürdürülmekte olup, bu dengenin korunması sindirim sisteminin düzenli olarak çalışmasını sağlarken patolojik vakaların ortaya çıkmasını da engellemektedir (Şekil 1.1; Conway, 1994). Sonuç olarak, genel anlamda kanatlı sağlığının sürdürülmesinde enfeksiyon, inflamasyon gibi birçok hastalıktan uzak, sağlıklı bir sindirim sistemine gereksinim bulunmaktadır (Wilson ve ark., 2005).



Şekil 1.1. Bağırsak sağlığını etkileyen faktörler arasındaki denge (Conway, 1994'den uyarlanmıştır).

Kanatlı üretiminde yem ile bu yemi tüketen hayvanların sağlığı arasındaki yakın ilişki büyüme performansının optimum bir şekilde elde edilmesinde anahtar rol oynamaktadır. Uygun yetiştirme ve besleme koşullarına maruz kalan hayvanlar doğru bir şekilde büyüme ve gelişim göstermektedir. Yumurtadan çıkan bir broyler civcivi 35-40 günlük kısa süre sonunda 2 kg'ın üzerinde canlı ağırlığa ulaşabilmektedir. Büyüme süresinin oldukça kısaldığı ve yemden yararlanmanın düzenli olarak iyileştiği günümüzde kanatlıların sağlık-koruma ve beslenmesi çok daha fazla emek ve dikkat gerektiren bir olgu haline gelmiştir. Bu durum sindirim sistemi içerisinde yaşanan ani veya yavaş gerçekleşen değişimlerin yakından takip edilmesini zorunlu kılmaktadır. Sindirim sistemi içerisinde yaşanan bu değişimler, bağırsak mukozası altında bulunan ve emilimden sorumlu olan epitelyum hücrelerinden besin maddelerinin emilimini etkileyerek sağlık ve performansa etki edebilmektedir (Choct, 2009).

Kanatlı üretiminde en iyi performans, sağlıklı hayvanların kaliteli rasyonla beslenmeleri ile mümkündür (Apajalahti ve ark., 2004). Hijyenik ve dengeli rasyonların kullanımı kanatlılarda sindirim sisteminin gelişimini olumlu yönde etkilemektedir. Sindirim sistemi ve organlarının büyümesi ve gelişiminde sindirim sistemi içerisine giren ve burada kolonize olan mikrobiyal populasyonun önemli bir payı bulunmaktadır. Sindirim sistemi içerisindeki mikrobiyal populasyonlar arasında ortaya çıkan bir dengesizlik sindirim sistemi sağlığını ve gelişimini olumsuz şekilde etkileyebilmektedir (Kraehenbuhl ve Neutra, 1992). Mikroflora koşullarındaki değişimler sindirim sistemi gelişimi yanında metabolizma, bağışıklık ve fizyolojiyi de etkileyebilmektedir. Yumurtadan çıkıştan sonraki süreçte kolonize olan mikroflora ile konakçı hayvan arasında sinerjik bir ilişki de kurulmaktadır (Torok ve ark., 2009).

Kuluçka döneminde gelişmeye başlayan sindirim sistemi yumurtadan çıkıştan sonra da büyüme ve gelişmeye devam etmektedir. Bu büyüme ve gelişimin engellenmeden devam etmesi hayati öneme sahiptir. Hijyenik ve dengeli yemlerin tüketimi sindirim sisteminin ve sindirim organlarının gelişimini desteklemektedir. Yemlere ve suya erken dönemde erişimin olması sindirim sisteminin ve sindirim organlarının gelişimini uyarmaktadır (Noy ve Sklan, 2001 ve Uni, 1998). Özellikle yumurtadan çıkıştan sonraki ilk hafta esnasında ve sonrasında, sindirim sisteminin gelişimi büyümenin önemli bir boyutunu oluşturmaktadır (Sell ve ark., 1991). Yumurtadan çıkıştan hemen önce veya çıkıştan hemen sonra, sindirim sisteminin kısımları ve sindirim organları vücut ağırlığına oranla diğer doku ve organlardan çok daha hızlı gelişmektedir (Noy ve Sklan, 2001).

Kanatlılarda erken dönemde *ad libitum* yeme erişim imkânı, ince bağırsaktaki emilim yüzünün gelişimini uyarmaktadır (Potturi ve ark., 2005). Geyra ve ark. (2001), hijyenik ve dengeli yeme erken erişen hayvanlarda duodenum ve jejunumda bağırsak emilim alanından alınan her kesit başına villus sayısında ve toplam villus yüzey alanında önemli artışlar tespit etmiştir. Bigot ve ark. (2003), yumurtadan çıkıştan sonraki dönemde erken yemlemenin sadece sindirim sistemi gelişimini uyarmadığını aynı zamanda tüm organizmanın büyümesini teşvik ettiğini

bildirmiştir. Yeme geç erişimin yumurtadan çıkıştan sonraki ilk hafta esnasında enterosit çoğalmasını geciktirdiği ve daha fazla enterosit apoptosisine neden olduğu bildirilmiştir. Kuluçkadan çıkıştan sonra ince bağırsakta yüksek sayıda aerobik bakterinin bulunmasının yeme erişimin geciktirilmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Potturi ve ark., 2005).

Sağlıklı hayvanlar genel anlamda düzenli işlev gösteren bir sindirim sistemine sahip olmaları ile tanımlanmaktadır. Bu özellik, kanatlılar tarafından tüketilen yemlerin yaşama payı ve üretim amacıyla etkin bir şekilde kullanımında olmazsa olmaz bir koşuldur. Düzenli işlev gösteren kalın bağırsağın en önemli unsurlarından birisi barındırdığı mikrobiyal populasyon içerisindeki dengedir. Bu denge, hayvanların bakteriyel enfeksiyonlar, yüksek sıcaklık ve nem, yem değişimi ve transport gibi strese neden olan koşullara maruz kalması durumunda bozulabilmektedir (Jin ve ark., 1997). Patojenlerin neden olduğu sindirim sistemi hasarları bağırsak sağlığının bozulmasına ve besin madde kullanım etkinliğinde azalmalara neden olmaktadır. Bu nedenle sindirim sistemi sağlığı, organ ve doku gelişimi yanında bağışıklık sisteminin tam olarak faal hale gelmesinde gerekli olan besinlerin dağılım ve kullanım şeklini de etkileyebilmektedir (Kelly ve Conway, 2001).

1.3. Kanatlıların Beslenmesinde Oksidatif Stresin Önemi

Son 20-30 yıl içerisinde, broylerlerde genetik olarak, yemden yararlanma, yağ oranında azalma ve göğüs eti miktarında önemli gelişmeler kaydedilmiştir (Reyer ve ark., 2015). Kanatlılarda yem; yumurta ve et üretiminde toplam girdinin en büyük kısmını oluşturmaktadır. Yem, aynı zamanda sindirim sistemi aracılığıyla kanatlıların sağlığını ve üretimini etkileyen bir dizi faktörle karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır. Sindirim sistemi, besinlerin sindirimi ve bağışıklık tepkisinin oluşmasında önemli rol oynayan oldukça karmaşık ve dinamik bir organdır. Besin maddelerinin emilim yeri olan bağırsak mukozası, farklı hücre populasyonları, epitelium hücreler ve bağ dokulardan oluşmaktadır. Bağırsak epiteli, potansiyel

olarak zararlı olabilecek maddelerle sürekli olarak karşı karşıya kalırken dokular ile sindirim sistemi lumeni arasında da bir bariyer olarak hareket etmektedir. Yem toksinleri ve serbest radikal üretimine yol açan enfeksiyon etmenleri strese neden olan faktörlerin başında gelmektedir. Bu stres, sindirim sistemi unsurları arasındaki hassas dengeyi olumsuz olarak etkileyerek kanatlıların sağlık ve üretimini etkileyebilmektedir.

Çevresel, beslemeyle ilintili, mikrobiyolojik veya yetiştirmeye dayalı faktörler ticari kanatlı üretiminde stres kaynağı olarak olumsuz etkilerini sergilemektedir. Oksidatif stres, bu faktörlerin etkili olduğu dönemlerde ortaya çıkan ve metabolik olarak olumsuz sonuçları olan bir biyolojik süreçtir. Oksidatif stres, dokularda ve organlarda serbest radikal üretimi ile endojen antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkan, yağların peroksidasyonu, protein nitrasyonu, DNA hasarı ve apoptosise neden olan bir metabolik olaydır. Hücreler, fizyolojik oksijen mekanizması esnasında üretilen serbest radikallere sürekli olarak maruz kalmaktadır (Estevez, 2015). Reaktif oksijen türleri (ROT) ile reaktif nitrojen türleri (RNT) homeostazda rol oynayan sinyal molekülleridir. Ancak, ROT ve RNT'lerin aşırı üretimi veya yetersiz düzeyde nötralizasyonu oksidatif strese yol açar. Superoksit, hidrojen peroksit ve hidroksi radikallerin içinde yer aldığı ROT, oksijen metabolizması tarafından üretilirken antioksidan mekanizması aracılığıyla elemine edilmektedir. ROT hücre içerisinde fizyolojik olarak superoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri ile indirgenmektedir (Kurutas, 2015). SOD (SOD1 ve SOD2) superoksit anyonunun (O_2^-) H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize etmektedir. H_2O_2 daha sonra katalaz enzimi ile H_2O ve O_2 'ye dönüştürülmektedir. Öte yandan GSH-Px, glutatyonu kullanarak lipid peroksitlerinin azaltılmasını sağlar. Nitrik oksit sentazlarının (NOS) son ürünü olan RNT bağırsak mukozası ve submukozasından üretilmektedir. NOS, arjinini sitruline metabolize ederek nitrik asit radikalinin oluşumunu sağlar. Nitrik asit radikalleri, sinirsel uyarıların iletimi ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi gibi hücresel olaylarda önemli rol oynamaktadır. Ancak nitrik oksit radikallerinin aşırı üretimi bağırsak mukoz membranına zarar vererek besin madde kullanımını olumsuz şekilde etkilemektedir (Ya Sklyarov ve ark., 2011). ROT ve RNT, özellikle PUFA'larca

zengin olan hücre zarı lipitlerindeki ve lipoproteinlerindeki lipid peroksidasyonuna katkıda bulunmaktadır. Sindirim sistemindeki enflamasyon, bazı stres veya enfeksiyon faktörleri vasıtasıyla şekillenerek ROT üretimini sağlamakta ve redoks dengesini bozabilmektedir.

1.3.1. Yem Toksinleri Kaynaklı Oksidatif Stres

Kanatlı yem veya yem maddeleri sindirim sağlığını ve üretimi etkileyen bakteri veya fungal orijinli toksinler tarafından sıklıkla kontamine hale gelebilmektedir (Yiannikouris ve Jouany, 2002). Bağırsak lumen epitel hücreleri ve yan yana olan epitel hücreler arasındaki sıkı bağlantı proteinleri bir bariyer görevi görerek bakteriyel toksinlerin bağırsak lumeninden emilimini engellemektedir (Mishra ve Jha, 2019). Oksidatif stres altındaki hayvanlarda sadece hücresel olaylar değil aynı zamanda bağırsaklardaki bariyer yapıda değişimler olmaktadır. Mikotoksinler, küfler gibi birçok mantar tarafından spesifik olarak üretilen metabolik ürünlerdir (Yiannikouris ve Jouany, 2002). Aflatoksin, zearalenon, deoksinivalenol, trikotesenler, fumozin, T-2 toksini ve okratoksin yaygın olarak görülen toksin çeşitleridir. Bu toksinler emilim sürecinde epitelyum hücrelerle temas ettiğinde, sindirim sistemi toksinler nedeniyle harekete geçen oksidatif stres nedeniyle önemli düzeyde etkilenmektedir (Mishra ve Jha, 2019). Bu konuda yapılan çalışmalarda mikotoksinlere düşük düzeyde ve uzun süreli maruz kalan hayvanlarda bağışıklık sistemi, bağırsak bütünlüğü ve kan fagozitik aktivitesinde değişimlerin ve olumsuzlukların şekillendiği tespit edilmiştir (Wu ve ark., 2015). Trikotesenler, çoğunlukla *Fusarium* türündeki funguslar tarafından üretilen ve deoksinivalenol, T-2 toksini ve fumozin B1 gibi toksinleri içine alan bir grup mikotoksindir (Yiannikouris ve Jouany, 2002). Bu mikotoksinler, ROT üretimini sağlayarak lipid peroksidasyonunu uyararak hücresel redoks sinyalizasyonu, antioksidant durumu ve membran bütünlüğünü değiştirebilme yanında bağırsak epitelyum geçirgenliğini artırabilmektedir (Mishra ve Jha, 2019). Bu olaylar apoptosisin artarak kanatlılarda sağlık ve üretimin olumsuz olarak etkilenmesi ile sonuçlanabilmektedir.

1.3.2. Kanatlı Sindirim Sistemindeki Antioksidan Sistemler

Fizyolojik düzeyin üzerinde ROT veya RNT üretimi bağırsaklarda inflamasyona neden olmakta ve emilim kapasitesini kısıtlayabilmektedir. Liang ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, broylerlere rasyon içerisinde kısmen okside olmuş soya yağı verilmesinin büyüme performansı, yem tüketimi ve bağırsak bağışıklık sistemi üzerine olumsuz etkilere neden olduğu saptanmıştır. Bağırsak mukozası oksidatif strese karşı koyan ilk savunma hattı olup, katalaz, SOD ve GSH-Px gibi enzimler ile glutatyon, transit iyonlar (Fe^{2+} , Cu^{2+}) veya flavonoidler gibi endojen veya eksojen serbest radikal temizleyicileri içerisinde barındırmaktadır (Circu ve Aw, 2012). Glutatyon ve SOD hücre içi antioksidan olarak çalışmakta ve ince bağırsakta yaygın olarak bulunmaktadır (Liu ve ark., 2014). Bu moleküllerin yoğunluğu bağırsak gelişimi sürecinde yüksek bir düzeyde bulunmaktadır (Liu ve ark., 2014).

1.3.3. Oksidatif Stresi Azaltma Potansiyeline Sahip Araçlar

Oksidatif stres, bir dizi olumsuz etkinin ortaya çıkmasına neden olarak kanatlılarda patolojik ve refah bağlamında sorunların şekillenmesine zemin hazırlamaktadır. Bu nedenle, oksidatif stresin hafifletilebilmesi için maliyet bakımından uygun stratejilerin kullanılması gerekmektedir. C ve E vitamini kullanımının kanatlılarda antioksidan gücü ve bağışıklık performansını iyileştirdiği bildirilmektedir (Min ve ark., 2018). Yağda veya suda çözünebilir olan alfa lipoik asidin kanatlı bağırsaklarında oksidatif hasara karşı etkili bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir (El-Senousey ve ark., 2018). Polifenol içeren maddelerin rasyona katılmasının antioksidan kapasiteyi artırarak broylerde redoks dengeyi iyileştirdiği tespit edilmiştir (Gerasopoulos ve ark., 2015). Benzer etkiler, prebiyotik olarak bilinen galakto-oligosakkaritlerin kullanımı ile de elde edilmiştir (Varasteh ve ark., 2015). Xue ve ark. (2018), tarafından yapılan bir çalışmada, rasyona L-Glutamin (L-Gln) ilavesinin broylerde nekrotik enteritisi önlediği ve antibiyotik içermeyen rasyonlarda kullanılabileceği sonucu elde edilmiştir. Yukarıda belirtilen tüm araştırma bulguları, tek bir maddenin veya farklı maddelerin karışımından elde

edilecek kokteyl karışımların sindirim sistemindeki oksidatif stresin hafifletilmesinde kullanılabileceğini destekler niteliktedir.

1.4. Kanatlılarda Bağışıklık Sistemi

Kanatlılar, memelilere benzer şekilde, dışarıdan gelen ve tehdit oluşturabilecek istilacı mikroorganizmalara ve yabancı maddelere karşı değişik mekanizmalar kullanarak kendilerini koruma yoluna gitmektedir. Kanatlı bağışıklık sistemi primer ve sekonder lenfoid organ ve dokulardan meydana gelmektedir. Boyunda jugular damar boyunca bulunan timüs ve kloakaya bitişik olarak bulunan *bursa Fabricius* primer organlardır. Dalak, kemik iliği, Harderian bezi, sekal tonsiller ve bronşlarla ilintili lenfoid dokular, sindirim sistemi ile ilintili lenfoid dokular, konjunktival yapı ile ilintili lenfoid dokular ve lenfoid nodulleri içine alan mukozal yüzeylerle ilintili organize olmuş lenfoid dokular ise sekonder yapılardır (Davison ve ark., 2008). Damar ve kılcal damarlar aracılığıyla lenfoid sıvının dolaştığı ve kan dolaşım sistemi ile iletişim halinde olan bir lenfatik dolaşım sistemi de bulunmaktadır (Davison ve ark., 2008).

Kanatlı bağışıklık sistemi, fonksiyonel anlamda spesifik olmayan fakat doğuştan sahip olunan bağışıklık sistemi ile spesifik olan fakat sonradan kazanılan bağışıklık sistemi olmak üzere iki kısma ayrılmaktadır. Bu sistem, hücresel ve hücresel olmayan (humoral) dallara ayrılmaktadır (Davison ve ark., 2008).

Hücresel olmayan dal içerisinde immunglobulinler ve bunları salgılayan hücreler bulunmaktadır (Davison, 2014). İmmunglobulinler, bağlandıkları yabancı moleküle (antijen) özgü spesifik yapılardır ve B-lenfositler tarafından üretilmektedir. B-lenfositleri embriyonik karaciğer, yumurta sarısı ve kemik iliği içerisinde üretilmektedir (Davison ve ark., 2008). Bir yabancı organizma vücuda girdiği zaman makrofaj adı verilen bir fagozitik hücre tipi ile hapsedilir (Chalghoumi ve ark., 2009). Yabancı molekülü hapseden makrofajlar T-lenfositleri ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşimin sonucunda B-lenfositleri uyarılarak immunglobulinler

üretilmeye başlar. B-lenfositlerin antikor üretimi, bu hücrelerin antikor üretecek yeterli sayıya ulaşabilmeleri için antijene maruz kalınan 5 günlük periyodun sonunda başlar. Kanatlı hayvan aynı antijene tekrar maruz kalırsa geçmişteki hafızanın etkisi ile bu kez antikor üretimi çok daha hızlı ve çok daha yüksek düzeyde gerçekleşir (Chalghoumi ve ark., 2009).

İmmunoglobulinler kanatlılarda, kimyasal yapıları, immunolojik işlevleri ve konsantrasyonlarına bağlı olarak IgA, IgM ve IgY olarak sınıflandırılır (Davison, 2014). IgA ve IgM moleküler ağırlık ve kimyasal yapıları ile fiziksel özellikleri bakımından memelilerdeki IgA ve IgM'ye benzerlik göstermektedir (Hartle ve ark., 2014).

IgY, kanatlı serum ve yumurta sarısında bulunan ana immunoglobulin olup, işlevi ve serum konsantrasyonu itibariyle memelilerdeki IgG'ye benzerliği nedeniyle geçmişte IgG olarak adlandırılmıştır. IgG ve IgY arasındaki temel yapısal farklılıklar nedeniyle günümüzde IgY olarak tanımlanmaktadır. IgY, toplam immunoglobulin havuzunun yaklaşık %75 gibi önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Chalghoumi ve ark., 2009). IgY, IgA ve IgM serum konsantrasyonları sırasıyla 5, 1,25 ve 0,61 mg/ml olarak rapor edilmiştir (Leslie ve ark., 1976).

Kanatlıların immun sisteminin hücresel dalı, antikor üretiminden sorumlu olan hücreler dışındaki antijenlere özel hareket eden tüm hücreleri içine almaktadır. Bu grup içerisindeki hücreler (T-lenfositler), B-hücreleri ile aynı kök hücrelerden üretilmektedir ancak *bursa Fabricius* yerine timüs'te programlanmaktadır (Smith ve Göbel, 2014). T-lenfositleri, B-hücrelerine kıyasla daha heterojen bir hücre popülasyonunu barındırmaktadır. Bazı T-hücreleri, bağışıklık sistemi iletişimde rol oynayan limfokin adı verilen proteinleri üretirken, diğerleri doğrudan yabancı organizmaları yok etmektedir (Kaiser ve Staheli, 2014).

1.5. Kanatlı Beslemede Amino Asitler

Amino asitler, yapı taşı olarak protein sentezinde kullanılan buna karşın protein yıkımını engelleyen anabolik moleküller olarak bilinmektedir. Amino asitler aynı zamanda, azot içeren değişik biyolojik yapıların sentezinde kullanılan önemli substratlardır. Son yıllardaki bilimsel çalışmalarda, bu moleküllerin farklı doku ve organlarda temel metabolik mekanizmaların kontrolünde kullanılan anahtar düzenleyiciler olduklarını destekler nitelikte bulgular rapor edilmiştir (Kurmi ve ark., 2020).

Kanatlı üretimindeki temel konulardan birisi daha etkin ve çevreci yemleme stratejilerinin geliştirilerek atıkların azaltılmasıdır. Bu bağlamda benimsenen stratejilerden birisi rasyonun ham protein içeriğini azaltılırken spesifik serbest amino asitler ile takviye ederek protein kullanım etkinliğini artırmak, buna karşın azot atılımını azaltmak yaklaşımıdır (Belloir ve ark., 2015).

Değişik amino asitlerin (esansiyel) protein sentezi için yeteri ve dengeli bir şekilde kanatlılara verilmesi protein beslenmesinin bir zorunluluğudur. Ancak optimum amino asit beslenmesinde, amino asitlerin protein sentezi yanında bazı önemli biyolojik olaylarda oynadığı rolünde dikkate alınması gerekmektedir. Amino asitler bazı önemli biyolojik moleküllerin sentezinde öncül madde olarak kullanılmaktadır. Sistine, hayvanın oksidatif strese karşı geliştirdiği savunma mekanizmasında görev alan glutasyon ve taurin sentezi için gereksinim bulunmaktadır (Metayer ve ark., 2008).

Rasyon amino asitleri, broylerlerin abdominal yağ içeriği, göğüs eti üretimi gibi karkas kısımlarının oluşumunda etkin rol oynamaktadır (Leclercq, 1995). Lizinin, karkas kompozisyonu üzerine spesifik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Lizin yetersizliğinde göğüs kası oranında önemli düzeyde azalma gerçekleştiği saptanmıştır (Tesseraud ve ark., 1996). Ancak benzer etki, aynı koşullarda yürütülen çalışmalarda threonin veya valin kullanımında görülmemiştir (Leclercq, 1998). Rasyondaki lizin miktarının büyüme ihtiyacının da ötesinde artırılmasının göğüs

kasının depolama esnasındaki pH'sını artırmak suretiyle damlama kaybını azalttığı tespit edilmiştir. (Berri ve ark., 2008). Rasyondaki metiyonin ve/ya sistinin yetersizliğinin tavuklarda dokuların yağ, protein ve amino asit kompozisyonunu etkilediği rapor edilmiştir (Conde-Aguilera ve ark., 2013). DL-metiyoninin kısmen veya tamamen hidroksi analogu ile ikame edilmesinin but ve göğüs etinin oksidasyona duyarlılığını azaltma yanında et pH'sını artırarak depolama ve işleme açısından olumlu etkiler sergilediği belirlenmiştir (Mercier ve ark., 2009).

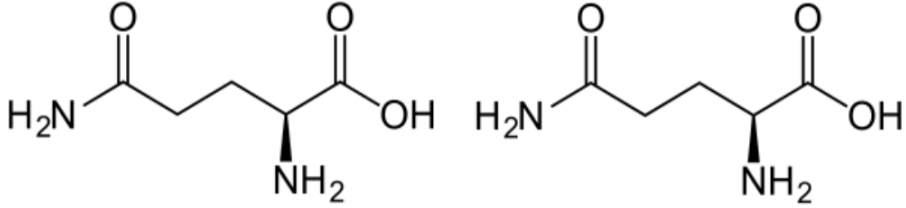
Yumurtadan çıkıştan sonraki yaşamın ilk günleri kanatlılar için oldukça zor bir dönem olup yeni yaşam ortamına adapte olmaya çalışan civcivler yoğun bir strese maruz kalmaktadır. Batal ve Parsons (2002), yürüttükleri bir çalışmada, kuluçkadan yeni çıkan ve kazein veya mısır-soya bazlı rasyonu tüketen civcivlerin yaşamın ilk günlerinde rasyon protein, yağ ve karbonhidratları yeterli düzeyde sindirilebilecek etkinliğe sahip olmadıklarını rapor etmiştir. Bartell ve Batal (2007), tarafından yürütülen bir çalışmada, mısır-soyaya dayalı rasyona %1 oranında L-Gln ilavesinin genç kanatlılarda bağırsak sağlığı parametrelerinde iyileşmeye ve canlı ağırlık kazancında artışa neden olduğu bulgulanmıştır.

Esansiyel olmayan bir amino asit olan glutaminin rasyonlara katılmasının; gastrointestinal sistemdeki epitel hücrelerin gelişiminde etkili rol oynadığı, besin maddelerinin bağırsaklardan geçişini arttırarak performans ve gelişimin daha iyi olmasını sağladığı bildirilmektedir (Murakami ve ark., 2007). Bunun yanında, bağırsaklarda doku zedelenmesi sonrası epitel dokudaki hücrelerin hızlı bölünüp, onarımın gerçekleşmesinde glutaminin hayati enerji substratı olarak kullanıldığı (Lacey ve Wilmore, 1990 ve Newsholme, 2001) kabul edilmektedir.

1.5.1. Glutamin

Glutaminin hücre metabolizmasındaki önemi ilk kez 1949 yılında Ehrensvarđ ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş (Ehrensvarđ ve ark., 1949), Eagle ve arkadaşları tarafından 1956 yılında tam olarak ortaya konabilmiştir (Eagle ve ark.,

1966). Glutamin proteinlerin yapı taşı olan 20 amino asitten biridir. Yan zincirinde karboksamit grubu içerir. Polar özelliktedir, ancak fizyolojik pH'da yüksüzdür. Diğer birçok amino asitte olduğu gibi bu amino asitinde hem L- hem de D- izomeri vardır. Aber aktif olan diğer bir deyişle doğada var olan izomeri L Glutamin'dir. Genellikle bilimsel makalelerde Glutamin L- ya da D- olarak hiçbir ön ek almayarak sadece Glutamin diye bahsedilmişse, burada bahsi geçen L- Glutamin'dir (Şekil 1.2).

	
L-Glutamin D-Glutamin	
IUPAC adı Glutamin L-Glutamin (sol) D-Glutamin(sağ)	
Özellikler	
Molekül formülü	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃
Molekül kütlesi	146,15 g·mol ⁻¹
Görünüm	Katı, renksiz ve kokusuz
Erime noktası	185–186 °C
Çözünürlük (su içinde)	Suda çözülür: (26 g·l ⁻¹ (18 °C))

Şekil 1.2. L-Glutamin ve D-Glutaminin kimyasal formu ve özellikleri (PubChem NCBI, 2020).

1.5.2. Glutaminin Sinyal Molekül Olarak İşlevi

Glutaminin, karbon, azot ve dokular arasındaki enerji transferinde kullanılan önemli bir taşıyıcı molekül olduğu uzun bir süredir bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda glutaminin metabolik olaylarda rol oynayan önemli bir sinyal molekülü olduğu tespit edilmiştir (Curi ve ark., 2005). Hücre kültürü çalışmalarında,

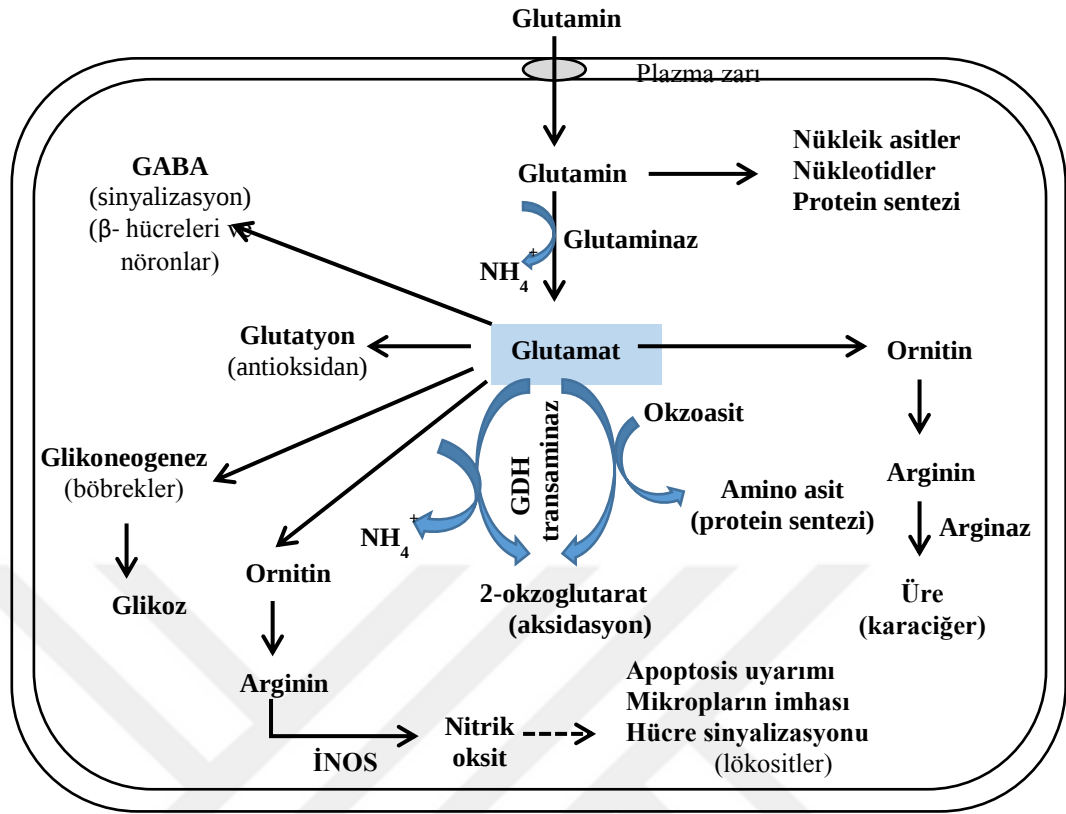
bazı hücre tiplerinde glutaminin, glutamin sentetaz protein düzeyini azalttığı, bu etkinin glutamin sentetaz mRNA düzeyinde gerçekleşmediği, glutaminin doğrudan etkisi sonucu olduğu bildirilmektedir (Huang ve ark., 2007). Mekanizması ve önemi halen bilinmemekle birlikte glutamin, 3T3L1 adipoz hücrelerinin büyüme, farklılaşma ve metabolizmasının birkaç aşamasında gereksinim duyulduğu bildirilmektedir (Wang ve ark., 2007). Eksojen glutamine birçok memeli hücresinin gereksinim duyduğu uzun bir süredir bilinmektedir. Bu gereksinimin temelinde, glutaminin biyosentetik rolü veya enerji ihtiyacının karşılanmasında kullanılan bir yakıt olması yatmaktadır. Bununla birlikte, glutaminin hücre metabolizmasındaki farklı mekanizmalarda sinyal molekülü olarak rol oynadığı bildirilmektedir (Rhoads ve ark., 1997). Pirimidin sentezi vasıtasıyla ince bağırsak hücrelerindeki apoptosisin baskılanmasında (Evans ve ark., 2005) ve glutatyon üretimi aracılığı ile bağırsak sıkı bağlantılarının (tight junctions) sürdürülmesinde glutamine ihtiyaç bulunmaktadır (Seth ve ark., 2004). Bağışıklık sistemi hücrelerinde glikozamin mekanizması aracılığıyla sıcaklık şoku proteinlerinin üretiminin uyarılması ve apoptosisin engellenmesinde glutamin rol oynamaktadır (Curi ve ark., 2005). Glutaminin, pankreas β -hücrelerinden insülin üretimini artırdığı, fibroblastlarda kolajen ve hücre dışı matriks yapı oluşumunu uyardığı ve miyositlerde myosin ağır zincir aktivasyonunda görev aldığı rapor edilmektedir (Curi ve ark., 2005). Bir sinyal moleköl olarak glutamin, birçok hücre tipinde bir dizi metabolik olay üzerine etki ederek farklı hücre içi sinyal mekanizmalarında etkisini sergilemektedir. Bu etkilerin bazıları glutaminden sentezlenen moleküller vasıtasıyla gerçekleşirken, diğerleri glutaminin doğrudan hareketi sonucu şekillenmektedir.

1.5.3. L-Glutamin Metabolizması

Vücuttaki birçok doku ve hücrenin yüksek düzeyde glutamin kullandığı ve glutaminin bu doku ve hücreler için esansiyel olduğu artık bilinen bir olgudur. Böbrekler, bağırsaklar, karaciğer, merkezi sinir sistemindeki spesifik nöronlar, bağışıklık sistemi hücreleri ve pankreasın β -hücreleri yoğun şekilde glutamin kullanan hücrelere sahip doku ve organlardır (Young ve Ajami, 2001). L-glutamin, peptid ve protein sentezi, amino şeker sentezi, pürin ve pirimidinler, dolayısı ile

nükleik asit ve nükleotidlerin sentezinde bir öncül (prekürsor) madde, bazı hücrelerin enerji ihtiyacının sağlanmasında ise bir karbon kaynağı olarak geniş bir metabolik kullanım spektrumuna sahiptir.

Hücrelerde yüksek düzeylerde bulunan ve mitokondri ile ilintisi olduğu bilinen glutaminaz enzimi, glutamin molekülünü hızlı bir şekilde L-glutamata dönüştürmektedir. L-glutamat, yirmi amino asit içerisinde hücre içerisinde en çok miktarda bulunan amino asittir. Buna karşın, L-glutamin, *in vivo* olarak hücre dışında en çok miktarda bulunan amino asittir (Newsholme ve ark., 2003). L-glutamat, pH değerinin 7,4 olduğu koşullarda -1 yüke sahip olması ve merkez sinir sisteminde lokalize olmuş glutamat metabolize eden özel hücreler dışındaki hücrelerin, hücre zarlarının düşük yoğunlukta amino asit taşıyıcılarına sahip olmaları nedeniyle kolaylıkla hücre zarlarından geçememektedir (Matthews ve Anderson, 2002). L-glutamat, yeni amino asitlerin sentezlenmesinde amino grubu sağlayıcısı (transaminasyon) veya amino grubunun NH_4^+ olarak kaybedilerek, 2-okzoglutarata dönüştürülmesindeki (deaminasyon) rolü nedeniyle amino asit metabolizmasının kavşak noktasında bulunmaktadır (Şekil 1.3). Karaciğer, iskelet kasları ve astrositler (beyin ve omurilikte bulunan yıldız şeklindeki glial hücre türü) gibi bazı doku ve hücrelerde glutamat ve amonyak molekülleri glutamin sentetaz enzimi ile bir araya getirilerek glutamin sentezi gerçekleştirilmektedir. Bu glutamin molekülü, daha sonra hücreden dışarı gönderilmektedir.



Şekil 1.3. Memeli hücrelerinde glutamin ve glutamat metabolizması (Newsholme ve ark. (2003)'ten uyarlanmıştır).

1.5.4. L-Glutaminin İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Glutaminin, lenfositler, makrofajlar ve nötrofiller gibi bağışıklık sisteminin önemli yapılarındaki hücreler tarafından yüksek düzeylerde kullanılan önemli bir molekül olarak kabul edilmektedir (Ardawi ve Newsholme, 1983; Curi ve ark., 1997; Newsholme ve ark., 1986). Glutamin metabolizmasında ilk enzim olarak rol oynayan fosfata bağlı glutaminazın bu hücrelerdeki aktivitesi yüksek olmasına karşın, bu amino asidin oksidasyon düzeyi oldukça düşüktür (Newsholme ve ark., 2003). Normal koşullar altında glutaminin önemli bir kısmı glutamat, aspartat (Krebs döngüsü vasıtasıyla), laktat ve CO₂'e metabolize edilir. Glutamin, T-hücrelerinin çoğalması, B-lenfosit farklılaşması, makrofaj fagositozu ve sitokin üretimi yanında nötrofil superoksit üretimi ve apoptosis artırıcı etkiler ortaya koyduğu rapor edilmiştir (Newsholme, 2001 ve Newsholme ve ark., 2003). Bu hücrelerin nükleik asit ve nükleotid sentezi amacıyla glutamine öncül madde olarak gereksinim

duydukları bilinmesine rağmen, glutamat amino asidinin de bağışıklık sistemi hücrelerinde glutamin kadar önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (Newsholme ve ark., 2003). Glutamat, amino asit transaminasyonu yanında lenfositler, makrofajlar ve nötrofillerdeki metabolik mekanizmalarda anahtar bir fonksiyon üstlenmektedir. Önemli bir kofaktör olan NADPH'in, malik asidi piruvata metabolize eden NADP⁺'ye bağlı malik enzim aktivitesi ile sağlanmasının bu fonksiyonlarından biri olduğu düşünülmektedir (Newsholme ve ark., 1996). NADPH, yağ asitlerinin sentezi gibi biyosentetik reaksiyonlara, O²⁻ veya NADPH oksidaz ve uyarılabilir nitrik oksit sentaz vasıtasıyla üretilen nitrik oksit gibi serbest radikallerin üretimine katılmaktadır (Newsholme, 2001). Bu kofaktör, aynı zamanda antioksidan savunma mekanizmasının önemli bir unsuru olan indirgenmiş glutatyon konsantrasyonunun artırılmasında ve apoptosisin geciktirilmesinde önemli bir rol oynar (O'Neill ve ark., 2000). Nötrofillerce laktata metabolize edilen glutamin miktarının makrofajlar veya lenfositler tarafından metabolize edilen miktarından daha fazla olması nötrofillerin NADPH'e daha fazla talep duymasından kaynaklanabileceği öngörülmektedir (Newsholme ve ark., 2003).

Glutamat aynı zamanda makrofajlar ve monositlerdeki ornitin sentezinde öncül madde olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.3). Bu metabolik yol, arjinin sentezinin gerçekleştiği üre döngüsü ve nitrik oksit sentezi ile birleşmektedir (Murphy ve Newsholme, 1998). Hücre dışı arjinin konsantrasyonunun, makrofajlar ve monositler tarafından salgılanan arginaz enziminin üretilmesi ile azaldığı, bunun sonucunda da hücrelerin nitrik oksit sentezi için hücre içi arjinine muhtaç hale geldiği bildirilmektedir (Murphy ve Newsholme, 1998). Glutamatın, aynı zamanda makrofajlar ve monositlerde glutatyon sentezinde öncül bir madde olarak kullanılabileceği dolayısı ile antioksidan mekanizmalarında rol oynayabileceği tahmin edilmektedir (Gleeson ve Bishop, 2000) (Şekil 1.3).

1.5.5. Kanatlılarda L-Glutaminin Çalışmaları

Kanatlılar ile yapılan çalışmalarda, L-Glutamin (L-Gln) amino asidinin farklı düzeylerde yeme veya içme suyuna ilave edilmesinin performans, mortalite, serum

biyokimyası, bağırsak histomorfolojisi, immun sistem, karkas verimi ve et kalitesi özelliklerine etkileri araştırmalara konu edilmiştir. Çalışmalardan elde edilen performans bulguları, L-Gln içeren yemleri tüketen hayvanların daha yüksek canlı ağırlık artışı sergilediği, L-Gln ilavesinin özellikle strese neden olan sıcaklık ve nem (Dai ve ark., 2009; Dai ve ark., 2011 ve Olubodun ve ark., 2015), yumurtadan çıkım sonrası 24 saat sonra yem ve su ile buluşturmak suretiyle yapılan geciktirilmiş yerleştirme uygulaması (Zulkifli ve ark., 2016), parazitler (Yi ve ark., 2005), aşılama (Mussini ve ark., 2012) ve mikrobiyal etmenler (Fasina ve ark., 2010 ve Xue ve ark., 2018) gibi olumsuz çevre ve yetiştirme koşullarının olduğu çalışmalarda performansta iyileşmelere yol açtığı bildirilmiştir. Performansta görülen olumlu etkilerin özellikle yeme %1 düzeyinde L-Gln ilave edilen hayvanlarda daha yüksek oranda gerçekleştiği belirlenmiştir (Dai ve ark., 2009; Dai ve ark., 2011; Fasina ve ark., 2010; Olubodun ve ark., 2015; Xue ve ark., 2018; Yi ve ark., 2005 ve Zulkifli ve ark., 2016). Buna karşın %1'in üzerinde L-Gln ilave edilmesinin broylerlerde performansta önemli azalmaya, hatta %4 düzeyinde toksisiteye yol açabileceği bildirilmiştir (Bartell ve Batal, 2007).

Glutamin, bağışıklık sistemi ile ilgili bağırsak florasının olgunluk ve bütünlüğünü sağlamasının yanısıra (Khan ve ark., 1999), bakteri saldırılarına karşı bir bariyer kabul edilen müsin sentezinden ve mukoza yapısının korunmasından sorumludur (Yi ve ark., 2005). Glutamin, ince bağırsak enterositler, lenfositler, makrofajlar ve fibroblastlar (Andrews ve Griffiths, 2002 ve Cynober, 1999) için temel metabolik yakıt olarak ve enfeksiyon ya da yaralanma gibi inflamatuvar koşullarda esansiyel amino asit olarak kabul edilir (Newsholme, 2001). Yapılan bir çalışmada glutaminin bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından yüksek oranda kullanılmakta olduğu ve lenfositler ile makrofajlar tarafından uygun lenfosit proliferasyonu ve sitokin üretimini desteklemek için gerekli olduğu ortaya konulmuştur (Calder, 1999). Glutamin aynı zamanda, arjinin sentezi için ön-madde olup (Adjei ve ark., 1994), farelerde timüs ve dalak boyutunu, sitokin üretimini ve lenfosit proliferasyonunu artırdığı bildirilmektedir (Reynolds ve ark., 1988 ve Wu ve ark., 2018).

Broylerlerin glutamin takviyesi ile beslenmesinde mukoza gelişimine bağlı olarak epitel hücrelerinin sayısında bir artış şekillenmekte olduğu, villusların yüksekliğinde de bir artış ve yoğunluk olduğu tespit edilmiştir (Applegate ve ark., 1999; Maiorka ve ark., 2000; Murakami ve ark., 2007; Nassiri Moghaddam ve Alizadeh-Ghamsari, 2013; Olubodun ve ark., 2015; Soltan, 2009; Uni ve ark., 1998; Wu ve ark., 2018 ve Xue ve ark., 2018). Fischer da Silva ve ark. (2007), 7-14. günler arasında yem kısıtlamasına maruz kalan broylerlere %1 L-Gln verilmesinin ornitin dekarboksilaz aktivasyonu ve protein sentezini artırarak bağırsak mukoza atrofisini engellediğini ve yem kısıtlamasına karşı etkili bir faktör olabileceğini rapor etmiştir. Sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerle yapılan bir çalışmada, %0,5 L-Gln ilavesinin nitrik oksit sentetaz ve kortikosteron konsantrasyonlarını azalttığını buna karşın insülin, göğüs eti ve abdominal yağ verimini artırdığı saptanmıştır (Dai ve ark., 2011). Glutamin, enterosit hücrelerinde hayati bir enerji kaynağı ve besin maddesi (substrat) olarak kabul edilmektedir (Lacey ve Wilmore, 1990 ve Newsholme, 2001). Bartell ve Batal (2007)'ın yaptığı bir çalışmada; broyler rasyonlarına %1 düzeyinde ilave edilen glutaminin, 21. günde kontrol grubundaki broylerlere göre; safra, ince bağırsak ve serumda IgA ve IgY düzeylerinin arttırmanın yanı sıra dalak ve timüs gelişimini teşvik ettiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada (Yi ve ark., 2001), soya-mısır temelli kanatlı rasyonlarına ilave edilen glutaminin ilk haftadaki canlı ağırlık artışını ve yemden yararlanma oranını iyileştirdiği saptanmıştır. Başka bir çalışmada soya-mısır temelli broyler rasyonlarına %1 düzeyinde glutamin ilavesinin canlı ağırlığı, kontrol grubuna göre %11 düzeyinde artırdığı gözlenmiştir (Bartell ve Batal, 2007). Rasyonlarına glutamin takviyesi yapılan süttan kesilmiş domuz yavrularında (Kitt ve ark., 2002) ve broylerlerde (Yi ve ark., 2001), ince bağırsaklarda villus yüksekliği artmıştır. Glutamin takviyesinin sıçanlarda bağırsak mukoza çoğalmasını artırdığı rapor edilmiştir (Inoue ve ark., 1993). Ayrıca glutaminin immünolojik bir savaşma esnasında farelerde bağırsak hiperpermeabilitesini ve bakteriyel translokasyonu önlediği gösterilmiştir (Adjei ve ark., 1994).

1.6. Kanatlı Beslemede Antioksidanlar

Kanatlı yemlerine doğal yem katkı maddelerinin eklenmesi, besin kullanımını artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Alagawany ve ark., 2016). Hayvan beslemede antibiyotiklerin büyüme artırıcı olarak kullanımı 2006'dan beri Avrupa ülkelerinde yasaklamıştır (Castanon, 2007). Bu nedenle, araştırma faaliyetleri üretim performansını artırmak için kanatlı hayvan beslemesinde doğal yem katkı maddesi olarak bitkiler gibi doğal alternatiflerin kullanılmasına odaklanmıştır (Abaza ve ark., 2008). *In vitro* ve hayvan modeli çalışmalarında, bazı bitki kaynaklı bileşiklerin, anti-inflamatuar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, karaciğer koruyucu, antialerjik, antitrombotik ve immünomodülatör aktivitelere sahip olduğu saptanmıştır (Middleton, 1998). Günümüzde, çok boyutlu özellikleri ve kullanılabilirlikleri nedeniyle flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar, flavanol ve antosiyaninler dâhil olmak üzere bitki kaynaklı flavonoidlerin kullanımına büyük bir ilgi vardır (Li ve ark., 2016).

Bitkiler, ürettikleri fitokimyasal maddeler ile kendilerini böcek istilasına, ultraviyole hasarına ve enfeksiyon ile hastalıklara karşı korurlar. Fitokimyasallar bunun yanında bitkilerin renk, lezzet ve aroma özelliklerini kazanmalarında da etkilidirler. Flavonoidler, fitokimyasalların bir alt sınıfı olarak sınıflandırılan ve molekül yapısına bağlı olarak kendi içerisinde alt gruplara ayrılan bir grup fitokimyasal maddedir (Nijveldt ve ark., 2001).

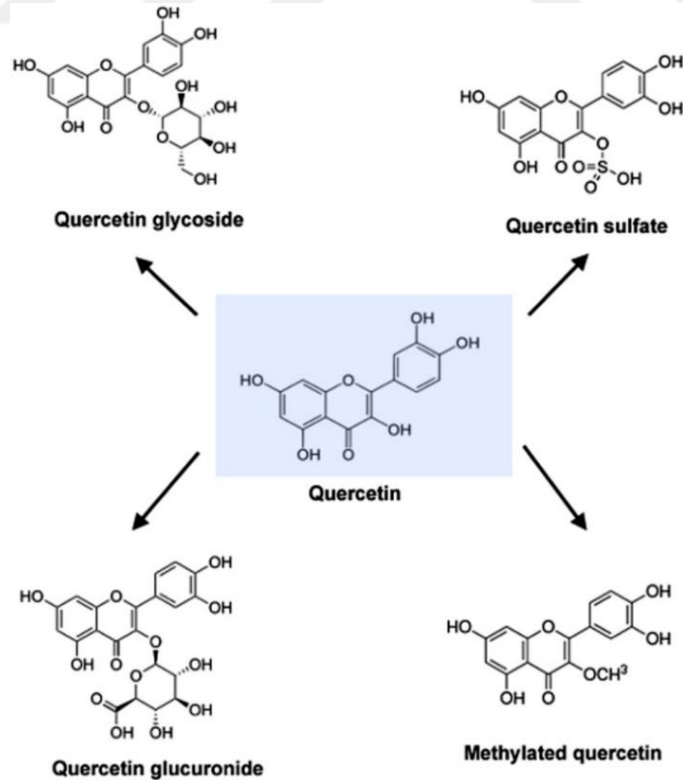
1.6.1. Kuersetin

Kuersetin, bazı meyve ve sebzelerde bulunan bir flavanol olup, mental ve fiziksel performansı iyileştirici ve enfeksiyon riskini azaltıcı biyolojik moleküllere sahiptir (Davis ve ark., 2009). Bünyesinde sahip olduğu bu moleküller, anti-karsinojenik, anti-inflamatuar, anti-viral, antioksidant ve fiziko uyarıcı aktiviteler sergileyerek lipid peroksidasyonunu, trombosit agregasyonunu ve damar geçirgenliğini engelleyebilme buna karşın mitokondriyal biyogenezini

uyarmalarından dolayı sağlık ve hastalıklara karşı direnç geliştirme konusunda potansiyel olarak gelecek vadeden araçların başında gelmektedir (Aguirre ve ark., 2011).

1.6.2. Kuersetinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kuersetin, kimyasal olarak 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4Hchromen-4-1 (Kuersetin, $C_{15}H_{10}O_7$) şeklinde ifade edilen, farklı türevleri ile flavonoidlerin 6 alt sınıfından birini oluşturan bir flavonoldur (Şekil 1.4). Kuersetin ismi, 1857 yılından bu yana kullanılmakta olup “quersetum” yani meşe ağacından türetilmiştir. Doğal olarak meydana gelen polar oksin taşıyıcı inhibitörüdür ve oksin dışı akım taşıyıcı kompleksine bağlanarak polar oksin taşınmasını engeller (Fischer ve ark., 1997). Bu ismi yanında sophoretin, meletin, quercetine, xanthaurine, quercetol, quercitin, quertine ve flavin meletin gibi birçok farklı isimlerle de anılmaktadır.



Şekil 1.4. Kuersetin ve türevlerinin moleküler yapısı (Li ve ark., 2016).

Kuersetin, doğal bir antioksidan olarak oldukça lipofilik ve hafif hidrofilik özelliktedir. Soğuk suda çözünmeyen buna karşın sıcak suda kısmen, alkol ve yağlarda ise yüksek çözünürlüğe sahip bir karakteri bulunmaktadır (Ross ve Kasum, 2002). Yapısı toz şeklinde olup rengi sarıya yakındır. Kuersetinin erime noktası 316 °C veya 601 °F'dır ve molar kütlesi 302,23 gr/mol'dür (Ades, 2009).

Kuersetinin bilinen genel formları; kuersetin glikozit, kuersetin sülfat, kuersetin glukoronit ve metile edilmiş kuersetindir (Li ve ark., 2016). Kuersetin glikozit, bir glikoz, ramnoz veya rutinoz şeker molekülünün kuersetin molekülündeki OH gruplarından birine bağlanması ile oluşur. Bağlanan bu glikozil grup yeni molekülün çözünübilirlik, emilim ve *in vitro* etkilerini değiştirebilmektedir. Bir glikozil grubunun varlığı, kuersetin glikozitin kuersetin aglikogan formuna kıyasla suda çözünübilirliğini artırmaktadır (Holmann ve ark., 1999 ve Ross ve Kasum, 2002). Bu nedenle kuersetin ismi hem kuersetin aglikoganı hem de araştırma ve besin takviyesi endüstrisinde kullanılan kuersetin glikoziti de içine alan kuersetin tipi molekülleri kapsayacak şekilde kullanılmaktadır.

1.6.3. Kuersetin Kaynakları

Kuersetin, insanlar tarafından tüketilen kapari, soğan, üzüm, elma, çay, çilek, brokoli gibi pek çok meyve ve sebzede bulunan bir flavonoiddir (Li ve ark., 2016). Meyve ve sebzelerin kuersetin içeriği birbirinden farklılık göstermektedir (Çizelge 1.1). Kapari kuersetince oldukça zengin bir kaynaktır. Bu flavonoid bitkilerin tohum, kabuk, çiçek ve yaprak kısımlarında yaygın olarak bulunmaktadır (Wiczowski ve ark., 2008). En dıştaki kırmızı soğan halkaları ve özellikle köke yakın kısımlar bu flavonoid bakımından daha zengindir (Smith ve ark., 2003). Kuersetin, meyveler ve sebzeler yanında değişik bitkilerden üretilen balda da bulunmaktadır (Petrus ve ark., 2011). *Ginkgobiloba*, *Hypericum perforatum* ve *Sambucus canadensis* gibi tıp alanında da kullanılan bitkilerde bulunmaktadır (Häkkinen ve ark., 1999; Wiczowski ve ark., 2008 ve Williamson ve ark., 2005). Avustralya'da yeşil ve siyah çaylar en yaygın kuersetin kaynaklarıdır (Somerset ve ark., 2008). Domates, kırmızı

yapraklı marul, yeşil biber ve kuşkonmaz gibi sebzeler zengin kuersetin kaynakları olarak bilinmektedir (Nishimuro ve ark., 2015).

Günlük kuersetin alımı beslenme ve yaşam alışkanlıkları ile yakından ilintili olup ülkeden ülkeye, bireyden bireye farklılık göstermektedir. Kuersetin içeriğine sahip meyve ve sebzeler ile yeşil ve siyah çayı çok tüketen toplumlarda kuersetin tüketimi de oldukça yüksektir (Li ve ark., 2016). Tüketilen gıdalar ve içeceklerle bağlı olarak günlük flavonoid (yaklaşık %75'i kuersetin kaynaklı) alımının 50 mg ile 800 mg arasında değiştiği tahmin edilmektedir (Chun ve ark., 2007).

Çizelge 1.1. Bazı sebze ve meyvelerin kuersetin içeriği (Anonim, 2014. USDA Veritabanından uyarlanmıştır).

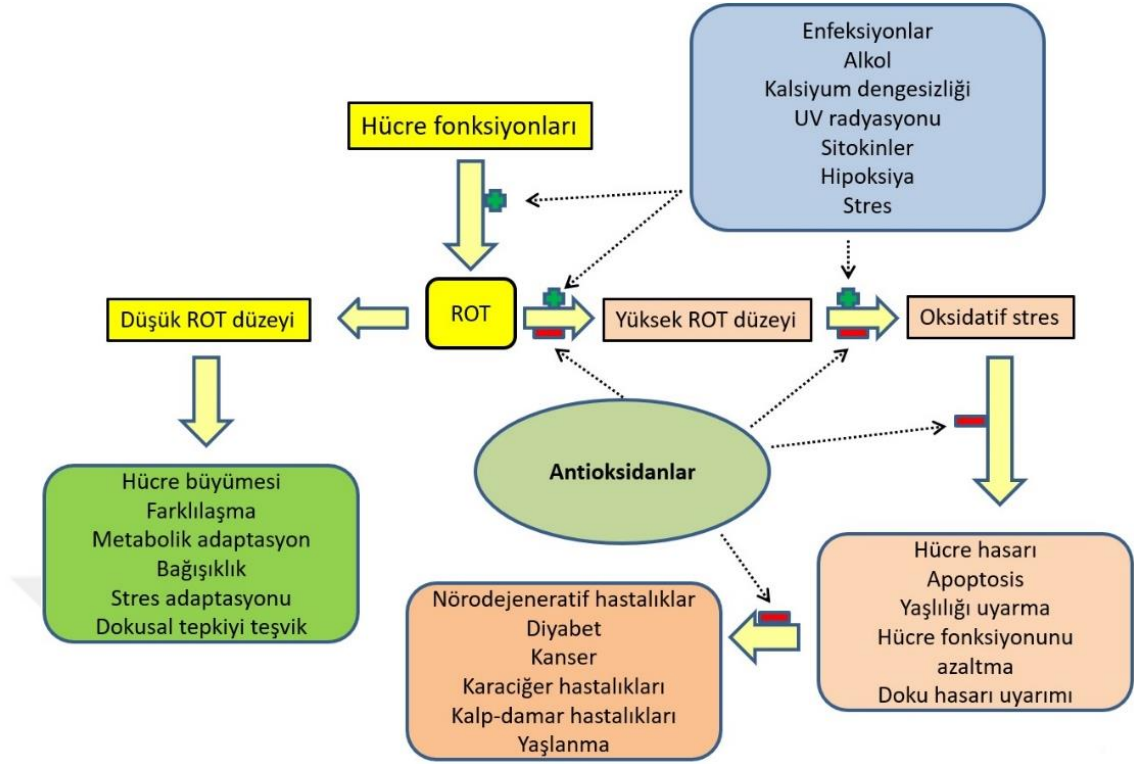
Yiyecekler	Kuersetin içeriği (mg/100 g)
Kapari	233,00
Soğan	22,00
Kakao tozu	20,00
Kızılcık	14,00
Kırmızı böğürtlen	7,40
Kuşkonmaz (pişmiş)	7,61
Yaban mersini	5,05
Elma (Red Delicious)	4,70
Kiraz	2,64
Brokoli (pişmemiş)	2,51
Elma (Fuji)	2,02
Yeşil çay	2,69
Siyah çay	1,99
Kırmızı üzüm	1,38

1.6.4. Kuersetinin Antioksidan Etkisi

Antioksidan bileşikler, kanatlı beslenmesinde lipid peroksidasyonunu düşürdüğü, organoleptik özelliklerini ve yumurta ile etin besin değerini geliştirdiği ve raf ömrünü uzattığı için gereklidir (Fellenberg ve Speisky, 2006). Flavonoidler, etkili antioksidanlar olmalarının yanı sıra immünomodülatör ve özellikle de antiinflamatuvar özelliklere sahiptir (Serafini ve ark., 2010). Kuersetinin bir antioksidan ajan olarak en etkili özelliği (Şekil 1.5), kanser, diyabet ve kronik

inflamasyon gibi çeşitli hastalıklara neden olabilen serbest radikalleri (SR) temizleme kabiliyetidir (Alrawaiq ve Abdullah, 2014). Flavonoidler, serbest radikallerin doğrudan nötralizasyonunda rol oynarken, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe etmenin yanı sıra eritrositleri hasarlardan koruyabilmektedir (Bentz, 2009). *In vitro* bir çalışmada, flavonoidlerin, süperoksit, alkoksil, peroksil ve hidroksil radikallerini temizleyerek önleyici ve zincir kırıcı antioksidanlar gibi davrandıkları ve LDL oksidasyonunu önledikleri, diğer antioksidanların temizleyici aktivitesini olumlu yönde etkileyen yüksek miktarda basit fenolik asit ürettikleri tespit edilmiştir (Pietta, 2000).

Kuersetin glikozitlerin bağırsak lumeninde hidrolizinden sonra serbest kalan aglikanlar emilim işlemleri esnasında konjuge glikoronitler ve sülfatlara dönüştürülmektedir. Kan içerisinde sirküle edilen bazı metabolitlerin serbest radikalleri etkisiz hale getirilmesi yanında lipoksigenaz ve ksantin oksidaz enzimlerini engelledikleri tespit edilmiştir (Terao, 2005). Konjuge metabolitlerin düşük hidrofilik özellikleri nedeniyle düşük oranda hedef hücrelerin içerisine girebilecekleri, buna karşın inflamasyon sürecinde β -glukorinidaz aktivitesi nedeniyle serbest hale geçen aglikonların hücre içerisine alınabilecekleri, bu sayede kuersetinin hem kan hem de hücre içerisinde biyolojik etkilerini gösterebilecekleri belirtilmektedir (Terao, 2005). Nitekim Kamada ve ark. (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada, kuersetin glikozit metabolitlerinin aortta birikerek lipid peroksidasyonunu azalttığı tespit edilmiştir.



Şekil 1.5. Antioksidanların reaktif oksijen türlerinin nötralizasyonundaki fonksiyonu ile neden olduğu biyolojik etkiler (Alrawaiq ve Abdullah, 2014).

1.6.5. Kuersetinin Kardiyovasküler Sağlık ve Kan Basıncı Üzerine Etkisi

Hipertansiyon ile kalp aritmi, koroner arter hastalığı, kalp hipertrofisi, damar tıkanıklığı ve kalp krizi gibi kardiyovasküler hastalıklar arasında doğru ve pozitif bir ilişki mevcuttur ve ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olmaktadır (Lloyd-Jones ve ark., 2010). Kan basıncı, değişik hücreler tarafından salgılanan nitrik oksit ve endotelin-1 gibi moleküllerin yer aldığı otonom sinir sistemi ve humoral mekanizmalar vasıtasıyla gerçekleştirilmektedir. Bu mekanizmalarda meydana gelen değişimler vazodilatasyonda azalma, vazokonstriksiyonda artış ve yüksek damar periferel direnci olarak kendini göstermektedir. Yüksek kan basıncının düşürülmesinde diyet değişikliği, fiziksel aktivite, kilo verme yanında yan etkileri bulunan farmakolojik araçlar da kullanılmaktadır (Sica, 2005). Diyetle alınan antioksidan vitaminler ile takviyelerin insanlarda ve hayvanlarda yüksek kan basıncını düşürdüğü bildirilmektedir (Boshtam ve ark., 2002 ve Edwards ve ark.,

2007). Bu alandaki çalışmaların bir bölümü kuersetinin kalp sağlığı ve kan basıncı üzerine yoğunlaşmış ve önemli bulgular elde edilmiştir (Larson ve ark., 2012).

Hayvanlarla yürütülen birçok çalışmada değişik deney koşullarına maruz kalan ve yüksek kan basıncına sahip olan hayvanlara kuersetin verilmesinin kan basıncını düşürdüğü belirlenmiştir (Duarte ve ark., 2001; Jalili ve ark., 2006 ve Yamamoto ve Oue, 2006). Kuersetinin sistemik etkilerinin kan damarlarının daralmasının düzenlenmesi, anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) aktivitesinin inhibe edilmesi ve damar genişletici olan nitrik oksit üretiminin uyarılması şeklinde cereyan ettiği ifade edilmektedir (Larson ve ark., 2012). Hayvanlarda yapılan çalışmalar, kuersetinin insanlarda da yüksek kan basıncının azaltılmasında benzer etkiler ortaya koyacağı düşüncesini desteklemiştir. Nitekim insanlarla yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular hayvanlardan elde edilen bulgularla benzerlikler göstermiştir (Larson ve ark., 2010 ve Larson ve ark., 2012). Kan basıncının azaltılmasında görülen etkinin büyüklüğü insanlara kıyasla hayvanlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılıklar, çalışmalarda kullanılan hayvanların daha şiddetli yüksek kan basıncına sahip olmaları yanında daha fazla kuersetin dozuna ve uygulama süresine maruz kalmaları şeklinde açıklanmaktadır.

Yüksek kan basıncına sahip hayvanların kullanıldığı model çalışmalarda oksidatif stres ile bozulmuş vazodilatasyon ve böbrek fonksiyonu arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Vaziri ve Rodriguez-Iturbe, 2006). Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda yüksek kan basıncına sahip hayvanlarda ve insanlarda kuersetin takviyesi sonucu kan basıncında görülen azalmanın oksidatif streste meydana gelen azalmadan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Duarte ve ark., 2001). Ancak diğer bazı çalışmalarda kuersetinin güçlü bir antioksidan etki ortaya koyamadığı bildirilmiştir (Jalili ve ark., 2006). Yapılan bilimsel çalışmalarda görülen kan basıncındaki azalmaların, araştırmalarda kullanılan kuersetinin miktarı ve kullanım süresine bağlı ortaya koyduğu antioksidatif etki düzeyindeki farklılık ile açıklanabileceği gibi kuersetinin kan basıncını düşürücü etkisinin oksidatif mekanizma dışında başka mekanizmalarda da oynayabileceği rol ile izah edilmektedir (Larson ve ark., 2012).

Kan basıncının düzenlenmesinde rol oynayan renin angiotensin-aldesteron sistemindeki ACE aşırı aktive edilmesinin yüksek kan basıncına ve kalp-damar sorunlarına neden olduğu bilinmektedir (Cohn, 2010). ACE aktivitesinin azaltılmasında kullanılan moleküllerin kan basıncında ve kalp-damar sorunlarında azalmaya yol açtığı belirlenmiştir (Chobanian ve ark., 2003). Farelerle yapılan bir çalışmada, ağız veya damar yoluyla verilen kuesetinin ACE aktivitesini %31 oranında azalttığı ve ACE engelleyici olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Hackl ve ark., 2002).

Kan damarlarının iç yüzeyi “endotelyum” adı verilen kalın bir yapı ile örtülüdür. Bu tabaka damar bütünlüğü ve sağlığının korunmasında önemli bir rol oynar. Endotelyal hücreler, damarların gevşemesi ve kasılmasını sağlayan nitrik oksit ve endotelin-1 gibi bazı önemli molekülleri salgılayarak kan basıncını ve kan akışını ayarlarlar (Böhm ve Pernow, 2007 ve Endemann ve Schiffrin, 2004). Endotelyal fonksiyonda ortaya çıkan sorunlar kalp ve damar sorunları ile yüksek tansiyonun şekillenmesinde etkili olurlar (Larson ve ark., 2012). Bu durumda, damar gevşetici etkiye sahip nitrik oksitin biyoelverişliliği azalırken endotelin-1 sentezi artmaktadır (Böhm ve Pernow, 2007). Endotelyal fonksiyon bozukluğu fiziksel hareket ve farmakolojik araçlarla giderilebilmektedir (Böhm ve Pernow, 2007). Kuesetin kullanımı kan basıncını azaltırken endotelyal fonksiyonda iyileşmelere neden olduğu bildirilmektedir (Duarte ve ark., 2001). Kuesetinin endotelyum üzerine doğrudan etkisi dışındaki mekanizmalar ile düz damar kaslarının gevşemesine etki ederek kan basıncını azalttığı yönünde bilimsel bulgular mevcuttur (Perez-Vizcaino ve ark., 2002). Ancak kuesetinin endotelyumdan bağımsız gevşemeyi nasıl uyurabileceğine yönelik net bir bulgu bulunmamasına rağmen, bu etkinin düz damar kaslarının kasılmasından sorumlu Ca^{2+} -algı mekanizmalarında yer alan protein kinazın engellenmesi sonucu ortaya çıktığı ihtimali üzerinde durulmaktadır (Perez-Vizcaino ve ark., 2002).

1.6.6. Kuersetinin Antidiyabetik ve Antiobezite Etkileri

Diyabet, dünya üzerinde insan ölümü ile sonuçlanan önemli metabolik hastalıklardan biridir. Süreklilik arz eden ve karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmaları ile yakından ilintili olan hiperglisemi ile karakterize edilmektedir. Bu hastalık insülin üretiminde azalma veya yoksunluk sonucu oksidatif stres uyarımı ile ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, kan glikoz düzeyinin kontrol edilmesi diyabete bağlı şekillenen sorunların önlenmesinde bir zorunluluk olarak görülmektedir (Ceriello, 2005). Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar bazı yan etkilere sahip oldukları için yeni sorunların ortaya çıkmasına neden olabilmektedirler. Bu nedenle son yıllarda diyabetin kontrol edilmesinde alternatif olabilecek fonksiyonel gıdalar ve bunların biyoaktif maddelerine olan ilgi oldukça artmıştır.

Kuersetinin, kan glikoz düzeyini ayarladığı, karaciğer glikojen miktarını ve enzim aktivitelerini artırdığı, serum kolesterolünü azalttığı bildirilmektedir (Yang ve Kang, 2018). Bunların yanında bu molekülün, diyabetik ratlarda antioksidan düzeyini artırarak oksidatif hasarı önlediği, bu sayede pankreasın insülin salgılayan hücrelerinin yenilenmesini sağlayarak insülin üretimine katkı yaptığı rapor edilmiştir (Vessal ve ark., 2003). Abdelmoaty ve ark. (2010), tarafından yürütülen bir çalışmada, deneysel olarak streptozotosin uyarımı ile diyabetik hale getirilen ratlara kuersetin (15 mg/kg CA) enjeksiyonunun hiperglisemiye önleyerek kan glikoz düzeyini ayarladığı saptanmıştır. Araştırmacılar kuersetinin antioksidan özelliği sayesinde lipid peroksidasyonunu engelleyerek hiperglisemiye önlediği sonucuna varmıştır. Eid ve ark. (2015), kuersetinin (50 µM) rat iskelet kaslarında adenosin monofosfat-aktive edilmiş protein kinazı uyarak GLUT4 translokasyonunu artırdığını ortaya koymuştur. Aynı çalışmada, HepG2 karaciğer hücrelerindeki glikojen sentezi düzeyini belirleyen glikojensentetaz aktivitesinin kuersetin enjeksiyonuna bağlı bir miktar arttığı saptanmıştır. Araştırma bulguları, kuersetinin karaciğer ve kas hücrelerindeki glikoz metabolizmasını olumlu şekilde etkilediğini ve Tip-2 diyabet tedavisinde kullanılmaya aday bir tedavi edici madde olabileceğini destekler nitelikte bulunmuştur.

Hayvanlarda ve insanlarda insülin direnci, diyabet ve kalp damar sorunları uzun zamandır obezite ile ilişkilendirilmektedir (Hotamisligil, 2006). Aşırı kiloya sahip ya da obez olan bireylerle yapılan araştırmalarda inflamasyona yol açan sitokinlerin interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve C-reaktif protein (CRP) dolaşımdaki düzeylerinin değiştiği görülmüştür (Park ve ark., 2005). Bazı araştırmacılar abdominal obezite ile vücut kitle indeksi ve toplam vücut yağı arasındaki ilişkiye önem vermektedir. Hermsdorff ve ark. (2011), IL-6, CRP ve tamamlayıcı faktör 3 düzeyleri ile abdominal yağ birikimini ilişkilendirmiştir. Diğer yandan obez olmayan bireylerde abdomendeki yağ ile CRP konsantrasyonu arasında bir ilişkinin var olduğu gösterilmiştir (Park ve ark., 2005). Bu bulgunun iç organ yağ dokusu ile deri altı yağ dokusu arasındaki ilişkiye bağlı artan bir riske işaret ettiği düşünülmektedir (Hermsdorff ve ark., 2011). Bu alanda çalışan bazı araştırmacılar, kuersetinin hepatik gen ekspresyonunda ve yağ metabolizmasında rol oynadığını göstermiş olup (Jung ve ark., 2013), C57B1/6 fareleri kullanılarak yapılan çalışmalarda kuersetinin muhtemelen lipogenez olayını regüle ederek yüksek-y yağ içeren diyetle uyarılan obeziteyi önlediği tespit edilmiştir. Kuersetin ile beslenen farelerin, tüketmeyenlere oranla daha düşük düzeyde obeziteye sahip oldukları ortaya konulmuştur. Kuersetin tüketimi sonucunda vücut ağırlığı, karaciğer ağırlığı ve toplam adipoz doku ağırlığı yanında yüksek-y yağ içeren diyetle uyarılan obezite nedeniyle artmış olan kolesterol, trigliserit gibi serum lipit konsantrasyonlarında da azalmalar kaydedilmiştir. Karaciğer ve beyaz adipoz doku ağırlığında görülen azalma ile uyumlu olarak karaciğer yağ birikimi ve epididimal yağ yastığı içindeki karaciğer lipit damlacıkları sayısında da kuersetin grubunda önemli azalmalar görülmüştür. Bu etkilerin, lipid metabolizmasında rol oynayan genlerin kuersetin aracılığı ile gen profillerinin değiştirilmesi sonucu şekillendiği düşünülmektedir.

1.6.7. Kuersetinin Anti-inflamatuar ve İmmünomodülatör Etkileri

Flavonoidler, hayvan ve kanatlı türlerinde önemli anti-enflamatuar aktivitelere sahiptir (Hodek ve ark., 2002). Daha önceki *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda kuersetinin, nötrofil fonksiyonunu ve doğal öldürücü (NK) hücre sitolitik aktivitesini arttırdığı ve doğal immün fonksiyonunun iyileşmelere yol açabileceği tespit

edilmiştir (Exon ve ark., 1998). Kuersetinin, kronik inflamasyon, transplantasyon ve otoimmünitenin önlenmesi ve tedavisinde, dendritik hücrelerin işlevinin ve aktivasyonunu sonlandırmak suretiyle kullanılabileceği bildirilmektedir (Chirumbolo, 2010). Kuersetini de kapsayan flavonoidlerin, inflamatuvar süreçlerini arttırarak düzenleyen (upregüle eden) uyarıcılara cevap olarak doğal ve adaptif bağışıklık sistemi hücrelerinden (örneğin, makrofajlar ve T hücreleri) pro-inflamatuvar ve inflamatuvar moleküllerin üretimini ayarlamak suretiyle inflamatuvar immün fonksiyonlarını azalttığı rapor edilmiştir (Kumazawa ve ark., 2006). Kuersetin, hayvan ve kanatlı türlerinde çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilebilecek anti-inflamatuvar potansiyele sahiptir (Chirumbolo, 2010 ve Orsolic ve ark., 2004). Kuersetinin broylerlerde immün fonksiyonlar üzerindeki immünomodülatör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kuersetin miktarındaki artışın IgY antikör titrelerinde de doğrusal bir artışa neden olduğu saptanmıştır (Hager-Theodorides ve ark., 2014).

Yapısal anormallikler, hücre ve mitokondriyal membranların fonksiyonlarının bozulmasına neden olan stres veya yaşlanma sonucunda vücutta aşırı derecede serbest radikaller üretilmektedir. Bu da daha fazla hastalığın oluşumuna yol açmakta ve hayvanların performansını olumsuz etkilemektedir (Seven ve ark., 2012 ve Valko ve ark., 2007).

1.6.8. Kanatlarda Kuersetin Çalışmaları

Fonksiyonel bir bağışıklık sistemi, özellikle etlik piliçlerin fiziksel teması ve dolayısıyla patojenlere maruz kalmayı arttıran sıkışık yetiştirme koşullarında, sağlığın korunması için gereklidir (Korver, 2012). Kanatlı hayvanlarda kuersetin başta olmak üzere flavonoidler üzerine yapılan çalışmalar, büyüme performansı, immün özellikleri, oksidatif düzey, serum biyokimyasal özellikleri (Kamboh ve Zhu, 2014 ve Simitzis ve ark., 2011) ve yumurta (Goliomytis ve ark., 2014 ve Ting ve ark., 2011) kalite parametreleri ve sekal mikrobiyoflora dâhil olmak üzere birçok özellik üzerine yoğunlaşmıştır.

Kuersetin, çeşitli gıdalarda bulunan ve plazma IL-10 ve IL-6'da olduğu kadar sağlık ve antioksidan kapasitesi üzerinde de olumlu etkileri olan bir flavonoiddir. Broyler yemlerine kuersetin ilavesinin oksidatif durumu iyileştirdiği, et kalitesini arttırdığı ve hayvanlarda antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Aditya ve ark., 2017; İskender ve ark., 2016; Rupasinghe ve ark., 2010 ve Sohaib ve ark., 2015). Kuersetine bağlı IgY antikor üretimi, lenfoid organ ağırlıkları (dalak, timüs ve bursa) ve doğal öldürücü hücre aktivitesinde görülen iyileşmeler bu molekülün immun düzenleyici olarak önemine işaret etmektedir (Manach ve ark., 2004). Benzer başka bir çalışmada, yeme 0,5 veya 1 g/kg düzeyinde kuersetin ilavesinin hücresel immun yanıtı toplam IgG ve IgM antikor titreleri ve *bursa Fabricius* ve timüs ağırlıklarını değiştirmede, buna karşın IgY antikor titresini artırdığı saptanmıştır. Rasyonlarına soğan ekstraktı ilave edilen broylerlerde soğan ekstraktı düzeyindeki artışa paralel olarak serum IgG konsantrasyonunda artış saptanmıştır (Kim ve ark., 2015). Yeni bir çalışmada, 0,6 g/kg düzeyinde kuersetin içeren yemleri tüketen broylerlerde dalak ve timüs organ ağırlıklarının artmasının yanında IgA, IL-4 ve IgM sekresyonunda da artışlar belirlenmiştir (Yang ve ark., 2020).

Goliomytis ve ark. (2014), kanatlı rasyonlarında flavonoid kullanımının büyüme performansı, karkas özellikleri, et ve yumurta kalitesi, oksidatif durum parametreleri üzerindeki olumlu etkilere sahip olabileceğini belirtmiştir. Kuersetinin, sentetik antibiyotik (izoproterenol) ile tedavi edilen sıçanlarda immün fonksiyon (IL-10, IL-1, IL-8), aspartat transaminaz (AST) ve kreatin kinaz aktivitelerini önemli ölçüde uyardığı saptanmıştır (Liu ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda kuersetinin, *in vitro* olarak parainfluenza virüs tip 3 ve adenovirüs (etlik piliçlerde nekrotik pankreatit kaynağı) gibi diğer virüslere karşı enfektivite ve replikasyonu azaltıcı antiviral aktiviteler sergilediği bulunmuştur (Choi ve ark., 2009 ve Ganesan ve ark., 2012). Kuersetin, kemik mineral yoğunluğunun ve kemik hacminin iyileştirilmesinde, kemik dokusunun mikro yapısının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Tsuji ve ark., 2009).

Broyler rasyonlarına kuersetin bakımından zengin (118 ila 237 mg/100 g) ve immun artırıcı bir etkiye sahip olan erik tozu ilavesinin, fekal oosit atılımını azalttığı,

dalak hücre proliferasyonunu önemli ölçüde artırdığı ve *Eimeria acervulina*'ya dirençli piliçlerde IL-15 ve interferon mRNA ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2007). Kuersetin, piliçlerde asites (pulmoner hipertansiyon sendromu) gibi otoimmün hastalıkların kontrolünde önemli antioksidan aktivitelere sahiptir (Iqbal ve ark., 2002). Piliçlerde yapılan bir çalışmada Sohaib ve ark. (2016), kuersetin ve alfatokoferol ile takviye edilmiş rasyonların, broyler etinin oksidatif stabilitesini, tekstürünü, rengini ve duysal özelliklerini iyileştirdiği ve ayrıca lipitlerin oksidatif bozulmasını azaltarak tüketici kabulünü artırdığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, yeme ilave edilen kuersetinin, yumurta verimi, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı oksidatif stabilitesine olumlu etki ettiği ve yumurtanın depolama süresinin uzatılmasında kullanılabileceği rapor edilmiştir (Goliomytis ve ark., 2015; Liu ve ark., 2014; Simitzis ve ark., 2018 ve Sohaib ve ark., 2015).

Kim ve ark. (2015), kuersetinin etlik piliçlerin rasyonlarına ilave edilmesinin performansı arttırdığını ve kan parametreleri üzerinde olumlu bir etki sağladığını göstermiştir. Kuersetin içeren rasyonlarla beslenen yumurta tavuklarında, hepatik süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi gibi antioksidan enzimlerin modülasyonu ve intestinal mikrobiyota düzenlemesi ile performans üzerinde olumlu etkiler göstermiştir (Rupasinghe ve ark., 2010). Son yıllardaki bazı çalışmalarda, flavonların ve izoflavonların, etlik piliçlerin plazma antioksidan durumunu iyileştirebileceği (Kamboh ve Zhu, 2014) ve sıcaklık stresinde açığa çıkan serbest radikalleri azaltması nedeniyle sıcaklık stresinde biyolojik belirteçlerini pozitif olarak değiştirebileceği rapor edilmiştir. Yem kısıtlaması veya bakteriyel enfeksiyonlar gibi strese neden olan etmenlerin olumsuz etkilerinin hafifletilmesinde kuersetinin potansiyel bir araç olabileceği bildirilmektedir (Sun ve ark., 2020 ve Zulkifli ve ark., 2011). Ayrıca, kuersetinin dolaşımdaki endotokseminin hayvan üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletebileceği yanında (Kamboh ve Zhu, 2014), antimikrobiyal olarak da kullanılabileceği yönünde araştırma bulguları mevcuttur (Wang ve ark., 2018).

1.7. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkarit (LPS) bir endotoksin olup, gram negatif bakterilerin hücre duvarının temel bir bileşenidir. Yapılan birçok çalışmada, LPS'nin yüksek dozunun (500-1000 µg/kg, CA) broylerlerde endotoksemiye neden olduğu bildirilmiştir (Bowen ve ark., 2009 ve Xie ve ark., 2000).

LPS, gram negatif bakteriyel hücre duvarının dış zarında bulunan bir glikolipittir. Bakteriyel LPS tipik olarak lipid A olarak bilinen hidrofobik bir alan, tekrar etmeyen bir çekirdek oligosakkarit ve bir distal polisakkaritten oluşur (Elin ve Wolff, 1976 ve Raetz ve Whitfield, 2002). Hidrofobik lipid A alanı, LPS molekülünün biyolojik olarak aktif bir kısmıdır ve eşanlamli immün hücrelerini uyarma yeteneğinden ötürü "endotoksin" olarak bilinir (Erridge ve ark., 2002). Bir *Escherichia coli*'de difosile edilmiş hekzasil lipid A, moleküllerinin, bağışıklık sisteminin etkili uyarıcıları oldukları gösterilmiştir. Çünkü bunlar memeli bağışıklık sistemi tarafından en iyi şekilde tanınır. Mono-fosforilatlı veya fosforile edilmiş LPS moleküllerinin, kuvvetlerini ve bağışıklık tepkimelerini önemli ölçüde yitirdikleri gösterilmiştir (Holst ve ark., 1996 ve Munford, 2005). Bununla birlikte, monofosforlanmış lipid A, güçlü bir adjuvan olup, insanlar için kullanılan aşılarla uygun formüle edilmektedir. Doymuş yağ asitleri doymamış yağ asitleri ile değiştirilirse, ortaya çıkan LPS molekülü zayıflatılmış bir bağışıklık yanıtı indükler (Kitchens ve ark., 1992 ve Munford ve Hall, 1986). LPS, canlı bakterilerden veya ölü bakterilerin hücre duvarı bileşenleri olarak sistemik dolaşıma girebilir. Her iki durumda da miktarlar çok büyükse, anabolik büyümeyi antagonize edebilir (Kimball ve ark., 2003) veya nihayetinde septik şok ve ölüme yol açabilirler (Moore ve Morris, 1992). LPS sadece bakteriyel ölüm sırasında değil, aynı zamanda büyüme ve bölünme sırasında da açığa çıkan bir kontaminant haline gelir (Petsch ve Anspach, 2000 ve Yaron ve ark., 2000).

LPS'nin biyolojik aktivitesi endotoksin ünitesi (EU) ile ölçülür. Örneğin, 100 pg LPS'nin 1 EU etkinliğine sahip olduğu kabul edilir veya 10 EU 1 ng LPS'ye eşittir. Tek bir gram negatif bakteri yaklaşık 10^{-15} g LPS içerir ve 10^5 bakteri 1 EU

üretebilir. Tek bir *E. coli*'nin yaklaşık 10^6 lipit A kalıntısı içerdiği gösterilmiştir (Raetz ve ark., 1991). Ayrıca, tek tek LPS moleküllerinin büyüklüğü, monomerik formda ve amfifilik doğa nedeniyle 10 ila 20 kDa arasında değişmektedir; 1.000 kDa'ya ulaşan büyük misel yapıya kendilerini düzenleyebilirler.

1.8. Çalışmanın Hipotezi ve Amacı

Yapılan literatür araştırmalarında kanatlı rasyonlarına ilave edilen L-Glutaminin; daha yüksek canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranında iyileşme, olumsuz çevre koşullarında performansta iyileşme (Dai ve ark., 2009; Fasina ve ark., 2010 ve Olubodun ve ark., 2015), mukoza gelişimine bağlı epitel hücre sayısında artış, villus yüksekliğinde ve yoğunluğunda artış (Applegate ve ark., 1999; Maiorka ve ark., 2000 ve Murakami ve ark., 2007), sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerlerde göğüs eti ve abdominal yağ veriminde artış (Dai ve ark., 2011), serum IgY ve IgA düzeylerinde artış, dalak ve timüs gelişimini (Bartell ve Batal, 2007) teşvik ettiği bildirilmektedir.

Kanatlı yemlerine kuersetin ilavesinin ise; oksidatif durumu iyileştirdiği, et kalitesini arttırdığı, antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu (Aditya ve ark., 2017; İskender ve ark., 2016 ve Rupasinghe ve ark., 2010), IgY, IgG antikor üretimini ve lenfoid organ ağırlıklarını iyileştirdiği, dalak ve timüs organ ağırlıklarında artış, IgA, IgM ve IL-4 sekresyonunda artışa neden olduğu rapor edilmektedir (Manach ve ark., 2004; Kim ve ark., 2015; Yang ve ark., 2020).

Çalışmada kullanılacak yem katkı maddelerinin rasyonlara katılarak broylerlere verildiğinde hem bağırsak sağlığını korumasını hem de immun sistemi destekleyerek yapılması planlanan FTS ve LPS epruvasyonuna bağlı olarak ortaya çıkması beklenen strese yönelik, sağlığı ve performans parametrelerini olumlu yönde desteklemesi istenmiştir. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda esansiyel olmayan bir aminoasit olan L-glutamin'in kanatlı çalışmalarında LPS epruvasyonu sonrasında elde edilen bulgular yönünden yetersiz kaldığı, karaciğerde antioksidan kapasitesine

olan etkileri açısından literatürde eksiklikler bulunduğu için çalışmada kullanılmasına karar verilmiştir.

Bu doktora tezi çalışmasında; broylerlere uygulanan LPS ile bağışıklık sisteminin uyarılması sağlanıp, rasyonlara belirli düzeylerde katılan glutamin ile bağırsak bariyerindeki müsin salgısı artırılarak bakterilere karşı pasif bağışıklığın daha fazla sağlanması, kuersetin ile bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi amaçlanmaktadır. Flavonoid türlerinden birisi olan kuersetin, önemli bir antioksidan etkiye sahiptir. Aynı zamanda et kalitesinde iyileştirmeyi teşvik etmektedir. Kuersetin bu özellikleri ile glutaminin bilinen etkilerine destek vereceği öngörüldüğü için kombine olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde LPS eprüvasyonu yapılan broylerlerin rasyonlarına hem glutamin hem de kuersetinin ayrı ayrı ve/veya birlikte kombine olarak katıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenle glutamin ve kuersetinin broyler rasyonlarına bireysel ve/ya kombine olarak katılarak etkilerinin; performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı), kanda IgY seviyesi ölçümü, ince bağırsakta (jejunum) histomorfolojik analizler (villus uzunluğu, kript derinliği, villus uzunluğu/kript derinliği, *T. muscularis* kalınlığı), karaciğerde; malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), toplam antioksidan kapasitesi (T-AOC), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerinin ölçümü yapılarak, antioksidan kapasitesi yönünden incelenmiş olması bu çalışmanın özgünlüğünü ortaya koymaktadır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak, 1 günlük yaşta, 400 adet Ross 308 erkek broyler civciv kullanılmıştır. Her biri 100 civcivden oluşan 4 grup ve her bir grup 10 civcivden oluşan 10 alt gruba ayrılmıştır. Deneme, her biri 90 cm uzunluğunda, 80 cm genişliğinde ve 80 cm yüksekliğindeki toplamda 40 bölmede, bir kontrol grubu (K), üç deneme grubu Glutamin (G), Kuersetin (Q) ve Glutamin + Kuersetin (G+Q) olacak şekilde yürütülmüştür. Çalışma, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)'nin 2015-10-129 sayılı kararı ile onaylanmıştır (Ek-1).

2.1.2. Yem Materyali

Deneme ve kontrol grubu rasyonlarının temelini mısır ve soya küspesi oluşturmuştur. Her bir gruba civciv döneminde (0-21. gün) etlik civciv başlangıç yemi (%22,52 HP ve 3060 kcal/kg ME), piliç döneminde ise (22-42. gün) etlik piliç büyütme yemi (%21,54 HP ve 3108 kcal/kg ME) verilmiştir. Kontrol grubu, rasyonlarına herhangi bir ilave yapılmaksızın temel rasyon ile beslenirken, deneme grupları rasyonlarına ise sırasıyla; glutamin %1 (10 g/kg), kuersetin %0,05 (0,5 g/kg) ve %1 glutamin + %0,05 kuersetin ilave edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi

Deneme, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği-Broyler Deneme Kümesinde yürütülmüştür. Yerde altlık sisteminde barındırılan civcivlerin günlük tüketebilecekleri miktarda yem sürekli olarak yemliklerde bulundurulmak suretiyle *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanlar 6 hafta süresince deneme rasyonları ile beslenmiştir.

Küme termometre asılarak kümes sıcaklığı araştırma süresi boyunca düzenli olarak takip edilmiştir. Gündüz gün ışığı, gece ampullerle 24 saat aydınlatma sağlanmıştır. Ortamın ısıtılmasında elektrikli ısıtıcılardan yararlanılmıştır. İlk hafta kümes içerisinde ortamın sıcaklığının 32-35 °C olmasına özen gösterilmiştir, bu sıcaklığın son iki haftaya kadar olan döneminde 22-24 °C düzeylerinde, son iki hafta içerisinde ise 20 °C düzeylerinde bulunmasına dikkat edilmiştir. Gece ve gündüz arasında sıcaklık farkının oluşmamasına özen gösterilmiştir. Havalandırma, boyutları 40x40 cm olan 3 adet vantilatör ve 70x90 cm olan 4 adet pencere ile sağlanmıştır.

Su ihtiyacı, her bölmede bulunan iki adet damla tipi (nipel) sulukla karşılanmış, deneme öncesi dezenfekte edilen su deposu düzenli olarak kontrol edilerek civcivlerin taze ve temiz su içmeleri sağlanmıştır. Suluk boyları hayvanların büyümesine paralel olarak haftalık yükseltilmiştir. Yemler, her bölmede birer adet bulunan özel plastik yemliklerle verilmiştir. Plastik yemlikler hayvanların büyümesine paralel olarak altı desteklenerek düzenli olarak yükseltilmiştir. Deneme sürecinde ilk iki hafta 25 cm çapında, 12 kg kapasiteli civciv yemliği, sonraki haftalar (3-6. haftalar) 35 cm çapında ve 15 kg kapasiteli piliç yemlikleri kullanılmıştır. Denemenin yapıldığı kümesin tabanında altlık olarak odun talaşı (orta kalınlıkta) kullanılmıştır. Deneme boyunca altlık düzenli olarak kontrol edilmiş ve ıslandığında temizlenerek, temiz talaş dökülmüştür. Altlık zaman zaman kontrol edilerek nem miktarının %25'i geçmemesine özen gösterilmiştir.

2.2.2. Deneme Düzeni

Denemenin 0-21. günleri arasında kontrol, G, Q ve G+Q gruplarında yer alan broylerler sadece beslenme yönünden farklılık göstermek suretiyle çalışma yürütülmüştür. Bu süre zarfında toplamda 400 adet broyler, 4 ana besleme grubu içinde yer alan ve her birinde 10 alt grupta 10'ar adet hayvan bulunan padoklarda beslenmiştir.

Denemede beslenme gruplarının yanında bir de LPS ve FTS (Fizyolojik Tuzlu Su) enjeksiyonuna bağlı olarak ortaya çıkacak olan etkileri incelemek üzere; her gruptaki hayvanların yarısına (toplamda 200 hayvan) 21. günde intraperitoneal *Salmonella enteritidis* LPS (ATCC 13076; L6011; Sigma Aldrich) enjeksiyonu yapılmıştır. Her gruptaki hayvanların diğer yarısına ise (toplamda 200 hayvan) enjeksiyon hacmi 2 ml/kg (CA) olacak şekilde steril fosfat tamponlu tuzlu su (FTS) verilmiştir (Shang ve ark., 2015). Enjeksiyon hacmi 2 mg/kg canlı ağırlık (CA) olarak belirlenmiştir. Enjeksiyon için 0,5x16 mm (25G) boyutlarında, tek kullanımlık steril enjektör iğnesi kullanılmıştır.

Deneme düzeni 21-42. günleri arasında ise 400 adet hayvan, 4 ana besleme grubu (K, G, Q ve G+Q), her ana grubun altında iki enjeksiyon grubu (FTS ve LPS), her enjeksiyon grubu altında 5'er adet alt grup ve her alt grup altında da 8'er adet (21.günde her alt gruptan 2'şer adet hayvan kesilmiştir) broyler olmak üzere çalışma devam etmiştir.

2.2.3. Karma Yemlerin Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan konsantre yem karmalarının ham besin madde miktarları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarlarında AOAC'de (2000), bildirilen metotlara göre

belirlenmiştir. Metabolize olabilir enerji düzeylerinin hesaplanmasında ise TSE (1991)'nin önerdiği formül kullanılmıştır.

2.2.4. Araştırma Rasyonlarının Hazırlanması

Araştırmada kullanılan yem hammaddeleri piyasadan temin edilmiştir. Rasyona ilave edilen katkı maddeleri (glutamin ve kuersetin) ise Shanghai Brightol International Co. Ltd. (Shanghai, China) firmasından ithalat yoluyla sağlanmıştır. Rasyonlar, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Deneme Ünitesi'nde hazırlanmıştır. Hammaddelerin besin madde analizleri tamamlandıktan sonra rasyonlar formüle edilmiştir. Araştırmada bir kontrol ve 3 deneme rasyonu oluşturulmuştur (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2). Rasyon bileşimleri NRC (1994), verilerine göre hazırlanmıştır.

Çizelge 2.1. Deneme Gruplarının Rasyonları (0-21 gün).

Deneme Gruplarının Rasyonları (0-21 gün)				
	K	Q	G	GQ
Ham Madde, %				
Mısır	55,67	55,62	56,91	56,86
Soya Küspesi,HP 48%	36	36	33,5	33,5
Bitkisel Yağ	4	4	4,1	4,1
Mermer Tozu	0,48	0,48	0,5	0,5
DCP	2,45	2,45	2,45	2,45
DL-Metiyonin	0,38	0,38	0,40	0,40
L-Lizin HCl	0,34	0,34	0,43	0,43
L-Threonin	0,18	0,18	0,21	0,21
Tuz	0,25	0,25	0,25	0,25
Vitamin Premiks ¹	0,1	0,1	0,1	0,1
Mineral Premiks ²	0,1	0,1	0,1	0,1
Kolin Klorit	0,05	0,05	0,05	0,05
Glutamin	0	0	1	1
Kuersetin	0	0,05	0	0,05
Toplam	100	100	100	100
Hesapla Bulunan				
Kuru Madde, %	87,97	87,98	88,05	88,05
Ham Protein, %	22,52	22,52	22,53	22,53
AME _n , kcal/kg	3060	3059	3057	3055
Ham Kül, %	5,82	5,82	5,71	5,71
Ham Yağ, %	6,81	6,81	6,91	6,91
Ham Selüloz, %	2,76	3,10	2,68	2,68
Lizin, %	1,44	1,44	1,44	1,44
Sind. Lizin, %	1,28	1,28	1,28	1,28
Metiyonin + Sistein, %	1,08	1,08	1,06	1,06
Sind. Met. + Sistein, %	0,95	0,95	0,95	0,95
Threonin, %	1,00	1,00	1,00	1,00
Sind. Threonin, %	0,86	0,86	0,86	0,86
Glutamin, %	3,72	3,74	4,56	4,56
Kalsiyum, %	0,97	0,97	0,97	0,97
Toplam Fosfor, %	0,88	0,88	0,88	0,88
Yararlan. Fosfor, %	0,48	0,48	0,48	0,48

1 Vit A 12 000 000 IU/kg, Vit D3 2 500 000 IU/kg, Vit E 40 000 mg/kg, Vit K3 5 000 mg/kg, Vit B1 2 500 mg/kg, Vit B2 6 000 mg/kg, Vit B6 5 000 mg/kg, Vit B12 20 mg/kg, Pantotenik Asit 15 000 g/kg, Niasin 25 000 mg/kg, Folik Asit 1 000 mg/kg, Biotin 50 mg/kg.

2 Bakır 5 000 IU/kg, İyot 1 000 IU/kg, Kobalt 200 mg/kg, Selenyum 150 mg/kg, Demir 60 000 mg/kg, Çinko 60 000 mg/kg, Manganez 80 000 mg/kg.

Çizelge 2.2. Deneme Gruplarının Rasyonları (21-42 gün).

Deneme Gruplarının Rasyonları (21-42 gün)				
	K	Q	G	GQ
Ham Madde, %				
Mısır	57,75	57,70	59	59
Soya Küspesi, HP 48%	34	34	31,49	31,44
Bitkisel Yağ	4,4	4,4	4,5	4,5
Mermer Tozu	0,35	0,35	0,35	0,35
DCP	2,34	2,34	2,34	2,34
DL-Metiyonin	0,315	0,315	0,37	0,37
L-Lizin HCl	0,235	0,235	0,32	0,32
L-Threonin	0,11	0,11	0,15	0,15
Tuz	0,25	0,25	0,25	0,25
Vitamin Premiks ¹	0,1	0,1	0,1	0,1
Mineral Premiks ²	0,1	0,1	0,1	0,1
Kolin Klorit	0,05	0,05	0,05	0,05
Glutamin	0	0	1	1
Kuersetin	0	0,05	0	0,05
Toplam	100	100	100	100
Hesapla Bulunan				
Kuru Madde, %	87,92	87,93	88,00	88,01
Ham Protein, %	21,54	21,54	21,55	21,54
AME _n , kcal/kg	3108	3106	3104	3104
Ham Kül, %	5,50	5,50	5,37	5,36
Ham Yağ, %	7,25	7,25	7,35	7,35
Ham Selüloz, %	2,72	2,72	2,64	2,64
Lizin, %	1,30	1,30	1,30	1,30
Sind. Lizin, %	1,15	1,15	1,15	1,15
Metiyonin + Sistein, %	0,98	0,98	0,99	0,99
Sind. Met. + Sistein, %	0,87	0,87	0,87	0,87
Threonin, %	0,90	0,90	0,90	0,90
Sind. Threonin, %	0,77	0,77	0,77	0,77
Glutamin, %	3,59	3,59	4,39	4,39
Kalsiyum, %	0,88	0,88	0,88	0,88
Toplam Fosfor, %	0,84	0,84	0,84	0,84
Yararlan. Fosfor, %	0,44	0,44	0,44	0,44

¹ Vit A 12 000 000 IU/kg, Vit D₃ 2 500 000 IU/kg, Vit E 40 000 mg/kg, Vit K₃ 5 000 mg/kg, Vit B₁ 2 500 mg/kg, Vit B₂ 6 000 mg/kg, Vit B₆ 5 000 mg/kg, Vit B₁₂ 20 mg/kg, Pantotenik Asit 15 000 g/kg, Niasin 25 000 mg/kg, Folik Asit 1 000 mg/kg, Biotin 50 mg/kg.

² Bakır 5 000 IU/kg, İyot 1 000 IU/kg, Kobalt 200 mg/kg, Selenyum 150 mg/kg, Demir 60 000 mg/kg, Çinko 60 000 mg/kg, Mangan 80 000 mg/kg.

2.2.5. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışının Belirlenmesi

Bu amaçla, hayvanlar denemenin 0, 7, 14, 21, 28, 35 ve 42. günlerde bireysel olarak tartılıp canlı ağırlıkları belirlenmiş ve alt grup ortalamaları alınmıştır. Tartımlar arasındaki farktan yararlanılarak canlı ağırlık artışları hesaplanmıştır.

2.2.6. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi

Araştırmanın 7, 14, 21, 28, 35 ve 42. günlerinde yemliklerde kalan yem miktarı, o hafta içerisinde her tekrar grubuna verilen toplam yem miktarından çıkartılarak her alt grubun bir hafta içerisinde tükettiği yem miktarı bulunmuştur. Bu miktar mevcut hayvan sayısına bölünerek yem tüketimleri, tekrar grupları ve grupların ortalamaları olarak hesaplanmıştır. Hayvanların deneme başlangıcından itibaren iki tartım aralığında tükettikleri ortalama yem miktarı, bu iki tartım aralığında belirlenen ortalama canlı ağırlık artışlarına bölünerek yemden yararlanma oranları bulunmuştur.

2.2.7. Ölüm Oranının Belirlenmesi

Araştırma süresince ölümler kayıt altına alındı ve deneme sonunda ölüm oranları hesaplanmıştır.

2.2.8. Kesim İşlemi

Araştırmanın 21. ve 42. günlerinde her alt gruptan 2 adet hayvan alt grup ağırlık ortalaması dikkate alınarak seçilmiş ve toplamda $40 \times 2 \times 2 = 160$ adet hayvan kesilmiştir. Denemenin 21. gününde kesilen 80 hayvanın 40'ı FTS enjeksiyonu, 40'ı LPS enjeksiyonu yapılan alt gruplardan seçilmiştir. Bu hayvanlardan kan, karaciğer ve ince bağırsak numuneleri (jejenum) alınmıştır.

Denemenin 42. gününde kesilen 80 hayvanın yine 40'ı FTS enjeksiyonu, 40'ı LPS enjeksiyonu yapılan alt gruplardan seçilmiştir. Bu hayvanlar karkas parametrelerinin değerlendirilmesi amacıyla uygun yöntemler ile kesilmiştir.

2.2.9. Sıcak Karkas Randımanlarının Belirlenmesi

Denemenin 42. gününde her alt gruptan 2 adet (1 LPS enjeksiyonlu gruptan, 1 FTS enjeksiyonlu gruptan) olmak üzere toplamda 80 adet etlik piliç kesilerek sıcak karkas ağırlıkları belirlenmiştir. Sıcak karkas ağırlıkları, kesim öncesi ağırlıklara bölünerek sıcak karkas randımanları aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Zanini ve ark., 2004).

$$\text{Sıcak Karkas Randımanı, \%} = \frac{\text{Canlı Karkas Ağırlığı (g)}}{\text{Canlı Ağırlık (g)}} \times 100$$

2.2.10. Yaşama Gücünün Belirlenmesi

Her dönem sonunda yaşama gücü aşağıdaki eşitlik ile bulundu:

$$\text{Yaşama Gücü, \%} = \frac{\text{Canlı Piliç Sayısı}}{\text{Başlangıçtaki Cıvcıv Sayısı}} \times 100$$

2.2.11. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörünün (EPEF) Belirlenmesi

Araştırma sonunda, her alt grubun Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (European Production Efficiency Factor-EPEF) aşağıdaki eşitlik ile bulunmuştur:

$$\text{EPEF} = \frac{\text{Canlı Ağırlık (kg)} \times \text{Yaşama Gücü (\%)}}{\text{Yaş (gün)} \times \text{Yemden Yararlanma Oranı}} \times 100$$

2.2.12. Total Bağırsak, Karaciğer, Kalp, Taşlık, Dalak ve Bursa Fabricius Ağırlığının Belirlenmesi

Her hayvana ait karaciğer, kalp, taşlık, dalak, *bursa Fabricius* ve bağırsakların ağırlıkları ± 10 mg'a duyarlı terazi ile tartılarak belirlenmiştir. Söz konusu bu organların ağırlıkları kesim öncesi canlı ağırlıklara bölünerek, oranları hesaplanmıştır.

2.2.13. Kan ve Doku Analizleri

Denemenin 21. gününde her alt gruptan kesilen iki hayvandan; kan, karaciğer ve ince bağırsak numuneleri (jejunum) alınmıştır. Söz konusu numunelerde;

- 1) Kanda immunglobulin Y (IgY) seviyesi ölçümü (21. günde LPS ve FTS enjeksiyonundan sonra 4. saatte alınan kanlarda),
- 2) İnce bağırsakta (jejunum) histomorfolojik analizler,
 - a) Villus yüksekliği,
 - b) Kript derinliği,
 - c) *T muscularis* kalınlığı,
 - d) Villus genişliği,
 - e) Villus yüksekliği/kript derinliği,
- 3) Karaciğerde antioksidan kapasitesi yönünden;
 - a) Malondialdehit (MDA)
 - b) Süperoksit dismutaz (SOD),
 - c) Toplam antioksidan kapasitesi (T-AOC),
 - d) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

seviyelerinin ölçümü yapılmıştır.

2.2.13.1. Kanda İmmunglobulin Y (IgY) Seviyesi Ölçümü:

i) Örnek Hazırlama

Analizlerde örneklerden IgY ölçümü için, her bir test örneğinin kullanımından önce seyreltilmesi gerekmektedir. Bu nedenle analiz sonucunda sağlıklı veriler elde edebilmek için serum örneğinin en uygun seyreltme düzeyi olan 1/50000 oranında seyreltilmesi yapılmıştır.

Örneklerden 1/50 000 seyreltme hazırlamak için; numuneden 5 µl, 1X seyrelticiden 495 µl alınarak karıştırılmıştır. İlk etapta bu şekilde 1/100 düzeyinde seyreltilmiş çözelti elde edilmiştir. Sonra, hazırlanan 1/100'lük çözeltiden 2 µl, 1X seyrelticiden 998 µl alınarak, yeni bir çözelti hazırlanmıştır. Böylece örnekler 1/50 000 düzeyinde seyreltilmiştir. Her iki aşamada da çözeltiler homojenitenin sağlanması açısından iyice karıştırılmıştır (Abcam, 2013).

ii) Analizin Gerçekleştirilmesi

- 1) Tüm malzemeler ve hazırlanan reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına ulaşınca kadar bekletilmiştir.
- 2) Tüm standartlardan, kontrol gruplarından ve numunelerden analizler için ikişer tekerrür olacak şekilde analiz başlatılmıştır.
- 3) Önceden belirlenmiş kuyucukların içine, kontrol grubu da dahil olmak üzere, ikişer tekerrür olarak; 100'er µl standart ilave edilmiştir.
- 4) Önceden belirlenmiş kuyulara, ikişer paralel olarak, numunelerden (örnek) 100'er µl ilave edilmiştir.
- 5) Oda sıcaklığında otuz dakika (30 ± 2 dk) boyunca bir mikrotitre plak üzerinde inkübe edildi. Inkübasyon sırasında plakanın üzeri kapalı olmasına ve düz tutulmasına dikkat edilmiştir.
- 6) Inkübasyonu takiben, kuyucukların içinden muhtevalar aspire edilmiştir.
- 7) Uygun koşullarda seyreltilmiş 1x Yıkama Tamponu (Wash Buffer) ve aspirat ile her bir kuyucuğun içi iyice doldurulmuştur. Toplamda dört defa

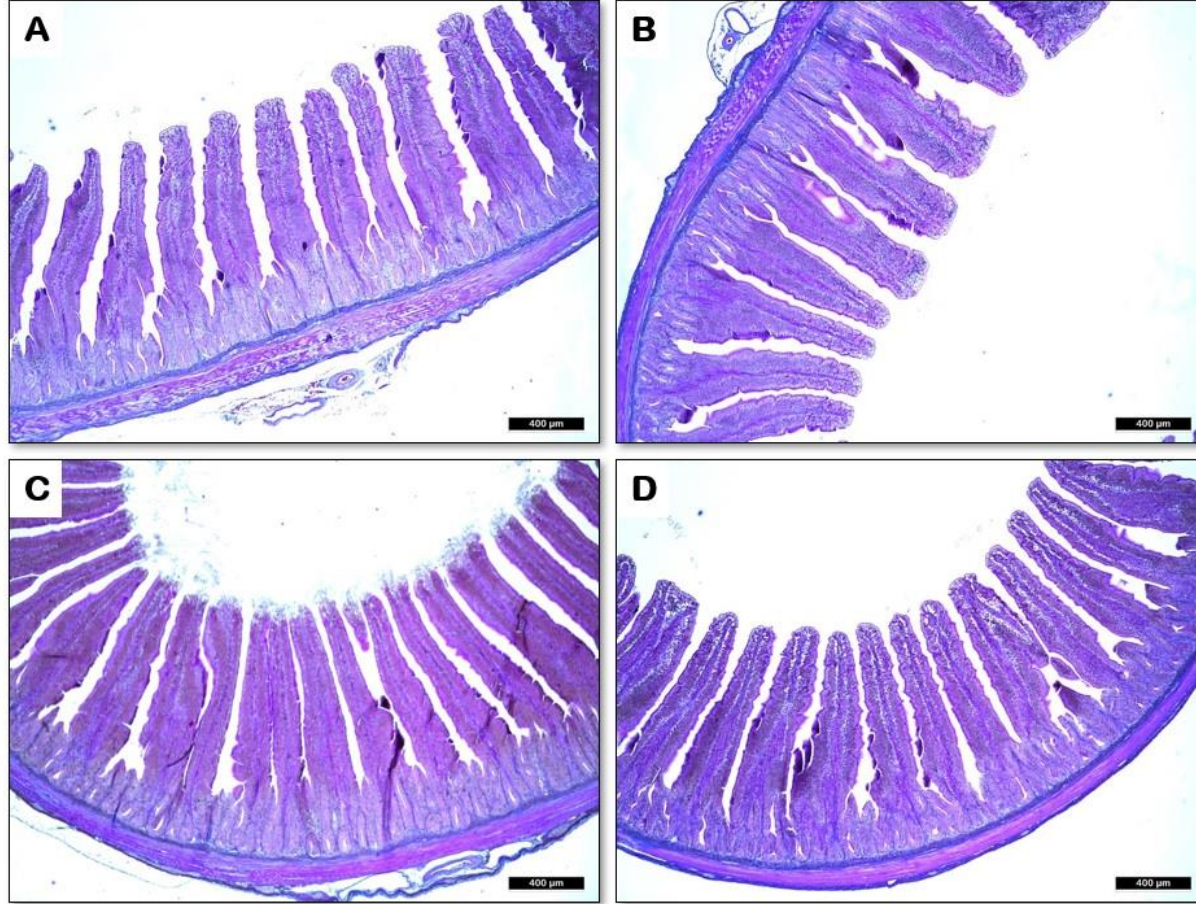
yıkama, üç kez tekrarlanmıştır. Yıkama elle yapıldı ve kuyucukların içi Yıkama Tamponu (Wash Buffer) ile tamamen doldurulmuştur, daha sonra plaka ters çevrilerek bir çöp bidonu içerisine sallanarak tamamen dökülmüştür. Kuyucuk içerisinde kalan Wash Buffer'ın, plakanın emici bir kâğıt üzerine hafifçe vurulması suretiyle uzaklaştırılması sağlanmıştır. Bu şekilde toplamda dört defa yıkama, üç kez tekrarlanmıştır.

- 8) Her kuyuya uygun 1X Enzim-Antikor Konjugatından 100'er µl eklendi ve otuz dakika (30 ± 2 dk) süreyle oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında plakanın bulunduğu ortamın karanlık ve üstünün kapalı olmasına dikkat edilmiştir.
- 9) Plakalardaki kuyucuklar 6. ve 7. maddelerde ifade edildiği gibi yıkandı ve kurutma kâğıdıyla kurulmuştur.
- 10) Her kuyucuğa 100'er µl TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) Substrat Solüsyonundan ilave edilmiştir.
- 11) Plaklar, tam olarak on (10) dakika süreyle oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiştir.
- 12) On dakika sonra, her bir göze, Durdurma Çözeltisi'nden (Stop Solution) 100'er µl ilave edilmiştir.
- 13) Her bir kuyucuktaki içeriğin ticari preparatların üretici talimatlarına göre en uygun absorbansı 450 nm olarak hesaplandı ve 96'lık otomatik plaka okuyucu (Plate Reader) kalibre edilerek, plakalar okunmuştur.

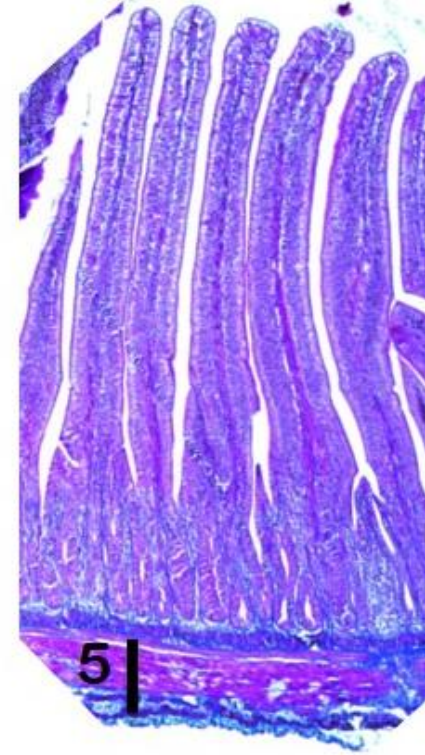
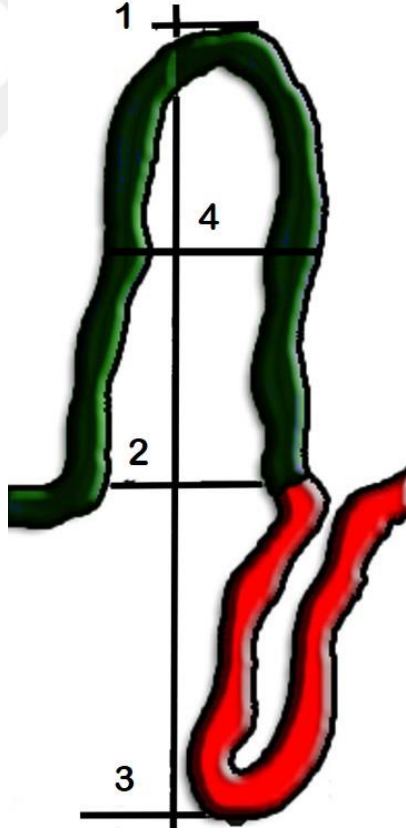
2.2.13.2. İnce Bağırsakta Histomorfolojik Analizler:

Histomorfolojik incelemeler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, denemenin 21. gününde deneme düzeninde bulunan 40 alt grubun (4×10) her bir bölmesinden rastgele seçilen 1 adet civciv, uygun yöntemler ile kesilerek (her bir grup için toplam $4 \times 20 = 80$ adet civciv) bağırsakları hızla karkastan ayrılmıştır. Doku örneklerinde, her bir hayvan için tek bir örnekliliğin sağlanması amacıyla jejunum için; Meckel divertikulumunun 8 cm proksimalinden örnekler alınmıştır. Her bir bağırsaktan alınan 1 cm boyundaki jejunum parçaları ilk önce FTS ile

yıkandıktan sonra %10 tamponlu formolde 24 saat süre ile tespit edilmiş ve sonrasında dereceli alkollerden, ksilolden geçirilerek paraplasta bloklanmıştır. Bloklardan alınan 5 µm'lik kesitlerde, villus yüksekliği (VY, villus tepe noktasından kript ağzına kadar), kript derinliği (KD, kriptin bazalinden kript ağzına kadar), villus yüksekliği:kript derinliği oranı (VY:KD) açısından değerlendirilmek üzere Mallory'nin üçlü boyaması yapılmıştır (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). Alınan kesitlerden Leica DM 2500 marka araştırma mikroskobu kullanılarak çekilen fotoğraflar, Leica Application Suite programında işlenerek ölçeklendirme işlemi yapılmıştır. Sonrasında ImageJ programı kullanılarak her bir bağırsak kesiti için ölçüm işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ölçüm işlemlerinde, her bir civcivden alınan jejunum örneklerinde rastgele belirlenen 10'ar adet villus ve kript dikkate alınmıştır. Alınan jejunum örneklerinde ayrıca *Tunica muscularis* kalınlığı ve villus genişliği ölçümleri de yapılmıştır.



Şekil 2.1. 21 günlük yaştaki etlik piliçlerde jejunum histomorfolojisi.
(A: Kontrol; B: Glutamin; C: Kuersetin; D: Kuersetin + Glutamin) Mallory'nin üçlü boyaması, 400 µm.



Şekil 2.2. Jejunum'daki histomorfolojik incelemelerde ölçülen parametreler.

1-2 Villus Yüksekliği (VY), 2-3 Kript Derinliği (KD), 4 Villus Genişliği (VG), 5 *Tunica muscularis* (Tm).

2.2.13.3. Karaciğerde Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

a) Malondialdehit (MDA) Seviyelerinin Ölçümü:

i) Örnek hazırlama (Doku homojenatinin hazırlanması)

Alınan numunelerde karaciğer dokusundan yaklaşık 25 mg tartılmış ve 1.5 ml'lik bir santrifüj tüpünün içerisine konulmuştur. Analiz için uygun proteaz inhibitörleri içeren RIPA tampon'undan tüpün içerisine 250 µl eklenmiştir. Buz üzerinde 40 V gerilim ile 15 saniye ultrasonik banyoya tabi tutulmuştur. Tüpler, 4 °C'de 10 dakika boyunca 1600 x g'de santrifüjlenmiş, ardından analiz için kullanılacak olan süpernatant elde edilmiştir. Elde edilen süpernatant buz üzerinde beklemeye alınmış ve ardından aynı gün analiz safhasına geçilmiştir (Cayman Chemical, 2015b; Scoccia ve ark., 2001).

ii) Analizin gerçekleştirilmesi

- 1) 1,5 ml mikrosantrifüj viyallerin (veya benzer boyut vidalı kapaklı şişe) kapakları üzerlerine standart numara veya örnek tanımlama numaraları yazılarak, etiketlenmeleri yapılmıştır.
- 2) Üzerleri numune ve standartların konulmasına uygun şekilde etiketlenen viyallere numune ve standartlardan 100'er µl eklenmiştir.
- 3) Tüplere %10'luk TCA (Trichloroacetic acid) Deney Ayrıcından (TCA Assay Reagent) 100'er µl eklenmiş ve vorteks yöntemiyle karıştırılmıştır.
- 4) Her viyale Renk Reaktifi (Color Reagent)'nden 800 µl eklenerek vortekslenmiştir.
- 5) Viyaller kaynama sırasında dik tutulacak şekilde uygun plastik raklara yerleştirilmiştir.
- 6) Viyaller, kaynar su banyosuna konularak bir saat boyunca kaynatılmıştır.

- 7) Bir saat sonra, reaksiyonu durdurmak için viyaller hemen buz banyosu içine alınmış ve 10 dakika süreyle buz üzerinde inkübe edilmiştir.
- 8) 10 dk sonra, 4 °C'de 1600 g'de 10 dk boyunca şişeler santrifüj edilmiştir.
- 9) Şişeler, 30 dakika boyunca oda sıcaklığında stabil olarak bekletilmiştir.
- 10) Dikkatli bir şekilde her viyalden ikişer kez 200'er µl pelet (topak) alınıp, açık renkli (colorimetric version) plakaya transfer edilmiştir.
- 11) Absorbans değeri 540 nm'de olmak suretiyle, 530 nm'lik bir eksitasyon dalga boyunda ve 550 nm'lik bir emisyon dalga boyunda floresan değeri okunmuştur.

b) Süperoksit Dismütaz (SOD) Seviyelerinin Ölçümü:

i) Örnek hazırlama (Doku homojenatının hazırlanması)

Doku homojenatları ve hücre lizatları için aşağıda belirtilen işlemler ile toplam SOD aktivitesi (sitozolik ve mitokondriyal) analizi yapılmıştır: İki enzimi ayırmak için önce 1 500 x g santrifüj yapılmış, sonra 4 °C'de 15 dk boyunca 10 000 x g'de süpernatant elde edilmiştir. Bu işlem sonucunda elde edilen süpernatant; sitozolik ve pelet mitokondriyal SOD içermektedir. Soğuk tampon maddesi içinde mitokondriyal pelet homojenize edilmiş ve ardından analiz safhasına geçilmiştir (yani, 20 mM Hepes, pH 7,2, 1 mM EGTA içeren, 210 mM mannitol ve 70 mM sükroz (Cayman Chemical, 2015c; MacMillan-Crow ve ark., 1996 ve Marklund, 1979).

ii) Analizin gerçekleştirilmesi

- 1) SOD standardının konulduğu kuyucuklar hazırlanırken seyreltilmiş Radikal Dedektör'den 200 µl ve plaka üzerinde belirlenen kuyulara kuyu başına 10 µl Standart eklenmiştir.
- 2) Örneklerin konulduğu kuyucuklar hazırlanırken; seyreltilmiş Radikal Dedektörü 200 µl ve ardından örneklerden 10'ar µl eklenmiştir. (Not: Analiz sırasında herhangi bir inhibitör madde kullanılacaksa, kuyucuklara

seyreltilmiş Radikal Dedektöründen 190 µl, inhibitör maddeden 10 µl, örnekten ise 10 µl eklenmelidir)

- 3) Kullanılan tüm kuyucuklara seyreltilmiş 20 µl Ksantin Oksidaz eklenerek reaksiyonlar başlatılmıştır. Reaksiyona başlama zamanı hassas olduğu için, mümkün olduğunca çabuk Ksantin Oksidaz eklemesi yapılmıştır.
- 4) Daha sonra 96 kuyucuk içeren plaka birkaç saniye karıştırılarak plakanın kapağı kapatılmıştır.
- 5) Hazırlanan plaka bir çalkalayıcı üzerine konularak oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakılmış, devamında plaka okuyucu kullanılarak 460 nm'de absorbans değeri okunmuştur.

c) Toplam Antioksidan Kapasitesi (T-AOC) Seviyelerinin Ölçümü:

i) Örnek hazırlama (Hücre lizatının hazırlanması)

Karaciğer dokusu, santrifüj edilerek (4 °C'de 10 dk 2 000 x g) sonrasında hücreler toplanmıştır. Yapışık hücreleri toplamak için proteolitik enzimleri kullanmak yerine kauçuk bir çubuk kullanılmıştır. Hücre topağı, soğuk tampon (5 mM potasyum fosfat, pH 7,4, %0,9 sodyum klorür ve %0,1 glukoz içeren) 1-2 ml buz üzerinde ultrasonik banyoya tabi tutulmuştur. Daha sonra 4 °C'de 15 dk süre ile 10 000 x g ile santrifüj edilmiştir. Analiz için süpernatant alınmış ve buz üzerine konularak analiz safhasına geçilmiştir (Cayman Chemical, 2015d ve Rice-Evans ve Miller, 1994).

ii) Analizin gerçekleştirilmesi

- 1) Trolox standartlarının hazırlanması: Yedi adet temiz cam test tüpü alınarak üzerlerine A'dan G'ye kadar harf işaretleri yazılmıştır. Çizelge 2.3'de tarif edildiği miktarlardaki gibi, her bir tüpe yeniden Trolox® ve analiz tampon maddesi eklenmiştir.

Çizelge 2.3. Trolox standart hazırlama

Tüp	Sulandırılmış Trolox	Deney Tamponu	Nihai Konsantrasyon
A	0	1000	0
B	30	970	0,045
C	60	940	0,090
D	90	910	0,135
E	120	880	0,18
F	150	850	0,225
G	220	780	0,330

- 2) Trolox Standardının konulduğu kuyucuklar hazırlanırken; Trolox standardından 10 µl (tüpler A-G), Metmyoglobin'den 10 µl ve plaka üzerinde belirlenen kuyulara, kuyu başına Chromogen'den 150 µl eklenmiştir.
- 3) Örneklerin konulduğu kuyucuklar hazırlanırken; numunelerden 10 µl, Metmyoglobin'den 10 µl ve iki kuyuya Chromogen'den 150 µl eklenmiştir.
- 4) Kullanılan tüm kuyucuklara seyreltilmiş 40 µl Hidrojen Peroksit eklenerek reaksiyonlar başlatılmıştır. Mümkün olduğunca çabuk Hidrojen Peroksit eklemeleri yapılmıştır (bir dakika içinde eklenmesi tavsiye edilir).
- 5) Analiz yapılan plağın üzeri kapak ile örtülerek oda sıcaklığında beş dakika boyunca bir çalkalayıcı (shaker) üzerinde inkübe edilmiştir. Daha sonra plağın kapağı çıkarılıp, bir plak okuyucusu kullanılarak 405 nm'de absorbans değeri okunmuştur.

d) Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Seviyelerinin Ölçümü:

i) Örnek hazırlama (Doku homojenatının hazırlanması)

Canlıdan alınan doku, diseksiyon yapılmadan önce üzerindeki kan hücrelerinden ve pıhtılarından arındırılabilmesi amacıyla pH'sı 7,4 olan bir PBS

(fosfat tamponlu tuzlu su) ile yıkanmıştır. Dokunun her bir gramı; 10 ml'lik soğuk tampon (50 mM Tris-HCl, pH'sı 7,5 olan 5 mM EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) ve 1 mM DTT (threo-1,4-Dimercapto-2,3-butanediol) içinde homojenize edilmiş, ardından 4 °C'de 15 dakika boyunca 10 000 x g'de santrifüj edildi. Analiz için süpernatant alınmış ve buz üzerine konulduktan sonra analiz safhasına geçilmiştir (Cayman Chemical, 2015a; Rice-Evans ve Miller, 1994).

ii) Analizin gerçekleştirilmesi

- 1) Kontrol ve enzimatik olmayan numunelerin konulduğu kuyucuklar hazırlanırken; üç kuyuya Deney Tamponundan (Assay Buffer) 120 µl ve ko-substrat karışımından 50 µl eklenmiştir.
- 2) Pozitif kontrol kuyucukları (sığır eritrosit GPx) hazırlanırken; üç kuyucuğa Deney Tamponundan (Assay Buffer) 100 µl, ko-substrat karışımından 50 µl ve seyreltilmiş GPx'ten (kontrol) 20 µl eklenmiştir.
- 3) Örneklerin konulduğu kuyucuklar hazırlanırken; üç kuyucuğa Deney Tamponundan (Assay Buffer) 100 µl, ko-substrat karışımından 50 µl ve örneklerden 20 µl eklenmiştir. Tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için kuyucuklara GPx eklenmiştir, absorbans azalmasının 0,02 ve 0,135/dak arasında bir değerde olduğu için işlemler mümkün olduğu kadar hızlı yapılmıştır (Not: Kuyucuklara eklenen örnek miktarları her zaman 20 µl olmalıdır).
- 4) Kullanılacak tüm kuyucuklara seyreltilmiş 20 µl Sümen Hidroperoksit (Cumene Hydroperoxide) eklenerek reaksiyonlar başlatılmıştır. Reaksiyona başlama zamanı hassas olduğu için mümkün olduğunca hızlı Sümen Hidroperoksit (Cumene Hydroperoxide) eklemesi yapılmıştır.
- 5) Daha sonra 96 kuyucuk içeren plak birkaç saniye karıştırılmıştır.
- 6) Plaklardaki numunelerin absorbans değerleri 5 farklı sonuç elde etmek amacıyla bir plaka okuyucu yardımıyla 340 nm'de her dakika ölçülmek suretiyle 5 dk boyunca ölçülmüştür.

2.2.14. İstatistik Analizler

Veriler, parametrik test varsayımlarından normallik varsayımı için grup büyüklüğünün 50'den küçük olması durumunda Shapiro-Wilks testi, 50'den büyük olması durumunda Kolmogrov-Smirnov Testi ile kontrol edildi. Shapiro-Wilks ve Kolmogrov-Smirnov Testi için hesaplanan p değerlerini $\alpha = 0.05$ 'ten küçük olduğu durumlarda normal dağılım göstermediği durumda verilerin normal dağılıp dağılmadığı çarpıklık katsayılarına bakılarak test edildi ve çarpıklık katsayısı +1 -1 arasında değiştiğinden verilerin normal dağılım gösterdiği saptandı (Büyüköztürk, 2012). Varyansların homojenliği varsayımı için ise Levene testi yapıldı. Gruplar arasında mortalite oranı bakımından bir farklılığın olup olmadığının kontrolünde Ki-Kare Testi kullanıldı.

Araştırmada, elde edilen verilerin istatistiksel analizinde GLM prosedürüne göre 4 (Grup) x 2 (LPS +/-) faktöriyel desende iki yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutuldu (SPSS, version 14.01, Chicago, IL). Gruplar arası farklılığın belirlenmesinde ise Tukey testinden yararlanıldı. Tüm istatistiki analizler minimum %5'lik hata payı temelinde değerlendirildi (Dawson ve Trapp, 2001).

Glutamin, Kuersetin ilavesinin etkisini incelemek için oluşturulan gruplarda (Kontrol, Glutamin, Kuersetin, Glutamin+Kuersetin) haftalık ortalama canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranının farklılaşma durumunu incelemek için varyans analizi (ANOVA) testi yapıldı. Glutamin, Kuersetin ilavesinin etkisini incelemek için oluşturulan gruplar ile enjeksiyon yapılan grupların (FTS-LPS) etkileşimine göre haftalık ortalama canlı ağırlığı, ortalama canlı ağırlık artışı, ortalama yem tüketimi, ortalama yemden yararlanma oranı, ortalama karkas ağırlıkları, sıcak karkas randımanları, çeşitli karkas parametreleri, organ ağırlıkları, IgY ve karaciğer antioksidan kapasitesi (MDA, SOD, T-AOC, GSH-Px) verilerinin deneme grupları ve enjeksiyona göre incelenmesinde de üzerindeki etkisini incelemek için iki yönlü varyans analizi (iki yönlü ANOVA) kullanılmıştır. Histoloji verilerinin deneme grupları ve enjeksiyona göre incelenmesinde de iki yönlü ANOVA kullanılmıştır. Histoloji verilerinin QL, QF, GL, GF, GQL, GQF, KL ve KF

uygulamalarından sonra alınan tekrarlı 10 ölçümünü arasında anlamlı farklılık olup olmadığı tekrarlı ölçümler ANOVA ile incelenmiştir.



3. BULGULAR

3.1. Performans

3.1.1. Canlı Ağırlık (CA)

Araştırmanın 0-21. günleri süresince gruplardan elde edilen haftalık ortalama canlı ağırlık (CA) verileri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. İlk 14 gününde CA bakımından gruplar arasında önemli farklılık şekillenmemiştir. Araştırmanın 21. gününde kontrol ve deneme gruplarının (Glutamin, Quercetin ve Glutamin+Quercetin) (G, Q, G+Q) ortalama CA değerleri sırasıyla 727,96; 771,44; 771,13; 756,14 g olarak belirlenmiştir. Denemenin 0-21. günlük periyodunda kontrol grubunda elde edilen değer, deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CA değerlerinden önemli derecede ($P<0,001$) düşük olduğu saptanmış olup, deneme gruplarında CA değerleri benzer bulunmuştur.

Araştırmanın 21-42. günlerinde ortalama CA verileri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Denemenin 21. gününde kontrol ve deneme gruplarına yapılan LPS ve FTS enjeksiyonlarından sonra 42. günde elde edilen ortalama CA değerleri hem LPS enjeksiyonundan ($P<0.016$) hem de rasyonlara glutamin ve /veya kuersetin ilavesinden ($P<0.000$) önemli derecede etkilenmiştir. Ancak LPS enjeksiyonu ile rasyona glutamin ve/veya kuersetin ilavesi arasında interaksiyon bulunmamıştır ($P=0,193$).

Araştırmanın 42. gününde FTS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CA değerleri ise sırasıyla 2835; 2925; 2935; 2613 g olarak belirlenmiştir. Araştırmanın 42. gününde LPS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CA değerleri ise sırasıyla 2753; 2902; 2702; 2575 g olarak belirlenmiş ve en düşük CA değeri (2575 g) GQ grubundan elde edilirken, en yüksek CA G (2902 g) grubundan elde edilmiştir.

3.1.2. Canlı Ağırlık Artışı (CAA)

Araştırmanın 0-21. günleri süresince grupların ortalama canlı ağırlık artışı (CAA) verileri Çizelge 3.1’de sunulmuştur. Deneme grupları arasında 7 ve 14 günlük yaşta CAA bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$). Araştırmanın 21. gününde ise kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CAA değerleri sırasıyla 687,77; 731,25; 730,96; 715,94 g olarak belirlenmiş ve deneme grupları benzer iken kontrol grubunda CAA önemli derecede ($P<0,001$) düşük bulunmuştur.

Araştırmanın 21-42. günleri süresince gruplardan elde edilen haftalık ortalama CAA verileri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Araştırmanın 21-42. günleri arasında, FTS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CAA değerleri ise sırasıyla 2103; 2147; 2156; 1873 g olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0,05$). LPS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama CAA değerleri ise sırasıyla 2029; 2137; 1939; 1804 g olarak belirlenmiş ve gruplar arasında önemli ($P<0,05$) farklılık ortaya çıkmıştır.

Kontrol ve deneme gruplarının CAA üzerinde hem LPS enjeksiyonunun hem de rasyonlara glutamin ve/veya kuersetin ilavesi önemli derece farklılık yaratırken LPS enjeksiyonu ile diyet arasında önemli interaksiyon tespit edilmemiştir ($P>0,05$).

3.1.3. Yem Tüketimi (YT)

Araştırmanın 0-21. günleri süresince grupların haftalık yem tüketim (YT) değerleri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Gruplar arasından 0-14 günlerde yem tüketimi birbirine benzer bulunmuştur. Araştırmanın 0-21. günlük periyodu ele alındığında; kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama YT değerleri sırasıyla 557,85; 539,65; 548,46; 535,57 g olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ve deneme grupları arasında YT değeri bakımından önemli derecede bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0,05$).

Araştırmanın 21-42. günleri süresince grupların haftalık YT değerleri Çizelge 3.2’de sunulmuştur. Denemenin 21. gününde kontrol ve deneme gruplarına yapılan LPS ve FTS enjeksiyonlarından sonra 42. güne dek haftalık olarak takip edilen ortalama YT değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($P<0,05$). Araştırmanın 21-42. günleri arasında, FTS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama YT değerleri sırasıyla 3463; 3443; 3591; 3105 g olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Araştırmanın 42. gününde LPS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama YT değerleri ise sırasıyla 3401; 3413; 3284; 3164 g olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Kontrol ve deneme gruplarına (G, Q, G+Q) denemenin 21. gününde uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonlarının YT değerleri açısından gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$). Ayrıca araştırmada kontrol ve deneme gruplarına (G, Q, G+Q) denemenin 21. gününde uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonları ile beslenme farklılıkları yönünden de gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

3.1.4. Yemden Yararlanma Oranı (YYO)

Araştırmanın 0-21. günleri süresince grupların yemden yararlanma oranı (YYO) (kg yem tüketimi/kg canlı ağırlık artışı) değerleri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Denemenin 0-7. ve 0-14. günlük dönemlerinde kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) ortalama YYO değerleri arasında bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$). Ancak Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere 0-21. günlerde YYO değerleri sırasıyla 1,452; 1,332; 1,338; 1,349 olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

Araştırmanın 21-42. günleri süresince grupların YYO değerleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Denemenin 21. gününde kontrol ve deneme gruplarına yapılan LPS ve FTS enjeksiyonlarından sonra 42. güne dek haftalık olarak takip edilen YYO değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($P<0,05$). Çizelge 3.2’de görüldüğü

üzere araştırmanın 21-42. günlük döneminde FTS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) yemden yararlanma oranları sırasıyla 1,647; 1,605; 1,669; 1,659 olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Araştırmanın 21-42. günlük döneminde LPS enjeksiyonu yapılmış kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) yemden yararlanma oranları sırasıyla 1,680; 1,597; 1,694; 1,753 olarak belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Kontrol ve deneme gruplarına (G, Q, G+Q) denemenin 21. gününde uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonlarının YYO değerleri açısından gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$). Ayrıca araştırmada kontrol ve deneme gruplarına (G, Q, G+Q) denemenin 21. gününde uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonları ile beslenme farklılıkları yönünden de gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

3.1.5. Mortalite Oranı

Araştırmanın sadece yem faktörünün değişken olduğu 0-21. günlük döneminde mortalite oranları açısından kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$; Çizelge 3.1). Denemenin 21. gününde kontrol ve deneme gruplarına yapılan LPS ve FTS enjeksiyonlarından sonra 42. güne dek haftalık olarak takip edilen mortalite oranları arasında istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$).

3.1.6. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF)

Araştırmadaki deneme gruplarına ait olan Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF), Çizelge 3.3'te görüldüğü üzere, sadece yem faktörüne bağlı olan 0-21. günlük dönem (Şekil 3.1) ve denemenin 21. gününde araştırma gruplarına uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonlarından sonraki 21-42. günlük dönem (Şekil 3.2) için ayrı olarak hesaplanmıştır.

Denemenin 0-21. günler arasında besleme gruplarında (K, G, Q, G+Q) bulunan Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü sırasıyla 234; 273; 275; 268 olarak hesaplanmıştır. Deneme gruplarında beslenmeye bağlı olarak bu dönemde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($P<0,000$). Araştırmanın 21. gününde beslenme gruplarına uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonları sonrasında 21-42. günlerdeki Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü, FTS enjeksiyonu uygulanan grupta (K, G, Q, G+Q) bulunan hayvanlarda sırasıyla 403; 436; 421; 366 olarak hesaplanmış ve istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ($P<0,019$). LPS uygulanan grupta (K, G, Q, G+Q) bulunan hayvanlarda ise sırasıyla 360; 424; 373; 329 olarak hesaplanmış ve yine istatistiksel yönden anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P<0,001$).

3.2. Sıcak Karkas Ağırlığı ve Randımanı

Grupların ortalama sıcak karkas ağırlığı ve karkas randımanları Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Deneme sonunda, FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların CA ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 3039; 2981; 3022; 3029 g ve karkas ağırlıkları ise sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 2264; 2243; 2184; 2250 g olarak belirlenmiştir. Deneme sonunda, LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların CA ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 2970; 2997; 2959; 2899 g ve karkas ağırlıkları ise sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 2221; 2243; 2201; 2142 g olarak belirlenmiştir. CA ortalamaları yönünden deneme gruplarında beslenmeye ($P=0,85$), FTS-LPS enjeksiyonlarına ($P=0,065$) ve bu iki parametrenin etkileşimine bağlı ($P=0,481$) olarak istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır ($P>0,05$). Karkas ağırlık ortalamaları yönünden deneme gruplarında beslenmeye ($P=0,428$) ve FTS-LPS enjeksiyonlarına ($P=0,245$) bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Ayrıca bu iki parametrenin etkileşimine bağlı olarak da istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır ($P=0,432$).

Araştırmanın sonunda Çizelge 3.4'te görüldüğü üzere, FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda (K, G, Q, G+Q) kesilen hayvanların karkas randımanları sırasıyla %74,54; 75,24; 72,35; 74,29 olarak hesaplanmıştır. LPS enjeksiyonu yapılan

gruplarda (K, G, Q, G+Q) kesilen hayvanların karkas randımanları sırasıyla %74,75; 74,82; 73,29; 73,96 olarak hesaplanmıştır. Deneme gruplarında beslenmeye (P=0,110), FTS-LPS enjeksiyonlarına (P=0,076) ve bu iki parametrenin etkileşimine bağlı (P=0,667) olarak istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır (P>0,05).

3.3. Karkas Parametreleri ve İç Organ Ağırlıkları

Deneme sonunda değerlendirilen çeşitli organ ağırlıklarına ilişkin bulgular Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Araştırmada kontrol ve deneme gruplarına (G, Q, G+Q) uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonlarının total bağırsak ağırlığı, karaciğer ağırlığı, kalp ağırlığı, dalak ağırlığı, taşlık ağırlığı ve *bursa Fabricius* organlarının ağırlıklarına olan etkilerine bakılmış olup; beslenme, FTS-LPS enjeksiyonları ve bu iki uygulamanın etkileşimi yönünden gruplar arasında görülen farklılıklar, enjeksiyon faktörünün karaciğer ağırlığına olan etkisi haricinde, istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Karaciğer ağırlığı karkas ağırlığına oranı yapılarak, yüzdelik dilime çevrilmiştir. Ardından deneme gruplarında (K, G, Q ve GQ) 21. günde yapılan FTS ve LPS enjeksiyonuna bağlı olarak istatistiksel açıdan önemli farklılık bulunmuştur (P=0,006). Karaciğer ağırlığının deneme gruplarının beslenmesi (P=0,535) ile deneme ve enjeksiyon etkileşimi (P=0,983) yönünden istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır.

3.4. Kanda İmmunglobulin Y (IgY) Seviyesi

Deneme gruplarına denemenin 21. gününde yapılan FTS ve LPS enjeksiyonunun kan serumunda immunglobulin Y (IgY) düzeyine etkisi Çizelge 3.6'da verilmiştir. Deneme sonunda, FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların IgY seviyesi ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 1,94; 1,89; 1,27; 0,84 ng/ml olarak belirlenmiştir. LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların

IgY seviyesi ortalamaları ise sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 1,99; 2,23; 1,94; 1,38 ng/ml olarak belirlenmiştir. IgY seviyesi ortalamaları yönünden deneme gruplarında beslenmeye ($P=0,002$) ve FTS-LPS enjeksiyonlarına ($P=0,034$) bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edilmiştir. Ancak bu iki parametrenin etkileşimine bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır ($P=0,669$).

3.5. Jejunum Histomorfolojisi

Jejunumda histomorfolojik ölçüm verilerinin deneme grupları ve enjeksiyona göre incelenmesi Çizelge 3.5'te sunulmuştur. Villus yüksekliği, deneme gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterir iken ($P<0,001$), yapılan enjeksiyona (FTS ve LPS) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($P=0,251$). FTS enjeksiyonunun yapıldığı hayvanlarda en kısa villus yüksekliğinin G grubu deneklerine ait olduğu, K ve G+Q grubu deneklerde benzer villus yüksekliğinin olduğu ve en uzun villus yüksekliğinin ise Q grubundaki deneklerde olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$). LPS enjeksiyonunun yapıldığı hayvanlarda villus yüksekliğinin Q ve G+Q gruplarındaki deneklerde en yüksek ve birbirine benzer olduğu, K grubunun en düşük ve daha sonra G grubundaki deneklerin villus yüksekliğine sahip olduğu saptanmıştır ($P<0,001$). Enjeksiyon ve deneme grupları arasındaki etkileşimin önemli olduğu tespit edilmiştir ($P=0,002$).

Kript derinliği hem yapılan enjeksiyona hem de deneme gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($P<0,01$). FTS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda K ve G+Q grubundaki deneklerin kript derinliğinin eşit olduğu ve en düşük sayısal değere sahip olduğu, ancak diğer G ve Q gruplarındaki deneklerden istatistiksel açıdan herhangi bir anlamlı farklılığa sahip olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). LPS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda G ve G+Q gruplarındaki deneklerin kript derinliğinin diğer gruplarınkinden daha fazla olduğu görülürken, Q grubundaki deneklerin kript derinliğinin en az değere sahip olduğu belirlenmiştir ($P=0,003$). Ayrıca LPS enjeksiyonunun yapıldığı deneklerin kript derinliklerinin FTS enjeksiyonu yapılanlara göre ortalama olarak daha az olduğu tespit edilmiştir.

Enjeksiyon ve deneme grupları arasındaki etkileşiminin önemli olduğu saptanmıştır ($P=0,01$).

Villus genişliği hem yapılan enjeksiyona hem de deneme gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($P<0,05$). FTS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda Q grubunun en yüksek değere sahip olduğu, ardından G grubunun geldiği, K ve G+Q gruplarındaki deneklerin diğerlerine göre daha düşük ve birbirine benzer değerlere sahip olduğu görülmüştür ($P<0,05$). LPS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda G, Q ve G+Q gruplarındaki deneklerin villus genişliğinin K grubundan fazla olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca LPS enjeksiyonu yapılan deneklerin villus genişliğinin FTS enjeksiyonu yapılanlara göre ortalama olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Villus genişliği için enjeksiyon ve deneme gruplarının etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P=0,002$).

Villus yüksekliğinin kript derinliğine oranı (VY:KD) hem yapılan enjeksiyona hem de deneme gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($P<0,01$). FTS enjeksiyonunun yapıldığı hayvanlarda (VY:KD) oranının G grubunda diğer gruplara göre sayısal değer olarak daha düşük olduğu görülmektedir, ancak FTS uygulaması yapılan gruplar arası istatistiksel açıdan fark görülmemektedir ($P>0,05$). LPS enjeksiyonunun yapıldığı hayvanlarda (VY:KD) oranının en yüksek Q grubunda olduğu ($P<0,001$), K, G ve G+Q gruplarının birbirine benzer değerlere sahip olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Ayrıca LPS enjeksiyonunun yapıldığı deneklerin VY:KD oranlarının FTS enjeksiyonu yapılanlara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Gruplar arasında VY:KD oranları için enjeksiyon ve deneme gruplarının etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı farkının olmadığı bulunmuştur ($P=0,086$).

T muscularis kalınlığı FTS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda deneme grupları arasında en yüksek G grubunda tespit edilirken, enjeksiyon uygulaması bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık görülmüştür ($P<0,05$). Ancak beslenme uygulaması gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığa yol açmamıştır ($P=0,079$). *T muscularis* kalınlığı LPS enjeksiyonu yapılan hayvanlarda deneme grupları arasında en düşük Q grubunda tespit edilirken, gruplar arasında istatistiksel

olarak farklılık görülmüştür ($P<0,05$). K grubundaki denekler ile G+Q grubundaki deneklerin *T muscularis* kalınlığının G grubundaki deneklerden daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca FTS enjeksiyonunun yapıldığı deneklerin *T muscularis* kalınlığının LPS enjeksiyonu yapılanlara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($P=0,008$). *T muscularis* kalınlığı için enjeksiyon ve deneme grupları arasındaki etkileşiminin istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$).

3.6. Karaciğerde Antioksidan Kapasitesi

Çizelge 3.6 incelendiğinde denemenin 21. gününde kesilen hayvanlardan alınan örneklerde kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) beslenmeye bağlı SOD, MDA, GSH-Px ve T-AOC değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu görülürken ($P<0,05$), FTS ve LPS enjeksiyonlarına göre karaciğer antioksidan kapasitesi değerleri SOD ve MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülürken ($P<0,000$), GSH-Px ve T-AOC değerlerinde anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$).

Araştırmada FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların SOD seviyesi ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 221,16; 209,18; 205,15; 214,91 (U/g protein) ve LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların SOD seviyesi ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 211,51; 252,61; 278,80; 259,47 (U/g protein) bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) beslenmeye bağlı SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu görülürken ($P=0,006$), FTS ve LPS enjeksiyonlarına göre de SOD değerlerinde anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P=0,000$). Ayrıca SOD değeri için enjeksiyon (FTS-LPS) ve deneme gruplarının beslenmeye bağlı etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir ($P=0,000$).

Araştırmada FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların MDA seviyesi ortalamaları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 2,42; 1,68; 3,20; 3,63 (nmol/g protein) ve LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların MDA seviyesi

ortalamları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 1,50; 2,42; 1,81; 1,85 (nmol/g protein) bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) beslenmeye bağlı MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu görülürken ($P=0,000$), FTS ve LPS enjeksiyonlarına göre de MDA değerlerinde anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P=0,000$). Ayrıca MDA değeri için enjeksiyon (FTS-LPS) ve deneme gruplarının beslenmeye bağlı etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir ($P=0,000$).

Araştırmada FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların GSH-Px seviyesi ortalamları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 4,62; 5,24; 5,72; 5,61 (nmol/mg protein) ve LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların GSH-Px seviyesi ortalamları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 3,44; 4,77; 5,59; 6,85 (nmol/mg protein) bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) beslenmeye bağlı GSH-Px değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu görülürken ($P=0,000$), FTS ve LPS enjeksiyonlarına göre de GSH-Px değerlerinde anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($P=0,519$). Ayrıca GSH-Px değeri için enjeksiyon (FTS-LPS) ve deneme gruplarının beslenmeye bağlı etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir ($P=0,001$).

Araştırmada FTS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların T-AOC seviyesi ortalamları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 4,86; 5,47; 4,82; 4,77 (mM) ve LPS enjeksiyonu yapılan gruplarda kesilen hayvanların T-AOC seviyesi ortalamları sırasıyla (K, G, Q, G+Q) 4,95; 4,70; 4,65; 5,71 (mM) bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre kontrol ve deneme gruplarının (G, Q, G+Q) beslenmeye bağlı T-AOC değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu görülürken ($P=0,025$), FTS ve LPS enjeksiyonlarına göre de T-AOC değerlerinde anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($P=0,852$). Ayrıca T-AOC değeri için enjeksiyon (FTS-LPS) ve deneme gruplarının beslenmeye bağlı etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir ($P=0,000$).

Çizelge 3.1. Glutamin ve/veya kuersetinin 0-21 günlük yaşta broylerlerin canlı ağırlık artışı (CAA), yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine etkisi*.

	Gruplar				İstatistik	
	K	G	Q	G+Q	SEM	P-değeri
CA, g	0-21 gün					
Başlangıç CA	40.19	40.19	40.17	40.19	0.025	0.984
7	143.05	149.45	146.10	145.39	1.068	0.206
14	372.58	388.22	373.67	373.83	3.166	0.250
21	727.96 ^b	771.44 ^a	771.13 ^a	756.14 ^a	4.671	0.001
CAA, g						
0-7	102.86	109.25	105.93	105.19	1.075	0.212
0-14	332.39	348.02	333.50	333.64	3.171	0.252
0-21	687.77 ^b	731.25 ^a	730.96 ^a	715.94 ^a	4.680	0.001
YT, g						
0-7	125.20	124.37	120.50	122.22	1.676	0.766
0-14	315.61	310.17	308.59	308.54	2.975	0.561
0-21	557.85	539.65	548.46	535.57	5.86	0.561
YYO						
0-7	1.218	1.139	1.141	1.168	0.017	0.335
0-14	1.377	1.300	1.360	1.351	0.011	0.086
0-21	1.452 ^a	1.332 ^b	1.338 ^b	1.349 ^b	0.011	0.000
Mortalite oranı, % (0-21) (n=10)	2	1	0	0	-	0,296
Mortalite oranı, % (21-42) (n=5) FTS	2	0	0	2	-	0,585
Mortalite oranı, % (21-42) (n=5) LPS	8	2	2	6	-	0,155

¹Değerler her bir grupta yer alan 10 alt grubun ortalamasını göstermektedir. *Denemede 4 besleme grubu, her ana grupta 100, her alt grupta ise 10'ar tane hayvan vardır.

²K-Kontrol: bazal rasyonla beslenen grup, G: bazal rasyona %1 düzeyinde glutamin ilave edilen grup, Q: Bazal rasyona %0.05 düzeyinde kuersetin ilave edilen grup, G+Q: Bazal rasyona %1 düzeyinde glutamin +%0.05 düzeyinde kuersetin ilave edilen grup

Çizelge 3.2. Glutamin ve/veya kuersetinin 21-42 günlük yaşta broylerlerin canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık artışı (CAA), yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine etkisi*.

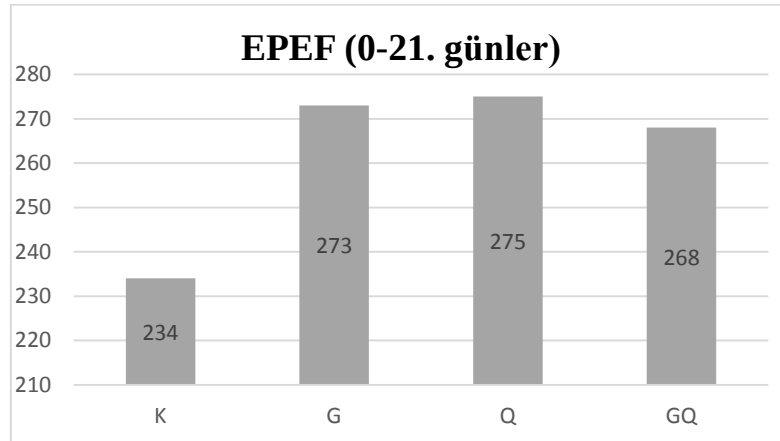
			CA	CAA	YT	YYO
			42. gün	21-42. gün	21-42. gün	21-42. gün
Rasyon	Stres	n	g	g	g	
K	FTS	40	2835 ^{abc}	2103 ^a	3463 ^{ab}	1.647 ^b
K	LPS	40	2753 ^{bcd}	2029 ^{ab}	3401 ^{abc}	1.680 ^{ab}
G	FTS	40	2925 ^a	2147 ^a	3443 ^{ab}	1.605 ^b
G	LPS	40	2902 ^{ab}	2137 ^a	3413 ^{abc}	1.597 ^b
Q	FTS	40	2935 ^a	2156 ^a	3591 ^a	1.669 ^{ab}
Q	LPS	40	2702 ^{cde}	1939 ^{bc}	3284 ^{bcd}	1.694 ^{ab}
GQ	FTS	40	2613 ^{de}	1873 ^c	3105 ^d	1.659 ^{ab}
GQ	LPS	40	2575 ^e	1804 ^c	3164 ^{cd}	1.753 ^a
SEM			52,53	51,03	83,17	0,032
Ana Etki						
K		80	2794 ^b	2066 ^a	3432 ^a	1.663 ^{ab}
G		80	2914 ^a	2142 ^a	3428 ^a	1.601 ^b
Q		80	2819 ^{ab}	2048 ^a	3437 ^a	1.682 ^a
GQ		80	2595 ^c	1839 ^b	3135 ^b	1.706 ^a
	FTS	160	2827	2070	3401	1.645
	LPS	160	2733	1977	3315	1.681
P-değeri						
Stres			0.016	0.015	0.157	0.119
Diyet			0.000	0.000	0.002	0.017
Diyet x Stres			0.193	0.240	0.172	0.460

*Denemenin 42. gününde FTS ana grubunda 4 besleme x 5 alt grup x 8 hayvan =160, LPS ana grubunda 4 besleme x 5 alt grup x 8 hayvan =160 hayvan vardır.

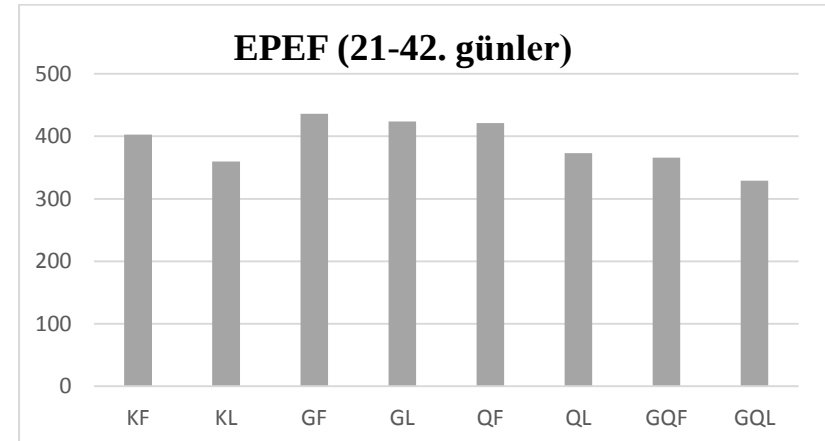
Çizelge 3.3. Glutamin ve kuersetin ilavesinin Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF¹) üzerine etkisi.

	Deneme Grupları					
	K	G	Q	GQ	SEM	P
EPEF (0-21. günler) (n=4x100)	234 ^b	273 ^a	275 ^a	268 ^a	23,46	0,000
EPEF (21-42. günler) FTS (n=4x50)	403 ^b	436 ^a	421 ^b	366 ^c	39,34	0,019
EPEF (21-42. günler) LPS (n=4x50)	360 ^b	424 ^a	373 ^b	329 ^c	43,97	0,001

$$^1EPEF = (Canlı\ Ağırlık, kg \times Yaşama\ Gücü, \%) / (Yaş, gün \times Yemden\ Yararlanma\ Oranı) \times 100$$



Şekil 3.1. Gruplarda 0-21. günler ortalama Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF).



Şekil 3.2. Gruplarda 21-42. günler ortalama Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF).

Çizelge 3.4. Deneme gruplarına* yapılan FTS ve LPS enjeksiyonun çeşitli karkas parametreleri ve organ ağırlıkları üzerine etkisi**

			CA	Karkas	Karkas Verimi	Total Bağırsak	Karaciğer	Kalp	Dalak	Taşlık	<i>Bursa Fabricius</i>
			42.gün	42.gün	42.gün	42.gün	42.gün	42.gün	42.gün	42.gün	42.gün
Rasyon	Stres	n	g	g	%	%	%	%	%	%	%
K	FTS	10	3039	2264	74,54	7,858	2,430	0,728	0,131	2,532	0,233
K	LPS	10	2970	2221	74,75	8,068	2,582	0,678	0,143	2,586	0,197
G	FTS	10	2981	2243	75,24	7,262	2,485	0,622	0,120	2,282	0,208
G	LPS	10	2997	2243	74,82	7,960	2,626	0,682	0,140	2,308	0,230
Q	FTS	10	3022	2184	72,35	7,569	2,447	0,747	0,124	2,304	0,188
Q	LPS	10	2959	2201	73,29	7,742	2,644	0,696	0,156	2,534	0,259
GQ	FTS	10	3029	2250	74,29	8,119	2,548	0,711	0,152	2,469	0,237
GQ	LPS	10	2899	2142	73,96	8,114	2,689	0,680	0,156	2,405	0,223
SEM			46,22	39,76	0,81	0,331	0,077	0,032	0,013	0,132	0,020
Ana Etki											
K		20	3005	2243	74,64	7,963	2,506	0,703	0,137	2,559	0,215
G		20	2989	2243	75,04	7,611	2,556	0,652	0,130	2,295	0,219
Q		20	2990	2193	70,03	7,655	2,545	0,722	0,140	2,419	0,224
GQ		20	2964	2196	74,09	8,116	2,618	0,696	0,154	2,437	0,230
	FTS	40	3018	2235	74,06	7,702	2,477	0,702	0,132	2,397	0,217
	LPS	40	2956	2202	72,80	7,971	2,635	0,684	0,149	2,458	0,227
P-değeri											
Stres			0,065	0,245	0,076	0,267	0,006	0,440	0,080	0,525	0,457
Diyet			0,850	0,428	0,110	0,378	0,535	0,183	0,324	0,269	0,879
Diyet x Stres			0,481	0,432	0,667	0,746	0,983	0,265	0,787	0,766	0,069

*Denemede 21-42. günlerde; FTS ana grubunda 4 besleme x 5 alt grup x 8 hayvan =160, LPS ana grubunda 4 besleme x 5 alt grup x 8 hayvan =160 hayvan vardır.

**Denemenin 42. gününde kesilen 4 besleme x 2 enjeksiyon x 20 hayvan = 80 hayvandan elde edilmiştir. Organ ağırlıkları karkas ağırlığına bölünerek %'lik verilmiştir.

Çizelge 3.5. Glutamin ve/veya kuersetinin 21 günlük yaşta broylerlerde bağırsak histomorfolojisi üzerine etkileri*.

			Villus Yüksekliği	Kript Derinliği	Villus Genişliği	Villus Kript Oranı	Tunica Muscularis
Rasyon	Stres	n	µm	µm	µm		µm
K	FTS	10	949,1 ^{ab}	153,3 ^a	163,5 ^{bc}	6,19 ^b	135,5 ^{ab}
K	LPS	10	875,4 ^b	146,2 ^{ab}	146,2 ^c	6,07 ^b	113,8 ^{ab}
G	FTS	10	859,6 ^b	168,6 ^a	176,5 ^{ab}	5,24 ^b	139,6 ^a
G	LPS	10	975,8 ^{ab}	154,1 ^a	167,0 ^{abc}	6,36 ^b	125,5 ^{ab}
Q	FTS	10	1061,7 ^a	157,9 ^a	191,1 ^a	6,74 ^b	120,7 ^{ab}
Q	LPS	10	1028,6 ^a	125,9 ^b	154,6 ^{bc}	8,82 ^a	102,8 ^b
GQ	FTS	10	978,2 ^{ab}	153,3 ^a	158,5 ^{bc}	6,44 ^b	134,1 ^{ab}
GQ	LPS	10	1058,1 ^a	158,6 ^a	165,3 ^{bc}	6,71 ^b	123,1 ^{ab}
SEM			12,26	2,26	3,08	0,19	2,63
Ana Etki							
K		20	912,2 ^b	149,7 ^{ab}	154,9 ^b	6,13	124,6
G		20	917,7 ^b	161,3 ^a	173,3 ^a	5,80	132,6
Q		20	1045,2 ^a	141,9 ^b	172,8 ^a	7,78	111,7
GQ		20	1018,2 ^a	156,0 ^{ab}	161,9 ^{ab}	6,58	128,6
	FTS	40	962,1	158,3	172,4	6,15	132,5
	LPS	40	984,5	146,2	159,0	6,99	116,3
P-değeri							
Diyet			<0,001	0,005	0,002	<0,001	0,079
Stres			0,251	0,003	0,001	0,011	0,008
Diyet x Stres			0,002	0,010	0,002	0,086	0,926

*Denemenin 21. gününde LPS-FTS enjeksiyonundan 4 saat sonra kesilen 4 besleme x 2 enjeksiyon x 20 hayvan = 80 hayvandan elde edilmiştir.

Çizelge 3.6. Deneme gruplarına yapılan FTS ve LPS enjeksiyonunun karaciğer antioksidan kapasitesi* ve kan serumunda IgY düzeyine etkisi**.

Rasyon	Stres	n	SOD (U/g protein)	MDA (nmol/g protein)	GSH-Px (nmol/mg protein)	T-AOC (mM)	IgY (ng/ml)
K	FTS	10	221,16 ^c	2,42 ^c	4,62 ^d	4,86 ^b	1,94 ^{ab}
K	LPS	10	211,51 ^c	1,50 ^d	3,44 ^e	4,95 ^b	1,99 ^{ab}
G	FTS	10	209,18 ^c	1,68 ^{cd}	5,24 ^{bcd}	5,47 ^a	1,89 ^{ab}
G	LPS	10	252,61 ^b	2,42 ^c	4,77 ^{cd}	4,70 ^b	2,23 ^a
Q	FTS	10	205,15 ^c	3,20 ^b	5,72 ^b	4,82 ^b	1,27 ^{bc}
Q	LPS	10	278,80 ^a	1,81 ^c	5,59 ^{bc}	4,65 ^b	1,94 ^{ab}
GQ	FTS	10	214,91 ^c	3,63 ^a	5,61 ^{bc}	4,77 ^b	0,84 ^c
GQ	LPS	10	259,47 ^{ab}	1,85 ^c	6,85 ^a	5,71 ^a	1,38 ^{bc}
SEM			7,38	0,08	0,30	0,17	0,26
Ana Etki							
K		20	216,33 ^b	1,96 ^c	4,03 ^c	4,91 ^{ab}	1,97 ^a
G		20	230,90 ^{ab}	2,05 ^c	5,01 ^b	5,08 ^{ab}	2,06 ^a
Q		20	241,98 ^a	2,50 ^b	5,66 ^a	4,74 ^b	1,60 ^{ab}
GQ		20	237,19 ^a	2,74 ^a	6,23 ^a	5,24 ^a	1,11 ^b
	FTS	40	212,60	2,73	5,30	4,98	1,49
	LPS	40	250,60	1,89	5,16	5,00	1,89
P-değeri							
Stres			0,000	0,000	0,519	0,852	0,034
Diyet			0,006	0,000	0,000	0,025	0,002
Diyet x Stres			0,000	0,000	0,001	0,000	0,669

*Denemenin 21. gününde LPS-FTS enjeksiyonundan 4 saat sonra kesilen 4 besleme x 2 enjeksiyon x 20 hayvan = 80 hayvandan elde edilmiştir.

**Denemede SOD, MDA, GSH-Px, T-AOC verileri karaciğer dokularından, IgY verileri ise kan serumundan elde edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Yem katkı maddeleri olarak antibiyotik ve benzeri büyüme ve performansı artırıcı maddeler ile çinko oksit ve bakır gibi katkı maddelerinin Avrupa’da yasaklanması ile bu alandaki araştırmalar farklı alanları da içine alacak şekilde genişlemeye başlamıştır (Castanon, 2007). Bu çerçevede yürütülen bazı çalışmalar, hayvanlar tarafından sentezlendiği için esansiyel olmadığı kabul edilen bazı moleküllerin sanıldığından çok daha önemli işlevlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu moleküllerden biri olan L-glutamin (L-Gln), birçok doku ve organ hücreleri tarafından kullanımı yanında bazı önemli metabolik moleküllerin sentezinde öncül bir (prekürsor) madde ve bazı hücrelerin enerji ihtiyacının sağlanmasında ise iyi bir karbon kaynağı olarak geniş bir metabolik kullanım alanına sahiptir (Young ve Ajami, 2001). Antibiyotik ve benzeri büyümeyi ve performansı artırıcı maddelerin yerine kullanılabilme potansiyeline sahip L-Gln, daha basit bir sindirime sahip kanatlılarda, domuzlarda ve balıklarda değişik koşullar altında (sıcaklık ve nem stresi, geç yemleme stresi ve LPS epruvasyonu) büyüme ve performansa, bağırsak morfolojisi ve mikrobiyolojisine, immünolojik özellikler yanında et ve yumurta kalitesine etkileri araştırmaya konu edilmeye başlanmıştır (Murakami ve ark., 2007; Pohlenz ve ark., 2012 ve Zhai ve Liu, 2013).

Besleme ile oksidatif stres arasında önemli bir ilişki bulunduğu uzun zamandan beridir bilinmektedir. Bazı önemli biyolojik moleküllerin oksidasyona maruz kalması doku ve organların fonksiyonlarında sorunlara ve üretkenliğin azalmasına yol açmaktadır (Lykkesfeldt and Svendsen, 2007). Bu nedenle iyi bir antioksidan savunma mekanizması çiftlik hayvanlarının sağlığında ve üretkenliğinde anahtar bir rol oynamaktadır. Antioksidanlara gereksinimin arttığı stres, hastalık gibi koşullarda oksidatif stresle mücadele amacıyla antioksidan vitaminler yanında antioksidanca zengin bitki-bitki özütleri veya bunların aktif antioksidan yapıları kullanılmaktadır. Kuersetin, bazı meyve ve sebzelerde bulunan bir flavonol olup anti-karsinojenik, anti-inflamatuar, anti-viral, antioksidan ve fiziko uyarıcı aktiviteler sergilemektedir (Aguirre ve ark., 2011). L-glutamine benzer şekilde, son yıllarda yapılan bazı

çalışmalarda bir flavonol olan kuersetinin kanatlılar başta olmak üzere tek mideli hayvanlarda büyüme ve performansa, oksidatif strese, yumurta ve et kalitesine ve immünolojik özelliklere etkileri araştırmaya değeri bulunmuştur (Hager-Theodorides ve ark., 2014; Simitzis ve ark., 2018 ve Zhai ve Liu, 2013). Yumurtacı tavuklar ile etlik piliçlerde kuersetinin performans ve diğeri biyolojik parametrelere etkisinin konu edildiğı çalışma sayısı L-Gln ile yürütölen çalışmalardan daha azdır. L-Gln ile kuersetinin bireysel olarak veya bir kokteyl formunda birlikte incelendiğı benzer bir çalışma literatürde mevcut değıldir. Bu bağlamda, bu araştırma özgün bir nitelik taşımaktadır.

Bu doktora çalışmasında, 21. günde LPS eprüvasyonuna maruz bırakılan broylerlere L-Gln ve kuersetinin ayrı ayrı veya bir kokteyl olarak 42 gün süreyle verilmesinin performans, bağırsak histomorfolojisi, antioksidan özellikleri ve immün yanıt üzerine etkileri belirlenmiştir.

4.1. L-Glutamin ve Kuersetinin Broylerlerde Performansa Etkileri

Etlik piliç üretiminde temel amaç, yumurtadan yeni çıkmış genç bireylerin optimum yetiştirme ve besleme koşullarına maruz bırakılarak en kısa sürede arzu edilen kesim ağırlığına veya yaşına ulaştırılmasıdır. Bu süreçte broylerlere sağılanan koşulların etkinliğinin ve verimliliğinin belirlenmesi büyüme performansının ölçölmesi ile gerçekteştirilmektedir. Bilimsel veya saha koşullarında büyüme performansının tespit edilmesinde ilk olarak incelenen parametrelerin başında ise büyüme süreci boyunca canlı ağırlık ve canlı ağırlık kazancında meydana gelen değışimler gelmektedir. Araştırmada, haftalık bazda uygulama grupları arasında canlı ağırlık artışı (CAA) değeri hesaplamasına bakıldığında, 0-21. günlük dönemde istatistiksel açıdan önemli farklılık görölmüştür (Çizelge 3.1). Bu dönemde K grubunda, diğeri G, Q ve G+Q grubuna göre daha az CAA saptanmıştır. Denemenin 21. gününde uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonu sonrasında 21-42. günlük dönemde FTS enjeksiyonu yapılan beslenme gruplarında CAA değeri yüksekten düşüğe sırasıyla Q, G, K, G+Q şeklinde bulunmuştur. LPS enjeksiyonu yapılan beslenme

gruplarında ise CAA değerleri yüksekten düşüğe sırasıyla G, K, Q, G+Q şeklinde bulunmuştur. Uygulama gruplarına ilişkin CAA değerleri arasında istatistiksel açıdan görülen farklılığa yakından bakıldığında, 4. haftadan itibaren başlamak üzere 6. haftanın sonuna kadar (büyüme periyodu), FTS enjeksiyonu yapılan grupta K ve G+Q grupları ortalama canlı ağırlıkları G ve Q gruplarına kıyasla istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (Çizelge 3.2). LPS enjeksiyonu yapılan grupta ise Q ve G+Q grupları ortalama canlı ağırlıkları K ve G gruplarına kıyasla istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (Çizelge 3.2). Denemenin 6. Haftası sonunda, FTS enjeksiyonu yapılan besleme gruplarında G+Q ve K grupları canlı ağırlık artışı ortalamaları Q grubundan sırasıyla 283 g ve 53 g daha düşük gerçekleşmiştir. Araştırmadan elde edilen canlı ağırlık artışına ilişkin bulgular, L-Gln (Fasina ve ark., 2010; Soltan, 2009 ve Yi ve ark., 2005) ve kuersetin (Goliomytis ve ark., 2014; Van Krimpen ve ark., 2016 ve Yang ve ark., 2020) ile yürütülen çalışmalardan elde edilen bulgularla benzerlik göstermesine rağmen bu konuda L-Gln (Barekatain ve Toghyani, 2019; Maiorka ve ark., 2000; Nascimento ve ark., 2017 ve Sakamoto ve ark., 2006) ve kuersetin (Aditya ve ark., 2017; Sohaib ve ark., 2015 ve Zulkifli ve ark., 2011) ile yapılan çalışmalardan üretilen performans bulgularından farklılık göstermektedir.

L-Gln veya kuersetinin ayrı ayrı veya bir kokteyl olarak tüketen hayvanlar ile tüketmeyenler (kontrol grubu) arasında canlı ağırlık kazancı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olması, ayrıca LPS enjeksiyonu yapılan besleme grubunda Q veya G+Q grubundaki canlı ağırlık artışının K grubundan nümerik olarak daha düşük olmasını değişik faktörlerin etkisi ile açıklamak mümkündür. Bunlardan ilki, L-Gln veya kuersetinin kullanıldığı çalışmalardaki yetiştirme ve çevre koşulları ile bu araştırmada kullanılan koşullar arasındaki farklılıklardır. Yüzde 1 düzeyinde L-Gln içeren yemleri tüketen hayvanlarda daha yüksek canlı ağırlık artışının görüldüğü çalışmaların büyük bir çoğunluğu, strese neden olan sıcaklık veya nem (Dai ve ark., 2009; Dai ve ark., 2011 ve Olubodun ve ark., 2015), geciktirilmiş yerleştirme (Zulkifli ve ark., 2016), parazitler (Yi ve ark., 2005), aşılama (Mussini ve ark., 2012) ve mikrobiyal etmenler (Fasina ve ark., 2010 ve Xue ve ark., 2018) gibi olumsuz çevre ve yetiştirme koşulları altında yürütülmüştür. Benzer şekilde, sıcaklık ve nem

stresine maruz bırakılan etlik piliçlerde kuersetinin bireysel veya α -tokoferol ile birlikte kullanımı performansta iyileşmelere yol açmıştır (Sohaib ve ark., 2015 ve Zulkifli ve ark., 2011). Zulkifli ve ark. (2011), tarafından yürütülen çalışmada, 1500 mg/kg düzeyinde kuersetin içeren yemi tüketen etlik piliçlerde 35. gün sonu itibariyle canlı ağırlık artışında bir değişim görülmezken 35. günde başlayarak 7 gün boyunca sürdürülen yüksek sıcaklık ve nem uygulaması sonunda canlı ağırlıkta %26 oranında bir artış gerçekleşmiştir. Yüksek sıcaklık ve neme bağlı oluşan stresin olumsuz etkisinin giderilmesinde kuersetin etkili olmuştur. Bu araştırmadaki hayvanlara uygun yetiştirme ve çevre koşullarının sağlanmasının yanında FTS ve LPS enjeksiyonu yapılması L-Gln veya kuersetinin olumlu bir performans etkisi ortaya koymasının bir nedeni olarak değerlendirilebilir ve Newsholme (2001), tarafından ileri sürülen L-Gln ilavesinin özellikle stresli ve immun sistemin baskılandığı durumlarda etkili olabileceği görüşünü de destekler niteliktedir. Yine bu araştırmada tüm gruplara sunulan yemlerdeki L-Gln düzeyinin yeterli veya yeterinden fazla sağlanmış olması, bir başka ifade ile metabolik anlamda destekleyici bir amino asit olması, performans bakımından gruplar arasındaki G grubunun performans üstünlüğünün bir gerekçesi olarak kabul edilebilir. Bir başka ifade ile, L-Gln amino asidinin kullanıldığı stresli ve immun sistemin baskılandığı koşullarda performansta önemli iyileşmeleri görmek söz konusu olacaktır.

Canlı ağırlık artışı bakımından bilimsel çalışmalar arasındaki görülen farklılıkları her bir çalışmada hayvanlar tarafından tüketilen yemlerin hazırlamasında kullanılan değişik yem ham maddelerinin performansa olası etkileri ile de açıklamak mümkündür. Çalışmaların çoğunluğunda mısır ve soya fasulyesi küspesi ağırlıklı olarak kullanılmış olmasına rağmen bazılarında mısıra ek olarak buğday ve/ya darı (Barekatain ve Toghyani, 2019 ve Jazideh ve ark., 2014), soya fasulyesi küspesine ek olarak mısır gluten unu (Goliomytis ve ark., 2014) veya balık unu (Dai ve ark., 2009 ve Soltan, 2009), yağ kaynağı kullanımının da ise farklı bitkisel (Goliomytis ve ark., 2014; Jazideh ve ark., 2014 ve Zulkifli ve ark., 2016) veya hayvansal (Bartell ve Batal, 2007) kökenli yağlar tercih edilmiştir. Ancak yapılan bu araştırma çalışmasında besleme grupları arasında görülen istatistiksel farkının temel rasyona ilave edilen L-Gln ve kuersetin katkılarından kaynaklandığı açıkça bulgulanmıştır.

Uygulama grupları için saptanan canlı ağırlık (CA) ortalamaları denemenin ilk üç haftasında (başlangıç dönemi olan 0-21. günlerde) G, Q ve G + Q grupları birbirine oldukça yakın olmasına rağmen, K grubu diğerlerine göre daha düşük değerlerde saptanmıştır (Çizelge 3.1). Denemenin 42. gününde rasyona ilave edilen L-Gln sayesinde G grubu CA ortalamaları K grubundan istatistiksel olarak daha yüksek gerçekleşmiştir (Çizelge 3.2). Söz konusu durumun bir nedeni olarak G grubu yemlerine %1 L-Gln ilave edilmesinin soya fasulyesi küspesinde %2,5 oranındaki bir azalmaya yol açmasına karşın, amino asit profilinde sinerjistik etki ve 21. günde yapılan enjeksiyon sonrasında muhtemelen yaşanan stres ve immun sistemin baskılanmasını daha hızlı tolere etmesinden kaynaklanmış olması ile açıklanabilir. Öte yandan, Jazideh ve ark. (2014), tarafından etlik piliçlerle yürütülen bir çalışmada, rasyonda %0,25 ve %0,5 düzeyinde L-Gln kullanımı canlı ağırlık ve bağırsak villus uzunluğunda önemli artışlara yol açmış, buna karşın %1 düzeyinde L-Gln kullanılan grupta sadece bağırsak villus uzunluğunda benzer bir artışa neden olmuştur. Araştırmacılar, %1 düzeyinde L-Gln kullanımı sonucu canlı ağırlıkta görülen olumsuz etkinin, glutaminin amonyak oluşumu ve buna bağlı ürik asit atılımı için gerekli enerji kullanımına bağlı olduğunu belirtmiştir. Gln, sindirim sisteminde ve böbreklerde amonyak oluşumunda bir prekürsör olarak görev almaktadır (Rennie, 2001). Deneme sonunda (42. gün), G ve G+Q gruplarındaki CAA değerleri birbirinden oldukça farklıdır, bunun nedenini yem tüketimi değerleri incelendiğinde G+Q grubunun düşük yem tüketimi nedeniyle düşük CA değerlerine sahip olmasına bağlı olarak açıklanabilmektedir (Çizelge 3.2). Bu bulgu, L-Gln ve kuersetinin birlikte kullanımının yem tüketimi üzerine olumsuz bir etkiye sahip olduğunu ve bu etkinin büyüme döneminde (21-42. günler) belirginleştiğini destekler niteliktedir. Buna bağlı olarak da G grubu, G+Q grubuna oranla daha çok yem tüketmiş ve daha yüksek CA kazancı göstermiştir. Bir başka ifadeyle, bu gruptaki hayvanların tükettikleri yemden daha fazla yararlandıkları anlaşılmaktadır. Söz konusu bulgu, Jazideh ve ark. (2014), tarafından ileri sürülen L-Gln molekülünün amonyak ve ürik asit sentezinde kullanımına dayanan yüksek metabolik maliyeti (ekstra amino grubu ve enerji gideri) görüşüne karşılık farklı nitelikte olan bir ifadedir. G ve G+Q grupları arasındaki performansta ortaya çıkan farklılıklarda değişik fizyolojik ve metabolik faktörlerin etkili olabileceğine işaret etmektedir. Nitekim Wischmeyer ve

ark. (1997), sıcaklık stresine maruz kalan bağırsak epitel hücrelerine L-Gln sağlanmasının sıcaklık stresi protein 70 moleküllerinin üretimini artırarak oksidatif stresin etkilerinin azaltılmasına yardımcı olduğunu buna karşın aynı ortama kuersetin ilavesinin sıcaklık stresi protein 70 moleküllerinin üretimini azalttığı, L-Gln'in stresli koşullardaki olumlu etkisinin kuersetin tarafından baskılandığını rapor etmiştir. Wischmeyer ve ark. (1997), bulguları, benzer bir metabolik etkileşimin L-Gln ile kuersetinin beraber kullanıldığı bu güncel çalışmada da ortaya çıkarak büyümeyi olumsuz etkilediğini destekler niteliktedir. L-Gln ve kuersetinin arasında olabilecek muhtemel metabolik etkileşimlerin gelecekte araştırılması önemli bulguların üretilmesine olanak sağlayacaktır.

LPS, hayvanlarda davranışsal değişimler, ateş, anoreksiya, ishal, enflamasyon, iskelet kaslarında protein depolanmasında yetersizlik ve büyümede gerilemeye yol açan hormonların ve sitokinlerin üretimini teşvik eden (Abbas ve ark., 1997) ve bağırsak sisteminde oksidatif strese yol açarak bağırsak yapısını ve bütünlüğünü bozabilen moleküllerdir (Wu ve ark., 2016). Bu çalışmanın 21. gününde uygulama grupları içerisinde FTS alt grubundaki hayvanlara fizyolojik tuzlu su diğer alt grupta yer alan hayvanlara LPS enjeksiyonu gerçekleştirilmiş ve performans ile metabolik etkileri incelenmiştir. Araştırmada LPS enjeksiyonu yapılan deneme gruplarında 21-42. günleri arasında G grubu diğer deneme gruplarına göre daha iyi bir performans göstermiştir. Denemenin 21-42. günlerinde K, Q ve G+Q gruplarında CA ve CAA değerleri LPS enjeksiyonundan FTS enjeksiyonuna göre olumsuz yönde daha fazla etkilenmiştir (Çizelge 3.2). Hem FTS hem de LPS enjeksiyonu yapılan alt gruplarda G+Q grubundaki ortalama CA ve CAA değerleri K ve diğer uygulama gruplarından istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur (Çizelge 3.2). G+Q grubunun G veya Q gruplarından hem FTS hem de LPS alt gruplarında daha düşük değerlere sahip olması L-Gln ve kuersetinin birlikte kullanımının büyüme üzerine olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Denemenin 21-42. günlerdeki LPS alt gruplarındaki CA ve CAA değerlerinin FTS alt gruplarındaki değerlerinden genel olarak daha düşük seyretmesi, LPS uygulamasının hayvanlarda CA değerlerinde azalmaya yol açtığı yönündeki diğer LPS (Takahashi ve ark., 1999 ve Xie ve ark., 2000) ve nekrotik enteritis (Xue ve ark., 2018) ile yapılan çalışma bulguları ile örtüşmektedir.

Strese yol açan sıcaklık ve nem, transport, paraziter veya bakteriyel enfeksiyonlar, yerleşim yoğunluğu, havalandırma ve aydınlatma gibi barınak koşulları ve yem kısıtlaması, etlik piliçlerde mortaliteye etki eden önemli faktörlerin başında gelmektedir (Appiah, 2018; Jayaprakash ve ark., 2016 ve Yerpes ve ark., 2020). Bu faktörlere bağlı ortaya çıkan ölümlerin azaltılmasına yönelik uygulamalar hiç şüphesiz üretim etkinliğini ve karlılığı artırmada önemli rol oynamaktadır. Sindirim sistemi gelişimi ve entegrasyonu ile bağışıklık sisteminin etkinliğini destekleyen L-Gln veya kuersetin gibi moleküllerin mortaliteye etkileri diğer bazı çalışmalarda (Mussini ve ark., 2012; Xue ve ark., 2018 ve Zhai ve Liu, 2013), olduğu gibi bu güncel araştırmada da takip edilen parametrelerden birini oluşturmuştur. Bu araştırmanın 0-21. günleri arasındaki mortalite değerleri oldukça düşük seyretmiş ve gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır (Çizelge 3.1). Buna karşın, araştırmanın 21. gününde uygulanan LPS enjeksiyonu denemenin 21-42. günleri arasında mortalite oranlarında artışa neden olmuştur. LPS uygulanan hayvanlarda en yüksek mortalite oranı sırasıyla K ve G+Q gruplarında gerçekleşirken, en düşük değerler G ve Q gruplarında gerçekleşmiştir. Elde edilen bulgular L-Gln ve kuersetinin, enflamasyon ve hastalığa neden olan toksinlere maruz kalan etlik piliçlerde hormon ve sitokin üretimini harekete geçirerek ve/ya oksidatif stresi azaltarak immun cevabın artmasına dolayısıyla mortalitede azalmayla sonuçlanacak etkilere sahip olabileceklerini destekler niteliktedir (Shakeri ve ark., 2014; Sun ve ark., 2020; Xie ve ark., 2000 ve Yi ve ark., 2005).

Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (European Production Efficiency Factor-EPEF), modern kanatlı işletmeleri ve sözleşmeli üretim yapan büyük kümes sahiplerinin sürünün genel performansını değerlendirmek üzere kullandığı bir performans kriteridir. Genel itibariyle EPEF faktörünün 300 ve daha üzeri olması başarılı bir üretim düzeyi olarak görülmektedir. Bu değer 300 ve daha aşağıda olması işletmedeki hayvanların sağlığı ile ilgili problemler yaşandığını ve genel yönetim (management) hatalarının olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada hayvanlara 21. günde uygulanan LPS ve FTS enjeksiyonu nedeniyle 0-21. günler ve 21-42. günler arasındaki EPEF faktörleri ayrı

olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.3). Denemenin 0-21. günlerinde değişken faktörün sadece yem olduğu kontrol (K) grubunda ortaya çıkan EPEF faktörü, diğer deneme gruplarına (G, Q, G+Q) göre daha düşük bulunmuştur. Bu dönemde deneme gruplarının rasyonlarına L-Gln ve kuersetin ilave edilmesinin EPEF faktörünü olumlu etkilediği söylenebilir. Ancak, denemenin 21. gününde FTS ve LPS enjeksiyonu uygulandıktan sonra ayrı olarak takip edilen gruplara bakıldığında bireysel olarak katılan L-Gln ve kuersetinin EPEF faktörüne olumlu etkisini gözlemlerken, L-Gln ve kuersetinin birlikte katıldığı gruplarda ise bir antagonist ilişkiye benzer bir durumun söz konusu olduğu ve kontrol grubundan bile daha düşük EPEF faktörünün ortaya çıktığı saptanmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda rasyona katılan *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen mannan oligosakkarit (MOS) sayesinde patojenlerin bağırsak duvarına yapışmasını engelleyerek EPEF faktöründe artış görüldüğü (Awad ve ark., 2008; Bigss ve ark., 2007 ve Hooge ve ark., 2004) rapor edilmiştir. Rasyonlarına ayrı ayrı glutamin ve kuersetin ilave edilen gruplarda da, kontrol grubuna göre EPEF faktörünün daha yüksek olmasını bu duruma benzer açıdan immün sistemi desteklemesine ve antioksidan kapasitesinin artışına bağlı olmasından kaynaklandığını söylemek mümkündür.

4.2. Çalışmada Kullanılan L-Glutamin ve Kuersetin Düzeyleri

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda farklı L-Gln düzeylerinin etkileri araştırmaya konu edilmiş, bu düzeyler %0 ile %4 arasında değişim göstermiştir (Bartell ve Batal, 2007; Soltan, 2009 ve Xue ve ark., 2018). Yapılan bu çalışmalarda üzerinde durulan parametreler bakımından en olumlu sonuçlar rasyona %1 düzeyinde L-Gln ilavesinin yapıldığı hayvanlardan elde edilmiştir (Bartell ve Batal, 2007; Olubodun ve ark., 2015 ve Yi ve ark., 2005). Buna karşın %1'in üzerinde özellikle %2-4 düzeyinde L-Gln ilave edilen çalışmalarda üzerinde durulan bazı parametreler bakımından olumsuz bulgular elde edilmiştir (Bartell ve Batal, 2007 ve Soltan,

2009). Bu nedenle, hayvan denemelerinde rasyondaki L-Gln düzeyi olarak %1 belirlenmiş ve kullanılmıştır.

Önceki çalışmalarda yine değişen düzeylerde kuersetin kullanılmış, bu düzeyler kg yemde 0 ile 1.500 mg arasında değişim sergilemiş (Goliomytis ve ark., 2014; Simitzis ve ark., 2018 ve Van Krimpen ve ark., 2016) hatta Tilapia’da 1600 mg düzeyinde yeme ilave edilmiştir (Zhai ve Liu, 2013). Kullanılan kuersetin düzeylerinde bazı parametrelerde olumlu sonuçlar saptanmış, en yüksek düzeyde olumsuz bir etki görülmemiştir. Bu çalışmalardan hareketle, hayvan denemelerindeki kuersetin düzeyi olarak 500 mg/kg yem belirlenmiş ve kullanılmıştır.

4.3. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde Karkas ve İç Organ Ağırlıklarına Etkileri

Etlik piliçlere yem veya su içerisinde verilen probiyotik, prebiyotik, büyümeyi uyarıcı veya immün sistemi destekleyici ve benzeri katkı maddelerinin öncelikli olarak hayvan sağlığı ve yaşama gücünde iyileşmeye daha sonra performans ve ürün kalitesinde artışa yol açması beklenmektedir. Sağlık veya performansta görülen iyileşmeler canlı ağırlık, karkas randımanı ve kısımları yanında iç organ ağırlıklarında değişim olarak kendisini sergileyebilmektedir. Karkas ağırlığı ve karkas randımanında sağlanacak önemli artışlar üretim etkinliğini ve karlılığını pozitif olarak etkileyecektir. Bu araştırmada denemenin 42. gününde uygulama ve FTS-LPS epruvasyonuna maruz kalmış alt gruplardan seçilen piliçler kesilerek sıcak karkas ağırlığı ve karkas randımanı ile iç organ ağırlıkları (Çizelge 3.4) belirlenmiştir.

L-Gln veya kuersetinin bireysel olarak veya birlikte verilmesi canlı ağırlıklara benzer olarak sıcak karkas ağırlığı ve sıcak karkas randımanında önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Benzer şekilde, bu parametrelere ilişkin grup ortalama değerlerinde FTS-LPS epruvasyonuna bağlı bir farklılık saptanmamıştır. Canlı ağırlık verilerinde olduğu gibi karkas değerlerine ilişkin uygulamalar arasındaki

benzerlikleri denemede hayvanlara sağlanan yetiştirme ve besleme koşullarının uygun olması veya L-Gln veya kuersetinin, performans veya kesim parametrelerinde belirgin bir etkiye yol açmasına olanak sağlayacak olumsuz bir sorunun şekillenmemesi ile açıklamak mümkündür. Karkas ağırlığı ve randımanına ait bulgular L-Gln veya kuersetin ile naringin, hisperidin, soğan ekstraktı ve meyve ekstraktları kullanılarak yapılan diğer çalışma bulguları ile benzerlik göstermektedir ve yukarıda belirtilen öngörüyü destekler niteliktedir (Aditya ve ark., 2017; Loetscher ve ark., 2013; Mussini ve ark., 2012 ve Nascimento ve ark., 2017). Örneğin, Soltan (2009), tarafından yürütülen bir çalışmada %1 düzeyinde L-Gln kullanımının performansta olumlu etkiler sergilemesine rağmen karkas randımanına önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu bulguyu, L-Gln'in bağırsak gelişimi ve ağırlığı üzerindeki etkisi ile açıklamak mümkündür. Öte yandan, yeme %0,5 düzeyinde L-Gln ilavesinin sıcaklık stresi altındaki etlik piliçlerde göğüs kas eti ve abdominal yağ verimi ve randımanını artırdığı dolayısı ile sıcaklık stresini azaltarak hem canlı ağırlık hem de önemli karkas kısımlarında artışlara neden olduğu bildirilmiştir (Dai ve ark., 2012). Benzer şekilde, zerdeçal, üzüm çekirdeği ekstraktı veya kuersetinin karkas randımanı ve göğüs eti ağırlığı üzerine pozitif etkilerine ait bulgular rapor edilmiştir (Abu Hafsa ve İbrahim, 2018; Arslan ve ark., 2017 ve Parmar ve ark., 2019). L-Gln, kuersetin veya polifenol içeren maddelerle yapılan çalışmalardan elde edilen bulguları arasındaki farklılıkları L-Gln veya kuersetin ile diğer benzer katkı maddelerinin kullanım düzeyi ve süresi, yetiştirme koşulları, yem içeriği, enfeksiyonlar, aşılama, sıcaklık ve nem gibi faktörlerin sağlık ve performans üzerine etkileri ile açıklamak mümkündür.

Deneme sonu iç organ ağırlıklarının karkas ağırlıklarına oranlarında, denemedeki FTS-LPS eprüvasyonunun karaciğer ağırlığına etkisi haricinde, uygulama grupları arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır (Çizelge 3.4). Güncel çalışma bulgularına benzer şekilde, L-Gln, kuersetin, meyve veya soğan ekstraktları ile değişik polifenollerin kullanıldığı çalışmalarda ince bağırsak, kalın bağırsak, dalak, *bursa Fabricius*, timüs ve pankreas ağırlıklarında önemli farklılık saptanmamıştır (Aditya ve ark., 2017; Hager-Theodorides ve ark., 2014 ve Parmar ve ark., 2019). Yeme %0,05 veya %0,1 düzeyinde kuersetin ilavesi karaciğer ve dalak

ağırlıklarında önemli bir farklılığa neden olmazken kalp ağırlığında önemli bir artışa yol açmıştır (Goliomytis ve ark., 2014). Güncel çalışmada aynı düzeyde kuersetin kullanılmasına rağmen beslenme grupları arasında benzer bir bulgu saptanmamıştır. Buna karşın, %1 düzeyinde L-Gln kullanılan çalışmalarda ince ve kalın bağırsak ağırlıkları (Nassiri Moghaddam ve Alizadeh-Ghamsari, 2013) ile immun organ ağırlıkları (Bartell ve Batal, 2007 ve Soltan, 2009), L-Gln kullanımına bağlı artış sergilemiştir. Bu çalışmalarda, bağırsak ağırlıklarındaki artışı bağırsak morfolojisinde görülen iyileşme ile immun organ ağırlıklarındaki artışı antibadi üretiminde görülen artış ile izah etmek mümkündür. Xie ve ark. (2000), LPS uygulamasından 12, 24 ve 48 saat sonra yapılan kesimler sonucunda LPS uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer ağırlıklarının LPS uygulanmayan gruptakilere oranla daha yüksek olduğunu saptamıştır. Araştırmacılar bu etkiyi LPS'ye maruz kalan hayvanların geliştirdiği akut faz tepkisine ve karaciğerin bu olaydaki merkezi rolü ile açıklamaktadır. Karaciğer akut faz proteinlerinin sentezlendiği ve detoksifikasyon işleminin gerçekleştirildiği merkez olarak hareket etmektedir (Xie ve ark., 2000). Öte yandan, uygulama gruplarında FTS ve LPS uygulamasına bağlı olarak yalnızca karaciğer ağırlıklarında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık görülmüştür ($P<0,006$). Karaciğer haricinde, incelenen diğer iç organ ağırlıklarında beslenme, enjeksiyon uygulaması ve besleme ile enjeksiyonun etkileşimi yönünden önemli bir değişim görülmemiştir (Çizelge 3.4). İç organ ağırlıklarının belirlenmesi işleminin Xie ve ark. (2000), tarafından yürütülen çalışmada LPS uygulamasından sonraki 48 saat (2 gün) içerisinde yapılmıştır. Buna karşın güncel çalışmada enjeksiyon uygulamasından 21 gün sonra karaciğer ağırlığının ölçümü yapıldığı halde, karaciğer ağırlığı bakımından her iki çalışma arasında görülen benzerliğin zaman geçmesine rağmen etkisini sürdürmüş olabileceğine işaret etmektedir. Güncel çalışmada, LPS'nin karaciğer temelinde özellikle immun organ ağırlıkları üzerindeki beklenen muhtemel etkisinin uygulamayı takip eden günler içerisinde de görüldüğünü söylemek mümkündür.

Burada üzerinde durulması gereken bir diğer önemli noktada, hayvan sağlığı ve yaşama gücü ile performans ve ürün kalitesini artırmayı hedefleyen yaklaşımlar içerisinde kullanılan yem katkı maddelerinden beklenen etkilerin önceliği hususudur. Hayvansal üretimde birinci öncelik, hayvan sağlığının ve yaşama gücünün garanti

altına alınması olayıdır. Yüksek bir performans ve kaliteli ürünler öncelikle sağlıklı ve yaşama gücü yüksek hayvanlardan elde edilebilmektedir. Bu nedenle, prebiyotik, probiyotik, bitki ekstraktları, büyümeyi uyarıcı ve immun sistemi destekleyen yem katkı maddelerinin kullanımında öncelikli olarak hayvan sağlığını ve yaşama gücünü dikkate alan yaklaşımlar bulunmaktadır. Krehbiel ve ark. (2003), probiyotiklerin etkinliğinin performans artışından ziyade sağlık açısından faydaları ile değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Nitekim bu araştırmada LPS epruvasyonu sonrası G ve Q gruplarında seyreden düşük mortalite vakaları bu öngörüü destekler niteliktedir.

4.4. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broilerlerde İmmunoglobulin Y (IgY) Düzeyine Etkileri

Strese neden olan birçok faktör (sıcaklık, antinütrisyonel etmenler, yerleşim yoğunluğu, enfeksiyonlar) inflamatuvar reaksiyonların gelişmesine ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olur (Wu ve ark., 2018). Sindirim sistemi mukozası rasyon, bakteriyel, viral ve parazitik antijenlere maruz kalmaktadır (Strobel, 1986). Bu antijenlere karşı koruma, sindirim sistemi ile ilgili lenfoid hücrelerinde salgılanan IgA ile sağlanır (Piquer ve ark., 1991). IgA bakterilerin sindirim sistemi epitel dokusuna bağlanmasını önlemektedir (Burke ve ark., 1989). Öte yandan, IgG antikorların sentezi ve timüs'e bağlı T-hücre yardımcı fonksiyonu ve tepkisi için gereklidir (Bartell ve Batal, 2007). IgY, kanatlı serum ve yumurta sarısında bulunan ana immunoglobulin olup, işlevi ve serum konsantrasyonu itibarıyla memelilerdeki IgG'ye benzerliği nedeniyle geçmişte IgG olarak adlandırılmıştır. IgG ve IgY arasındaki temel yapısal farklılıklar nedeniyle günümüzde IgY olarak tanımlanmaktadır. IgY, toplam immunoglobulin havuzunun yaklaşık %75 gibi önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Chalghoumi ve ark., 2009).

Bu çalışmada, denemenin 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından hayvanlar kesilerek serum IgY konsantrasyonu belirlenmiştir. Serum IgY konsantrasyonu bakımından FTS ve LPS enjeksiyonu

yönünden uygulama grupları arasında önemli bir farklılık bulunmuştur ($P=0,034$; Çizelge 3.6). IgY konsantrasyonu bakımından FTS alt grubu incelendiğinde, K grubuna ilişkin ortalama IgY değeri G grubu ile benzerlik gösterirken, Q grubuna göre yüksek bulunmuş olup, G+Q grubunda ise tüm gruplardan daha düşük bir değer saptanmıştır. LPS alt grubu incelendiğinde ise, G grubu en yüksek IgY konsantrasyonuna sahipken, K ve Q grupları benzer değerlerde bulunmuş olup, G+Q grubu yine en düşük değerde bulunmuştur. Bu çalışmadaki bulgular IgA, IgG ve IgY ile ilgili rapor edilen çalışma bulgularına benzerlik göstermektedir. Bartell ve Batal (2007), tarafından yürütülen bir çalışmada %1 düzeyinde Gln ilavesinin serum IgA ve IgG ile bağırsak IgA konsantrasyonlarında önemli artışlara neden olduğu saptanmıştır. Wu ve ark. (2018) sıcaklık stresine maruz kalan broylerlere %0,5 veya 1,0 düzeyinde Gln ilavesinin sitokin üretimini azaltarak bağırsak mukoza bariyer fonksiyonunu düzenleyebileceğini ve sıcaklık stresinin olumsuz etkilerinin giderilmesinde önemli olabileceğini belirtmiştir. Dai ve ark. (2011), sıcaklık stresi altındaki broylerlere Gln (5 g/kg yem) takviyesinin nitrik oksit sentaz ve kortikosteron üretimini azalttığını saptamıştır. Öte yandan, kuersetinin immun özellikler bakımından iyileşmelere yol açabileceği bildirilmiştir. Hager-Theodorides ve ark. (2014), %0,5 veya 1,0 düzeyinde kuersetin kullanımının broylerlerde hücresel cevabın veya immun durumu (*bursa Fabricius* ve timüs ağırlıkları veya hücre sayıları) ile toplam ve IgM antikor titrelerinde bir değişime yol açmamasına rağmen IgY titresini artırdığını bildirmiştir. Ognik ve ark. (2016), hindilerde IgA ve IL-6 aktivitelerinin kuersetine (200 mg/kg yem) bağlı arttığını bulgulamıştır. Benzer şekilde Yang ve ark. (2020), kuersetinin (0,6 g/kg yem) performansa etkisi olmadığını ancak dalak ve timüs indeksleri ile serum IgA, IL-4 ve IgM üretimini artırarak immun fonksiyonları iyileştirdiğini belirlemiştir. Aditya ve ark. (2017), soğan ekstraktı kullanıldıkları bir çalışmada serum IgG konsantrasyonunda bir artış bulgulamıştır. Güncel çalışmada saptanan FTS ve LPS alt gruplarındaki IgY seviyesindeki değişkenliği, denemenin 21. gününde yapılan enjeksiyon uygulamasının LPS etken maddesinin etkinliğine bağlı olarak immun sistemi uyarması ve belirgin bir stresi oluşturmaya atfetmek mümkündür. IgY konsantrasyonunun Q ve G+Q grubunda daha düşük olması kuersetinin iyi bir antioksidan molekül olarak oksidatif strese karşı etkin bir savunma sağlamak

suretiyle hayvan sağlığını dolaylı olarak destekleyebileceğini öngörmek mümkündür (Aditya ve ark., 2017; Hager-Theodorides ve ark., 2014 ve Yang ve ark., 2020).

LPS uygulaması IgY konsantrasyonu bağlamında uygulama grupları arasında önemli bir farklılığa yol açmamıştır (Çizelge 3.6). LPS uygulaması bu haliyle FTS alt grubundan farklı bir eğilim göstermiştir. Xie ve ark. (2000), 3 haftalık broyler piliçlerine *S. typhimurium* enjeksiyonunun, enjeksiyondan 12, 24 ve 48 saat sonra karaciğer ağırlığı ve IL-6 aktivitesinde artışa neden olduğunu saptamıştır. Takahashi ve ark. (1999), makrofaj fonksiyonlarını uyarmak amacıyla denemenin bitimine 6 gün kalan başlayan ve 3 defa gün aşırı *E. coli* LPS ve yine gün aşırı 2 defa Sephadex-G 50 enjeksiyonlarının alfa-1- asit glikoprotein (AGP) ve IL-1 benzeri aktivitelerinde artışa yol açtığını saptamıştır. Benzer şekilde, Sun ve ark. (2020), 16, 18 ve 20 günlük yaşlarda LPS uygulamasına bağlı bağırsak bütünlüğünde bozulmanın bir göstergesi olarak bilinen serum diamin oksidaz konsantrasyonunda bir artış belirlemiştir. LPS ile elde edilen güncel çalışma bulguları, LPS uygulamasının dozu, uygulama sıklığı ve sayısı, LPS türü, incelenen immün özellikler ve örneklemelerin LPS uygulamasından ne kadar süre sonra yapıldığı gibi faktörler, güncel çalışma ile diğer çalışmalar arasındaki farklılıklar nedenleri olabileceğini destekler niteliktedir.

FTS uygulamasına maruz kalan Q grubundaki hayvanların serum IgY konsantrasyonu 1,27 ng/ml iken LPS uygulamasına maruz kalan aynı uygulama grubundaki hayvanların serum IgY konsantrasyonu 1,94 ng/ml olarak gerçekleşmiştir. Söz konusu nümerik farklılık LPS uygulamasına maruz kalan uygulama grubundaki hayvanların bağıışıklık sisteminin daha fazla uyarıldığına işaret etmektedir.

4.5. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerlerde Jejenum Histomorfolojisine Etkileri

Yumurtadan çıkıştan sonraki ilk günler kanatlılarda yaşama gücü ve performans bağlamında hayati öneme sahiptir. Kuluçka döneminde yumurtadan beslenen civcivler kuluçka döneminin bitimi ile dış kaynaklı bir besleme rejimi ile karşı karşıya kalmaktadır. Yeni besleme rejimine adaptasyon bu hayvanlarda sindirim sisteminin iyi gelişimi ile doğru orantılı olarak gelişmektedir. Sindirim sistemi kuluçkadan çıkıştan sonra ciddi düzeyde bir olgunlaşma süreci geçirmekte, bu süreç broyler performansını etkilemektedir (Murakami ve ark., 2007). İnce bağırsağı oluşturan kısımların olgunlaşma süreci bağlamında farklılık gösterdiği, duodenum gelişiminin 7 gün sonunda tamamlandığı buna karşın ileum ve jejenum gelişiminin 14 günü bulduğu bildirilmektedir (Uni, 1999). Farklı faktörlere bağlı olarak gelişen stres, hayvanlarda fizyolojik, sağlık ve performans bağlamında ciddi etkiler ortaya koyabilmektedir. Sindirim sistemi, bağırsak mikrobiyotasında değişimler yanında epitel doku entegrasyonu ile villus uzunluğu ve kript derinliğinde azalmaya neden olan bu stres kaynaklarıyla karşı karşıya kalan önemli bir organ ve dokular bütünüdür (Olubodun ve ark., 2015; Shakeri ve ark., 2014 ve Sun ve ark., 2020). Bu stres faktörlerinin olumsuz etkilerinin azaltılmasında bazı besleme temelli yaklaşımlar (probiyotik, prebiyotik, amino asitler ve antioksidan etkinliğine sahip maddeler) benimsenmektedir (Gerasopoulos ve ark., 2015; Varasteh ve ark., 2015 ve Xu ve ark., 2003).

Bu çalışmanın 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından hayvanlar kesilerek ince bağırsağın jejenum kısmında histomorfolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir. FTS ve LPS alt uygulamasına maruz kalan hayvanların villus yüksekliği uygulama gruplarından önemli düzeyde etkilenmiş, K grubundaki VY değeri G grubu ile benzerlik gösterirken, Q ve G+Q gruplarından daha düşük bulunmuştur ($P<0,001$; Çizelge 3.5). Q ve G+Q grupları K ve G grubundan göreceli olarak daha yüksek seyretmiştir. L-Gln uygulamasına ilişkin VY bulgusu Shakeri ve ark. (2014), tarafından rapor edilen bulgular ile benzerlik göstermesine rağmen L-Gln'in VY artışına yol açtığı yönünde bildirişlerde bulunan diğer araştırma

bulgularından farklılık göstermektedir (Jazideh ve ark., 2014; Maiorka ve ark., 2000; Nassiri Moghaddam ve Alizadeh-Ghamsari, 2013 ve Olubodun ve ark., 2015). Denemede K ve G grubuna ilişkin VY ortalamasının Q ve G+Q uygulama gruplarından göreceli daha düşük seyretmesi beslemeye ilişkin bir stresin var olabileceğine işaret etmektedir (Yamauchi ve ark., 1996). Bunu L-Gln'in bağırsak geçirgenliği üzerine olan olası ve göreceli olumsuz etkisine bağlamak mümkündür. Gilani ve ark. (2018), %1 L-Gln kullanılan hayvanlarda bağırsak geçirgenliğinin arttığını, bu etkinin bağırsak hasarına yol açan nitrik oksit molekülünün üretiminde rol oynayan Gln'den dolayı gerçekleştiğini belirtmiştir (Mercer ve ark., 1996 ve Santos ve ark., 2014). Öte yandan, kuersetin VY bakımından olumlu bir etki ortaya koymuştur. Sun ve ark. (2020), güncel bir çalışmada, kuersetinin LPS'ye maruz bırakılan broylerlerde bağırsak villus uzunluğu ve kript derinliğinde artışa neden olduğunu bildirmiştir. Wang ve ark. (2018), kuersetinin bakteriyostatik bir etkiye sahip olabileceğini ve antibiyotik olarak kullanılabileceğini beyan etmiştir. Yumurtacı tavuklarda kuersetin kullanımına bağlı sindirim sistemindeki toplam aerob ve koliform sayılarında düşüş ve *Bifidobacteria* popülasyonunda artış bu beyanı destekler niteliktedir (Liu ve ark., 2014). Tüm bu bulgular, kuersetinin bağırsak epitel hücrelerindeki oksidatif stresin etkilerinin azaltılması ve hücrelerin korunmasında etkili bir antioksidan olduğunu göstermektedir (Sun ve ark., 2020). Ayrıca L-Gln, VY ve diğer histolojik özellikler üzerine olumlu etkilerini özellikle strese neden olan sıcaklık ve nem ile mikrobiyal enfeksiyon koşullarının oluşturulduğu çalışmalarda sergilemiştir (Jazideh ve ark., 2014; Olubodun ve ark., 2015; Xue ve ark., 2018 ve Yi ve ark., 2005). Bunun yanında, L-Gln ilavesinin ince bağırsak histolojisi üzerine olumlu etkilerinin yaşamın 0-7. günlük periyodunda önemli olduğu (Maiorka ve ark., 2000) ve ince bağırsak kısımları arasında farklılıkların önemli olabileceği rapor edilmektedir (Jazideh ve ark., 2014 ve Nassiri Moghaddam ve Alizadeh-Ghamsari, 2013).

VY'ye benzer eğilimler aynı zamanda kript derinliği (KD) ve göreceli olarak daha az da olsa villus genişliği (VG) için de söz konusudur (Çizelge 3.5). FTS'ye maruz kalan hayvanlarda KD bakımından uygulama grupları arasında önemli bir farklılık görülmezken, LPS'ye maruz kalan hayvanlarda K, G ve G+Q grupları

birbirine yakın bulunmasına karşın, Q grubu diğerlerine göre düşük bulunmuştur ($P=0,005$; Çizelge 3.5). Villus uzunluğu ve genişliğine bağlı değişimler besin madde sindirimi ve emilimi açısından farklı etkiler sergileyebilmektedirler. Bu durum özellikle stres koşulları altında kendisini daha belirgin olarak göstermektedir (Murakami ve ark., 2007 ve Wu ve ark., 2018). İnce bağırsak morfolojisindeki iyileşmelerin her zaman performansta olumlu sonuçlar vermeyeceği, diğer faktörlerin de (metabolik, immun veya fizyolojik) performansın belirlenmesinde etkili olabilecekleri olgusu da uygulamaların etkilerinin değerlendirilmesinde dikkate alınmalıdır (Bartell ve Batal, 2007; Gilani ve ark., 2018 ve Jazideh ve ark., 2014).

FTS ve LPS uygulaması jejunum histolojisi bağlamında VY dışında incelenen diğer özellikler açısından uygulama grupları arasında önemli bir etki sergilemiştir (Çizelge 3.5). Besleme grupları yönünden bakıldığında ise *T muscularis* dışında incelenen diğer özellikler açısından uygulama grupları arasında önemli bir etki sergilemiştir (Çizelge 3.5). Besleme ve enjeksiyon uygulamalarının etkileşimi yönünden birlikte ele alındığında ise, VY, KD ve VG istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterse de, Villus:Kript (V:K) oranı ve *T muscularis* değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 3.5). LPS alt gruplarında, VY bağlamında Q ve G+Q uygulamaları, KD bağlamında G ve G+Q uygulaması, VG bağlamında G ve G+Q uygulamaları ve *T muscularis* bağlamında G ve G+Q uygulamaları diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek değerler sergilemiştir. Özellikle villus yüksekliği ve genişliğindeki artışları, *Lamina propria* tabakasında LPS uygulamasına karşı ortaya çıkan tepkisel değişimler olarak yorumlamak mümkündür. LPS uygulaması dendritik hücre aktivasyonunu artırabilen bir etkinlik sergileyebilmektedir (Takahashi ve ark., 1999; Wu ve ark., 2016; Xie ve ark., 2000).

4.6. L-Glutamin ve Kuersetin Kullanımının Broylerde Antioksidan Parametrelerine Etkileri

Enfeksiyonlar, inflamasyon ve strese neden olan etmenlere maruz kalan insanlarda ve hayvanlarda metabolik olaylar esnasında açığa çıkan reaktif oksijen

türleri antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Antioksidanlar, yağların peroksidasyonunu önleyerek ROT'leri zararsız moleküllere dönüştürmektedirler (Aguirre ve ark., 2011). Antioksidan sistemler, endojen/eksojen veya enzimatik/enzimatik olmayanlar olarak tanımlanan ve normal koşullar altında bir denge içerisinde çalışan biyolojik olaylardır (İskender ve ark., 2016). Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon reduktaz (GR), buna karşın glutatyon (GSH) oksidatif strese karşı organizmayı koruyan enzimatik olmayan antioksidanların başında gelmektedir (Mates ve ark., 2000).

Bu çalışmada, antioksidan durumun incelenmesi amacıyla belirlenen antioksidan enzim aktiviteleri ile toplam antioksidan kapasite düzeyi bakımından FTS ve LPS enjeksiyonlarına maruz kalan hayvanlarda uygulama grupları arasında önemli farklılıklar saptanmıştır (Çizelge 3.6). FTS uygulamasına maruz kalan hayvanlarda kan serumunda SOD aktivitesi bakımından K, G, Q ve G+Q grupları arasında belirgin bir farklılık görülmezken, K grubundaki değer diğer gruplardan nümerik olarak daha yüksek bulunmuştur. LPS uygulamasına maruz kalan hayvanlarda G ve G+Q grubundaki SOD aktivitesi birbirine yakın iken, Q grubu bu iki gruptan daha yüksek bulunmuş ve K grubu en düşük seviyede SOD aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Denemede FTS ve LPS enjeksiyonları ($P=0,000$) ve besleme grupları ($P=0,006$) arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (Çizelge 3.6). Bu bulgu Q ve G+Q gruplarındaki hayvanların daha fazla oksidatif strese maruz kalmış olabileceklerine işaret etmektedir. Aynı gruptaki hayvanlarda MDA düzeyinin K ve G gruplarından dahi yüksek bulunması bu bulguyu destekler niteliktedir. Stres koşulları altında üretilen ve hücreleri oksidatif strese karşı koruyan sıcaklık şoku proteinlerinin üretiminde L-Gln ile kuersetinin birlikte kullanımının tersi yöndeki metabolik etkilerinin bir sonucu olarak Q ve G+Q grubunda SOD aktivitesinde göreceli bir artışa neden olması muhtemeldir (Wischmeyer ve ark., 1997). Glutaminin, sıcaklık stresi altındaki broylerlerde sıcaklık şoku protein üretimini teşvik ederken kuersetinin üretimini azaltıcı etkiye sahip olduğu, sıcaklık şoku proteini üretimi ile antioksidan enzim aktiviteleri arasında doğrusal bir ilişkinin var olduğu Gu ve ark. (2012), tarafından gösterilmiştir.

Denemede Q ve G+Q grubundaki hayvanların kan serumunda GSH-Px enzimi aktivitesi diğer gruplardan daha yüksek gerçekleşmesi de SOD ve MDA aktivitelerindekine benzer bir etkileşimin GSH-Px enzimi üzerinde de etkili olabileceğini göstermektedir (Çizelge 3.6). Denemede GSH-Px enzimi uygulanan FTS ve LPS enjeksiyonlarından etkilenmezken ($P=0,519$), besleme açısından ortaya çıkan sonuçlar itibariyle istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($P=0,000$).

Toplam antioksidan kapasite (T-AOC) bir hastalık veya stres koşulunda ortaya çıkan serbest radikallere karşı antioksidan tepkiyi belirlemek üzere sıklıkla kullanılan bir analitik belirteçtir (Rubio ve ark., 2016) ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmasının durumunu yansıtmada önemli bir araçtır (Gu ve ark., 2012). Karaciğer doku ekstraktında T-AOC değerleri bağlamında gruplar arasındaki farklılık incelendiğinde FTS uygulamasına maruz kalan hayvanlarda G grubundaki T-AOC değerinin diğer gruplardan yüksek gerçekleşmiştir (Çizelge 3.6). Buna karşın LPS uygulamasına maruz kalan hayvanlarda G+Q grubunda bulunan T-AOC değeri diğer uygulama gruplarından daha yüksek bulunmuştur. G+Q grubundaki T-AOC değerinin nispeten daha yüksek düzeyde bulunması, kuersetin ve türevlerinin antioksidan etkiye sahip moleküller olduğu yönündeki araştırma bulgularını teyit eder niteliktedir (Alrawaiq ve Abdullah, 2014; Morand ve ark., 1998). LPS'ye maruz kalan hayvanlarda T-AOC'nin G+Q grubunda diğer gruplara oranla istatistiki anlamda önemli düzeye yakın olacak şekilde daha yüksek gerçekleşmesi stres koşulları altında glutaminin önemli bir antioksidan olan glutatyon sentezindeki rolü ve kuersetinin yüksek antioksidan kapasitesi ile açıklamak mümkündür (Alrawaiq ve Abdullah, 2014 ve Newsholme ve ark., 2003).

MDA en iyi bilinen aldehitlerden birisi olup yağların peroksidasyonu sonucu oluşmaktadır. MDA düzeyi oksidatif durumun tanımlanmasında önemli olan bir metabolit olup hücrelerde DNA bozulması ve hasarın bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Kamboh ve ark., 2015). Güncel çalışmada karaciğer doku ekstraktından elde edilen MDA bulguları, yağların peroksidasyonu sonucu açığa çıkan bu metabolit konsantrasyonu bakımından hem FTS hem de LPS alt gruplarında

uygulama grupları arasında bir farklılığın olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.6). MDA konsantrasyonu FTS uygulaması yapılan gruplarda G+Q ve Q gruplarına kıyasla K ve G gruplarında önemli düzeyde düşük bulunmuştur (FTS ve LPS alt grupları için $P=0,000$) (Çizelge 3.6). Bu bulgu, Gln ve kuersetinin oksidatif stresin önlenmesinde etkili moleküller olduklarını ve hücrelerin korunmasında rol oynadıklarını göstermektedir. Gu ve ark. (2012), ve Sun ve ark. (2020), Gln ve kuersetinin kullanımına bağlı MDA konsantrasyonunda önemli azalma bulgularına ulaşmıştır ve bu bulgular güncel çalışma bulguları ile uygunluk sergilememektedir. Bunun sebebi olarak LPS epruvasyonu neticesinde yüksek düzeyde yaşanan stres ve immun sistemin normalin üstünde uyarılması gösterilebilir. Kuersetin veya antioksidan etkiye sahip maddeler aynı zamanda et ve yumurtada antioksidan kapasiteyi artırarak ürün kalitesinin ve raf ömrünün uzatılmasında da kullanılabilecek potansiyel sergilemektedirler (Goliomytis ve ark., 2014; Goliomytis ve ark., 2015; İskender ve ark., 2016 ve Sohaib ve ark., 2015).

Bu çalışmadaki antioksidan enzim aktiviteleri, T-AOC ve MDA düzeylerine ilişkin bulgular ile diğer çalışmalardaki benzer bulguların değerlendirilmesine her bir çalışmaya ilişkin koşullar; örneğin, strese yol açan sıcaklık, nem, yerleşim sıklığı veya toksinler dikkate alınarak değerlendirme yapılması ve yorumlanması yerinde olacaktır (Dai ve ark., 2011; Gu ve ark., 2012 ve Takahashi ve ark., 1999). Bunun yanında, kullanılan Gln veya kuersetin düzeyi de önemli bir faktör olabileceği hususu da göz ardı edilmemelidir. Örneğin, Sun ve ark. (2020), broylerlerde LPS uygulamasına bağlı oluşan oksidatif stresinin etkilerinin giderilmesinde 200 mg/kg yem düzeyindeki kuersetinin 500 mg/kg yem düzeyinde daha etkili olduğunu dolayısı ile katkı düzeyinin önemli olabileceğini belirtmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu doktora tezinde çalışmanın ilk gününden itibaren L-glutamin (L-Gln) ve/ya kuersetin içeren etlik piliç rasyonlarını tüketen ve çalışmanın 21. günde LPS epruvasyonuna maruz bırakılan broylerlerde L-Gln ve kuersetinin bireysel veya bir kokteyl olarak yeme ilave edilmesinin performans, bağırsak histomorfolojisi, antioksidan parametreleri ve immun yanıt üzerine etkileri araştırmaya konu edilerek, belirlenmiş ve aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

1. Araştırmada, etlik piliç rasyonlarına L-Gln ve/ya kuersetin ilavesi haftalık bazda uygulama grupları arasında canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışı değerleri bakımından farklılıklara yol açmıştır.

Çalışmanın 21. gününde bağışıklık sistemini uyarmak amacıyla uygulama gruplarındaki hayvanların yarısına uygulanan *Salmonella* temelli LPS epruvasyonu 21-42. gün aralığında belirlenen CA ve CAA değerlerini önemli düzeyde etkilediği saptanmıştır. LPS'ye maruz kalan hayvanların denemenin sonuna dek metabolik anlamda FTS'ye maruz kalanlara göre daha düşük CA ve CAA değerlerine sahip oldukları görülmüştür.

Bu araştırmanın 0-21. günleri arasındaki mortalite değerleri oldukça düşük seyretmiş ve gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır. Öte yandan araştırmanın 21. gününde uygulanan LPS enjeksiyonu denemenin 21-42. günleri arasında mortalite oranlarında artışa neden olmuştur. En düşük mortalite oranları G ve Q katkılarının bireysel uygulandığı gruplarda gerçekleşmiştir. Bu bulgular L-Gln ve kuersetinin, inflamasyon ve hastalığa neden olan toksinlere maruz kalan etlik piliçlerde hormon ve sitokin üretimini harekete geçirerek ve/ya oksidatif stresi azaltarak immun responsun artmasına dolayısıyla mortalitede azalmayla sonuçlanacak etkilere sahip olabileceklerini destekler niteliktedir.

L-Gln veya kuersetinin bireysel olarak veya birlikte verilmesi canlı ağırlık artışından farklı olarak sıcak karkas ağırlığı ve sıcak karkas randımanında önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Bu parametrelere ilişkin karkas ağırlığı grup ortalama değerlerinde LPS epruvasyonuna bağlı bir anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Ancak farklı bir şekilde deneme sonu iç organ ağırlıkları uygulama gruplarından veya FTS-LPS uygulamasından önemli düzeyde etkilenmemiştir.

Çalışmada 0-21. ve 21-42. günlerdeki EPEF parametresinden elde edilen verilere bakıldığında, L-Gln ve kuersetin ilave edilen rasyonlarla beslenen etlik piliçlerin kontrol grubuna göre daha yüksek üretim etkinliği saptanmıştır. Ayrıca FTS enjeksiyonu yapılan gruptaki üretim etkinliği, LPS enjeksiyonu yapılan gruptakine göre her zaman daha yüksek bulunmuştur.

2. Bu çalışmada, denemenin 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından kesilen hayvanlardan belirlenen serum IgY konsantrasyonları FTS ve LPS alt gruplarında hem besleme hem de enjeksiyon gruplarından önemli düzeyde etkilenmiştir. FTS alt grubunda kuersetin içeren yemi tüketen etlik piliçlerin IgY değeri diğer gruptaki hayvanlardan daha düşük bulunmuştur. FTS ve LPS epruvasyonu kan serumundaki IgY üzerinde önemli bir etkiye neden olmuştur.
3. Bu çalışmanın 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından hayvanlar kesilerek ince bağırsağın jejunum kısmında histomorfolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Villus yüksekliği (enjeksiyon faktörü hariç), kript derinliği, *T muscularis* kalınlığı (beslenme faktörü hariç), villus genişliği ve VY:KD L-Gln ve kuersetinin bireysel veya bir kokteyl formunda kullanımından önemli düzeyde etkilenmiştir. FTS ve LPS epruvasyonu villus yüksekliği dışındaki tüm parametreler üzerinde önemli bir etkiye neden olmuştur.
4. Karaciğer doku ekstraktlarında ve kan serumunda antioksidan parametrelerine (SOD, MDA, GSH-Px, T-AOC) uygulama gruplarının ve

FTS-LPS enjeksiyonlarının etkisi araştırılmış, enjeksiyon faktörüne bağlı GSH-Px ve T-AOC aktivitesi hariç, diğer tüm parametreler L-Gln ve/ya kuersetinden etkilenmiştir. Tüm antioksidan parametrelerinde besleme ile FTS-LPS enjeksiyon etkileşim etkisi ise önemli farklılıklar oluşturmuştur.

Bu çalışmada elde edilen bulgular L-Gln ve/ya kuersetinin ayrı ayrı ya da bir kokteyl olarak kullanıldığında genel anlamda etlik piliçlerin performansında etkilere sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca söz konusu uygulamaların incelenen bazı metabolik veya histomorfolojik parametrelerde de önemli düzeyde farklılıklara yol açtığı saptanmıştır. Dolayısıyla yem katkı maddelerinin etkinliğinin belirlenmesinde performans parametrelerinin sonuçlarına bakılmasının yanında metabolik ve biyolojik parametreler ile birlikte değerlendirilmesinin daha doğru ve destekleyici sonuçlar verebileceği kanaatine ulaşılmıştır.

Bu çalışmada, L-Gln ve kuersetinin bir kokteyl olarak kullanılmasının bireysel olarak kullanılmalarından farklı sonuçlara yol açtığı saptanmıştır. Söz konusu farklılığa neden olan faktörlerin gelecek çalışmalarda tespit edilmesi faydalı olacağı düşünülmektedir. L-Gln ve/ya kuersetin ile yapılan çalışmalarda özellikle taşıma, sıcaklık, nem, düşük altlık kalitesi, aşılama, geciktirilmiş yemleme, yerleşim yoğunluğu vb. gibi stres koşulları altında olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu tez çalışmasının benzeri niteliğinde olacak gelecekteki çalışmalarda stres koşulları altındaki etlik piliçlerde L-Gln ve/ya kuersetinin performans ve metabolik etkileri araştırılması literatüre katkı sağlayacaktır. Yem katkı maddelerinin etkinliğini belirleyen faktörlerden biri de etkin dozun belirlenmesi hususudur. Bu çalışmada kullanılan rasyonlara sabit konsantrasyonda L-Gln (%1) ve kuersetin (%0,05) ilave edilerek tüketime sunulmuştur. Söz konusu katkı maddelerinin etkinliğini ortaya koyduğu optimum dozun belirlenmesine yönelik çalışmalar hem teorik hem de pratik anlamda kanatlı besleme alanına önemli katkılar sağlayacaktır. LPS epruvasyonunun dozu, uygulama aralığı, etken madde seçimi yanında epruvasyon sonrasındaki örnekleme zaman aralıklarının etkilerinin belirlenmesindeki yaklaşımlar gelecekte yapılacak çalışmalarda dikkate alınabilir.

ÖZET

Lipopolisakkarit Epruvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmun Yanıt Üzerine Etkileri

Bu doktora tezinin amacı çalışmanın ilk gününden itibaren L-Gln ve/ya kuersetin içeren etlik piliç rasyonlarını tüketen ve çalışmanın 21. günde LPS epruvasyonuna maruz bırakılan broylerlerde L-glutamin ve kuersetinin bireysel veya bir kokteyl olarak yeme ilave edilmesinin performans, bağırsak histomorfolojisi, antioksidan parametreleri ve immün yanıt üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Denemede bir günlük yaştaki 400 adet (Ross 308) erkek civciv 5 deneme grubuna (Kontrol, G, Q, G+Q) ve her biri 10 civcivden oluşan 10 tekrar grubuna rastgele bir şekilde dağıtılmıştır. Etlik civcivler 42 gün süre ile mısır ve soya küspesi temelli rasyonlar ile beslenmişlerdir. Deneme grupları dizaynı; K grubu, bazal rasyon (kontrol; herhangi bir katkı maddesi olmayan); G grubu (Glutamin, rasyonun %1 düzeyinde); Q grubu (Kuersetin, rasyonun %0,05 düzeyinde); G+Q grubu (Glutamin+Kuersetin, rasyonun %1 ve %0,05'i düzeyinde) olmuştur. Araştırmanın 21. ve 42. günlerinde her alt gruptan 1 adet civciv (her bir alt gruptan 21. günde 20 adet, 42. günde 10 adet) kan serumu ve ince bağırsakta yapılan çeşitli analizler yapmak amacıyla uygun metotlar ile kesilmiştir.

Etlik piliç rasyonlarına L-Gln ve/ya kuersetin ilavesinin yapılması haftalık bazda uygulama grupları arasında CA ve CAA değerleri bakımından istatistiksel açıdan bir farklılığa yol açmıştır ($P<0,05$).

Bağırsaklık sistemini uyarmak amacıyla çalışmanın 21. gününde uygulama gruplarındaki hayvanların yarısına yapılan *Salmonella* temelli LPS epruvasyonu uygulaması 21-42. günler arasında belirlenen CA ve CAA değerlerini önemli düzeyde etkilediği saptanmıştır ($P<0,05$).

Bu araştırmanın 0-21. günleri arasındaki mortalite değerleri oldukça düşük seyretmiş ve gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır ($P>0,05$). Öte yandan araştırmanın 21. gününde uygulanan LPS enjeksiyonu denemenin 21-42. günleri arasında mortalite oranlarında artışa neden olmuştur. En düşük mortalite oranları G ve Q katkılarının bireysel uygulandığı gruplarda gerçekleşmiştir.

L-Gln veya kuersetinin bireysel olarak veya birlikte verilmesi CAA farklı olarak sıcak karkas ağırlığı ve sıcak karkas randımanında önemli bir değişikliğe yol açmamıştır ($P>0,05$). Deneme sonunda iç organ ağırlıkları uygulama gruplarından veya FTS-LPS uygulamasından önemli düzeyde etkilenmemiştir ($P>0,05$).

Denemenin 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından kesilen hayvanlardan belirlenen serum IgY konsantrasyonları FTS alt grubunda uygulama gruplarından önemli düzeyde etkilenmesine rağmen, LPS alt grubunda etkilenmemiştir ($P>0,05$). FTS alt grubunda L-Gln ve kuersetin (G+Q) içeren yemi tüketen etlik piliçlerin IgY değeri diğer gruplardaki hayvanlardan daha düşük bulunmuştur. FTS ve LPS epruvasyonu kan serumundaki IgY üzerinde önemli bir etkiye neden olmuştur ($P=0,034$).

Çalışmanın 21. gününde LPS uygulamasından 4 saat sonra FTS ve LPS alt gruplarından hayvanlar kesilerek ince bağırsağın jejunum kısmında histomorfolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Villus yüksekliği (enjeksiyon faktörü hariç), kript derinliği, t-muscularis kalınlığı (FTS - LPS alt grubu hariç), villus genişliği ve VY:KD L-Gln ve kuersetinin bireysel veya bir kokteyl formunda kullanımından önemli düzeyde etkilenmiştir ($P<0,01$). FTS ve LPS epruvasyonu villus yüksekliği dışındaki tüm parametreler üzerinde önemli bir etkiye neden olmuştur ($P<0,01$).

Karaciğer doku ekstraktlarında ve kan serumunda antioksidan parametrelerine (SOD, MDA, GSH-Px, T-AOC) uygulama gruplarının ve FTS-LPS enjeksiyonlarının etkisi bağlamında, FTS-LPS enjeksiyon uygulamasında GSH-Px ile T-AOC aktivitesi hariç, diğer tüm parametreler L-Gln ve/ya kuersetinden etkilenmiştir ($P<0,05$). Deneme gruplarında besleme ile FTS-LPS enjeksiyon etkileşim etkisi de istatistiksel açıdan anlamlı farklılık oluşturmıştır ($P<0,001$).

Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen bulgular L-Gln ve/ya kuersetinin ayrı ayrı ya da bir kokteyl olarak kullanıldığında genel anlamda etlik piliçlerin performansında etkilere sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca, söz konusu uygulamaların incelenen bazı metabolik veya histomorfolojik parametrelerde de önemli düzeyde farklılıklara yol açtığı saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Etlik Piliç, Jejunum, Kuersetin, L-Glutamin, Lipopolisakkarit.

SUMMARY

Effects of Dietary Glutamine and Quercetin on Performance, Intestinal Morphology, Antioxidant Characteristics and Immune Response in Broiler with Lipopolysaccharide-challenged

The aim of this PhD dissertation was to investigate the influence of L-glutamine or quercetin supplementation alone or in combination on the performance, intestinal histomorphology, antioxidant parameters and immune response of broiler chicks challenged with lipopolysaccharides (LPS) on day 21.

In the study, 400 one day old male chicks (Ross 308) were allocated to one of 4 treatments as 10 chicks in replicate groups. The broiler chicks were fed with a maize-soybean meal based ration for 42 days. The treatment groups were C (Control - No supplementation); G (Glutamine - 1% of the ration), Q (Quercetin – 0.05% of the ration) and G+Q (Glutamine+Quercetin – 1%+0.05% of the ration). On days 21 and 42, one chick from each sub-group (20 chicks on day 21 and 10 chicks on day 42) was slaughtered for serum and intestinal analyses.

The supplementation of G and/or Q resulted in difference in weekly body weight (BW) or body weight gain (BWG) among the treatments ($P < 0.05$). The challenge of the birds with *Salmonella*-based LPS on d 21 affected BW and BWG on days 21 and 42 ($P < 0.05$).

The mortality rates were low between 0 and 21 days and did not differ across the treatments ($P > 0.05$). On the other hand, LPS injection increased mortality rates between 21 and 42 days. The lowest mortality rate was recorded in G and Q groups.

L-Gln or quercetin did not influence hot carcass weight and hot carcass percentage ($P > 0.05$). No difference was noted due to LPS injection ($P > 0.05$). Likewise, internal organ weights were not affected by the treatments or physiological saline water (PSW) and LPS injection ($P > 0.05$).

IgY concentrations, which were determined from the chickens of PSW and LPS sub-groups 4 h after LPS injection on day 21, differed significantly by the treatments in PSW sub-group but not in the LPS sub-group ($P > 0.05$). Chickens fed with G+Q in the PSW sub-group had lower IgY values than did those in other groups. PSW or LPS injections significantly changes blood serum IgY concentrations ($P = 0.034$).

Histomorphological studies were carried out with the jejunum of the animals in the PSW and LPS sub-groups, which were slaughtered 4 h after LPS injection. Villus height, crypt depth, t-muscularis thickness (except for PSW and LPS sub-group), villus width and VH:CD were greatly influenced by G and Q alone or in combination ($P < 0.05$). PSW and LPS injections had significant effects on all the parameters except for villus height ($P < 0.001$).

G and/or Q affected all the antioxidant parameters (SOD, MDA, GSH-Px, T-AOC) except for GSH-Px and T-AOC in the PSW and LPS sub-group from the liver tissue extracts and blood serum ($P < 0.05$). The effect of PSW-LPS injection was significant ($P < 0.001$).

In conclusion, the supplementation of L-Gln and/or quercetin alone or in combination in general influenced the performance of the broiler chickens. Moreover, these treatments significantly modulated some of the metabolic and histomorphological parameters.

Keywords: Broiler, Jejenum, L-Glutamine, Lipopolysaccharide, Quercetin,



KAYNAKLAR

- ABAZA IM, SHEHATA MA, SHIEB MS, HASSAN II (2008). Evaluation of some natural feed additive in growing chicks diets. *Int J Poult Sci*, **7(9)**: 872-879.
- ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS (1997). Cytokines. *in: Cellular and molecular immunology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA, p.: 250-277.
- ABCAM (2013). For the quantitative measurement of IgA in chicken serum and plasma samples (ab157691 – IgA Chicken ELISA Kit).
- ABDELMOATY MA, IBRAHIM MA, AHMED NS, ABDELAZIZ MA (2010). Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. *Indian J Clin Biochem*, **25(2)**: 188-192.
- ABU HAFSA SH, IBRAHIM SA (2018). Effect of dietary polyphenol- rich grape seed on growth performance, antioxidant capacity and ileal microflora in broiler chicks. *J Anim Physiol Anim Nutr*, **102(1)**: 268-275.
- ADES TB (2009). Quercetin. *American Cancer Society complete guide to complementary and alternative cancer therapies (2nd ed.)*. American Cancer Society.
- ADITYA S, AHAMMED M, JANG SH, OHH SJ (2017). Effects of dietary onion (*Allium cepa*) extract supplementation on performance, apparent total tract retention of nutrients, blood profile and meat quality of broiler chicks. *Asian-Austral J Anim Sci*, **30(2)**: 229-235.
- ADJEI AA, MATSUMOTO Y, OKU T, HIROI Y, YAMAMOTO S (1994). Dietary arginine and glutamine combination improves survival in septic mice. *Nutr Res*, **14**: 1591-1599.
- AGUIRRE L, ARIAS N, MACARULLA MT, GRACIA A, PORTILLO MP (2011). Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *Open Nutraceuticals J*, **4**: 189-198.
- ALAGAWANY M, ABD EL-HACK ME, EL-KHOLY MS (2016). Productive performance, egg quality, blood constituents, immune functions, and antioxidant parameters in laying hens fed diets with different levels of *Yucca schidigera* extract. *Environ Sci Pollut Res*, **23(7)**: 6774-6782.

- ALRAWAIQ NS, ABDULLAH A (2014). A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *Int J PharmTech Res*, **6(3)**: 933-941.
- ANDREWS FJ, GRIFFITHS RD (2002). Glutamine: Essential for immune nutrition in the critically ill. *Br J Nutr*, **S1**:3-8.
- ANONİM (2014) USDA database for the flavonoid content of selected foods-released and slightly revised in May 2014. Erişim Adresi: [http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=6231]. Erişim Tarihi: 18/01/2020.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th Ed., AOAC International, Maryland, USA.
- APAJALAHTI J, KETTUNEN A, GRAHAM H (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poult Sci J*, **60(2)**: 223-232.
- APPIAH MO (2018). An investigation of factors that may influence the occurrence of early chick mortality on some farms in Ghana. *Int J Ani Sci*, **2(6)**: 1036.
- APPLEGATE TJ, DIBNER JJ, KITCHELL ML, UNI Z, LILBURN MS (1999). Effect of Turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, **124**: 381-389.
- ARDAWI MSM, NEWSHOLME EA (1983). Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. *Biochem J*, **212**: 835-842.
- ARSLAN M, HAQ A, ASHRAF M, IQBAL J, MUND MD (2017). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) supplementation on growth performance, immune response, carcass characteristics and cholesterol profile in broilers. *Veterinaria*, **66(1)**: 16-19.
- AWAD W, GHAREEB K, BÖHM J (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbiotic containing *Enterococcus faecium* and ligosaccharides. *Int J Mol Sci*, **9(11)**: 2205-2216.
- BAREKATAIN R, TOGHYANI M (2019). High dietary zinc and glutamine do not improve the performance or reduce excreta moisture of broiler chickens fed diets with and without magnesium supplementation. *Poult Sci*, **98(9)**: 4066-4072.

- BARTELL SM, BATAL AB (2007). The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poult Sci*, **86(9)**: 1940-1947.
- BATAL AB, PARSONS CM (2002). Effect of fasting versus feeding oasis after hatching on nutrient utilization in chicks. *Poult Sci*, **81(6)**: 853-859.
- BELL JM (1993). Factors affecting the nutritional value of canola meal: a review. *Can J Anim Sci*, **73(4)**: 689-697.
- BELLOIR P, LESSIRE M, BERRI C, LAMBERT W, CORRENT E, TESSERAUD S (2015). Revisiting amino acid nutrition. In *Proceedings of the 20th European Symposium of Poultry Nutrition*, p.:27-34.
- BENTZ AB (2017). A review of quercetin: chemistry, antioxidant properties, and bioavailability. *J Young Investig*.
- BERRI C, BESNARD J, RELANDEAU C (2008). Increasing dietary lysine increases final pH and decreases drip loss of broiler breast meat. *Poult Sci*, **87(3)**: 480-484.
- BIGOT K, MIGNON-GRASTEAU S, PICARD M, TESSERAUD S (2003). Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. *Poult Sci*, **82(5)**: 781-788.
- BIGGS P, PARSONS CM, FAHEY AG (2007). The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poult Sci*, **86(11)**: 2327-2336.
- BOSHTAM M, RAFIEI M, SADEGHI K, SARRAF-ZADEGAN N (2002). Vitamin E can reduce blood pressure in mild hypertensives. *Int J Vitam Nutr Res*, **72**: 309-14.
- BOWEN OT, DIENGLEWICZ RL, WIDEMAN RF, ERF GF (2009). Altered monocyte and macrophage numbers in blood and organs of chickens injected i.v. with lipopolysaccharide. *Vet Immunol Immunopathol*, **131**: 200-210.
- BÖHM F, PERNOW J (2007). The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*, **76**: 8-18.
- BURKE DJ, ALVERDY JC, AOYS E, MOSS GS (1989). Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. *Arch Surg*, **124(12)**: 1396-1399.

- BÜYÜKÖZTÜRK Ş (2012). Sosyal bilimler için veri analizi el kitabı: İstatistik, araştırma deseni, SPSS uygulamaları ve yorum (16. Baskı). *Pegem Akademi, Ankara. [Handbook of data analysis for social sciences: Statistics, research design, SPSS practice and interpretation (16. Edition). Pegem Academy, Ankara]*.
- CALDER PC (1999). Glutamine and immune function (abstract). Page 5 in Proc. Int. Congr. Amino Acids (Germany). Springer- Verlag, Vienna, Austria. Adjei, A. A., Y. Matsumoto, T. Oku, Y. Hiroi, and S. Yamamoto. 1994. Dietary arginine and glutamine combination improves survival in septic mice. *Nutr Res*, **14**: 1591-1599.
- CASTANON JIR (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poult Sci*, **86(11)**: 2466-2471.
- CAYMAN CHEMICAL (2015a). Glutathione Peroxidase Assay Kit, Item No: 703102. Chapter of Sample Preparation and Performing the Assay, 27/08/2015.
- CAYMAN CHEMICAL (2015b). TBARS (TCA Method) Assay Kit, Item No: 700870. Chapter of Sample Preparation and Performing the Assay, 04/05/2015.
- CAYMAN CHEMICAL (2015c). Superoxide Dismutase Assay Kit, Item No: 706002. Chapter of Sample Preparation and Performing the Assay, 23/04/2015.
- CAYMAN CHEMICAL (2015d). Antioxidant Assay Kit, Item No: 709001. Chapter of Sample Preparation and Performing the Assay, 27/05/2015.
- CERIELLO A (2005) Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes*, **54**: 1-7.
- CHALGHOUMI R, BECKERS Y, PORTETELLE D, THÉWIS A (2009). Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. *Biotechnol Agron Soc Environ*, **13(3)**: 295-308.
- CHIRUMBOLO S (2010). The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function. *Inflamm Allergy Drug Targets*, **9(4)**: 263-285.
- CHOBANIAN AV, BAKRIS GL, BLACK HR, CUSHMAN WC, GREEN LA, IZZO JL, JR., JONES DW, MATERSON BJ, OPARIL S, WRIGHT JT, ET AL (2003). Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension*, **42**: 1206-52.

- CHOCT M (2009). Managing gut health through nutrition. *Br Poult Sci*, **50(1)**: 9-15.
- CHOI HJ, SONG JH, PARK KS, KWON DH (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *Eur J Pharm Sci*, **37(3-4)**: 329-333.
- CHUNO K, CHUNG SJ, SONG WO (2007). Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *J Nutr*, **137**: 1244-1252.
- CIRCU ML, AW TY (2012). Glutathione and modulation of cell apoptosis. *BBA Mol Cell Res*, **1823(10)**: 1767-1777.
- COHN JN (2010). Role of the renin-angiotensin system in cardiovascular disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, **24**: 341-344.
- CONDE-AGUILERA JA, COBO-ORTEGA C, TESSERAUD S, LESSIRE M, MERCIER Y, VAN MILGEN J (2013). Changes in body composition in broilers by a sulfur amino acid deficiency during growth. *Poult Sci*, **92(5)**: 1266-1275.
- CONWAY PL (1994). Function and regulation of the gastrointestinal microbiota of the pig. *Europ Assoc Anim Prod*, **80**: 231-231.
- CURI R, LAGRANHA CJ, DOI SQ, SELLITTI DF, PROCOPIO J, PITHON-CURI TC, CORLESS M, NEWSHOLME P (2005). Molecular mechanisms of glutamine action. *J Cell Physiol*, **204**: 392-401.
- CURI TC, DE MELO MP, DE AZEVEDO RB, ZORN TMT, CURI R (1997). Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am J Physiol*, **273**: C1124-C1129.
- CYNOBER LA (1999). Glutamine metabolism in stressed patients (abstract). Page 5 in *Proc. Int. Congr. Amino Acids (Germany)*. Springer-Verlag, Vienna, Austria.
- DAI SF, WANG LK, WEN AY, WANG LX, JIN GM (2009). Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. *Br Poult Sci*, **50(3)**: 333-340.
- DAI SF, GAO F, ZHANG WH, SONG SX, XU XL, ZHOU GH (2011). Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on performance, carcass characteristics and serum parameters in broilers under circular heat stress. *Anim Feed Sci Technol*, **168(1-2)**: 51-60.

- DAI SF, GAO F, XU XL, ZHANG WH, SONG SX, ZHOU GH (2012). Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on meat colour, pH, composition, and water-holding characteristic in broilers under cyclic heat stress. *Br Poult Sci*, **53(4)**: 471-481.
- DAVIS JM, MURPHY EA, CARMICHAEL MD (2009). Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health. *Curr Sports Med Rep*, **8**: 206-213.
- DAVISON F, MAGOR KE, KASPERS B, FRED D, KAREL AS (2008). Structure and evolution of avian immunoglobulins. *Avian Immunol*, **1**: 107-127.
- DAVISON F (2014). The importance of the avian immune system and its unique features. In *Avian immunology*, Academic Press, p.: 1-9.
- DAWSON B, TRAPP RG (2001). *Basic and clinical bioistatistics*. 3rd Ed. Lange Medical Boks/McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, **994**: 180.
- DEPREZ P, DEROOSE P, VAN DEN HENDE C, MUYLLE E, OYAERT W (1987). Liquid versus dry feeding in weaned piglets: The influence on small intestinal morphology. *J Vet Med*, **34**: 254-259.
- DIBNER JJ, RICHARDS JD (2004). The digestive system: challenges and opportunities. *J Appl Poult Res*, **13(1)**: 86-93.
- DUARTE J, PEREZ-PALENCIA R, VARGAS F, OCETE MA, PEREZ-VIZCAINO F, ZARZUELO A, TAMARGO J (2001). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol*, **133**: 117-24.
- EAGLE H, WASHINGTON CL, LEVY M, COHEN L (1966). The population dependent requirement by cultured mammalian cells for metabolite, which they can synthesize. II. Glutamic acid and glutamine; aspartic acid and asparagine. *J Biol Chem*, **10**: 4994-4999.
- EDWARDS RL, LYON T, LITWIN SE, RABOVSKY A, SYMONS JD, JALILI T (2007). Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr*, **137**: 2405-11.
- EHRENSVARD G, FISCHER A, STJERNHOLM R (1949). Protein metabolism of tissue cells in vitro. The chemical nature of some obligate factors of tissue cell nutrition. *Acta Physiol Scand*, **18**: 218-230.

- EİD HM, NACHAR A, THONG F, SWEENEY G, HADDAD PS (2015). The molecular basis of the antidiabetic action of quercetin in cultured skeletal muscle cells and hepatocytes. *Pharmacogn Mag*, **11(41)**: 74-81
- ELIN RJ, WOLFF SM (1976). Biology of endotoxin. *Annu Rev Med*, **27(1)**: 127-141.
- EL-SENOUSEY HK, CHEN B, WANG JY, ATTA AM, MOHAMED FR, NIE QH (2018). Effects of dietary vitamin C, vitamin E, and alpha-lipoic acid supplementation on the antioxidant defense system and immune-related gene expression in broilers exposed to oxidative stress by dexamethasone. *Poult Sci*, **97(1)**: 30-38.
- ENDEMANN DH, SCHIFFRIN EL (2004). Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, **15**: 1983-92.
- ERRIDGE C, BENNETT-GUERRERO E, POXTON IR (2002). Structure and function of lipopolysaccharides. *Microb Infec*, **4(8)**: 837-851.
- ESTÉVEZ M (2015). Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poult Sci*, **94(6)**: 1368-1378.
- EVANS ME, JONES DP, ZIEGLER TR (2005). Glutamine inhibits cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells via the pyrimidine pathway. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*, **289(3)**: G388-G396.
- EXON JH, MAGNUSON BA, SOUTH EH, HENDRIX K (1998). Dietary quercetin, immune functions and colonic carcinogenesis in rats. *Immunopharm Immunot*, **20(1)**: 173-190.
- FASINA YO, BOWERS JB, HESS JB, MCKEE SR (2010). Effect of dietary glutamine supplementation on *Salmonella* colonization in the ceca of young broiler chicks. *Poult Sci*, **89(5)**: 1042-1048.
- FELLENBERG MA, SPEISKY H (2006). Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability. *World's Poult Sci J*, **62(1)**: 53-70.
- FISCHER DA SILVA AV, BORGES SA, MAIORKA A, GIVISIEZ PEN, ROCHA C, MACARI M (2007). Ornithine decarboxylase expression in the small intestine of broilers submitted to feed restriction and glutamine supplementation. *Braz J Poult Sci*, **9(2)**: 111-115.

- FISCHER C, SPETH V, FLEIG-EBERENZ S, NEUHAUS G (1997). Induction of zygotic polyembryos in wheat: Influence of Auxin Polar Transport. *Plant Cell*, **9**: 1767-1780.
- FRANKIČ T, SALOBIR J (2011). *In vivo* antioxidant potential of Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract in young growing pigs exposed to n-3 PUFA-induced oxidative stress. *J Sci Food Agric*, **91**: 1432-1439.
- GAGGIA F, MATTARELLI P, BIAVATI B (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol*, **31**: 141 Suppl 1: S15-28.
- GANESAN S, FARIS AN, COMSTOCK AT, WANG Q, NANUA S, HERSHENSON MB, SAJJAN US (2012). Quercetin inhibits rhinovirus replication *in vitro* and *in vivo*. *Antivir Res*, **94(3)**: 258-271.
- GERASOPOULOS K, STAGOS D, KOKKAS S, PETROTOS K, KANTAS D, GOULAS P, KOURETAS D (2015). Feed supplemented with byproducts from olive oil mill wastewater processing increases antioxidant capacity in broiler chickens. *Food Chem Toxicol*, **82**: 42-49.
- GEYRA A, UNI Z, SKLAN D (2001). Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poult Sci*, **80(6)**: 776-782.
- GILANI S, HOWARTH GS, TRAN CD, KITESSA SM, FORDER RE, BAREKATAIN R, HUGHES RJ (2018). Effects of delayed feeding, sodium butyrate and glutamine on intestinal permeability in newly-hatched broiler chickens. *J Appl Anim Res*, **46(1)**: 973-976.
- GLEESON M, BISHOP NC (2000). Modification of immune responses to exercise by carbohydrate, glutamine and anti-oxidant supplements. *Immunol Cell Biol*, **78**: 554-561.
- GOLIOMYTIS M, TSOUREKI D, SIMITZIS PE, CHARISMIADOU MA, HAGER-THEODORIDES AL, DELIGEORGIS SG (2014). The effects of quercetin dietary supplementation on broiler growth performance, meat quality, and oxidative stability. *Poult Sci*, **93(8)**: 1957-1962.
- GOLIOMYTIS M, KARTSONAS N, CHARISMIADOU MA, SYMEON GK, SIMITZIS PE, DELIGEORGIS SG (2015). The influence of naringin or hesperidin dietary supplementation on broiler meat quality and oxidative stability. *PloS one*, **10 (10)**: e0141652.

- GU XH, HAO Y, WANG XL (2012). Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress. *Poult Sci*, **91(4)**: 790-799.
- HÄCKL LPN, CUTTLE G, DOVICH I SS, LIMA-LANDMAN MT, NICOLAU M (2002). Inhibition of angiotensin-converting enzyme by quercetin alters the vascular response to bradykinin and angiotensin I. *Pharmacology*, **65(4)**: 182-186.
- HAGER-THEODORIDES AL, GOLIOMYTIS M, DELIS S, DELIGEORGIS S (2014). Effects of dietary supplementation with quercetin on broiler immunological characteristics. *Anim Feed Sci Technol*, **198**: 224-230.
- HÄKKINENS H, KÄRENLAMPI SO, HEINONEN IM, MYKKÄNEN HM, TÖRRÖNEN AR (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J Agric Food Chem*, **47**: 2274-2279.
- HÄRTLE S, MAGOR KE, GÖBEL TW, DAVISON F, KASPERS B (2014). Structure and evolution of avian immunoglobulins. In *Avian immunology*. Academic Press, p.: 103-120.
- HERMSDORFF HH, ZULET MA, PUCHAU B, MARTÍNEZ JA (2011). Central adiposity rather than total adiposity measurements are specifically involved in the inflammatory status from healthy young adults. *Inflammation*, **34(3)**: 161-70.
- HODEK P, TREFIL P, STIBOROVÁ M (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem Biol Interact*, **139(1)**: 1-21.
- HOLLMAN PC, BIJSMAN MN, VAN GAMEREN Y, CNOSSEN EP, DE VRIES JH, KATAN MB (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic Res*, **31(6)**: 569-573.
- HOLST O, ULMER AJ, BRADE H, FLAD HD, RIETSCHEL ET (1996). Biochemistry and cell biology of bacterial endotoxins. *FEMS Immunol Med Microbiol*, **16(2)**: 83-104.
- HOOGE DM (2004). Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003. *Int J Poult Sci*, **3(3)**: 163-174.
- HOTAMISLIGIL GS (2006). "Inflammation and metabolic disorders,". *Nature*, **444(7121)**: 860-867.

- HUANG YF, WANG XY, WATFORD M (2007). Glutamine directly down-regulates glutamine synthetase protein levels in mouse C2C12 skeletal muscle myotubes. *J Nutr*, **137**: 1357-62.
- INOUE Y, GRANT JP, SNYDER PJ (1993). Effect of glutamine supplemented intravenous nutrition on survival after *E. coli* induced peritonitis. *J Parenter Enteral Nutr*, **17**: 41-46.
- IQBAL M, CAWTHON D, BEERS K, WIDEMAN JR RF, BOTTJE WG (2002). Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome (PHS) in broilers. *Poult Sci*, **81**(2): 252-260.
- ISKENDER H, YENICE G, DOKUMACIOGLU E, KAYNAR O, HAYIRLI A, KAYA A (2016). The effects of dietary flavonoid supplementation on the antioxidant status of laying hens. *Braz J Poult Sci*, **18**(4): 663-668.
- JALILI T, CARLSTROM J, KIM S, FREEMAN D, JIN H, WU TC, LITWIN S, SYMONS JD (2006). Quercetin-supplemented diets lower blood pressure and attenuate cardiac hypertrophy in rats with aortic constriction. *J Cardiovasc Pharmacol*, **47**(4): 531-541.
- JAYAPRAKASH G, SATHIYABARATHI M, ROBERT MA, TAMILMANI T (2016). Transportation stress in broiler chicken. *Int J Sci Environ Technol*, **5**: 806-809.
- JAZIDEH F, FARHOOMAND P, DANESHYAR M, NAJAFI G (2014). The effects of dietary glutamine supplementation on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens reared under hot conditions. *Turk J Vet Anim Sci*, **38**(3): 264-270.
- JIN LZ, HO YW, ABDULLAH N, JALALUDIN S (1997). Probiotics in poultry: modes of action. *World's Poult Sci J*, **53**(4): 351-368.
- JUNG CH, CHO I, AHN J, JEON TI, HA TY (2013). Quercetin reduces high-fat diet-induced fat accumulation in the liver by regulating lipid metabolism genes. *Phytother Res*, **27**(1): 139-43.
- KAISER P, STÄHELI P (2014). Avian cytokines and chemokines. In *Avian immunology*. Academic Press, p.: 189-204.
- KAMADA C, DA SILVA EL, OHNISHI-KAMEYAMA M, MOON JH, TERAOKA J (2005). Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. *Free Radic Res*, **39**(2): 185-94.

- KAMBOH AA, ZHU WY (2014). Individual and combined effects of genistein and hesperidin on immunity and intestinal morphometry in lipopolysaccharide-challenged broiler chickens. *Poult Sci*, **93(9)**: 2175-2183.
- KAMBOH AA, ARAIN MA, MUGHAL MJ, ZAMAN A, ARAIN ZM, SOOMRO A H (2015). Flavonoids: health promoting phytochemicals for animal production-a review. *J Anim Health Prod*, **3(1)**: 6-13.
- KELLY D, CONWAY S (2001). Genomics at work: the global gene response to enteric bacteria. *Gut*, **49(5)**: 612-613.
- KHAN J, LIBOSHI Y, CUI L, WASA M, SANDO K, TAKAGI Y, OKADA A (1999). Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. *J Parenter Enteral Nutr*, **23**: 24-31.
- KITT SJ, MILLER PS, LEWIS AJ, FISCHER RL (2002). *Effects of glutamine on growth performance and small intestine villus height in weanling pigs*. Nebraska Swine Rep. Univ. Nebraska, Lincoln, p.: 29-32.
- KIM DW, HONG EC, KIM JH, BANG HT, CHOI JY, JI SY, LEE WS, KIM SH (2015). Effects of dietary quercetin on growth performance, blood biochemical parameter, immunoglobulin and blood antioxidant activity in broiler chicks. *Korean J Poult Sci*, **42(1)**: 33-40.
- KIMBALL SR, ORELLANA RA, O'CONNOR PM, SURYAWAN A, BUSH JA, NGUYEN HV, THIVIERGE MC, JEFFERSON LS, DAVIS TA (2003). Endotoxin induces differential regulation of mTOR-dependent signaling in skeletal muscle and liver of neonatal pigs. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **285**: E637-E644.
- KITCHENS RL, ULEVITCH RJ, MUNFORD RS (1992). Lipopolysaccharide (LPS) partial structures inhibit responses to LPS in a human macrophage cell line without inhibiting LPS uptake by a CD14-mediated pathway. *J Exp Med*, **176(2)**: 485-494.
- KORVER DR (2012). Implications of changing immune function through nutrition in poultry. *Anim Feed Sci Technol*, **173(1-2)**: 54-64.
- KRAEHNBUHL JP, NEUTRA MR (1992). Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. *Physiol Rev*, **72(4)**: 853-879.
- KREHBIEL CR, RUST SR, ZHANG G, GILLILAND SE (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J Anim Sci*, **81(14)**: E120-E132.

- KUMAZAWA Y, KAWAGUCI K, TAKIMOTO H (2006). Immunomodulating effects of flavonoids on acute and chronic inflammatory responses caused by tumor necrosis factor α . *Curr Pharm Des*, **12(32)**: 4271-4279.
- KURMI K, HAIGIS MC (2020). Nitrogen Metabolism in Cancer and Immunity. *Trends Cell Biol*, **1584**: 1-17.
- KURUTAS EB (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*, **15(1)**: 1-22.
- LACEY JM, WILMORE DW (1990). Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr Rev*, **48**: 297-309.
- LARSON A, BRUNO RS, GUO Y, GALE D, TANNER J, JALILI T, SYMONS JD (2010). A single dose of quercetin lowers blood pressure in hypertensive, but not normotensive males. Experimental Biology Anaheim, CA: *FASEB J*, **24**: 230-236.
- LARSON A, WITMAN MA, GUO Y, IVES S, RICHARDSON RS, BRUNO RS, JALILI T, SYMONS JD (2012). Acute, quercetin-induced reductions in blood pressure in hypertensive individuals are not secondary to lower plasma angiotensin-converting enzyme activity or endothelin-1: nitric oxide. *Nutr Res*, **32(8)**: 557-564.
- LECLERCQ B (1995). Broiler quality: considering the trio of genotype, quality and dietary amino acids. *Arch Geflugelkd*, **10**: 37-40.
- LECLERCQ B (1998). Lysine: specific effects of lysine on broiler production: comparison with threonine and valine. *Poult Sci*, **77(1)**: 118-123.
- LEE SH, LILLEHOJ HS, PARK DW, HONG YH, CHO SM, CHUN HK, PARK HJ (2007). Immunomodulatory effects of dietary safflower leaf in chickens. *Korean J Community Living Sci*, **18**: 715-724.
- LESLIE GA, STANKUS RP, MARTIN LN (1976). Secretory immunological system of fowl. *Int Arc Allergy Immunol*, **51(2)**: 175-185.
- LI Y, YAO J, HAN C, YANG J, CHAUDHRY MT, WANG S, YIN Y (2016). Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*, **8(3)**: 167.
- LIANG F, JIANG S, MO Y, ZHOU G, YANG L (2015). Consumption of oxidized soybean oil increased intestinal oxidative stress and affected intestinal immune variables in yellow-feathered broilers. *Asian-Austral J Anim Sci*, **28(8)**: 1194.

- LIU H, ZHANG L, LU S (2012). Evaluation of antioxidant and immunity activities of quercetin in isoproterenol-treated rats. *Molecules*, **17**(4): 4281-4291.
- LIU HN, LIU Y, HU LL, SUO YL, ZHANG L, JIN F, FENG XA, TENG N, LI Y (2014). Effects of dietary supplementation of quercetin on performance, egg quality, cecal microflora populations, and antioxidant status in laying hens. *Poult Sci*, **93**(2): 347-353.
- LLOYD-JONES D, ADAMS RJ, BROWN TM, CARNETHON M, DAI S, DE SIMONE G, FERGUSON TB, FORD E, FURIE K, GILLESPIE C, GO A, GREENLUND K, HAASE N, HAILPERN S, HO PM, HOWARD V, KISSELA B, KITTNER S, LACKLAND D, LISABETH L, MARELLI A, MCDERMOTT MM, MEIGS J, MOZAFFARIAN D, MUSSOLINO M, NICHOL G, ROGER VL, ROSAMOND W, SACCO R, SORLIE P, ROGER VL, THOM T, WASSERTHIEL-SMOLLER S, WONG ND, WYLIE-ROSETT J (2010). Executive summary: heart disease and stroke statistics-2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, **121**(7): 948-954.
- LOETSCHER Y, KREUZER M, MESSIKOMMER RE (2013). Oxidative stability of the meat of broilers supplemented with rosemary leaves, rosehip fruits, chokeberry pomace, and entire nettle, and effects on performance and meat quality. *Poult Sci*, **92**(11): 2938-2948.
- LYKKESFELDT J, SVENDSEN O (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J*, **173**: 502-511.
- MACMILLAN-CROW LA, CROW JP, KERBY JD, BECKMAN JS, THOMPSON JA (1996). Nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in chronic rejection of human renal allografts. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**(21): 11853-11858.
- MAIORKA A, SILVA AVF, SANTIN E, BORGES SA, BOLELI IC, MACARI M (2000). Influence of glutamine supplementation on performance and intestinal villous and crypt development in broiler chickens. *Arq Bras Med Met Zoo*, **52**(5): 487-490.
- MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, REMESY C, JIMENEZ L (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, **79**: 727-747.
- MARKLUND S (1979). Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiol Scand Suppl*, **492**: 19-23.

- MATES JM (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **153(1-3)**: 83-104.
- MATTHEWS JC, ANDERSON KJ (2002). Recent advances in amino acid transporters and excitatory amino acid receptors. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, **5**: 77-84.
- MERCER DW, SMITH GS, CROSS JM, RUSSELL DH, CHANG L, CACIOPPO J (1996). Effects of lipopolysaccharide on intestinal injury: potential role of nitric oxide and lipid peroxidation. *J Surg Res*, **63(1)**: 185-192.
- MERCIER Y, BERRI C, BAÉZA E, BORDEAU T, CHARTRIN P, MERCERAND F, GERAERT PA (2009). Improvement of muscle oxidative stability and processing yield in relation with dietary methionine sources. In *Poultry Science Association 98th Annual Meeting, Poult Sci*, **88**: Abstr. 117.
- MÉTAYER S, SEILIEZ I, COLLIN A, DUCHÊNE S, MERCIER Y, GERAERT PA, TESSERAUD S (2008). Mechanisms through which sulfur amino acids control protein metabolism and oxidative status. *J Nutr Biochem*, **19(4)**: 207-215.
- MIDDLETON J (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol*, **439**: 175-82.
- MILLER HM, SLADE RD (2003). Digestive physiology of the weaned pig. *Weaning the Pig: Concepts and Consequences*. 1st ed. Wageningen, The Netherlands: *Wageningen Academic Publishers*, p.: 117-39.
- MIN YN, NIU ZY, SUN TT, WANG ZP, JIAO PX, ZI BB, CHEN PP, TIAN DL, LIU FZ (2018). Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. *Poult Sci*, **97(4)**: 1238-1244.
- MISHRA B, JHA R (2019). Oxidative stress in the poultry gut: Potential challenges and interventions. *Front Vet Sci*, **6**: 60.
- MOORE JN, MORRIS DD (1992). Endotoxemia and septicemia in horses: experimental and clinical correlates. *J Am Vet Med Assoc (USA)* **200(12)**: 1903-1914.
- MORAND C, CRESPIY V, MANACH C, BESSON C, DEMIGNE C, REMESY C (1998). Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol Regul, Integr Comp Physiol*, **275(1)**: R212-R219.

- MOSENTHIN R, JEZIERNY D (2010). Nutritional significance of secondary plant metabolites in pigs and poultry. In *19 International Science Symposium on Nutrition of Domestic Animals' 11-12 Nov 2010, Slovenia*, p.: 227-236.
- MUNFORD RS, HALL CL (1986). Detoxification of bacterial lipopolysaccharides (endotoxins) by a human neutrophil enzyme. *Science*, **234**(4773): 203-205.
- MUNFORD RS (2005). Invited review: detoxifying endotoxin: time, place and person. *J Endotoxin Res*, **11**(2): 69-84.
- MURAKAMI AE, SAKAMOTO MI, NATALI MRM, SOUZA LMG, FRANCO JRG (2007). Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poult Sci*, **86**(3): 488-495.
- MURPHY C, NEWSHOLME P (1998). Importance of glutamine metabolism in murine macrophages and human monocytes to L-arginine biosynthesis and rates of nitrite or urea production. *Clin Sci*, **95**: 397-407.
- MUSSINI FJ, GOODGAME SD, LU C, BRADLEY CD, FISCUS SM, WALDROUP PW (2012). A nutritional approach to the use of anticoccidial vaccines in broilers: glutamine utilization in critical stages of immunity acquisition. *Int J Poult Sci*, **11**(4): 243-246.
- NASCIMENTO KMRDS, KIEFER C, MAUAD JRC, PAIVA LL, BERNO PR, MARÇAL DA, FREITAS HBD (2017). Glutamine supplementation plans for broilers reared in high-temperature environments. *Rev Bras Zootec*, **46**(3): 218-222.
- NASSIRI MOGHADDAM H, ALIZADEH-GHAMSARI AH (2013). Improved performance and small intestinal development of broiler chickens by dietary L-glutamine supplementation. *J Appl Anim Res*, **41**(1): 1-7.
- NEWSHOLME P (2001). Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health post-immune, surgery, or infection? *J Nutr*, **131**: 2515-2522.
- NEWSHOLME P, COSTA ROSA LFBP, NEWSHOLME EA, CURI R (1996). The importance of fuel metabolism to macrophage function. *Cell Biochem Func*, **14**: 1-10.
- NEWSHOLME P, CURI R, GORDON S, NEWSHOLME EA (1986). Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem J*, **239**: 121-125.

- NEWSHOLME P, LIMA MMR, PROCOPIO J, PITHON-CURI TC, BAZOTTE RB, CURI R (2003). Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res*, **36(2)**: 153-163.
- NIJVELDT RJ, VAN NOOD E, VAN HOORN DE, BOELEN PG, VAN NORREN K, VAN LEEUWEN PA (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, **74**: 418-25.
- NISHIMURO H, OHNISH H, SATO M, OHNISHI-KAMEYAMA M, MATSUNAGA I, NAITO S, IPPOUSHI K, OIKE H, NAGATA T, AKASAKA H, SAITOH S, SHIMAMOTO K, KOBORI M (2015). Estimated daily intake and seasonal food sources of quercetin in Japan. *Nutrients*, **7(4)**: 2345-2358.
- NOY Y, SKLAN D (2001). Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. *Poult Sci*, **80(10)**: 1490-1495.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL), 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- O'NEILL AJ, O'NEILL S, HEGARTY NJ, COFFEE RN, GIBBONS N, BRADY H, FITZPATRICK JM, WATSON RW (2000). Glutathione depletion-induced neutrophil apoptosis is caspase 3 dependent. *Shock*, **14**: 605-609.
- OGNIK K, CHOLEWIŃSKA E, CZECH A (2016). The effect of adding hesperidin, diosmin, quercetin and resveratrol extracts to feed for turkey hens on selected immunological and biochemical blood indices. *Ann Anim Sci*, **16(4)**: 1101-1114.
- OLUBODUN JO, ZULKIFLI I, FARJAM AS, HAIR-BEJO M, KASIM A (2015). Glutamine and glutamic acid supplementation enhances performance of broiler chickens under the hot and humid tropical condition. *Ital J Anim Sci*, **14(1)**: 3263.
- ORŠOLIĆ N, KNEŽEVIĆ AH, ŠVER L, TERZIĆ S, BAŠIĆ I (2004). Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *J Ethnopharmacol*, **94(2-3)**: 307-315.
- PARK HS, PARK JY, YU R (2005). Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF- α and IL-6. *Diabetes Res Clin Pr*, **69(1)**: 29-35.

- PARMAR AB, PATEL VR, USADADIA SV, CHAUDHARY LM, LONDHE DRPAS (2019). Influence of Dietary Inclusion of Oil and Quercetin Supplementation on Carcass Characters and Meat Quality Attributes of Broiler Chickens. *Int J Livest Res*, **9(9)**: 93-103.
- PÉREZ-VIZCAÍNO F, IBARRA M, COGOLLUDO AL, DUARTE J, ZARAGOZÁ-ARNÁEZ F, MORENO L, LÓPEZ-LÓPEZ G, TAMARGO J (2002). Endothelium-independent vasodilator effects of the flavonoid quercetin and its methylated metabolites in rat conductance and resistance arteries. *J Pharmacol Exp Ther*, **302(1)**: 66-72.
- PETRUS K, SCHWARTZ H, SONTAG G (2011). Analysis of flavonoids in honey by HPLC coupled with coulometric electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, **400**: 2555–2563.
- PETSCH D, ANSPACH FB (2000). Endotoxin removal from protein solutions. *J Biotechnol*, **76(2-3)**: 97-119.
- PIETTA PG (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, **63(7)**: 1035-1042.
- PIQUER FJ, SELL JL, AL-BATSHAN HA, MALLARINO EG, SOTO-SALANOVA MF, ANGEL CR (1991). Posthatching changes in the immunoglobulin A concentration in the jejunum and bile of turkeys. *Poult Sci*, **70(12)**: 2476-2483.
- POHLENZ C, BUENTELLO A, BAKKE AM, GATLIN III DM (2012). Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte migration rates, but has limited effects on plasma amino acid profile and growth performance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **370**: 32-39.
- POTTURI PVL, PATTERSON JA, APPLGATE TJ (2005). Effects of delayed placement on intestinal characteristics in turkey poults. *Poult Sci*, **84(5)**: 816-824.
- PUBCHEM (2020). L-Glutamin ve D-Glutaminin kimyasal formu ve özellikleri. Erişim Adresi: [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glutamine>]. Erişim Tarihi: 24/2/2020.
- RAETZ CR, ULEVITCH RI, WRIGHT SD, SIBLEY CH, DING A, NATHAN CF (1991). Gram- negative endotoxin: an extraordinary lipid with profound effects on eukaryotic signal transduction 1. *FASEB J*, **5(12)**: 2652-2660.
- RAETZ CR, WHITFIELD C (2002). Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem*, **71(1)**: 635-700.

- RENNIE MJ (2001). Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. *J Nutr*, **131**: 2488-2490.
- REYER H, HAWKEN R, MURANI E, PONSUKSILI S, WIMMERS K (2015). The genetics of feed conversion efficiency traits in a commercial broiler line. *Sci Rep*, **5**: 16387.
- REYNOLDS JV, DALY JM, ZHANG S (1988). Immunomodulatory mechanism of arginine. *Surg*, **104**: 141-151.
- RHOADS JM, ARGENZIO RA, CHEN W, RIPPE RA, WESTWICK JK, COX AD, BERSCHNEIDER HM, BRENNER DA (1997). L-Glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **272**: G943-53.
- RICE-EVANS C, MILLER NJ (1994). Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol*, **234**: 279-293.
- ROSS JA, KASUM CM (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*, **22**: 19-34.
- RUBIO CP, HERNÁNDEZ-RUIZ J, MARTINEZ-SUBIELA S, TVARIJONAVICIUTE A, CERON JJ (2016). Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Vet Res*, **12(1)**: 1-7.
- RUPASINGHE HP, RONALDS CM, RATHGEBER B, ROBINSON RA (2010). Absorption and tissue distribution of dietary quercetin and quercetin glycosides of apple skin in broiler chickens. *J Sci Food Agric*, **90**: 1172-1178.
- SAKAMOTO MI, MURAKAMI AE, SILVEIRA TGV, FERNANDES JIM, DE OLIVEIRA CAL (2006). Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. *Braz J Poult Sci*, **8(4)**: 243-249.
- SALOBIR J, FRANKIČ T, REZAR V (2012). Animal nutrition for the health of animals, human and environment. *Acta Agric Slov*, **100**: 41-49.
- SANTOS RG, QUIRINO IE, VIANA ML, GENEROSO SV, NICOLI JR, MARTINS FS, CARDOSO VN (2014). Effects of nitric oxide synthase inhibition on glutamine action in a bacterial translocation model. *Br J Nutr*, **111(1)**: 93-100.

- SAUER N, MOSENTHIN R, BAUER E (2011). The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nutr Res Rev*, **24**: 1-14.
- SCOCCIA AE, MOLINUEVO MS, MCCARTHY AD, CORTIZO AM (2001). A simple method to assess the oxidative susceptibility of low density lipoproteins. *BMC Clin Pathol*, **1(1)**: 1.
- SELL JL, ANGEL CR, PIQUER FJ, MALLARINO EG, AL-BATSHAN HA (1991). Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poult Sci*, **70(5)**: 1200-1205.
- SERAFINI M, PELUSO I, RAGUZZINI A (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc Nutr Soc*, **69(3)**: 273-278.
- SETH A, BASUROY S, SHETH P, RAO RK (2004). L-Glutamine ameliorates acetaldehyde induced increase in paracellular permeability in Caco-2 cell monolayer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **287**: G510-7.
- SEVEN PT, YILMAZ S, SEVEN I, KELESTEMUR GT (2012). The effects of propolis in animals exposed oxidative stress. *Oxidative Stress-Environmental Induction and Dietary Antioxidants*, p.:267-288.
- SHAKERI M, ZULKIFLI I, SOLEIMANI AF, O'REILLY EL, ECKERSALL PD, ANNA AA, ABDULLAH FFJ (2014). Response to dietary supplementation of L-glutamine and L-glutamate in broiler chickens reared at different stocking densities under hot, humid tropical conditions. *Poult Sci*, **93(11)**: 2700-2708.
- SHANG Y, REGASSA A, KIM JH, KIM WK (2015). The effect of dietary fructooligosaccharide supplementation on growth performance, intestinal morphology, and immune responses in broiler chickens challenged with *Salmonella Enteritidis* lipopolysaccharides. *Poult Sci*, **94(12)**: 2887-2897.
- SICA DA (2005). Angiotensin-converting enzyme inhibitor use in the year 2005. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, **7**: 8-11.
- SIMITZIS PE, SYMEON GK, CHARISMIADOU MA, AYOUTANTI AG, DELIGEORGIS SG (2011). The effects of dietary hesperidin supplementation on broiler performance and chicken meat characteristics. *Can J Anim Sci*, **91(2)**: 275-282.
- SIMITZIS P, SPANOU D, GLASTRA N, GOLIOMYTIS M (2018). Impact of dietary quercetin on laying hen performance, egg quality and yolk oxidative stability. *Anim Feed Sci Technol*, **239**: 27-32.

- SMITH C, LOMBARD KA, PEFFLEY EB, LIU W (2003). Genetic analysis of quercetin in onion (*Allium cepa* L.) 'Lady Raider'. *Texas J Agric Nat Resour*, **16**: 24-28.
- SMITH AL, GÖBEL TW (2014). Avian T cells: antigen recognition and lineages. In *Avian immunology*, p.: 91-102.
- SOHAIB M, BUTT MS, SHABBIR MA, SHAHID M (2015). Lipid stability, antioxidant potential and fatty acid composition of broilers breast meat as influenced by quercetin in combination with α -tocopherol enriched diets. *Lipids Health Dis*, **14**(1): 61.
- SOHAIB M, BUTT MS, ANJUM FM, KHAN MI, SHAHID M (2016). Augmentation of Oxidative Stability, Descriptive Sensory Attributes and Quality of Meat Nuggets from Broilers by Dietary Quercetin and Alpha-Tocopherol Regimens. *J Food Process Preserv*, **40**(3): 373-385.
- SOLTAN MA (2009). Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. *Int J Poult Sci*, **8**(1): 60-68.
- SOMERSET SM, JOHANNOT L (2008). Dietary flavonoid sources in Australian adults. *Nutr Cancer*, **60**(4): 442-449.
- STROBEL S (1986). Allergenicity of feeds and gastrointestinal immunoregulation in man and experimental animals. *Human Nutr Appl Nutr*, **40**: 45-54.
- SUN L, XU G, DONG Y, LI M, YANG L, LU W (2020). Quercetin Protects against Lipopolysaccharide-Induced Intestinal Oxidative Stress in Broiler Chickens through Activation of Nrf2 Pathway. *Molecules*, **25**(5): 1053.
- TAKAHASHI K, ONODERA K, AKIBA Y (1999). Effect of dietary xylitol on growth and inflammatory responses in immune stimulated chickens. *Br Poult Sci*, **40**(4): 552-554.
- TERAO J (2005). Quercetin Glycosides: Their Absorption, Metabolism and Antioxidant Activity. *Vitamins (Japan)*, **79**(1): 3-11.
- TESSERAUD S, MAAA N, PERESSON R, CHAGNEAU AM (1996). Relative responses of protein turnover in three different skeletal muscles to dietary lysine deficiency in chicks. *Br Poult Sci*, **37**(3): 641-650.
- TING S, YEH HS, LIEN TF (2011). Effects of supplemental levels of hesperetin and naringenin on egg quality, serum traits and antioxidant activity of laying hens. *Anim Feed Sci Technol*, **163**(1): 59-66.

- TOROK VA, HUGHES RJ, OPHEL-KELLER K, ALI M, MACALPINE R (2009). Influence of different litter materials on cecal microbiota colonization in broiler chickens. *Poult Sci*, **88(12)**: 2474-2481.
- TSE (1991). Hayvan Yemleri-Metabolik (çevrilebilir) enerji tayini (kimyasal metod). TSE No: 9610. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- TSUJI M, YAMAMOTO H, SATO T, MIZUHA Y, KAWAI Y, TAKETANI Y, KATO S, TERAOKA J, INAKUMA T, TAKEDA E (2009). Dietary quercetin inhibits bone loss without effect on the uterus in ovariectomized mice. *J Bone Miner Metab*, **27(6)**: 673-681.
- UNI Z, PLATIN R, SKLAN D (1998). Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *J Comp Physiol*, **168**: 241-247.
- UNI Z (1998). Impact of early nutrition on poultry: Review of presentations. *J Appl Poult Res*, **7(4)**: 452-455.
- UNI Z (1999). Functional development of the small intestine in domestic birds: cellular and molecular aspects. *Poult Avian Biol Rev*, **10(3)**: 167-179.
- VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN MT, MAZUR M, TELSER J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, **39**: 44-84.
- VAN KRIMPEN MM, TORKI M, SCHOKKER D, LENSING M, VASTENHOUW, S, DE BREE FM, SMITS MA (2016). *Effect of nutritional interventions with quercetin, oat hulls, β -glucans, lysozyme, and fish oil on immune competence related parameters of adult broiler*. Wageningen Livestock Research Report, **977**: 1-50.
- VARASTEH S, BRABER S, AKBARI P, GARSSSEN J, FINK-GREMMELS J (2015). Differences in susceptibility to heat stress along the chicken intestine and the protective effects of galacto-oligosaccharides. *PloS One*, **10(9)**: e0138975.
- VAZIRI ND, Rodriguez-Iturbe B (2006). Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol*, **2**: 582-93.
- VESSAL M, HEMMATI M, VASEI M (2003) Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, **135C**: 357-364.

- WANG S, YAO J, ZHOU B, YANG J, CHAUDRY MT, WANG M, YIN W (2018). Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism *in vitro*. *J Food Prot*, **81(1)**: 68-78.
- WANG XY, HUANG YF, WATFORD M (2007). Glutamine is required for 3T3 L1 adipocyte differentiation and lipid accumulation. *FASEB J*, A703.
- WICZKOWSKI W, ROMASZKO J, BUCINSKI A, SZAWARA-NOWAK D, HONKE J, ZIELINSKI H, PISKULA MK (2008). Quercetin from shallots (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) is more bioavailable than its glucosides. *J Nutr*, **138**: 885-888.
- WILLIAMSON G, MANACH C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr*, **81 (S1)**: 243S-255S.
- WILSON J, TICE G, BRASH ML, HILAIRE SS (2005). Manifestations of *Clostridium perfringens* and related bacterial enteritides in broiler chickens. *World's Poult Sci J*, **61(3)**: 435-449.
- WISCHMEYER PE, MUSCH MW, MADONNA MB, THISTED RONALD, CHANG EB (1997). Glutamine protects intestinal epithelial cells: role of inducible HSP70. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*, **272(4)**: G879-G884.
- WU L, LIAO P, HE L, REN W, YIN J, DUAN J, LI T (2015). Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)-challenged growing pigs. *BMC Vet Res*, **11(1)**: 144.
- WU QJ, WANG YQ, QI YX (2016). The protective effect of procyanidin against LPS-induced acute gut injury by the regulations of oxidative state. *Springerplus*, **5(1)**: 1645.
- WU QJ, LIU N, WU XH, WANG GY, LIN L (2018). Glutamine alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, intestinal inflammatory response, and barrier integrity in broilers. *Poult Sci*, **97(8)**: 2675-2683.
- XIE H, RATH NC, HUFF GR, HUFF WE, BALOG JM (2000). Effects of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide on broiler chickens. *Poult Sci*, **79**: 33-40.
- XU ZR, HU CH, XIA MS, ZHAN XA, WANG MQ (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult Sci*, **82(6)**: 1030-1036.

- XUE GD, BAREKATAIN R, WU SB, CHOCT M, SWICK RA (2018). Dietary L-glutamine supplementation improves growth performance, gut morphology, and serum biochemical indices of broiler chickens during necrotic enteritis challenge. *Poult Sci*, **97**(4): 1334-1341.
- YA SKLYAROV A, PANASYUK NB, FOMENKO IS (2011). Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipooxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis. *J Physiol Pharmacol*, **62**(1): 65.
- YAMAMOTO Y, OUE E (2006). Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci Biotechnol Biochem*, **70**: 933-9.
- YAMAUCHI K, KAMISOYAMA H, ISSHIKI Y (1996). Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens. *Br Poult Sci*, **37**(5): 909-921.
- YANG DK, KANG HS (2018). Anti-Diabetic Effect of Cotreatment with Quercetin and Resveratrol in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biomol Ther*, **26**(2): 130-138.
- YANG JX, MARIA TC, ZHOU B, XIAO FL, WANG M, MAO YJ, LI Y (2020). Quercetin improves immune function in Arbor Acre broilers through activation of NF- κ B signaling pathway. *Poult Sci*, **99**(2): 906-913.
- YARON S, KOLLING GL, SIMON L, MATTHEWS KR (2000). Vesicle-Mediated Transfer of Virulence Genes from *Escherichia coli* O157: H7 to Other Enteric Bacteria. *Appl Environ Microbiol*, **66**(10): 4414-4420.
- YEGANI M, KORVER DR (2008). Factors affecting intestinal health in poultry. *Poult Sci*, **87**(10): 2052-2063.
- YERPES M, LLONCH P, MANTECA X (2020). Factors associated with cumulative first-week mortality in broiler chicks. *Animals*, **10**(2): 310.
- YI FG, ALLEE GL, KNIGHT CD, DIBNER JJ (2005). Impact of glutamine and oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poult Sci*, **84**: 283-293.
- YI GF, ALLEE GL, FRANK JW, SPENCER JD, TOUCHETTE KJ (2001). Impact of glutamine, menhaden fish meal, and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. *Poult Sci*, **80** (Suppl. 1): 201. (Abstr.)
- YIANNIKOURIS A, JOUANY JP (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim Res*, **51**(2): 81-99.

YOUNG VR, AJAMI AM (2001). Glutamine: The emperor or his clothes? *J Nutr*, **131**: 2449-2459.

ZANINI SF, TORRES CAA, BRAGANOLO N, TURATTI JM, SILVA MG, ZANINI MS (2004). Effect of oil sources and vitamin E levels in the diet on the composition of fatty acids in rooster thigh and chest meat. *J Sci Food Agric*, **84**: 672-682.

ZHAI SW, LIU SL (2013). Effects of dietary quercetin on growth performance, serum lipids level and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ital J Anim Sci*, **12**(4): e85.

ZULKIFLI I, SHAKERI M, SOLEIMANI AF (2016). Dietary supplementation of L-glutamine and L-glutamate in broiler chicks subjected to delayed placement. *Poult Sci*, **95**(12): 2757-2763.

ZULKIFLI I, SOLEIMANI AF, KHALIL M, OMAR AR, RAHA AR (2011). Inhibition of adrenal steroidogenesis and heat shock protein 70 induction in neonatally feed restricted broiler chickens under heat stress condition. *Arch Geflügelkund*, **75**(4): 246-252.

EKLER

Ek-1 Ankara Üniversitesi HADYEK Etik Kurul Kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 17/06/2015
TOPLANTI NO : 2015-10
DOSYA NO : 2015-92
KARAR NO : 2015-10-129

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Pınar Saçaklı'nın yaptığı ve araştırmacı olarak Araş.Gör.Furkan Dilber'in, katıldığı "Lipopolisakkarit Epruvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmün Yanıt Üzerine Etkileri" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Etlik Piliç
Hayvan Sayısı : 320
Geçerlilik Süresi : 01/11/2015-01/11/2016

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Başkan)	Parazitoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Üye)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	

Ek-1 Ankara Üniversitesi HADYЕК Etik Kurul Kararı (devamı)

Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Uzm.Vet.Hek.Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Vet.Hek.Dr.Akife KAYA (Üye)	Referans Veteriner Kliniği	Serbest	K	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun ÇOSKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

Ek-2 Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvar Kullanımına İlişkin Akademik Kurul İzin Kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı
Temel Bilimler Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı



Sayı : 52476686-302.01.09-E.11355

08.12.2016

Konu : Doktora

HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 05.12.2016 tarihli ve 74646246-302.01.09-E.11248 sayılı yazısı.

İlgi yazı gereğince Araş Gör.Furkan DİLBER'in Anabilim Dalımız laboratuvarlarından doktora tez çalışması için faydalanabilmesi ve o gün için uygun durumdaki bir öğretim elemanının kendisine eşlik etmesi Anabilim Dalımızca uygun görülmüştür. Konu ile ilgili Anabilim Dalı Akademik Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.



e-imzalıdır
Prof.Dr Arif ALTINTAŞ
Anabilim Dalı Başkanı

Ek : 07.12.2016 Tarihli Akademik Kurul Kararı

Not: 2070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

İrfan Bayraktar Caddesi 9/C 06110 Dışkapı/ANKARA /ANKARA
Telefon No: 0312 317 03 15 / 423 Belge Geçer No: 0312 316 44 72
e-posta: - internet adresi: -

Bilgi için: Yılmaz ARİK
Memor
Telefon No:(542) 280 13 33

Ek-2 Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvar Kullanımına İlişkin Akademik Kurul İzin Kararı (devamı)

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
AKADEMİK KURUL KARARI**

Toplantı Günü : 07.12.2016
Toplantı Saati : 10:00
Toplantı Sayısı : 917

07.12.2016 Çarşamba günü saat 10:00'da yapılan Akademik Kurulda,

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Pınar Sancaklı'nın yürütücüsü ve Arş. Gör. Furkan Dilber'in araştırmacı olduğu "Lipopolisakkarit Epruvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmun Yanıt Üzerine Etkileri" konulu doktora BAP projesinin antioksidan ve immün yanıt analizlerine ilişkin çalışmalarında Anabilim Dalımızın laboratuvarlarından faydalanabileceğine ve o gün içinde durumu uygun olan bir öğretim elemanının kendisine eşlik etmesine karar verilmiştir.

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Ek-3 Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvar Kullanımına İlişkin İzin Kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı
Klinik Öncesi Bilimler Bölümü
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı



Sayı : 41298163-302.01.09-E.11383

12.12.2016

Konu : Arş. Gör. Furkan DİLBER'in Doktora
Çalışması Hk.

HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 07.12.2016 tarihli ve 74646246-302.01.09-E.11318 sayılı yazınız.

İlgi yazı uyarınca Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI'nın yürütücüsü ve Arş. Gör. Furkan DİLBER'in araştırmacı olduğu "Lipopolisakkarit Eprüvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmun Yanıt Üzerine Etkileri" konulu doktora tezi çalışmasını Anabilim Dalımız hücre kültürü laboratuvarında bulunan Spektrofotometre cihazında Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN eşliğinde yapılması uygun görülmüştür.

Bilgileriniz ve gereği arz olunur.

e-imzalıdır

Prof.Dr ENDER YARSAN
Anabilim Dalı Başkanı

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

İrfan Baştuğ Caddesi 9/C 06110 Dışkapı/ANKARA /ANKARA
Telefon No: 0312 317 03 15 / 434 Belge Geçer No: 0312 317 60 73
e-posta: - internet adresi: -

Bilgi için: Mehmet KİBAR
SEKRETER
Telefon No:(312) 317 03 15-4434

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Furkan
Soyadı : Dilber
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Evli
Askerlik durumu : Yapıldı

II- Eğitimi

2020 - Halen Anadolu Üniversitesi – İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi –
Siyaset Bilimi ve Kamu Yönetimi - Lisans Eğitimi

2018 -2020 Anadolu Üniversitesi – Açıköğretim Fakültesi – Tarım – Ön
Lisans Eğitimi

2012 – 2016 Anadolu Üniversitesi – İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi –
Uluslararası İlişkiler - Lisans Eğitimi

2007-2012 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi – Lisans Eğitimi

Yabancı dil: İngilizce

III- Ünvanları

Araştırma Görevlisi (2012-2017)
Veteriner Hekim (2012-Halen)

IV- Mesleki Deneyimi

Manav Yem ve Un San. Tic. A.Ş. – Çanakkale / Biga - Üretim Müdürü (Ocak 2017 – Halen)

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı - Araştırma Görevlisi (Eylül 2012 – Ocak 2017)

HAYBEST Hayvan Besleme Teknolojileri A.Ş. –Ankara - Kurucu Ortak - (Ocak 2015 – Ocak 2017)

ALGAVEN Biyoteknoloji Gıda Tar. Hay. San. Ve Tic. Ltd. Şti. – Ankara - Genel Müdür (Nisan 2014 – Temmuz 2016)

T.C. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM) – Ceylanpınar TİM / Şanlıurfa – Stj. Veteriner Hekim (Temmuz 2010 – Ağustos 2010)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Tavukçuluk Derneği

Veteriner Hekimler Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar:

Calik, A., Ceylan, A., Ekim, B., Adabi, S. G., **Dilber, F.**, Bayraktaroglu, A. G., ... & Sacakli, P. (2017). The effect of intra-amniotic and posthatch dietary synbiotic administration on the performance, intestinal histomorphology, cecal microbial population, and short-chain fatty acid composition of broiler chickens. Poultry science, 96(1), 169-183.

Dilber, F., Saçaklı, P. (2014). Mikroalgler ve Kullanım Alanları. Infovet (127), 98-116.

Bildiriler:

- Çalık, A., Saçaklı, P., Ergün A., **Dilber F.** (2013). Yumurta İçi (In Ovo) İnulin ve Laktuloz Enjeksiyonunun Çıkış Gücü ve Çıkım Ağırlığı Üzerine Etkileri. 7. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi 26-27 Eylül 2013, Rixos Grand Otel Ankara. (Poster)
- Saçaklı, P., Tekinay, T., Çalık, A., Bayraktaroğlu, A. G., **Dilber, F.**, Ülger, Z., San, N. O., Ergün. A. (2013). Yeni bir probiyotik bakteri suşu (Bacillus YSM1)'nin broyler rasyonlarında kullanılabilirliğinin araştırılması. 7. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi 26-27 Eylül 2013, Rixos Grand Otel Ankara. (Sözlü)
- Calik, A., Ceylan, A., Ekim, B., Adabi S. G., **Dilber, F.**, Bayraktaroglu, A. G., Tekinay, T., Sacakli, P., Ozen, D. (2015). The effect of in ovo and post hatch synbiotic administration on broiler performance, intestinal histomorphology and microflora from 0 to 21 days of age. 3rd International Poultry Meat Congress. 22-26 April 2015. Antalya. (Sözlü)
- Calik A., **Dilber F.**, Sacakli P., and Tekinay T. (2015). The effect of intra-amniotic and post-hatch dietary synbiotic administration on duodenum MUC2 gene expression. Symposium on Gut Health in Production of Food Animals November 9–11, 2015, Kansas City, Missouri. (Poster)
- Küçükersan, S., Yalçın, S., Saçaklı P., Güntürkün, O.B., Gebeş, E.S., **Dilber, F.**, Pirpanahi, M. (2016). Süt İneği Karma Yeminde Mikronize Klinoptilolit Kullanımının Pelet Kalitesi ve Üretim Parametreleri Üzerine Etkisi. 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi. 28.09.2016 – 01.10.2016, Antalya. (Poster)
- Küçükersan, S., Yalçın, S., Haiba, N., O., **Dilber, F.**, Pirpanahi, M. (2016). Gliserol İlavesinin Süt İneği Karma Yemlerinde Pelet Kalitesi ve Dayanıklılığı Üzerine Etkisi. 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi. 28.09.2016 – 01.10.2016, Antalya. (Poster)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler

1. Lipopolisakkarit Eprüvasyonu Yapılan Broylerlerde Glutamin ve Kuersetinin Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Antioksidan Özellikleri ve İmmun Yanıt Üzerine Etkileri / Araştırmacı / BAP Doktora Araştırma Projesi / 17.06.2016 - 15.06.2017 / Proje Bütçesi: 28.000 TL
2. Hayvansal Yağın Yağ Asitleri Kalsiyum Tuzunun Yumurta Tavuk Rasyonlarında Kullanımının Performans Üzerine Etkisi / Araştırmacı / Özel Sektör Fon Desteği / 01.07.2015 - 28.12.2015 / Proje Bütçesi: 20.000 TL
3. Yerli Kaynaklar Kullanılarak Yeni Bir Buzağı Maması Formülasyonu Geliştirmek / Araştırmacı / TÜBİTAK 1005 (214O625) / 01.05.2015 - 01.12.2016 / Proje Bütçesi: 218.200 TL
4. Süt İneği Beslenmesinde Korunmuş Yağ (Bypass Yağ) Kullanımı ve Etkilerinin Araştırılması / Araştırmacı / Özel Sektör Fon Desteği / 10.05.2015 - 20.08.2015 / Proje Bütçesi: 20.000 TL
5. Yumurta içine ve çıkım sonrası yemlere sinbiyotik uygulamasının doudenum Muc2 gen ekspresyonu üzerine etkisi / Araştırmacı / Ankara Üniversitesi BAP-Hızlı Destek 14H0239002 / 22.10.2014 - 22.04.2015 / Proje Bütçesi: 7.000 TL
6. Kanatlı Hayvanlarda Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılmak Üzere Monensin Üreten Rekombinant Mikroalg Suşu Geliştirilmesi / Proje Yürütücüsü / T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı –Teknogirişim Sermayesi Desteği (TGSD) (1719.TGSD.2014) / 15.04.2014 - 15.04.2015 / Proje Bütçesi: 98.600 TL
7. Yumurta içine ve çıkım sonrası yemlere sinbiyotik uygulamasının broylerlerde performans parametreleri, tibia külü ve bağırsak histomorfolojisi ile mikroflorası üzerine etkisi / Araştırmacı / Ankara Üniversitesi BAP-Bağımsız Proje (13B3338008) / 28.06.2013 - 28.01.2015 / Proje Bütçesi: 30.000 TL
8. Broyler Rasyonlarında Probiyotik ve Sinbiyotik Kullanımının Performans, Bağırsak Histomorfolojisi, Tibia ve Bazı Karkas ve İç Organ Özellikleri Üzerine Etkileri / Araştırmacı / Bilkent UNAM - Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AbD / Şubat 2013 - Nisan 2013 / Proje Bütçesi: 7.500 TL

Seminerler

1. Mikroalgler ve Hayvan Beslemede Kullanım Olanakları. 2 Haziran 2014, Doktora 1. Semineri, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Danışman: Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI
2. Kanatlı Hayvanlarda Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılmak Üzere Monensin Üreten Rekombinant Mikroalg Suşu Geliştirilmesi Projesi Destek Süreci. 16 Haziran 2014, Doktora 2. Semineri, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Danışman: Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI

VIII- Diğer Bilgiler

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı. 17 Haziran 2013 - 26 Haziran 2013. Ankara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi, Ankara.
2. Teknogirişimcilik Eğitim Sertifikası Programı. 18-19 Nisan 2014. T.C. Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı, Türk Patent Enstitüsü, Ankara.