



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI**

**TAVUKLARDA GLUKOSİNOLAT VE HİDROLİZ ÜRÜNLERİNİN  
ENERJİ DENGELERİ VE PERFORMANS PARAMETRELERİ ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

**Deniz BELENLİ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2015**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNER BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI

TAVUKLARDA GLUKOSİNOLAT VE HİDROLİZ ÜRÜNLERİNİN  
ENERJİ DENGELERİ VE PERFORMANS PARAMETRELERİ ÜZERİNE  
ETKİLERİ

Deniz BELENLİ






(DOKTORA TEZİ)

Danışman: Prof. Dr. Ümit POLAT

Bursa-2015

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans/Doktora öğrencisi Deniz BELENLİ tarafından hazırlanan Tavuklarda glukosinolat ve Hidroliz Ürünlerinin Enerji Dengeleri ve Performans Parametreleri Üzerine Etkileri konulu doktora tezi 11/12/2015 günü, 10:00-11:30 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Ümit POLAT	
Üye	Prof. Dr. Meltem TANRIVERDİ	
Üye	Prof. Dr. İbrahim DOĞAN	
Üye	Prof. Dr. Kamil SEYREK	
Üye	Doç. Dr. Hasan AKŞİT	

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih,  
..... sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile  
kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ülgen GÜNAY  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET .....	III
İNGİLİZCE ÖZET .....	IV
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	5
1. Glukosinolatların Hidrolizi ve Mirosinaz Enzimi .....	6
2. Glukosinolatların Yapısı .....	9
3. Glukosinolatların Biyosentezi.....	11
4. Tere Tohumunun ( <i>Lepidium sativum</i> )Yapısal Özellikleri .....	15
5. Glukosinolatların Analiz Yöntemleri .....	16
6. Glukosinolatların Biyolojik Etkileri .....	17
6.1. Glukosinolatların Beslenme Üzerine ve Guatrojenik Etkileri .....	17
6.2. Antioksidan Aktivite Üzerine Etkileri .....	17
6.3. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri .....	19
6.4. Östrogen Hormonu Üzerine Etkileri .....	20
6.5. Antikarsinojenik Etkileri .....	21
6.6. Glukosinolatların Diğer Etkileri .....	21
GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
1. Hayvan Geceri, Bakım ve Besleme .....	23
2. Canlı Ağırlık ve Yem Tartımları .....	25
3. Kan Örneklerinin Alınması ve Laboratuvar Analizleri .....	25
3.1. Serum Glukoz Ölçümü .....	25
3.2. Serum Büyüme Hormonu Ölçümü .....	26
3.3. Serum Östradiol Ölçümü .....	29
3.4. Serum Adiponektin Ölçümü .....	31
3.5. Serum Leptin Ölçümü .....	33
3.6. Serum Kortizol Ölçümü .....	36
4. Etnin Lipid Oksidasyon Düzeyinin Belirlenmesi Analizi (TBA Analizi).....	39
5. Histolojik Örneklerin Hazırlanması (Crossman Üçlü Boyama Tekniği).....	40
6. Tere Tohumunun HPLC Analizi .....	45
7. İstatistiksel Analizler .....	46

BULGULAR .....	47
1. Performans Parametreleri .....	47
2. Biyokimyasal Parametreler .....	49
3. Karkas Parametreleri .....	50
4. Göğüs Etinde MDA Düzeyi .....	51
5. Histolojik Bulgular .....	51
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR.....	78
TEŞEKKÜR .....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	93

## ÖZET

Tavuklarda glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin enerji dengeleri ve performans parametreleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılan çalışma, 624 adet Ross-308 etçi ırk civciv kullanılarak gerçekleştirildi. 0 gün ile 42. günler arasında bakım ve besleme yapıldı. Civcivler, 1 kontrol ve 3 deneme grubu olmak üzere 4 ana grup ve bunların 3 tekrarlı ve dişi-erkek grupları olarak 24 gruba ayrıldı. Yemlere, yem katkı maddesi olarak tere tohumu (*Lepidium sativum*) eklendi. 1. deneme grubuna % 0,05, 2. deneme grubuna % 0,10 ve 3. deneme grubuna ise % 0,15 etken madde tere tohumu eklendi. Hayvanların canlı ağırlıkları, canlı ağırlık artışları, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları hesaplandı. Çalışmanın 0., 21. ve 42. günlerinde her gruptan 10 adet olacak şekilde kan örnekleri alındı. Serum örneklerinde, glukoz, büyüme hormonu, kortizol, östrojen, adiponektin ve leptin konsantrasyonları ölçüldü. Kesim günü olan 42. günde karkas ağırlıkları tartıldı, TBA analizi için 40 adet göğüs eti ve histolojik analizler için organlar toplandı. Elde edilen bulgular istatistiki olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal parametrelerden serum adiponektin, büyüme hormonu, glukoz, kortizol, leptin ve östrojen seviyeleri özellikle 21. ve 42. günlerde erkek ve dişi hayvanlarda kontrol ve deneme grupları arasında istatistiksel olarak  $p < 0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Sonuç olarak; etçi tavuklara verilen tere tohumunun % 0,05, 0,10 ve 0,15 oranlarının performans (özellikle canlı ağırlık ile canlı ağırlık kazancı) ve karkas parametreleri üzerine etkilerinin olmadığı, fakat yem tüketimini % 0,10 oranında tere tohumu eklenen grup 2 dişilerinde azalttığı; yemden yararlanma oranlarının % 0,15 oranında eklenen grup 3 erkeklerinde anlamlı derecede artırdığı tespit edilmiştir. Histolojik parametreler incelendiğinde duodenumun villus intestinalis dokusunun uzunluklarında ve duodenuma ait kriptler derinliğinde 21. ve 42. günlerde kontrol grubuna deneme gruplarında artış görüldü. Aynı zamanda, % 0,10 ve 0,15 oranında etken maddenin eklendiği grup 2 ve 3 dişi ve erkeklerinde MDA düzeylerinde azalma görülmüş ve bu oranların özellikle ticari anlamda etçi tavukların kesildikten sonra raf ömrünü artırmada yardımcı olacağı şeklinde yorumlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** etçi tavuk; glukosinolatlar; malondialdehid, biyokimyasal parametrele

## SUMMARY

### **The effects of glucosinolates and their hydrolysis products on the energy balance and performance parameters in chickens**

The aim of this study was to evaluate the effects of glucosinolates and their hydrolysis products on the energy balance and performance parameters in chickens. The study was performed in a total of 624 one-day-old Ross 308 broiler line chicks. The chicks were fed and nursed from day 0 until they were slaughtered on the 42<sup>nd</sup> day of the study. The chicks were divided into four groups, consisting of one control and three treatment groups. Each treatment group had three replicates and two gender groups. Cress seed (*Lepidium sativum*) was added to diet at the following dosages: 0.05 % for the first treatment groups (Group 1, 10 g/kg); 0.10 % for the second treatment groups (Group 2, 20 g/kg); and 0.15 % for the third treatment groups (Group 3, 30 g/kg). Live weight gain, feed intake, and feed conversion ratios were measured. The blood samples were collected from 10 animals for each group on the 1<sup>st</sup>, 21<sup>st</sup> and 42<sup>nd</sup> days to evaluate biochemical parameters. Serum glucose, growth hormone, cortisol, estradiol, adiponectin and leptin concentrations were analyzed. On the day of slaughter, carcass weights were measured and breast meats and some organs were collected for TBA and histological analyses from 40 animals.

Significant differences in serum glucose, growth hormone, cortisol, estradiol, and adiponectin levels on 21<sup>th</sup> and 42<sup>nd</sup> days were found between control and treatment groups of each gender ( $p < 0.05$ ).

In conclusion, dietary supplementation of cress seed at 0.05 %, 0.10 % and 0.15 % doses had no significant effect on live weight, live weight gain, and carcass weights of broiler chicks. However, while 0.10 % cress seed supplementation decreased feed intake in females, 0.15 % cress seed supplementation increased feed conversion ratio levels in males. In histological analyses, increased duodenal villi height and crypt depth were observed in treatment groups compared to control group on 21<sup>th</sup> and 42<sup>nd</sup> days. Additionally, lower MDA levels were observed in treatment groups that received 0.10 % and 0.15 % cress seed supplementation in diet. These data suggest that supplementation broiler diets with cress seed may help prolong the shelf-life of the commercial broiler meat by reducing the lipid oxidation.

**Key words:** Broiler chicken; glucosinolates; malondialdehyde; biochemical parameters.

## GİRİŞ

Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde toplum bilincinin insan, hayvan ve çevre sağlığına yoğunlaşması ve doğal ürün kullanımına yönelmesi güvenli gıda üretimini önemli kılmıştır. Bu anlamda pek çok ülkede kimyasallar yerine doğal verim artırıcı olarak tıbbi bitkiler ve bitkisel ekstraktlar kanatlı karma yemlerinde geniş ölçüde kullanılmaya başlanmıştır (1).

Hayvanlarda büyüme hızı ve verim gücü, yemden yararlanma düzeyi ile doğru orantılıdır. Bu nedenle yüksek verim elde etmek için hayvan sağlığını korumanın yanında yemden yararlanma yeteneğini de üst düzeye çıkarmak gerekir. Bu yöndeki önemli uygulamalardan biri yem katkı maddeleridir. Uzun yıllardan beri hem hayvan sağlığını korumak amacıyla hem de büyütme faktörü olarak antibiyotikler ve kemoterapötikler yem katkı maddeleri olarak, ayrıca antimikrobiyaller kanatlı sektöründe büyümenin desteklenmesi, hastalıkların engellenmesi ve enfeksiyonların iyileştirilmesi amacıyla uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (2).

Son yıllarda antibiyotiklerin bazı dezavantajlarından dolayı kullanımlarına sınırlamalar getirilmiştir. Antibiyotik ve kemoterapötiklerin özellikle düşük dozlarda kullanımı, bakterilerde direnç gelişimine yol açabilmektedir. Ayrıca insan tüketimine sunulan hayvansal ürünlerde sağlık açısından risk oluşturabilen kalıntılar bırakılmaktadırlar. Yine antibiyotik kullanımı sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmalarla beraber faydalı mikroorganizmaların da ölümüne neden olmaktadır (1). Bu nedenlerden dolayı kanatlı yemlerinde Ocak 2006 yılından itibaren antimikrobiyal etkili büyütme faktörlerinin kullanımı yasaklanmıştır (3). Buna paralel olarak yoğun antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkan sorunlar nedeniyle alternatif yem katkılarının kullanımını ön plana çıkaran yeni yaklaşımlar uygulanmaya başlanmıştır (4).

John Hopkins Üniversitesindeki (Baltimore, MD, ABD) bir grup araştırmacı yakın zamanda, etçi tavuklarda büyümeyi destekleyici olarak kullanılan antibiyotiklerin kullanımının ekonomik etkilerini araştıran bir çalışma yapmışlardır. ABD'deki kanatlı sektörü tarafından toplanan geniş çaplı deneysel veriler kullanılarak gerçekleştirilen bu ekonomik analiz, antibiyotiklerin kanatlı üretiminde büyümeyi destekleyici olarak kullanılmasının üreticiler için ekonomik kayıplara yol açtığını göstermiştir. Büyümeyi destekleyici



antibiyotikler kullanılması sonucu oluşan ağırlık artışının antibiyotiklerin maliyetini karşılamadığı sonucuna varılmıştır (2).

Birçok araştırmacı, antimikrobiyal etkili büyütme faktörlerinin oluşturduğu performansı sağlayabilecek doğal alternatifleri belirlemeye yönelik araştırmalara odaklanmıştır. Doğal alternatif bir ürünün yemlere katılmasının amacı hem teknik açıdan performansı artırmak veya korumak hem de belirli bir patojen mikroorganizmanın neden olabileceği enfeksiyonu baskılayabilmektir. Antimikrobiyal etkili büyütme faktörlerinin yerine kullanılacak birçok doğal alternatif ürünler bulunmaktadır. Bu alternatif ürünlerin hepsinin kullanılmasının nihai amacı besin maddelerinden faydalanmayı artırmak ve sindirim sisteminin immünolojik fonksiyonunu ve emilim işlevini devam etmesi için gereken metabolik talepleri azaltmaktır (3).

Bu amaçla yapılan araştırmalar, yararlı tıbbi bitkileri ve bitkisel ekstraktları tespit etmeye ve hayvansal üretimdeki önemini belirlemeye yoğunlaşmıştır. Son yıllarda hayvansal üretimde doğala dönüş eğilimi ve organik ürünlerin üretimine ve tüketimine olan yöneliş yem katkı maddeleri konusunda tartışmalara yol açmaktadır. Uygulamada kullanılan yeni alternatif katkı maddeleri enzimler, organik asitler, probiyotikler, prebiyotikler ve bitki ekstraktlarıdır. Bitkiler ve bitki ekstraktları uzun yıllardan beri pek çok ülkede tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Bu bitki ekstraktlarından bazıları kekik, rezene, karabiber, kimyon, tarçın, okaliptus, anason, adaçayıdır (4). Bu çalışma ile rasyona ilave edilen bir bitki ekstraktı olan tere tohumunun (*Lepidium sativum*) antibiyotiklere alternatif doğal ve ekonomik bir yem katkı maddesi olarak kullanımını değerlendirilmiştir.

Tere bitkisinin, hem kanatlı hem de büyükbaş beslemede kullanımı ile ilgili araştırmalar hemen hemen yok denecek seviyededir. Tere bitkisinden elde edilen aktif komponentlerin antibiyotik, oksidan, antioksidan ve sindirim sistemini uyarıcı özellikleri bulunmaktadır. Dolayısıyla bu etkiye sahip tereyle ülkemiz hayvancılığı bakımından önemli bir potansiyele sahip olan tavukçuluk alanı için maddi anlamda daha ucuz yem kaynakları varlığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan tere tohumu, Brassicaceae familyasına ait bir bitki türüdür. 120'nin üzerinde Brassicaceae bitkisinden izole edilen farklı glukosinolat yapı keşfedilmiştir. Glukosinolatlar, ekonomik olarak önemi olan Brassicaceae türlerinden oluşmuş, sülfür içerikli ikincil bitki metabolitleridir (5, 6).

Beyaz ve siyah hardal, turp, tere, kırmızı ve beyaz lahanası, brüksel lahanası, karnabahar, brokoli, şalgam ve kolza tohumu ekonomik olarak önemli bazı glukosinolat içerikli bitkilerdir. Bitkilerdeki glukosinolat konsantrasyonları, çeşitlilik, yetiştirme şartları, iklim ve tarım uygulamaları gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (7). Glukosinolatlar ile ilgili ilk çalışmalar, hardal tohumundaki keskin tadın kimyasal özelliğini anlama çabalarının bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Glukosinolatlar, 1831 yılında Robiquet ve Boutron (5) tarafından beyaz hardalın (*Sinapis alba*) tohumundan izole edilen sinalbin ile ilk olarak bilimsel toplulukla tanışmıştır. Yapısı, 19. yüzyılın sonlarında, yan zincirindeki azot (N), karbon (C) ve kükürt (S) grubunun nitrojene bağlı olduğunu açıklayan Gadamer (8) tarafından belirlenmiştir. Ettlinger ve Lundeen (9) tarafından glukosinolatların ilk uğradığı reaksiyon hakkında bilgiler verilmiş, molekülün keşfi ve mirosinaz enzimi tarafından isotiyosiyanatlara çevrilmesi, Challenger (10) tarafından ortaya konmuştur. Daha sonra C=N bağındaki geometrik izomerizmin yapısal özelliği saptanmıştır.

Glukosinolat molekülü,  $\beta$ -D-glukopiranoz parça ve bir yan zincir olarak bulunan  $\beta$ -tiyoglukozit N-hidroksisülfattan oluşmaktadır. Glukosinolatlar, endojen bitki enzimi olan mirosinaz tarafından ( $\beta$ -tiyoglukosidaz) enzimatik olarak çeşitli biyoaktif parçalanma ürünlerine hidrolize olana kadar aktif değildir. Bu parçalanma ürünleri isotiyosiyanat, nitriller, tiyosiyanat, epitiyonitril, okzalidin-2-tiyonaz ve epitiyoalkanleri içermektedir (11). Mirosinaz, glukosinolatları hidrolize ederek glukoz ve aglukon parçalarına ayırır (7).

Brassicaceae türleri, beslenmede çok önemli materyal olmakla birlikte; kimyasal olarak antikarsinojenik, karsinojenik, antiöstrojenik, östrojenik, antibiyotik aktivite ile antioksidan yapıyı artıran ve faz-II detoksifikasyon enzimlerini indükleyen önemli moleküllerdir (12). Özellikle Fahey ve arkadaşları (13) tarafından glukosinolatların ve isotiyosiyanatların antibakteriyel, antifungal etkileri son on yıl içinde tanımlanmaya başlanmıştır.

Ayrıca son 20 yıl içinde, özellikle cruciferous (brassicacea) sebzeleri olmak üzere artan sebze ve meyve tüketimine bağlı olarak birçok kanser türünde azalma olduğu kuvvetli olarak kanıtlanmıştır. Cruciferous sebzelerinin yaklaşık günde iki öğün yenmesi ile bazı bölgelerdeki kanser oluşum riskinin azalması sağlanmıştır. Bu sebzelerin bazı kanser türlerinin kemoprotektif aktivitesinin özellikle besin içerisindeki glukosinolatlar olduğuna inanılmaktadır (13). Glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin hem karsinojenik hem de antikarsinojenik etkilerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Bu ikili fonksiyonlarından dolayı

glukosinolatlara “Janus Karsinogenler” adı verilmektedir (14). Ayrıca Brignall (15), Brassicaceae sebzelerinin östrojen seviyeleri üzerine artırıcı yönde etkisinin olduğunu bildirirken Stoner ve arkadaşları (16) ise herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Düşük dozlarda Brassicaceae sebze ekstratlarının antiöstrojenik etkileri olabilirken, yüksek dozlarda ise bir östrojen agonisti olarak davranabilmektedirler (17,18).

Yapılan bu çalışmada, ileriki zamanlarda, kanatlı rasyonuna ilave edilecek olan tere tohumunun antimikrobiyalere alternatif doğal ve ekonomik bir yem katkı maddesi olarak kullanımının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca ekonomik anlamda hayvan yem maliyetlerini azaltma yönünde düşünülen *Brassicaceae* ailesine üye tere tohumu bitkisinde bulunan glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin birim miktarının belirlenmesi, etçi civcivlerde biyokimyasal kan parametrelerinin saptanması, faydalı ve zararlı etkilerini oluşturabilecek doz oranlarının ortaya konulması, hayvanların yemden yararlanma oranları, kanatlı etlerinin dayanıklılık sürelerinin belirlenmesi ve alınan doku örneklerinden normal histolojik yapının ve yağ miktarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

## GENEL BİLGİLER

Glukosinolatlar ile ilgili ilk çalışmalar, hardal tohumundaki keskin tadın kimyasal özelliğini anlama çabalarının bir sonucu olarak 17. yüzyılda başlamıştır (13). 1831 yılında Robeiquet ve Boutron (19) tarafından beyaz hardal tohumundan (*Sinapis alba*) izole edilen sinalbin ile bilimsel toplulukla tanıştırılmıştır. Yapısı, 19. yüzyılın sonlarında, yan zincirdeki N, C, S grubunun nitrojene bağlı olduğunu açıklayan Gadamer (8) tarafından belirlenmiştir. Ettlinger ve Lundeen (9), Gadamer'in bulduğu yapıdaki bazı eksiklikleri düzelterek ilk doğru glukosinolat yapıyı keşfetmişlerdir.

Glukosinolatların yakın tarihi, keşfi ve mirosinaz enzimi ile hidroliz ürünlerine dönüşümü Challenger (10) tarafından büyük bir ilgiyi üzerine toplayarak bilimsel olarak yayınlanmıştır. Daha sonra C=N bağındaki geometrik izomerizmin yapısal özelliği saptanmıştır. Son kırk yılda ise çalışmalar, glukosinolatların metabolizmada girdikleri biyokimyasal reaksiyonların ve genel metabolizma üzerine etkilerinin açıklanması şeklinde olmuştur. 1970'lerden bu zamana kadar glukosinolatlar ve hidroliz ürünlerinin, insan ve hayvan beslenmesi üzerine yararlı ve zararlı biyolojik etkileri geniş bir şekilde çalışılmaktadır (11). Fakat gerek insan ve gerekse hayvanlarda çok az miktarda bulunan glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin kan ve dokulardaki miktarını ölçmek için sağlıklı ölçme teknikleri geliştirilemediği için günümüze kadar yeterli bilgiler elde edilememiştir (20-23).

Bitkilerde birincil metabolitler, bitki yaşamı için gereklidir ve bu birincil metabolizma yoluyla şekerleri, aminoasitleri ve nükleotidleri üretirler. Bu basit moleküller, bitki için gerekli olan daha kompleks bileşiklerin sentezi için kullanılırlar. İkincil metabolitler ise bitkilere özeldir ve genellikle besin, lezzet artırıcı, renk değiştirici, zehir, parfüm, yağ gibi endüstriyel ürünlerin üretiminde kullanılırlar. Bu nedenle önemli kaynaklardır. Glukosinolatlar, ekonomik olarak önemi olan ve Brassicaceae familyasında (veya cruciferae olarak adlandırılan) yer alan, sülfür içerikli ikincil bir bitki metabolitidir (6). Son 10 yıl içinde, Brassicaceae ile ilgili olarak yapılan çalışmalar, insan sağlığı üzerine olan etkilerinin saptanmasına dayandırılmaktadır. Brassicaceae familyası daha çok kuzey yarımkürede, nadiren tropik bölgelerde yayılmış 330 cins ve 3700 türle temsil edilir. Türkiye'de 85 cins ve 515 türü bulunmaktadır. Brassicacea bitkilerinin lif, mineral ve vitamin kaynağı olarak yetiştirilmesine rağmen çalışmalar, daha çok içerikteki ikincil metabolit olan glukosinolatlar

üzerine yoğunlaşmıştır (24-27). Brassicacea bitkileri dünya çapında biyoyakıt, yenilebilir yağ, biyodezenfektan gaz, insan ve hayvan besini elde etmek için yetiştirilmektedir. Avrupa çapında Brassicacea ailesi bitkilerinin, yaklaşık olarak yıllık 70 milyon ton, kişi başı yıllık 3-5 kg ortalama tüketimi olmaktadır (28). Brassicacea ürünleri, değişik iklim koşullarında yetişmesine rağmen ortalama ısının 14-21°C olduğu, minimum ve maximum ısının 4-30°C arasında değiştiği bölgelerde yetişebilen ürünleridir (29). Bu nedenle brassicacea bitkileri, hem soğuk ve yüksek rakımlı bölgelerde hem de tropikal ve subtropikal bölgelerde üretilmektedir (30).

Ayrıca 120'nin üzerinde Brassicaceae bitkisinden izole edilen farklı glukosinolat yapı keşfedilmiştir (5). Bu yapı içerisinde beyaz ve siyah hardal, turp, tere, kırmızı ve beyaz lahana, brüksel lahanası, karnabahar, brokoli, şalgam ve kolza tohumu ekonomik olarak önemli glukosinolat içerikli bitkilerdir. Bu bitkilerdeki glukosinolat içeriği yetiştirme koşulları, iklim ve zirai uygulamalar gibi çeşitli faktörler ile değişiklik göstermektedir (7).

## **1. Glukosinolatların Hidrolizi ve Mirosinaz Enzimi**

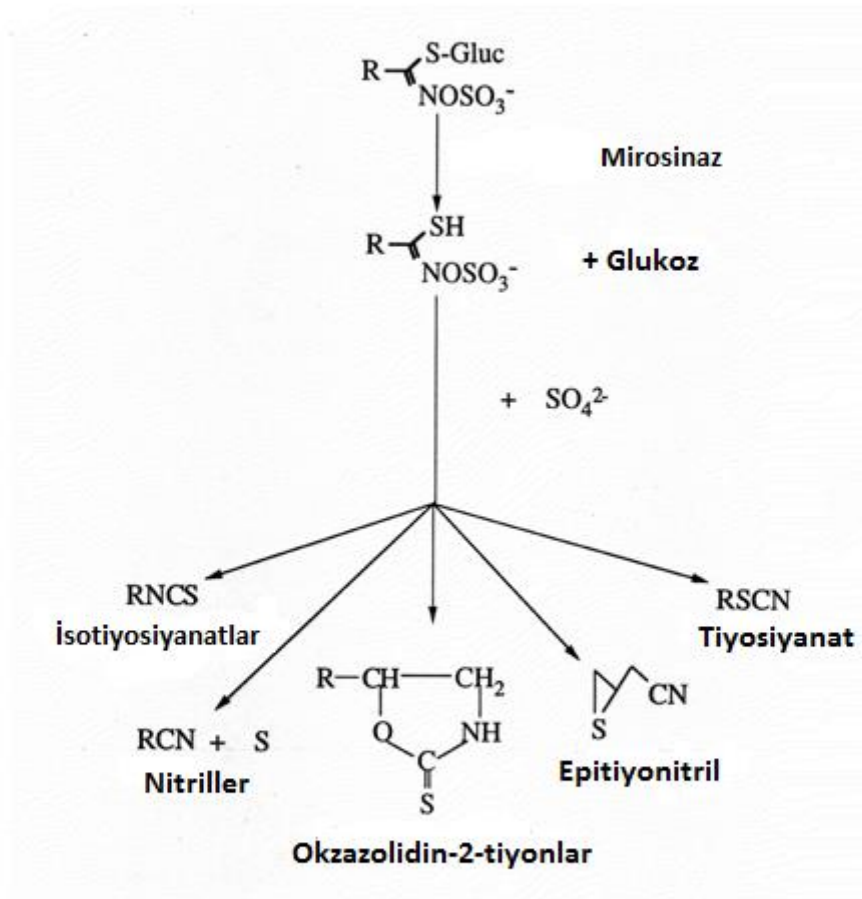
Glukosinolatların hidrolizi, mirosin adı verilen özelleşmiş bitki hücrelerinin vakuollerinde lokalize olan ve birçok bitki dokusunda bulunan endojen mirosinaz enzimi ile katalize edilerek gerçekleşir (31). Mirosinaz enzimi, günümüzde klonlanmış, sekanslanmış ve X-ray yapısı haritalandırılmıştır. Enzim, glukosilhidrolaz ailesi [EC3.2.1-3.2.3] ile güçlü benzerlik gösteren aminoasit sekanslı  $\beta$ -tiyoglukosidazdır. Mirosinaz enziminin reaksiyon kinetiği türden türe değişmektedir (32). Bitki enzimlerine ek olarak fungal ve bakteriyal mirosinazlar da bulunmaktadır. Ayrıca mirosinazlar birçok bakteride, insan ve hayvan barsak mikroflorasında da bulunmaktadır (33).

Mirosinaz enzimi, optimum pH: 4 ve 7 arasında çözünen glikopolipeptidler olarak rapor edilmiştir (34). Saflaştırılmış mirosinazın moleküler kütlesi 125 kDa ile 150 kDa arasında değişiklik göstermektedir. Tamamen saflaştırılmış mirosinaz iki alt birimden oluşur (35). Bitkideki mirosin hücreleri boyutları ve morfolojileri ile farklılık gösterirken aynı zamanda kök, gövde, yaprak, tohum ve fidede geniş bir alana yayılmıştır. Mirosin hücrelerinin morfolojisi buldukları dokuya ve dokunun yaşına göre çeşitlilik gösterir. Mirosin hücreleri, vakuollerindeki yüksek protein içeriği ile karakterize edilir ve bu nedenle bazı protein ajanları

ile sitokimyasal olarak reaksiyona girmeye eğilimlidir. Glukoz ekleme derecesine göre farklılık gösteren mirosinazlar, düşük askorbik asit konsantrasyonlarında aktifleşirler ve substrat olarak sadece glukosinolatları kullanırlar (36, 37).

Farklı türlerdeki mirosinaz izoenzimleri izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bazı türlerdeki mirosinaz enzimi büyük bir gen ailesinden oluşur. Örneğin; Brassica napus en az 20 mirosinaz izoenzimine sahiptir (36). Glukosinolat içeren tüm bitkiler aynı zamanda mirosinaz enzimini de içerirler (35, 38). Mirosinaz glukosinolat sisteminin hücrel organizasyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte zarar görmemiş hücrelerde glukosinolatlar, endojen enzim mirosinazdan farklı bir yerde muhafaza edilirler (39-41).

Zarara uğrayıp parçalanmamış glukosinolatların, çok az biyolojik etkiye sahip olduğu görülmektedir. Fakat bitki dokusunun donup çözülmesi sonucunda parçalanması veya çiğneme esnasında fiziksel zarara maruz kaldığında glukosinolatların mirosinaz tarafından katalizlenen parçalanma metabolizması meydana gelir (41-43). Bitki dokusu zedelendiğinde mirosinazlar tiyoglikozidik bağın hidrolitik parçalanmasını katalize etmekte ve sonuç olarak D-glukoz ve aglikon yapı oluşmaktadır. Bitkinin doku hasarını takiben tiyoglikozidik hidrolizine neden olan enzim ve substrat (glukosinolat) bağlanması oluşur. Bununla birlikte ürün olarak glukoz, değişken aglukon bölüm olan tiyohidroksimat-O-sulfonattan oluşur. Aglikon bölüm kendiliğinden birtakım değişiklikler geçirerek isotiyosiyanatlar, nitriller, elementsel sülfürler, tiyosiyanatlar, epitiyonitriller, okzazolidin-2-thionlar ve indol gibi bileşikler oluşur (14). Bu hidroliz ürünleri ortam pH'sına, depolama koşullarına, sıcaklık ve neme bağlı olarak değişiklik göstermektedir (44). Oluşan bu hidroliz ürünlerinin şeması Şekil 1'de gösterilmiştir. Glukosinolatlar, parçalanmadan önce biyolojik olarak inaktif moleküllerdir. Fakat parçalandıktan sonra oluşan hidroliz ürünleri, bilinen birçok biyolojik etkilere sahiptir (6). Glukosinolatların hidroliz ürünlerinin insektisidal, bakterisidal, nemotosidal, antioksidan, fungisidal ve antikarsinojenik etkileri üzerine araştırmalar gerçekleştirilmektedir.



**Şekil-1** Glukosinolatların hidrolizi ve oluşan ürünleri (14)

İnsanlarda yapılan çalışmalarda, barsak mikroflorasındaki mirosinaz aktivitesinin glukosinolatların hidroliz ürünü olan isotiyosiyanatlara dönüşümünden fazlasıyla sorumlu olduğu ortaya çıkmaktadır (42). Bu çalışmaların benzerleri yani mirosinaz aktivitesi sıçan, tavuk ve insan dışkısı kökenli bakteri suşları barındıran gnotobiotik hayvanlar üzerinde de yapılmıştır. Bazı glukosinolat türleri, içerdiği bitkiler ve oluşan hidroliz ürünleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

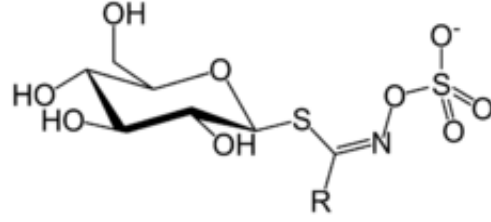
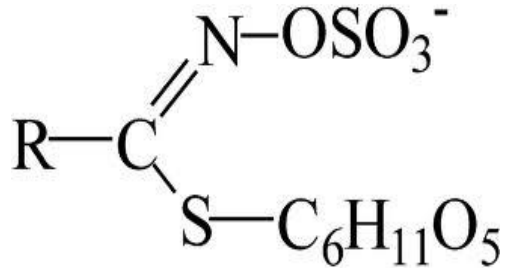
**Tablo-1** Bazı glukosinolat türleri, içerdiği bitkiler ve hidroliz ürünleri (13, 42, 45)

<b>Glukosinolat Türü</b>	<b>Bitkiler</b>	<b>Hidroliz Ürünleri</b>
Glukorafanin	Brokoli	Sülforafan
Glukotropaeolin	Tere	Tiyosiyonat, isotiyosiyonat
Sinigrin	Brüksel lahanası, lahana ve karnabahar	İsotiyosiyanat
Glukobrassicin	Cruciferous sebzeleri	İndol-3-Karbinol
Progoitrin	Yağlı tohumlu crambe	Crambene
Glukonasturtiin	Çin lahanası, turp, su teresi	Feniletil isotiyosiyanat
Glukokamelinin	Ketencik	Kamelinin
Dehidroerusin	Daikon Turbu	Butil isotiyosiyanat
Glukoerucin	Yer lahanası	İsotiyosiyanat
Glukobrassicin	Kıvırcık lahana	Sulforafan, indol-3-karbinol
Glukorafanin	Karalahana	Sulforafan, diindolmetan

## 2. Glukosinolatların Yapısı

Ekonomik öneme sahip Brassica sebzelerinin hemen hemen hepsinde bulunan glukosinolatların temel yapısında;  $\beta$ -D-tiyoglukoz grubu, sülfonlanmış oksim ( $-C=NOH$ ) grubu ve metiyonin, triptofan, fenilalanin veya dallanmış zincirli aminoasitlerden türemiş değişken bir yan zincir (R) bulunmaktadır. Bu yan zincir, oldukça değişken olarak alifatik, aromatik veya heterosiklik (indol) yapıdaki aminoasitlerden türemiştir. Yan zincirdeki küçük bir değişiklik, farklı glukosinolatların oluşumuna neden olmaktadır. Bu değişiklik sonucu bugün 120'den fazla üyesi olan büyük bir bileşik grubu oluşturmuştur (13, 45, 46). Glukosinolatların kimyasal yapısı Şekil-2'de gösterilmiştir.





**Şekil-2** Glukosinolatların kimyasal yapısı (13, 45)

Glukosinolatların yapısal farklılığı, glukosinolatın temel yapısı oluşmadan önce aminoasitlerin zincir uzaması ve glukosinolat yan zincirinde oluşan oksidasyon, desatürasyon, hidroksilasyon ve glukoz kısmında meydana gelen ikincil modifikasyonlar ile ortaya çıkmaktadır (47).

Glukosinolatlar önceleri klasik yaygın isimleri ile adlandırılmalarına karşın daha sonraları, sayının artması ile bu terminolojiden vazgeçilmiştir. Yaygın isimlendirmede 'gluko' ön ekine izole edilen bitkinin botanik tür isimleri eklenerek isimlendirme yapılmaktaydı. Fakat her geçen gün glukosinolat sayısının artması ile bu terminolojinin kullanılması pek mümkün olmamıştır. Daha sonraları glukosinolat kelimesine aglikon yapının kimyasal adının ön ek olarak kullanılması önerilmiştir. Bugün konu ile ilgili birçok araştırmada glukosinolatların, hem yaygın hem de kimyasal isimleri ile birlikte kullanıldığı görülmektedir. Bazı glukosinolatların kimyasal ve yaygın kullanılan isimleri Tablo-2'de verilmiştir.

**Tablo-2** Bazı glukosinolatların kimyasal ve yaygın kullanılan isimleri (13)

<b>Kimyasal isimleri</b>	<b>Yaygın Kullanılan İsimleri</b>
2-Propenil glukosinolat	Sinigrin
Benzil glukosinolat	Glukotropaeolin
3-Butenil glukosinolat	Glukonapin
4-Hidroksil benzil glukosinolat	Sinalbin
2-Hidroksibenzil glukosinolat	Progoitrin
3,4-Dihidroksibenzil	Glukomatronalin
Indol-3-metil glukosinolat	Glukobrassicin
Metil glukosinolat	Glukokapparin
4-Metiltiyobutil glukosinolat	Glukoerusin
4-Metilsülfinilbutil glukosinolat	Glukorafenin
4-Pentenil glukosinolat	Glukobrassikanapin
4-Oksopentil	Glukokappasalin
7-Metilsülfinil heptil	Glukoibarin
9-Metilsülfinil nonil	Glukoarabin
2-Hidroksi 2-feniletil	Glukobarbarin
8-Metilsülfiniloktil	Glukohirsutin
2-Feniletil	Glukonasturtiin
4-Metilsulfonilbutil	Glukoerisolun
5-Metiltiyoopentil	Glukoberteroin
3- Metiltiyopropil	Glukoiberberin

### **3. Glukosinolatların Biyosentezi**

Glukosinolatların biyosentezi 3 aşamada düşünülebilir:

- a) Aminoasitlerin Yan Zincir Uzaması
- b) Glukon Biyosentezi
- c) Yan Zincir Modifikasyonu

Bu aşamaların her biri için birçok enzim görevlidir ve biyosentezdeki bazı biyokimyasal yollar, henüz daha yeni ortaya çıkmaya başlamıştır (48).

### a) Aminoasitlerin Yan Zincir Uzaması

Yapılan çalışmalar glukosinolatların aminoasitlerden türediğini göstermektedir. Birçok glukosinolat; valin, fenilalanin ve metiyonin aminoasitlerinden şekillenen zincir uzamasından sentezlenir. Bu zinciri uzamış aminoasitler, muhtemelen transaminasyon reaksiyonlarından elde edilen  $\alpha$ -ketoasitlerden türediği düşünülmektedir. Bu olayları, asetil Co-A ile oluşan kondenzasyon takip eder ve daha sonra ikinci bir transaminasyon reaksiyonu ile aminoasit grupları tekrar düzenlenir. Gerçekleşen bu reaksiyonlar, valin aminoasitinden löysin aminoasiti oluşumu ile benzerlik göstermektedir (31).

Glukosinolatlar, aminoasit prekürsörleri olan metiyonin, triptofan, fenilalanin ve tirozine bağlı olarak alifatik, aromatik ve heterosiklik adı altında üç gruba ayrılmıştır (11). Alifatik glukosinolatlar, yan zincirinde aminoasit olarak metiyonin, valin, löysin veya izolöysin; aromatik glukosinolatlar, fenilalanin veya tirozin; heterosiklik glukosinolatlar ise triptofan içerirler (13). Mithen ve arkadaşları (48), Brassica sebzeleri içinde en önemli glukosinolatların metiyonin bağlı glukosinolatlar olduğunu bildirmişlerdir.

### b) Glukon Biyosentezi

Glukosinolatların glukon parçasının ilk oluşum aşaması, aminoasitin oksim'e dönüşümüdür. Oksimler, aldehid ve ketonların hidroksilaminle reaksiyonları sonunda oluşan, yapısında karbon-azot çift bağı taşıyan bileşiklerdir. Organik yan zinciri hidrojen ile bağlanırsa aldoksim, farklı bir gruba bağlanırsa ketoksim adını alır. Birçok çalışma, aminoasitin oksime dönüşümünde farklı enzimlerin görev aldığını göstermektedir. Bu enzimler içerisinde, tirozin ve fenilalaninin ilgili oksimlere dönüşümünden sitokrom P<sub>450</sub> monooksijenaz enziminin sorumlu olduğu belirlenmiştir. İlginç olarak aminoasitleri oksime çeviren bu enzimler, siyanojenik glukozid biyosentezine benzemektedir. Bu durumdan dolayı glukosinolat ve siyanojenik glukozid biyosentezlerinde homolog enzim sistemlerinin reaksiyonları katalizlediği ileri sürülmektedir (49).

Kolza tohumunun genç yapraklarından izole edilen mikrozom kullanımı ile zinciri uzamış aminoasitlerin oksime dönüşümünde sitokrom P<sub>450</sub> monooksijenaz'a ek olarak flavin içerikli monooksijenaz enziminin de görev aldığı ortaya çıkmıştır. Bulunan bu verilerden

yola çıkarak glukosinolatların biyosentez yolunda aminoasitlerin oksime dönüşümünde 3 farklı tip enzimin görev aldığı düşünülmektedir. Metiyonin aminoasidinden türeyen alifatik glukosinolatlar için flavin içerikli monooksijenazlar, triptofandan türeyen indol glukosinolatlar için asetaldoksim peroksidazlar ve tirozin ile triptofandan türeyen aromatik glukosinolatlar için sitokrom P<sub>450</sub> monooksijenazlar görevlidir (31).

Oksim'den tiyohidroksimatlara dönüşüm basamağı tam olarak açıklığa kavuşmamıştır ve bu ara basamak için çok fazla biyokimyasal veri bulunmamaktadır. Oksim glutatyon-S-transferaz enzimi ile oksidasyonu sonucu aci-nitro bileşiği oluşur. Bu bileşiğin bir tiyol donörü olarak görevli olan sistein ile birleşmesiyle S-alkil tiyohidroksimat oluşur. Bu reaksiyonun da glutatyon-S-transferaz benzeri enzimler tarafından katalize edildiği düşünülmektedir. S-alkil tiyohidroksimat, CS-liyaz enzimi ile ürün olarak tiyohidroksimata dönüştürülür (47).

Glukon biyosentezinin son bölümü daha fazla açıklığa kavuşturulmuş kısımdır. Oluşan tiyohidroksimat, UDPG: tiyohidroksimat glukoziltransferaz enzimi ile glukozlanarak desülfoglukosinolata dönüşmektedir. Bu bileşen de en son olarak PAPS: 3-fosfoadenozin-5-fosfosülfat desülfoglukosinolat sülfotransferaz enzimi ile sülfatlanarak glukosinolatları oluşturmaktadır (31).

### c) Yan Zincir Modifikasyonu

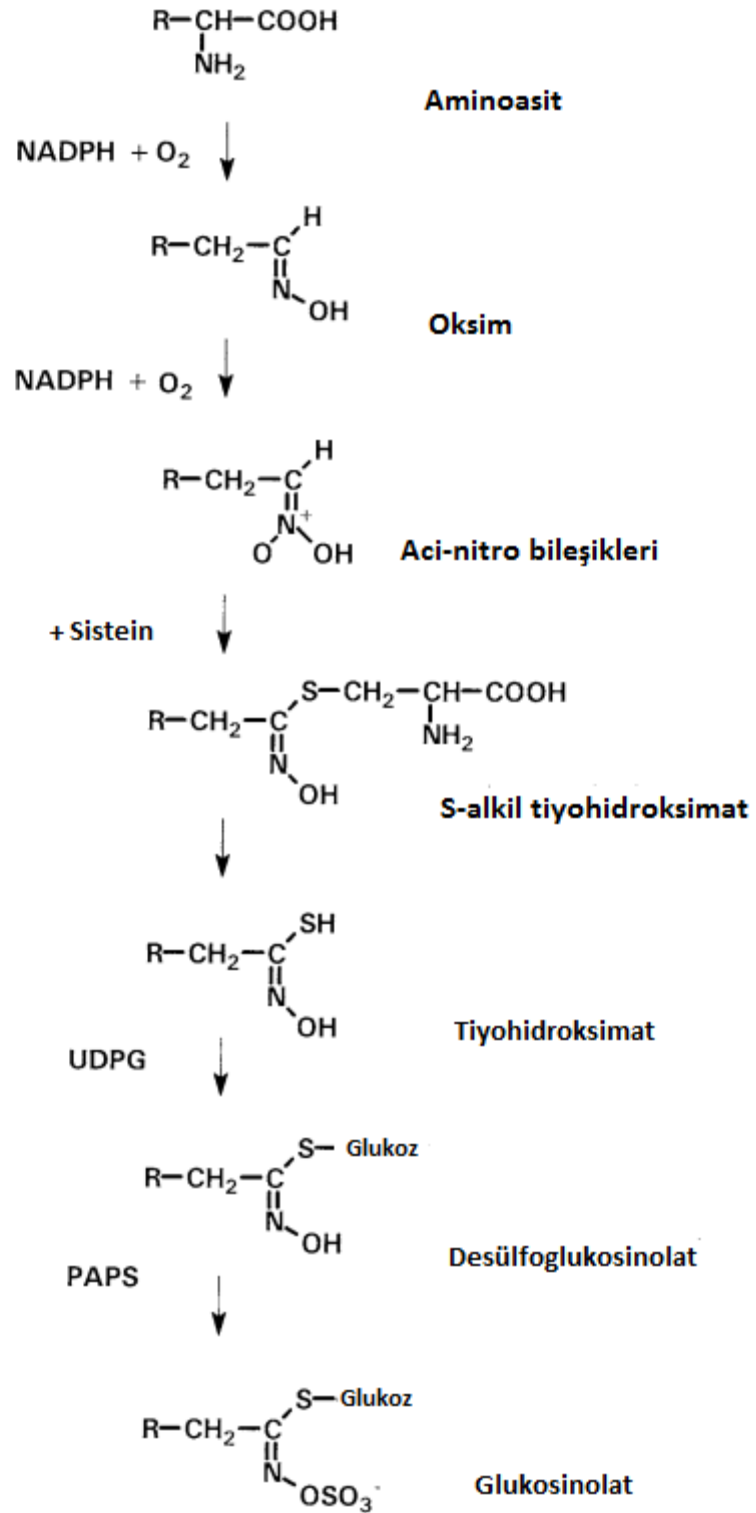
Glukon oluşumunu takiben yan zincirin modifikasyonu gerçekleşir. Özellikle metiyoninden türeyen alifatik glukosinolatların yan zincirleri daha yaygın modifiye edilir. Genetik çalışmaların temelinde alifatik glukosinolatların yan zincir modifikasyon modeli ileri sürülmektedir (31).

Bu ileri sürülen modifikasyon 3 genetik lokus içermektedir. Bunlar;

- 1) Gsl-oxid lokusu:** Metiltiyo'nun metilsulfinil alkilglukosinolata flavin-monooksijenaz enzimi ile oksidasyonundan sorumludur.
- 2) Gsl-alk lokusu:** Metilsulfinil grubunun uzaklaştırılması ve çift bağın girişinin kontrolünden sorumludur.
- 3) Gsl-oh lokusu:** Butenil glukosinolat hidroksilasyonunun kontrolünden sorumludur.

Bu üç lokustaki allellerin çoğu yan zincir uzaması için özeldir. Gls-elong alelleri ile kombinasyon içinde olan bu alleller glukosinolat çeşitliliğini meydana getirirler. Glukosinolat yan zincir modifikasyonlarının önemi, bu modifikasyonların glukosinolat parçalama ürünlerinin fizikokimyasal özelliklerini ve biyosidal aktivitelerini etkilemesinden ileri gelmektedir (31, 50). Glukosinolatların biyosentezi Şekil-3'de gösterilmiştir.

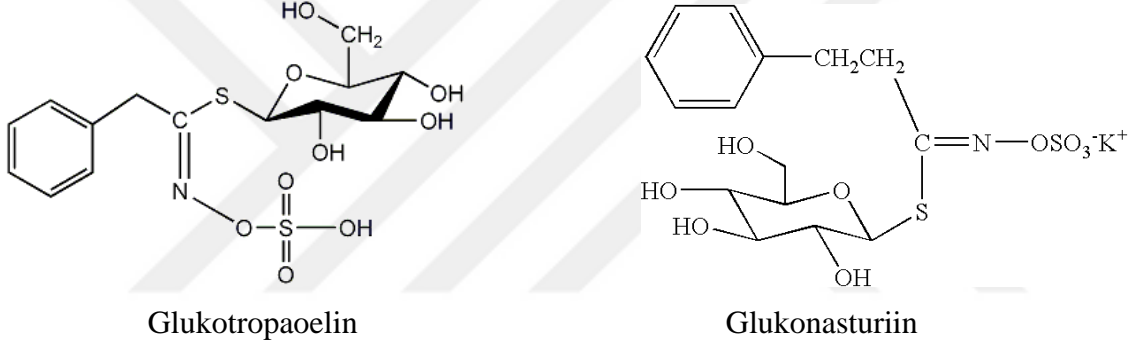




Şekil-3 Glukosinolatların biosentezi (31)

#### 4. Tere Tohumunun (*Lepidium sativum*) Yapısal Özellikleri

Tere, *Lepidium sativum* cinsi, Brassicaceae familyasına ait, yaprakları veya kökünden ziyade tohumu için yetiştirilen bir bitkidir (51). Mısır ve Güney Batı Asya’da yoğun olarak yetiştirilirken Kuzey Amerika ve Avrupa’nın bir kısmında da seyrek olarak yetiştirilmektedir. Kahverengimsi kırmızı renkte oval şekilli bir tohuma sahip olan tere, Radwan ve arkadaşları (52) tarafından içerisinde glukotropaeolin ve glukonasturiin isimli glukosinolatların bulunduğu bildirilmiştir. Glukotropaeolin ve glukonasturiinin kimyasal formülleri Şekil 4’te gösterilmiştir.



Şekil-4 Glukotropaeolin ve glukonasturiinin kimyasal formülleri (52)

Tere tohumu, Güney Asya’da geleneksel ilaç olarak bronşit, astım ve öksürük tedavisinde kullanılmaktadır (53). Eddouks ve arkadaşları (54) sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda, insülin sekresyonunu etkilemeden tere tohumunun hipoglisemik aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Tere tohumunun ayrıca antioksidan, hipokolesterolemik, antimikrobiyal, antidiariyal, antikarsinojenik etkileri bulunmaktadır. Birçok makalede, tere tohumunun besinsel, nutrasötik, fitokimyasal ve antimikrobiyal özellikleri vurgulanmıştır. Bununla birlikte tere tohumu ve ekstraktının çeşitli medikal hastalıklarda kullanımı tam olarak ortaya çıkarılmamış ve araştırmaya açık olduğu vurgulanmıştır (54, 55). Tere tohumunun taksonomik sınıflandırılması Tablo-3’te gösterilmiştir.

**Tablo-3** Tere Tohumunun taksonomik sınıflandırılması (66)

Alem	Bitki
Şube	Magnoliofita
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Brassica
Familya	Brassicaceae
Cins	<i>Lepidium sativum</i>

## 5. Glukosinolatların Analiz Yöntemleri

Glukosinolatların analizi amaçlı spektroskopi, enzim immobilizasyonu, X-ray floresans, gaz sıvı kromatografi (GLC), sıvı kromatografi, kütle spektrometri (LC/MS) ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu teknikler içerisinde HPLC yöntemi en yaygın ve en güvenilir olarak kullanılan metottur (56-62).

Glukosinolatların HPLC ile analizinde 3 yöntem kullanılmaktadır;

- 1) Glukosinolatlar iyonik halde iken ortama iyon çiftleme ajanları katılması (Ion-paired Chromatography) (61).
- 2) Anyonik formdaki glukosinolatların enzimatik olarak desülfo formuna geçirilmesi (62).
- 3) Mobil fazda spesifik tuzlar kullanılarak iyon baskılama tekniği uygulanması (Ion Suppression Chromatography) (63).

İyon çiftleme kromatografisi analizi, glukosinolatlarda isotiyosiyanatları tanımlama ve ayırtmak için Fahey ve Stephenson (61) tarafından kullanılan metottur. Bu metod, bitki ekstraktlarındaki, kan ve idrar gibi vücut sıvılarındaki toplam veya tek çeşit glukosinolatı ayırmada kolaylıkla kullanılabilir. Pahalı bir yöntem olması dezavantajdır. Enzimatik yöntem, oldukça spesifik ve sık kullanılan bir yöntem olmasına karşın, 12 saat gibi uzun bir zaman alması ve bazı glukosinolatların tam olarak belirlenememesi dezavantaj olarak görülmektedir. Ayrıca enzimatik yöntemde, sıcaklık, pH, su miktarı ve sülfataz enziminin aktivitesi analizin doğru sonuç vermesinde çok etkili olmaktadır. İyon baskılama metodu ise en ekonomik ve sık kullanılan yöntemlerdendir (63-65).



## 6. Glukosinolatların Biyolojik Etkileri

### 6.1. Glukosinolatların Beslenme Üzerine ve Guatrojenik Etkileri

Glukosinolatlar, biyolojik olarak aktif hale geçip vücutta etki gösterebilmesi için mirosinaz enzimi tarafından parçalanması gerekmektedir (6). Glukosinolatların hidroliz ürünlerinden ortaya çıkan tiyosiyanat bileşikleri, guatrojenik (guatr yapıcı) etki göstererek tiroit bezine alınan iyot konsantrasyonunu düşürmektedir (66). Yağlı kolza tohumunun içindeki progoitrinden türeyen oksazolidin-2-tiyon bileşikleri de guatrojenik etkisi olan bileşiklerdendir (56). Hayvan yemlerindeki konsantrasyonuna bağlı olarak glukosinolatların bu hidroliz ürünleri, negatif etkiler gösterebilmektedir (6). Cruciferous bitkileri ile beslenen birçok insanda endemik guatr hastalığı görüldüğü iddialarına rağmen bu konuda tam olarak inandırıcı kanıtlar bulunmamaktadır. Bunun yanında Greer, guatr hastalığının yalnızca iyot eksiliğinden oluşmadığını saptamıştır (67). Örneğin yetişkin bir insan günde 150 g brüksel lahanası tüketmesi durumunda tiroid hormon düzeyinde herhangi bir değişiklik görülmemektedir (56). Brassica sebzelerinin tüketim öncesi, haşlama, suda ıslatma, mikrodalgada ısıtma gibi fiziksel işlem uygulanması, mirosinaz aktivitesini azaltarak guatrojen etkinin kaybolmasını sağlamaktadır (6).

Kolza tohumu içerikli yemler sinigrin ve progoitrin varlığından dolayı hayvan diyetlerine acı tat vermekte ve hayvanların yem tüketimini azaltmaktadır (45). Bu acı tat, yemlerin bazı işlemler görmesi sonucu giderilebilmektedir. Sinigrin, progoitrin ve glukobrassin gibi glukosinolat bileşiklerindeki acı tadı, yemlerin yetiştirme koşullarını değiştirerek, pişirme işlemi uygulayarak veya ırk seleksiyonu yaparak ortadan kaldırmak mümkündür (68).

### 6.2. Antioksidan Aktivite Üzerine Etkileri

Tüm canlılar yaşamları boyunca ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, pestisitler, toksinler gibi kimyasal ajanlara maruz kalmaktadır (69). Hücresel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürütmesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan iç ve dış kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif

stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir (70).

Organizma içindeki elektronların çoğu çiftler halinde bulunurlar. Bir bağ koptuğunda oluşan atomun elektronları ya birlikte kalır iyon olur ya da ayrılarak serbest radikalleri oluşturur. Serbest radikaller, oksidatif reaksiyonlar sonucu lipid, protein ve nükleik asitler gibi vücutta bulunan bileşiklere zarar vermekte ve birçok biyolojik sorunlara neden olmaktadır (71). Oksidatif hasar; yaşlanma, bazı kronik hastalıklar ve kanser gibi durumlara neden olması ile bilim adamları tarafından önem arz etmektedir. Antioksidanlar, bu oksidatif hasarı önlemede ve geciktirmede etkili olmaktadır. Dış ve iç etkiler sonucu oluşan serbest radikaller, vücudun her yerinden elektron alıp veren böylelikle hücrelere, proteinlere ve DNA'ya kolaylıkla zararlı etki gösterebilen maddelerdir. Antioksidanlar ise okside olup serbest radikallere elektron vererek etkisiz hale gelmelerini sağlarlar. Antioksidanlar, direk ve indirek olmak üzere iki gruba ayrılır. Direk antioksidanlar, vücuttaki fizyolojik, biyokimyasal ve hücresele işlemlerde oluşan serbest radikallerin hücreye zarar vermeden önce nötrale edilmesini sağlamaktadır (72). Direk antioksidanlara glutasyon (GSH), tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini) ve karotenoidler örnek olarak verilebilir (73,74). İndirek antioksidanlar ise radikalleri veya redoks reaksiyonlarını direk inaktive edemezken, hücrelerin antioksidan kapasitesini artırır ve oksidatif stresten korunmayı sağlamaktadırlar. Glukosinolatlar da indirek olarak antioksidan etki göstermektedirler. Ayrıca Faz I ve Faz II ksenobiyotik metabolizma enzimlerini inhibe ederek veya uyarak antioksidan özellik sağlarlar (72,75).

Organizmaların karşılaştığı yabancı kimyasal maddeler veya ilaçlar ksenobiyotikler olarak adlandırılır. Ksenobiyotikler, vücut için toksik maddeler olup, vücuda alındıktan sonra etki yerlerine dağılırlar ve çeşitli yollarla elimine edilmeye çalışılırlar. Ksenobiyotik metabolizması başlıca iki fazda gerçekteşir. Birinci fazın ana tepkimesi sitokrom p450 olarak da bilinen bir grup monooksijenaz tarafından katalize edilerek hidroksilenme olayından sorumludur (76,77). İkinci fazda ise hidroksillenmiş ürünler, glukuronik asit, sülfat veya glutasyon gibi bir grup hidrofil bileşikle konjuge edilir ve vücuttan atılmaya hazır hale getirilir. Glutasyon S-transferaz (GST<sub>s</sub>), NAD(P)H:kinon oksidoredüktaz (NQO1) Epoksit hidrolaz, UDP-glukuronosil transferaz gibi Faz II enzimleri karsinojenlere ve mutajenlere karşı hücreleri korumada önemli rolleri bulunmaktadır (78-81). Ksenobiyotik metabolizmasının iki

fazının amacı, bu zararlı maddelerin sudaki çözünürlüğünü artırarak idrar veya safra yoluyla vücuttan atmaktır (82).

Faz I'de bulunan enzimler, yağda çözünen bileşiklerin reaksiyonlarını artırır. Bu işlem, vücuttan atılmak istenen maddelerden daha toksik olabilecek karsinojenler gibi maddelerin de hücrelere girmesine neden olabilmektedir. Bundan dolayı antioksidanlar, Faz I enzimlerinin etkisi azaltırken, Faz II enzimlerinin aktivitesini artırmaktadır (14,72).

Glukosinolatlar ve hidroliz ürünleri, Faz I enzimlerini inhibe ederken, Faz II enzimlerinin uyarılmasını sağlar. Böylece hücreleri DNA hasarından ve oksidatif stresten korunmasına yardımcı olur. Canlılar, hava kirliliği, radyasyon, herbisitler ve sigara dumanı gibi dış faktörlerden kaynaklanan serbest radikallerden kaçamazlar. Bu zararlı etkilerden dolayı hücreler normal fonksiyon yapma kabiliyetlerini kaybederler ve çeşitli hastalıklara yakalanma riskleri artar. İşte glukosinolatlar serbest radikallerin bu zararlı etkilerine karşı önemli bir savunma mekanizması oluşturmaktadır (75).

### **6.3. Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri**

Yüksek kolesterol seviyelerinin yol açtığı koroner kalp hastalıkları tüm dünyada ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Rodentlerde yapılan çalışmalarda, çeşitli yem katkı maddelerinin, sıklıkla kullanılan kolesterol düşürücü ilaçlara göre çok daha az yan etkiler göstererek kan kolesterol seviyelerini düşürdüğü görülmüştür. Glukosinolatlardan zengin olan brokoli filizlerinin kolesterol ve lipid seviyelerini düşürdüğü bilinmektedir. Cruciferous sebzelerinin hipokolesterolemik etkisi bilinmesine rağmen lipid homeostasisini ve kolesterol düşürücü etkisini açıklamak amacıyla daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (83,84).

Yüksek diyetle beslenen farelerde yapılan çalışmada, cruciferous sebzelerinden elde edilen glukosinolat hidroliz ürünü indol-3-carbinol (I3C) verilen farelerde vücut ağırlığında düşmeye neden olduğu, lipid metabolizmasını düzene soktuğu ortaya konmuştur. Ayrıca I3C uygulanması, obeziteyi ve lipid birikimini önlemeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (85).

Adipoz doku hücresi olan adipositlerden adipositokinler salgılanmaktadır. Adiponektin ve leptin, enerji homeostasisinde, lipid metabolizmasında ve glukoz metabolizmasında önemli roller oynayan adipositokinlerdendir. Adiponektin 28 kDa moleküler ağırlığa sahip olan 244

amino asitten oluşan bir peptiddir. Adiponektin yağ asitlerinin oksidasyonunu ve iskelet kasına glukoz alımını uyarır, hepatik glukoz üretimini inhibe ederek insülin duyarlılığını artırır (86,87). Adiponektin ayrıca anti-aterojenik, anti-enflamatuvar, anti-diyabetik ve anti-onkojenik etkilere de sahip bir hormondur (88-90). Glukoz ve lipid metabolizmasında da metabolik sendrom ve obesiteye karşı koruyarak anahtar bir rol oynamaktadır. Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda yapılan çalışmada, 400 mg/kg brokoli filizi ekstraktı tüketimi sonucu canlı ağırlık artışında ve mezenterik adipoz doku ağırlığında azalma olduğu bulunmuştur (85).

16 kDa ağırlığında bir peptid olan leptinin ise gıda alımı, tüm vücut enerji dengesinin sağlanması gibi birçok önemli görevleri vardır (91). Leptinin en önemli fonksiyonu vücuttaki yağ miktarını sabit tutmaktır. Ruminantlarda vücut yağı ve beslenme ile ilişkili olarak plazma leptin konsantrasyonunda değişiklikler ortaya koyulmuştur (92).

Hayvanlara yüksek yağlı diyet uygulanıp obezite üzerine yapılan bir çalışmada, glukosinolat hidroliz ürünü olan indol-3-karbinolun beyaz adipoz dokuya direk etki ederek leptin, trigliserid seviyelerini ve insülin direncini düşürüp adiponektin konsantrasyonunu artırdığı görülmüştür (93).

Al- Hamedan (94), 2010 yılında hiperkolesterolemik sıçanlar üzerinde tere tohum ekstraktı ve tere tozunun koruyucu etkileri üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, pozitif kontrol grubu ile ağızdan tere tohumu verilen sıçanlar karşılaştırıldığında tere verilen grupta canlı ağırlık kazancında, yemden yararlanma oranında, serum kolesterol ve trigliserid seviyelerinde azalma olduğu bulunmuştur.

#### **6.4. Östrojen Hormonu Üzerine Etkileri**

Bazı bitkiler hayvanlar tarafından alınıp metabolize edildikten sonra aktif hale geçip östrojen benzeri etkiler göstermektedir (95). Bitkilerde bulunan östrojen hormonu östrojenik etki bakımından kendilerinden daha güçlü bileşiklerle kullanıldıklarında bu bileşiklerin aktivitelerini düşürürler. Bu etki östrojen reseptörlerinin bitki östrojenleri tarafından işgal edilmesi ile oluşmaktadır. Kendilerinden daha güçlü etkiye sahip diğer östrojenler, reseptör bulamadıklarından aktivite gösteremezler ve anti östrojenik etki oluştururlar (96). Brignall

(15), Brassica sebzelerinin östrojen hormonunu artırıcı yönde etkisi olduğunu, Stoner ve arkadaşları (16) ise herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Gardner ve Adams (97) tarafından yapılan bir araştırmada bitkisel östrojenlerin büyümekte olan hayvanlarda özellikle koyunlarda canlı ağırlık artışı sağladığı bildirilmiştir. Brassicacea ailesine ait sebze ekstraktlarının özellikle I3C ve diindolmetanın (DIM) düşük dozları uygulandığında antiöstrojenik etkiler gösterdikleri ve yüksek dozlarda ise östrojen agonisti gibi davrandıkları gösterilmiştir.

## 6.5. Antikarsinojenik Etkileri

Son 20 yıl içerisinde, birçok kanser türünün insidensini düşürmek amaçlı özellikle cruciferous sebzeleri olmak üzere sebze ve meyvelerin tüketimi artmıştır. Günde yaklaşık iki porsiyon cruciferous sebzelerinin yenmesi, kansere yakalanma riskini % 50 azaltmaktadır. Bu sebzelerin kansere karşı kemoprotektif etkilerini glukosinolatlar gibi bileşikleri içermesinden kaynaklandığına inanılmaktadır (98-101). Glukosinolatların tüketimi ile kolon, prostat, akciğer, idrar kesesi ve göğüs kanserleri oluşma riski arasında ters bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır (30).

Brassica sebzelerinden olan brokoli içerisindeki glukorafanın glukosinolat türü, pişirme, çiğneme ve sindirim gibi işlemler sonucu sulforafan (bütül isotiyosiyanat) ve sulforafan nitril parçalanma ürünlerine ayrılır (101). Brokoli ekstraktından izole edilen sulforafan iyi bir Faz II enzimleri uyarıcısı aktivitesine sahiptir. Özellikle kinon oksidoredüktaz 1(NQO1), glutatyon-S-transferaz ve NAD(P)H: kinon redüktaz gibi Faz II enzimlerini uyararak etki gösterdiği bilinmektedir (102).

Talalay (81) yaptığı bir çalışmada, isotiyosiyanatların sıçanlarda memeli tümörlerinden korunmada oldukça etkili olduğunu bildirmiştir. Sulforafanın, sıçan memeli tümör modellerinde tümör oluşumunu engellediği, insidensini düşürdüğü ve var olan tümörün büyüklüğünü küçülttüğü belirtilmektedir (103,104). İki hafta boyunca günde 100 µmol brokoli filizinden elde edilen sulforafan tüketimi, Faz II enzimlerinin ekspresyonunu artırmaktadır (105).

Mahassni ve Al-Reemi (106), insan göğüs kanseri hücre hattına (MCF7) tere tohumu ekstraktı uygulayarak terenin sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, MCF7

hücrelerinde tere tohumu ekstraktı uygulanması, kanser hücrelerinin yaşama kapasitelerini azaltarak hücre apoptosisini ve nekrozunu uyardığı ortaya çıkmıştır.

## 6.6. Glukosinolatların Diğer Etkileri

Glukosinolatların ve hidroliz ürünlerinin antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri son 50 yıldır yapılan araştırmalarda ortaya çıkmıştır (13). Brassica sebzelerinin tüketimi, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* gibi patojenlere karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivite gösterir (55). *Helicobacter plori* ile oluşan bakteriyal enfeksiyonlar mide kanseri riskini artırmaktadır (107). Fahey ve arkadaşları (108), glukorafaninden hidrolize edilen sulforafanın, *Helicobacter plori* ve suşlarının büyümesini inhibe ettiği ve öldürdüğünü göstermişlerdir.

Eddouks ve arkadaşları (54), tere tohumunun diabetik sıçanlarda hipoglisemik aktivitesini araştırmıştır. İki hafta süreyle tere tohumu ekstraktının 20 mg/kg dozda uygulanması sonucu kan glukoz seviyelerinde düşme görülmüştür. Tere tohumu uygulamasının hipoglisemik aktivite sağlaması, insülin sekresyonunda herhangi bir değişiklik yapmadan gerçekleştirilmektedir. Hipertansif eğilimli brokoli filizi ile beslenen sıçanlarda yapılan çalışmada, kardiyovasküler ve böbrek dokularında oksidatif stresin ve kan basıncının azaldığı görülmüştür (109, 110). Ayrıca Maghrani ve arkadaşları (111) tarafından 3 hafta boyunca günlük tere tohumunun sıçanlarda oral uygulanması, antihipertansif ve diüretik aktivite göstermiştir. Tere tohumunun 200-400 mg/kg miktarlarda sıçanlara verilmesi ile serum ALP, AST, ALT konsantrasyonlarını ve karaciğer hasarını azalttığı yapılan bir çalışma sonucunda ortaya konmuştur (112). Ayrıca yabancı ot mücadelesinde, sentetik pestisitlerin yerine Brassica bitkilerinin yeşil gübre olarak doğal bir fumigasyon olabileceği bildirilmiştir (113). Leblova-Svobodova ve Kostir (114) bu biyoherbisidal etkiyi tohum filizlenmesini ve bitki enzim aktivitesini önleyerek yaptığını öne sürmektedirler.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 1. Hayvan Gereci, Bakım ve Besleme

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Uygulama Merkezi Çiftliğinin Tavukçuluk Ünitesi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada 624 adet Ross-308 etçi ırk tavuk kullanıldı. 0. yaştan itibaren civcivlerin bakım ve beslemesine başlandı. Hayvanlara aynı bakım ve besleme şartları altında *ad libitum* yemleme uygulandı.

Civcivler, 1 kontrol ve 3 deneme grubu olmak üzere 4 ana grup ve bunların 3 tekrarlı ve dişi-erkek grupları olarak 24 gruba ayrıldı. 24 adet bölmeye her bölmede 26 hayvan olacak şekilde civcivler yerleştirildi. Civcivler, 1. dönem civciv başlangıç yemi ile beslemeye başlandı. 21. günden itibaren etlik piliç geliştirme yemine geçildi. 35. günden sonra kesime kadar kesim öncesi yem olan piliç bitiş yemi hayvanlara verildi. Ayrılan gruplar doğrultusunda etken madde olan tere tohumu (*Lepidium sativum*) yeme katkı olarak eklendi. Tere tohumu, hayvanların daha iyi sindirebilmesi amacıyla öğütme değirmeninde yeme karıştırılmadan önce 1 mm çapında öğütüldü. Kontrol grubunun yemlerine etken madde katılmadı. 1. deneme grubuna % 0,05 etken madde olacak şekilde 1 kg yeme 10 gr, 2. deneme grubuna % 0,10 etken madde içerikli 1 kg yeme 20 gr, 3. deneme grubuna ise % 0,15 etken madde içerikli 1 kg yeme 30 gr tere tohumu eklendi. Yem tüketimi hesaplamalarının yapılabilmesi için her gruba ayrı yem çuvalları hazırlandı. Bu çuvalların üzerine grupların isimleri yazıldı ve yem içerisine tere tohumu etken maddesi karıştırılarak çuvallara konuldu. Her bölmeye grup isimleri yazılarak asıldı.

Hayvanların su ihtiyaçları, her bölme için ayrı otomatik suluklar ile karşılandı. Otomatik suluklar her gün yem artıklarından temizlendi. Kümes sıcaklığının en yüksek ve en düşük değerleri, nem oranı yüzde olarak her gün ölçülerek not edildi. Civcivlerin 0. günden 7. güne kadar ortam ısını artırmak amacıyla gece radyan ısıtıcı kullanıldı. Hayvanlara 23 saat aydınlık 1 saat karanlık ortam sağlandı.

Hayvanların beslenmesinde kullanılan yemlerin hammaddeleri ve hesaplanan besin içeriği Tablo-4'de gösterildi.

**Tablo-4** Beslenmede kullanılan yemlerin hammaddeleri ve hesaplanan besin içeriği

<b>Yem Hammaddeleri (%)</b>	<b>Başlangıç Yemi (0-21. gün)</b>	<b>Büyütme Yemi (22-35. gün)</b>	<b>Bitiriş Yemi (36-42. gün)</b>
Mısır	20,45	25,51	28,05
Buğday	30,00	34,00	39,20
Tam Yağlı Soya	24,95	24,11	16,37
Soya Küspesi	20,18	0,00	0,00
Ayçiçeği Küspesi	0,00	8,50	7,50
Kanatlı Yan Ürünü	0,00	3,20	3,50
Bitkisel Yağ	0,80	0,92	1,80
Tuz	0,22	0,12	0,11
Sodyum Bikarbonat	0,01	0,09	0,14
Mermer Tozu	1,29	0,66	0,62
Monokalsiyum Fosfat	1,05	0,28	0,00
Alimet <sup>1</sup>	0,39	0,25	0,29
L-Lizin	0,14	0,32	0,44
Treonin	0,04	0,07	0,12
Kolin Klorit <sup>2</sup>	0,05	0,04	0,03
VMP <sup>3</sup>	0,33	0,33	0,33
Antioksidan <sup>4</sup>	0,10	0,10	0,10
<b>Hesaplanan Besin İçeriği (%)</b>			
Kuru Madde	88,93	88,92	88,92
Ham Protein	21,85	19,65	19,48
Ham Yağ	6,95	10,28	10,70
Nişasta	37,95	36,95	36,60
Glukoz	7,10	5,80	5,30
Ham Selüloz	5,15	4,80	4,70
Ham Kül	5,50	5,48	5,30
Kalsiyum	0,98	0,80	0,70
Fosfor	0,48	0,42	0,38
Metabolik Enerji, ME, kcal/kg	3135	3230	3218

<sup>1</sup>İçerik % 88 sıvı metiyonin; <sup>2</sup>İçerik %75 sıvı kolin klorit; <sup>3</sup>VMP: Vitamin Mineral Premiksi kg/CA: 12000 IU A Vitamini, 1 500 IU D3 Vitamini, 30 mg E Vitamini, 5 mg K3Vitamini, 3 mg B1 Vitamini, 6 mg B2 Vitamini, 5 mg B6 Vitamini , 0,03 mg B12 Vitamini , 0,75 mg Folik asit, 10 mg Kalsiyum-D-Pantotenik asit, 0,075 mg D-Biotin, 40 mg Nikotinamid, 0,08 mg Manganez, 40 mg Demir, 60 mg Çinko, 5 mg Bakır, 0,5 mg İyot, 0,2 mg Kobalt, 10 mg Antioksidan, 70 mg Niasin; <sup>4</sup>kg/CA: 2,5 mg butilhidroksi anisol (BHA), 3,125 mg Etoksikuin, 2,5 mg



## 2. Canlı Ağırlık ve Yem Tartımları

Çalışmada hayvanların canlı ağırlıkları, 0., 7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerde olmak üzere toplam 7 kez tek tek tartım yapılarak ölçüldü. Tartım yapılan günlerde yem tüketimlerinin hesaplanması amacıyla hayvanların önlerinde kalan yemler alınarak tartıldı ve çuvallarda kalan yemler toplanarak toplam yemden çıkarıldı.

## 3. Kan Örneklerinin Alınması ve Laboratuvar Analizleri

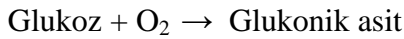
Çalışmada 0., 21. ve 42. günlerde hayvanların vena jugularis'lerinden antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. 0. ve 21. günlerdeki kan alımında 4 ana gruptan 10'ar adet olacak şekilde 40 adet, 42. gündeki alınıştta 48 adet hayvandan kan örnekleri toplandı. Toplamda 128 adet kan örneği elde edildi. Toplanan kan örneklerinden serum elde etmek için pıhtılaşma oluşana kadar oda ısısında bekletildi ve ayrıca 3000 devirde 5 dakika santrifüj (Hettich EBA 21) edilerek oluşan serumlar ayrıldı. Gruplara göre etiketlenmiş olan 2 ml'lik mikrotüplere serumlar konuldu ve -20°C'de derin dondurucuda analiz günü kullanılmak üzere saklandı. Serum örneklerinde spektrofotometre (Shimadzu UV -1601) ile serum glukoz konsantrasyonu ölçümü, ELISA mikroyokuyucu (Biotek EL<sub>X</sub> 808 ) ile büyüme hormonu, kortizol, östradiol, adiponektin ve leptin konsantrasyonları ölçümü yapıldı.

### 3.1. Serum Glukoz Ölçümü

Serumda glukoz konsantrasyonu glukoz kiti (TML, Ref No: TR90271) kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV-1601) ölçüldü.

#### Testin Prensibi

Glukozun enzimatik tespiti aşağıda belirtilen reaksiyonlar ile gerçekleşir.



## Reaktiflerin İçeriği

Fosfat Tamponu, (pH 7,4)	13,8 mmol/L
Fenol	10 mmol/L
4-Aminoantipirin	0,3 mmol/L
Glukoz oksidaz	≥ 10000 U/L
Peroksidaz	≥ 700 U/L

## Test Prosedürü

	Blank	Standart	Örnek
Çalışma Reaktifi	1ml	1 ml	1 ml
Distile Su	10 µl	-	-
Standart	-	10 µl	-
Örnek	-	-	10 µl

Test ayraçları karıştırıldıktan sonra spektrofotometre kuvvetleri 10 dakika 37°C’de etüvde inkübe edildi. Daha sonra 500 nm dalga boyunda standart ve örneklerin absorbansı blanke karşı ölçüldü.

## Hesaplama

$$\text{Glukoz konsantrasyonu (mg/dl)} = \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{standart}}} \times \text{Standart konsantrasyonu (100 mg/dl)}$$

### 3.2. Serum Büyüme Hormonu (GH) Ölçümü

Serum büyüme hormonu konsantrasyonu, tavuk spesifik ELISA kiti Cusabio Biotech (Chicken Growth Hormone (GH) Elisa kit, Cat.No. CSB-E09866Ch) kullanılarak mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) ile ölçüldü.

## Testin Prensibi

Bu test kompetatif inhibisyon enzim immunoassay tekniği ile çalışmaktadır. Kıtte kullanılan mikrotitreli pleyt, büyüme hormonuna spesifik antikorlar ile kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler biotin konjugatlı büyüme hormonuna özgü pleyt kuyucuklarına eklenir. Standart ve örneklerdeki büyüme hormonu ile hormona spesifik antikorlar ile kaplanmış biotin konjugatlı büyüme hormonu arasında kompetatif inhibisyon reaksiyonu başlatılır. Örneklerdeki büyüme hormonu fazlaysa biotin konjugatlı büyüme hormonu tarafından daha az antikor bağlanır. Yıkama sonrasında horsedish peroksidaz (HPR) konjugatlı avidin ve sonra substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Örneklerdeki büyüme hormonu miktarına zıt olarak renk gelişir. Renk oluşumu durdurulur ve renk koyuluğu ölçülür.

**Testin Doz Aralığı:** 625-10000 pg/ml

## Testin Duyarlılığı

Bu test için belirlenen minimum doz 312,5 pg/ml'dan az bir değerdir. Testin duyarlılığı, sıfırdan farklı olmak üzere en düşük tavuk büyüme hormonun konsantrasyonundan belirlenmiştir.

## Testte Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

Ayıraçlar	Miktarları
Standartlar	5x1 ml
Konjugat	1x6 ml
HPR-avidin	1x6 ml
Yıkama Solüsyonu (20X konsantreli)	1x15 ml
Substrat A	1x7 ml
Substrat B	1x7 ml
Stop Solüsyonu	1x7 ml

Bütün ayıraçlar kullanılmadan 30 dakika öncesinde oda ısısına (18-25°C) getirilir. Örneklerin ve çözeltilerin hazırlanmasında distile su kullanılması tavsiye edilir.

### **Yıkama Solüsyonu**

Yıkama solüsyonu 20 kat konsantre olmakla birlikte 15 ml'lik yıkama solüsyonu 300 ml distile suyla sulandırıldı.

Testte bulunan diğer ayıraçlar hazır olarak oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanıldı.

### **Standart Konsantrasyonları**

Standartlar	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
Konsantrasyon (pg/ml)	625	1250	2500	5000	10000

### **Testin Prosedürü**

1. Örnekler ve tüm ayıraçlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Pleytte kullanılacak olan kuyucuklar belirlenip boş pleyt kağıdına yazıldı.
3. Blank kuyucuğuna hiçbir solüsyon konulmadı.
4. Her kuyucuğa 50 µl standartlar ve örnekler konuldu.
5. Daha sonra blank hariç her kuyucuğa 50 µl konjugat konuldu, hafif bir şekilde karıştırıldı ve 60 dakika 37°C'de inkübe (Wisd. Labortory Instruments WiseCube WIG-105) edildi.
6. 1 saat sonra pleyt içindeki içerik aspire edildi.
7. Elisa pleyt yıkayıcı ile (Biotek EL<sub>X</sub> 50) yıkama solüsyonu kullanılarak 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama solüsyonu her kuyucuğa 200 µl mikropipet ile konuldu. 10 saniye her yıkama sonrası beklendi ve pleyt içindeki sıvı boşaltıldı. Son yıkama sonrası pleyt ters çevrildi ve kurutma kağıdı üzerine birkaç vurularak tüm sıvının boşaltılması sağlandı.

8. Blank hariç tüm kuyucuklara 50 µl HPR-avidin konuldu. Pleyt hafifçe karıştırıldı ve 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.

9. Pleyt daha önce uygulanan yıkama prosedürü izlenerek tekrar 3 defa yıkama işlemi yapıldı.

10. 50 µl substrat A ve 50 µl substrat B her kuyucuğa konuldu ve hafifçe karıştırıldı. 15 dakika 37°C’de inkübe edildi. Pleyt hava akımından uzak tutuldu ve karanlık bir ortamda bekletildi.

11. Stop solüsyonu her kuyucuğa 50 µl eklendi ve hafifçe vurularak iyice karıştığına emin olundu.

12. Elisa mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) kullanarak 10 dakika içinde 450 nm’de her kuyucuğun optikal dansitesi belirlendi.

### **3.3. Serum Östradiol (E<sub>2</sub>) Ölçümü**

Serum östradiol konsantrasyonu, tavuk spesifik ELISA kiti Cusabio Biotech, (Chicken Estradiol (E<sub>2</sub>) Elisa kit, Cat.No. CSB-E12013C) kullanılarak mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) ile ölçüldü.

#### **Testin Prensibi**

Bu test kompetatif inhibisyon enzim immunoassay tekniği ile çalışmaktadır. Kitte kullanılan mikrotitreli pleyt, keçi anti tavşan antikoru ile kaplanmıştır. Mikrotitreli pleyt kuyucuklarına standartlar ve örnekler konulur, daha sonra üzerine östradiola spesifik antikor ve horseradish peroksidaz (HPR) konjugatlı östradiol eklenir. HPR’li östradiol ile bilinmeyen östradiol arasında antikor ile kompetatif inhibisyon başlatılır. Substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Örneklerdeki östradiol miktarına zıt olarak renk gelişir. Renk oluşumu durdurulur ve renk koyuluğu ölçülür.

**Testin Doz Aralığı:** 40-1000 pg/ml

## Testin Duyarlılığı

Bu test için belirlenen minimum doz 25 pg/ml'dan az bir değerdir. Testin duyarlılığı, sıfırdan farklı olmak üzere en düşük tavuk östradiol konsantrasyonundan belirlenmiştir.

## Testte Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

Ayıraçlar	Miktarları
Standartlar	6x0,5 ml
Konjugat	1x6 ml
HPR-avidin	1x6 ml
Yıkama Solüsyonu (20X konsantreli)	1x15 ml
Substrat A	1x7 ml
Substrat B	1x7 ml
Stop Solüsyonu	1x7 ml

Bütün ayıraçlar kullanılmadan 30 dakika öncesinde oda ısısına (18-25°C) getirilir. Örneklerin ve çözeltilerin hazırlanmasında distile su kullanılması tavsiye edilir.

## Yıkama Solüsyonu

Yıkama solüsyonu 20 kat konsantre olarak bulunmaktadır. 15 ml'lik yıkama solüsyonu 300 ml distile suyla sulandırıldı.

Testte bulunan diğer ayıraçlar hazır olarak oda sıcaklığına getirildikten sonra kullanıldı.

## Standart Konsantrasyonları

Standartlar	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
Konsantrasyon (pg/ml)	0	40	100	240	400	1000

## **Testin Prosedürü**

1. Örnekler ve tüm ayıracılar oda sıcaklığına getirildi.
2. Pleytte kullanılacak olan kuyucuklar belirlenip boş pleyt kağıdına yazıldı.
3. Blank kuyucuğuna hiçbir solüsyon konulmadı.
4. Her kuyucuğa 50 µl standart ve örnekler konuldu.
5. Blank hariç her kuyucuğa 50 µl HPR-konjugat eklendi, daha sonra her kuyucuğa 50 µl antikor ilave edildi. Hafifçe karıştırıldı ve 37°C'de 2 saat inkübe (Wisd. Labortory Instruments WiseCube WIG-105) edildi.
6. Elisa pleyt yıkayıcı ile (Biotek EL<sub>x</sub> 50) yıkama solüsyonu kullanılarak 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama solüsyonu mikropipet ile her kuyucuğa 200 µl konuldu. 10 saniye her yıkama sonrası beklendi ve pleyt içindeki sıvı boşaltıldı. Son yıkama sonrası pleyt ters çevrildi ve kurutma kağıdı üzerine birkaç vurularak tüm sıvının boşaltılması sağlandı.
7. 50 µl substrat A ve 50 µl substrat B her kuyucuğa konuldu ve hafifçe karıştırıldı. 15 dakika 37°C'de inkübe edildi. Pleyt hava akımından uzak tutuldu ve karanlık bir ortamda bekletildi.
8. Stop solüsyonundan her kuyucuğa 50 µl eklendi ve hafifçe vurularak iyice karıştığına emin olundu.
9. Elisa mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) kullanarak 10 dakika içinde 450 nm'de her kuyucuğun optikal dansitesi belirlendi.

## **3.4. Serum Adiponektin Ölçümü**

Serum adiponektin konsantrasyonu, tavuk spesifik ELISA kiti Cusabio Biotech (Chicken Adiponectin (ADP) Elisa kit, Cat.No. CSB-EL001366CH) kullanılarak mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) ile ölçüldü.

## **Testin Prensibi**

Bu ölçüm kompetatif inhibisyon enzim immunoassay tekniği ile çalışmaktadır. Bu kitte kullanılan mikrotitreli pleyt, adiponektin spesifik antikorlar ile kaplanmıştır. Standartlar ve

örnekler, Horseradish Peroksidaz konjugatlı adiponektin pleyt kuyucuklarına eklenir. Örneklerdeki adiponektin ile HPR konjugatlı adiponektin arasında kompetatif inhibisyon reaksiyonu başlatılır. Substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Örneklerdeki adiponektin miktarına zıt olarak renk gelişecektir. Renk oluşumu durdurulur ve renk koyuluğu ölçülür.

**Testin Doz Aralığı:** 31,25-500 ng/ml

### **Testin Duyarlılığı**

Bu test için belirlenen minimum doz 15,6 ng/ml'den az bir değerdir. Testin duyarlılığı, sıfırdan farklı olmak üzere en düşük tavuk adiponektin konsantrasyonundan belirlenmiştir.

### **Testte Kullanılan Ayraçlar ve Hazırlanması**

<b>Ayraçlar</b>	<b>Miktarları</b>
Standart (10X konsantreli)	1x200 µl
Örnek dilüsyonu	2x20 ml
HPR-konjugatı (100X konsantreli)	1x60 µl
HPR-konjugatı dilüsyonu	1x10 ml
Yıkama Solüsyonu (25X konsantreli)	1x20 ml
TMB Substrat	1x10 ml
Stop Solüsyonu	1x10 ml

### **HPR-konjugat (1X)**

Flakonu açmadan önce santrifüj edilerek HPR-konjugattan 100 kat dilüsyon yapıldı. 10 µl HPR- konjugat + 990 µl HPR-konjugat dilüsyonu uygulandı.

### **Yıkama solüsyonu (1X)**

Yıkama solüsyonunda şekillenen kristalleri çözmek için solüsyonun oda ısısına gelmesi sağlandı ve kristaller tamamen çözünene kadar yavaşça karıştırıldı. 20 ml yıkama solüsyonunu (1X) 500 ml oluncaya kadar distile su eklendi, böylece 25 kat sulandırılmış oldu.



## Standartlar

Standart flakonu açmadan önce 6000 - 10000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Standart (10X) örnek dilüsyonu ile sulandırıldı. 10 kat dilüsyon için 30 µl standart (10X)+270 µl örnek dilüsyonundan konuldu. S<sub>5</sub> en yüksek standart (500 ng/ml) içermektedir. Standart, tüm örnek dilüsyonu ile karıştırıldı ve 15 dakika yavaş bir şekilde iyice karışması sağlandı. 150 µl örnek dilüsyonundan her tüpe pipet ile konuldu. (S<sub>0</sub>-S<sub>4</sub>) 2 kat sulandırma üretmek için S<sub>5</sub>'ten alınarak sulandırma yapıldı. Örnek dilüsyonu 0 standardı gibi hizmet vermektedir (0 ng/ml).

Tüp	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
ng/ml	0	31,25	62,5	125	250	500

## Testin Prosedürü

1. Örnekler ve tüm ayıraçlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Pleytte kullanılacak olan kuyucuklar belirlenip boş pleyt kağıdına yazıldı.
3. Blank kuyucuğuna herhangi bir solüsyon konulmadı.
4. Her kuyucuğa 50 µl standartlar ve örnekler konuldu.
5. 50 µl HPR-konjugat blank hariç her kuyucuğa eklendi. 60 saniye pipetle karıştırıldı ve yavaşça pleyt karışması için sallandı. Pleytin üzerine kapatıcı kağıt yapıştırıldı. Örneklerin ve standartların kaydedilmesi sağlandı. 37°C'de 40 dakika inkübe edildi.
6. Her kuyucuk aspire edildi. Elisa pleyt yıkayıcı ile (Biotek EL<sub>X</sub> 50) yıkama solüsyonu kullanılarak 5 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama solüsyonu mikropipet ile her kuyucuğa 200 µl konuldu. Her yıkama sonrası 10 saniye beklendi ve pleyt içindeki sıvı boşaltıldı. Son yıkama sonrası pleyt ters çevrildi ve kurutma kağıdı üzerine birkaç vurularak tüm sıvının boşaltılması sağlandı.
7. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi. 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Pleytin ışıktan korunması sağlandı.
8. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. Pleyte hafifçe vurularak karıştırıldı.

9. Elisa mikroyeyt okuyucu (Biotek ELx 808) kullanarak 10 dakika içinde 450 nm'de her kuyucuğun optikal dansitesi belirlendi.

### **3.5. Serum Leptin lümü**

Serum leptin konsantrasyonu, tavuk spesifik ELISA kiti Cusabio Biotech (Chicken Leptin (LEP) Elisa kit, Cat.No. CSB-E14082C) kullanılarak mikroyeyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) ile ölçüldü.

#### **Testin Prensibi**

Bu lüm kantitatif sandviç enzim immunoassay tekniği ile çalışmaktadır. Leptine spesifik antikor, mikroyeyt üzerine kaplanmıştır. Standart ve örnekler kuyucuklara eklenir. Var olan leptin, immobilize antikor tarafından bağlanır. Bağlanmayan maddeleri uzaklaştırdıktan sonra leptine spesifik biotin konjugatlı antikor ve yıkamadan sonra avidin konjugatlı HPR kuyucuklara eklenir. Yıkamayı takiben avidin enzim bağlanmamış ayıraçlar uzaklaştırılır, kuyucuklara substrat solüsyonu eklenir ve leptin miktarına göre renk değişimi oluşur. Renk oluşumu durdurulur ve renk koyuluğu ölçülür.

**Testin Doz Aralığı:** 0,312-20 ng/ml

#### **Testin Duyarlılığı**

Bu test için belirlenen minimum doz 0,078 ng/ml'den az bir değerdir. Testin duyarlılığı, sıfırdan farklı olmak üzere en düşük tavuk leptin konsantrasyonundan belirlenmiştir.

## Testte Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

Ayıraçlar	Miktarları
Standartlar	2 adet
Biotin Antikoru (100X Konsantreli)	1x120 µl
HPR-avidin (100X Konsantreli)	1x120 µl
Biotin Antikoru Dilüsyonu	1x10 ml
HPR-avidin Dilüsyonu	1x10 ml
Örnek Dilüsyonu	1x20 ml
Yıkama Solüsyonu (25X Konsantreli)	1x20 ml
TMB Substratı	1x10 ml
Stop Solüsyonu	1x10 ml

**Biotin antikoru (1X):** Flakonu açmadan önce santrifüj yapılarak biotin antikordan 100 kat dilüsyon elde edildi. 10 µl biotin antikoru + 990 biotin antikoru dilüsyonu ile 100 kat dilüsyon yapıldı.

**HPR-avidin (1X):** Açmadan önce santrifüj yapılarak HPR-avidinden 100 kat dilüsyon elde edildi. 10 µl HPR-avidin + 990 HPR-avidin dilüsyonu ile 100 kat dilüsyon yapıldı.

**Yıkama solüsyonu (1X):** Yıkama solüsyonunda şekillenen kristalleri çözmek için flakonun oda ısısına gelmesi sağlandı ve kristaller tamamen çözünene kadar yavaşça karıştırıldı. 20 ml yıkama solüsyonunu (1X) 500 ml oluncaya kadar distile su eklendi ve böylece 25 kat sulandırılmış oldu.

**Standart:** Standart flakonu 6000 - 10000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Standart, örnek dilüsyonundan 0,1 ml alınarak sulandırıldı. Bu sulandırma ile 20 ng/ml stok solüsyonu elde edildi. Tüm sulandırmadan emin olmak için karıştırıldı ve 15 dakika hafifçe sallama hareketleri yapılarak bekletildi.

Tüp	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
ng/ml	0	0,312	0,625	1,25	2,5	5	10	20

## Testin Prosedürü

1. Örnekler ve tüm ayıraçlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Pleytte kullanılacak olan kuyucuklar belirlenip boş pleyt kağıdına yazıldı.
3. Blank kuyucuğuna herhangi bir solüsyon konulmadı.
4. Her kuyucuğa 100 µl standart ve örnekler koyuldu. Üzeri kapatıcı kağıt ile kapatıldı. 37°C'de 2 saat inkübe edildi.
5. Her kuyucuktaki sıvı aspire edildi. Yıkama işlemi yapılmadı.
6. Her kuyucuğa 100 µl biotin antikoru (1X) eklendi ve kapatıcı kağıt ile kapatıldı.
7. 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Oda ısısında ılık bir şekilde tutuldu ve solüsyon tek renk olana kadar hafifçe karıştırıldı.
8. Tüm kuyucuklar aspire edildi. Elisa pleyt yıkayıcı ile (Biotek EL<sub>x</sub> 50) yıkama solüsyonu kullanılarak 3 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama solüsyonu mikropipet ile her kuyucuğa 200 µl konuldu. 10 saniye her yıkama sonrası beklendi ve pleyt içindeki sıvı boşaltıldı. Son yıkama sonrası pleyt ters çevrildi ve kurutma kağıdı üzerine birkaç vurularak tüm sıvının boşaltılması sağlandı.
9. Her kuyucuğa 100 µl HPR-avidin (1X) eklendi. Mikropleyt yeni bir kapatıcı kağıt ile kaplandı. 37°C'de 1 saat inkübe edildi.
10. Tüm kuyucuklar aspire edildi. 3 defa yıkama işlemi tekrarlandı. Yıkama solüsyonu her kuyucuğa 200 µl mikropipet ile konuldu. 10 saniye her yıkama sonrası beklendi ve pleyt içindeki sıvı boşaltıldı. Son yıkama sonrası pleyt ters çevrildi ve kurutma kağıdı üzerine birkaç vurularak tüm sıvının boşaltılması sağlandı.
11. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi. 37°C'de 15-30 dakika inkübe edildi. Işıktan korunması sağlandı.
12. Tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Hafifçe vurularak karışmasını sağlandı.
13. Elisa mikropleyt okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) kullanarak 10 dakika içinde 450 nm'de her kuyucuğun optikal dansitesi belirlendi.

### 3.6. Serum Kortizol Ölçümü

Serum kortizol konsantrasyonu, Elisa kiti Cayman Chemical (Cortisol, EIA Kit, Cat. No. 500360) kullanılarak mikroyok okuyucu (Biotek EL<sub>x</sub> 808) ile ölçüldü.

#### Testin Prensipleri

Bu ölçümün prensibi, sınırlı sayıda kortizole spesifik fare monoklonal antikoru bağlanma bölgelerine karşı kortizol ve kortizol asetilkolinesteraz konjugatı arasındaki yarışmaya dayanmaktadır. Bu konjugatın konsantrasyonu sabitken, kortizolün konsantrasyonu değişeceği için antikora bağlanan konjugatın miktarı, ortamdaki kortizol miktarı ile ters orantılıdır. Bu antikor kortizol kompleksi, kuyucuğa daha önce tutunmuş keçi poliklonal anti-mouse immunglobinine bağlanır. Pleyte bağlanmamış bileşiklerin uzaklaştırılması için yıkama işlemi yapılır ve sonra Ellman'nın ayırıcı (AChE içeren substrat) kuyucuklara eklenir. Bu enzimatik reaksiyonun ürünü, belirgin sarı renk alır ve 412 nm'de güçlü bir şekilde absorban verir. Rengin koyuluğu spektrofotometrik olarak ölçülebilir ve kuyucuklardaki kortizolün miktarı böylece belirlenmiş olur.

#### Testte Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

Ayıraçlar	Miktarları
Kortizol Monoklonal Antikoru	1flakon/100 örneklilik
Kortizol Kolinesteraz Konjugatı	1flakon/100 örneklilik
Kortizol Elisa Standartı	1flakon
Konsantre Elisa Solüsyonu (10X)	2 flakon/10 ml
Yıkama Konsantre Solüsyonu (400X)	1 flakon/5 ml
Polisorbat 20	1 flakon/3 ml
Ellman'nın Ayırıcı (Substrat)	3 flakon/100 örneklilik

**Elisa Solüsyonunun Hazırlanması:** Elisa solüsyonunun bir flakon olan içeriği 90 ml ultra saf su ile sulandırıldı. Çöküp kalmış herhangi bir tuz kalmadığından emin olana kadar çalkalandı.

**Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması:** 5 ml yıkama solüsyonu konsantrasyonu 400 kat olarak bulunmaktadır. 1 ml viskoz bir çözelti olan polisorbat, 2 litre ultra saf suyla sulandırıldı. Böylece yıkama solüsyonu hazırlanmış oldu.

**Standartların Hazırlanması:** 8 adet temiz mikrotüp hazırlandı ve 1-8'e kadar numaralar verildi. 900 µl elisa solüsyonu tüp 1'e, 600 µl elisa solüsyonu 2-8 tüplerine eklendi. Tüp1'e 100 µl stok standarttan transfer edildi ve karıştırıldı. Bu standardın konsantrasyonu standart eğrisinin ilk noktasıdır ve konsantrasyonu 4 ng/ml olmaktadır. Seri olarak 1. tüpten 400 µl alınıp 2. tüpe aktarıldı ve karıştırıldı. Daha sonra 400 µl 2.'den alınıp 3. tüpe aktarıldı ve bu işlem 8. tüpe kadar tekrarlandı.

Tüp	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>
pg/ml	4000	1600	640	256	102,4	41	16,4	6,6

**Kortizol AChE Konjugatının Hazırlanması:** Kortizol AChE konjugatı, 6 ml elisa solüsyonu ile sulandırıldı.

**Ellman'nın Ayıracı (Substrat):** 100 örneklik flakon Ellman'nın ayıracı, 20 ml ultra saf su ile sulandırıldı.

### **Testin Prosedürü**

#### **Elisa Solüsyonu**

Non-spesifik bağlanma (NSB) kuyucuklarına 100 µl elisa solüsyonu ve maksimum bağlanma kuyucuğuna (B<sub>0</sub>) 50 µl elisa solüsyonu eklendi.

## Kortizol Elisa Standartları

8. standart tüpünden yani en düşük standart olan S<sub>8</sub>'e 50 µl ve diğer standart tüplerine de standartların ayarlandığı şekilde eklendi.

## Örnekler

Her kuyucuğa 50 µl örnek koyuldu.

## Kortizol AChE Konjugatı

Total Aktivite (TA) ve Blank (B) kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 50 µl kortizol AChE konjugatı eklendi.

## Kortizol Elisa Monoklonal Antikoru

Total aktivite, blank ve non-spesifik bağlanma (NSB) kuyucukları hariç, tüm kuyucuklara 50 µl kortizol monoklonal antikoru eklendi.

Kuyucuk	Elisa Solüsyonu	Standart/Örnek	Konjugat	Antikor
Blank	-	-	-	-
Total Aktivite	-	-	5 µl	-
Non-Spe. Bağlanma	100 µl	-	50 µl	-
B <sub>0</sub>	50 µl	-	50 µl	50 µl
Standartlar/Örnekler	-	50 µl	50 µl	50 µl

## Pleytin İnkübasyonu

Pleytin üzeri plastik film ile kaplandı. Gece boyunca 4°C’de inkübe edildi.

### **Yıkama İşlemi ve Substrat Eklenmesi**

Kuyucuklara, ertesi gün hazırlanan yıkama solüsyonu kullanılarak 5 defa yıkama işlemi uygulandı. Tüm kuyucuklara 200 µl Ellmanın ayıracağı eklendi. TA kuyucuğuna 5 µl konjugat eklendi. Pleyt tekrar plastik filmle kaplandı ve oda ısısında karıştırıcı (Heidolph Vibramax100) kullanılarak karanlık ortamda 90 dakika inkübe edildi.

### **Pleyt Okuma**

Elisa mikropleyt okuyucu (Biotek ELx 808) kullanarak 10 dakika içinde 420 nm’de her kuyucuğun optikal dansitesi belirlendi.

## **4. Etin Lipid Oksidasyon Düzeyinin Belirlenmesi [(Tiyobarbitürik asit Analizi (TBA Analizi)]**

### **Testin Prensipli**

Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu meydana gelen malondialdehitin, tiyobarbitürik asit ile ısıtılması sonucu kırmızı rengin meydana gelmesidir.

### **Örnek Hazırlanması ve Testin Prosedürü**

Homojenize edilmiş, gruplara göre ayrılmış tavuk göğüs etlerinden 10 g alınarak 100 ml’lik behere konuldu ve üzerine 50 ml distile su ilave edilerek 2 dakika masere edildi. Bu karışım kjeldahl balonuna aktarıldı. Beher 47,5 ml distile su ile yıkanarak yıkama suları balona ilave edildi. Balona yaklaşık 2,5 ml HCl çözeltisi ilave edilerek pH 1,5’e ayarlandı. Kjeldahl balonuna birkaç adet cam boncuk ve biraz da köpük kesici ilave edilerek destilasyon işlemine geçildi. Kaynama başladığı andan itibaren 10 dakika içerisinde 50 ml destilat elde



edilecek şekilde ısıtılarak işleme devam edildi. 10 dakikanın sonunda destilat karıştırıldı. 5 ml'lik distilat, 50 ml'lik cam kapaklı deney tüpüne konuldu. Bunun üzerine 5 ml tiyobarbitürikasit çözeltisi ilave edilerek tüpün kapağı kapatıldı ve karıştırma işlemi yapıldı. Blank için başka bir deney tüpüne 5 ml distile su ve 5 ml tiyobarbitürikasit çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı. Her iki tüp kaynayan su banyosunda 35 dakika tutuldu ve sonra tüplerin soğutulması sağlandı. Spektrofotometrede 538 nm dalga boyunda blanke karşı optik dansitesi okundu.

### **5. Histolojik Örneklerin Hazırlanması (Crossman Üçlü Boyama Tekniği)**

Histolojik incelemeler için kontrol ve deney gruplarına ait duodenum bölgesinin ve musculus pectoralis ve femoralis dokularının örnekleri her gruptan 10'ar adet olacak şekilde alındı. Crossman üçlü boyama ve Sudan Black B yöntemleri kullanılarak histolojik preparatlar hazırlandı. Duodenumun tunika mukoza katmanındaki villus uzunluğu, kript derinliği, kadeh hücre sayılarının histomorfometrik analizleri yapıldı.

#### **Tespit ve Üçlü Boyama Tekniğinde Kullanılan Solüsyonlar**

##### **Bouin Tespit Solüsyonunun Hazırlanışı**

Doymuş Pikrik Asit.....75 ml  
Nötr Formol.....25 ml  
Asetik Asit..... 5 ml

##### **Crossman'ın Üçlü Boyama Tekniği Solüsyonlarının Hazırlanışı**

##### **Weigert Hematoxylin Solüsyonu**

###### **Solusyon A**

Hematoxylin ( Crist).....1 gr  
% 95 alkol.....100 ml

###### **Solüsyon B**

Distile su.....99 ml  
Demir-3-Klorür.....1 gr (sıvı ile 4 ml)  
HCL .....1 ml

Solüsyonlar hazırlandıktan sonra erimeleri için bir gece bekletildi. A ve B solüsyonları eşit miktarda hazırlanıp karıştırıldı.

#### **Metil Alkol (Metil Karbonat) Solüsyonu**

Distile su.....125 ml  
Metil alkol (Metanol).....125 ml  
Sodyum karbonat.....0,5 gr (Kendiliğinden erimesi için bir gece bekletildi.)

#### **Asit Fuksin Orange G Solüsyonu**

Asit fuksin.....1,4 gr  
Orange G.....0,6 gr  
Distile su.....400 ml  
Tymol.....0,26 gr  
Asetik asit.....4 ml

#### **Fosfotungistik Asit Solüsyonu**

Fosfotungistik Asit.....3 gr  
Distile su.....100 ml

#### **Asetik Asit Solüsyonu**

Asetik Asit.....2 ml  
Distile su.....100 ml

#### **Anilin-Blue Solüsyonu**

Anilin-Blue.....2 gr  
Distile su.....100 ml

Asetik asit.....2 ml

### **Doku Takibi**

Kontrol ve deney gruplarına ait dokular alınarak, numune bilgilerinin yazıldığı, kasetlere yerleştirildi ve önceden hazırlanan Bouin tespit solüsyonu içine konularak 24 saat bekletildi. Tespit olan dokular 1 gece akarsu altında yıkamaya bırakıldı. Sırasıyla; % 70, % 80, % 96, absollu I, absollu II ve xylol solüsyonlarının her birinde birer saat bekletilerek xylol II'de 1 gece bektetildi.

Sıcaklığı 58°C'ye ayarlanan vakumlu etüv içerisinde erimesi için xylol-parafin, yumuşak parafin, parafin I ve parafin II kavanozları yerleştirildi. En son xylolde bekleyen dokular sırasıyla vakumlu etüv içindeki xylol-parafin, yumuşak parafin, parafin I kavanozlarına konuldu ve birer saat bekletildi. Parafin I ve II'de 1 saat vakum yapıldı. Blokaj için; blokaj kapları hazırlanarak, kaplar üzerine numune bilgileri yazıldı. Metal kaba parafin tankından biraz parafin dökülüp, dokular yerleştirilerek üzeri parafin ile doldurulup +4°C'ye kaldırıldı.

Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2135) ile 5-6 µm kalınlıkta kesitler alındı. Kesitler grup bilgilerinin yazıldığı lamlara çekilerek, boyanmadan önce kurumaya bırakıldı.

### **Crossman'ın Üçlü Boyama Prosedürü**

Boyama için hazırlanan lamlar köprü içerisine yerleştirildi.

1. Köprü içerisindeki lamlar deparafinizasyon işlemi için önce xylol I'e (10 dakika) ve daha sonra xylol II'ye (10 dakika) alındı.

2. Dehidrasyon işlemi için sırasıyla;

-absollu alkol I (3 dakika) ve

-absollu alkol II'ye geçirilip (3 dakika).

-% 96'lık alkol (3 dakika)

-% 80'lik alkol (3 dakika) ve

- % 70'lik alkol (3 dakika) solüsyonlarından geçirildi.
3. Distile suda çalkalamaya alındı (2x3 dakika).
  4. Kesitler sonrasında çekirdek boyaması için Weiger Hematoxylin solüsyonunda bekletildi (8 dakika).
  5. Kesitler akarsuda yıkamaya alındı (5 dakika).
  6. Metil alkolde 1 dakika bekletildi.
  7. Tekrar kesitler akarsuda yıkamaya alındı (5 dakika).
  8. Sonra distile suda yıkama yapıldı (2x3 dakika).
  9. Sitoplazma boyası için kesitler 5 saniye daldırıp çıkarılarak Asit Fuksin içine alındı.
  10. Tekrar distile suda yıkama işlemi yapıldı (2x3 dakika).
  11. Daha sonra kesitler fosfotungstik asit içine alındılar (15 dakika). Ancak pembe rengin kontrolü için mikroskop altında kesitler incelendi.
  12. Tekrar distile suda yıkama yapıldı (2x3 dakika).
  13. Kesitler daha sonra bağ doku boyaması için Anilin-Blue solüsyonuna alındı (2 dakika).
  14. Tekrar distile suda yıkama yapıldı (2x3 dakika).
  15. Sonra asetik asit içine alındı (1 dakika).
  16. Distile suda yıkama yapıldı (2x3 dakika).
  17. Yıkama işleminden sonra kesitler
    - % 96'lık alkol I (3 dakika)
    - % 96'lık alkol II'den (3 dakika) geçirilip
    - absollü alkol I (3 dakika) ve
    - absollü alkol II'ye alındı (3 dakika).
  18. Kesitler daha sonra
    - xylol I (5 dakika)
    - xylol II (10 dakika)
    - xylol III'den (15 dakika) geçirildi.
  19. Kesitler üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

## **6. Tere Tohumunun HPLC Analizi**

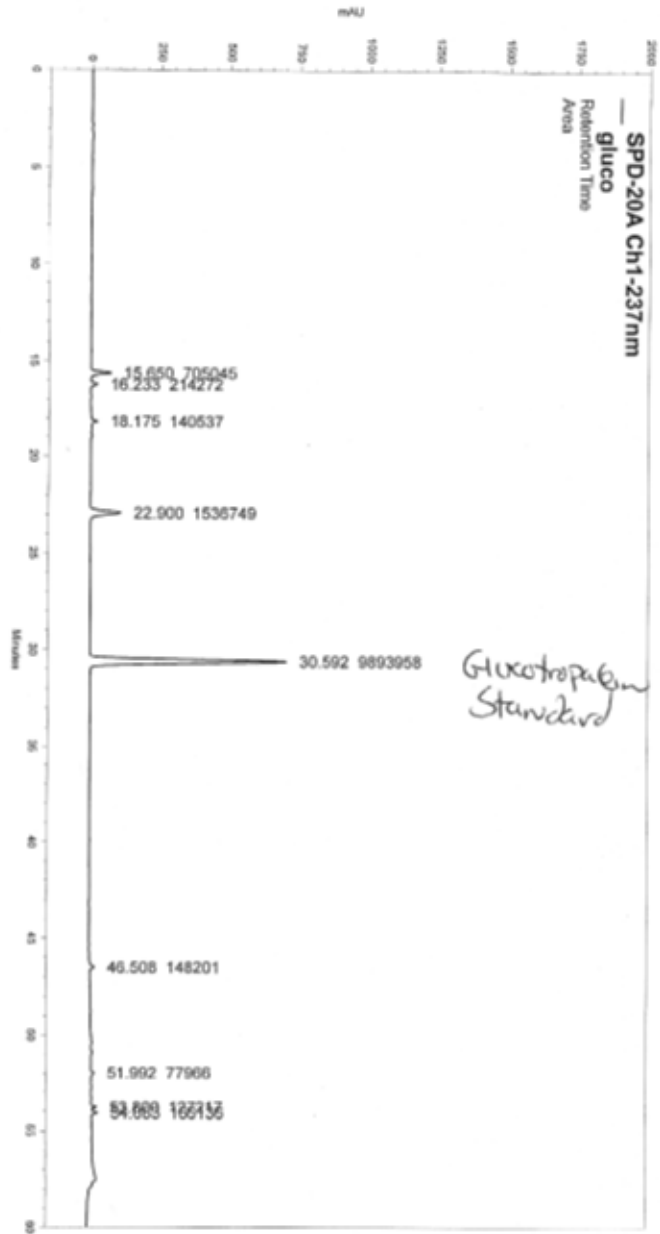
Tere tohumunun HPLC analizi sonucu Şekil-5’de gösterilmiştir.

### **Örnek Hazırlama**

Tohumlar, kahve değirmeni kullanılarak toz haline getirildi. Ağırlığı ölçülen örnekler filtre kağıdına konuldu ve hekzan kullanılarak Soxhlett ekstraktöründe gece boyunca tohum yağının çıkarılması sağlandı. Kabinde kurutulduktan sonra, hekzan ekstraktlarının ağırlık farkları belirlendi.

### **Örnek Ekstraksiyonu**

HPLC analizi için yaklaşık 0,25-0,5 g arasındaki örnek, kapaklı flakonda 2-5 ml metanol içine konuldu. Flakonlar, 15 dakika ultrasonik su banyosunda sonikasyonda tutulduktan sonra bir gece beklemeye bırakıldı. Kısa bir sonikasyondan sonra ekstrakt 0,45 mikron filtreli oto sampler viyolden geçirilerek filtre edildi.



Şekil-5 Tere tohumunun HPLC Analizi Sonucu

## **HPLC Analizi ve Kantitasyonu**

Glukosinolat kantitasyonu için, metodu 1994 yılında Betz and Fox tarafından geliştirilen yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı (HPLC) kullanıldı. Ekstrakt, Shimadzu (Columbia, MD) HPLC sistem (iki pompalı; SIL 20A otoenjektörlü; DGU 20As degazerli; SPD-20A UV-VIS detektörlü ve CBM-20A iletişim BUS modüllü) Shimadzu LC solüsyonları 1.25 versiyonu yazılım programı kullanılarak yürütüldü. Ayırma işlemi için kolon olarak C18 inertsil ters faz kolon (250 mm x 4,6 mm; RP C-18, ODS-3,5 u; metaguard guard kolon; Varian, Torrance, CA) kullanıldı. Glukosinolatlar, 237 nm’de monitöre edilip belirlendi (115).

Tetrabutilamonyum bisülfatın (TBAB) konsantre solüsyonunu hazırlamak için 42,43 g TBAB alınarak 250 ml su içerisinde çözdürüldü. HPLC sıvı mobil faz konsantre solüsyonundan 10 ml alınıp 990 ml suda dilüe edilerek 0,005 M sıvı mobil faz solüsyonu hazırlandı.

Analiz için ilk mobil faz kondisyonu % 12 metanol ve % 88 0,005 M’lık TBAB akış hızı dakikada 1 ml olacak şekilde eklendi. Enjeksiyondan sonra 15 µl örnek, ilk durumda 2 dakika sonra % 35 metanolde 20 dakika, % 50 metanolde 20 dakika son olarak % 100 metanolde 10 dakika bekletildi.

### **Glukosinolatların Standart Analizi**

Sinigrin (sigma) ve sinalbin (chromadex) standartlarının molar konsantrasyonları taze olarak hazırlandı. Standartların seri dilüsyonları standart eğri ve en düşük limiti belirlemek için hazırlandı. Alkil glukosinolatların konsantrasyonu nmol enjeksiyonundan belirlenen sinigrin standart eğrisinden hesaplandı. Kuru madde ağırlığı mg/g birimine çevrildi.

Benzil glukosinolatların konsantrasyonu ise nmol enjeksiyonundan belirlenen sinalbin standart eğrisinden hesaplandı ve aynı şekilde kuru madde ağırlığı mg/g birimine çevrildi. Örnekler içindeki glukosinolat konsantrasyonu belirlenerek hesaplama yapıldı.

## **Glukosinolatların LC-ESI-MS Analizi**

Örnekler, Thermo Electron LTQ Orbitrap Discovery Kütle Spektrometrede, lineer iyon ayırıcı (LTQ XL) MS yüksek hassasiyetli elektostatik iyon ayırıcı, MS yüksek enerjili hücre eklentili ayırıcı (HCD) iyon elektro spray iyonizasyonu (ESI); a Thermo Scientific ACCELA serisi HPLC sistemi (ACCELA 1250 UHPLC pompalı; ACCELA1 HTC soğuk enjektörlü ve ACCELA 80 Hz PDA detektörü) kullanıldı. Tüm yürütme, Thermo Scientific Xcalibur 2.1.0.1140 LC-MS yazılım programı ile yapıldı.

HPLC şartları; Kolonlar 3 mm x 150 mm inertsil terz faz C-18, ODS 3, 3µ kolon (metachem, Torrance, CA) olarak belirlendi. Fenolik analizler için ilk çözücü sistem % 20 metanol % 0,1'lik formik asitle hazırlandı ve dakikada 0,25 ml akış hızı olacak şekilde ayarlandı. Enjeksiyon sonrası kolon ilk kondisyonda 2 dakika tutuldu ve % 100 metanol ve % 0,1'lik formik asit eklendi. Kolon akışı PDA detektörü tarafından 237, 280 ve 340 nm demonitörize edildi.

MS negatif modta ESI probu ile yürütüldü. Başlangıç ısı 300 °C, kaplama gaz hızı isteğe bağlı olarak 50 ünite yedek gaz hızı 5 ünite ve tarama gaz hızı 2 ünite olarak ayarlandı. Maximum kütle çözünme 30.000'e, sprey voltajı 3,0 kV'a ve tüp lensi -100 V'a ayarlandı. MS en az haftada bir Thermo Scientific firmasının tavsiye ettiği şekilde kalibre edildi. Diğer parametreler ve kalibrasyonlar ayarlandı. Yazılım paketi 100-2000 arasında kütle toplama bilgileri ayarlandı. En belirgin örnek iyonları bu şartların altında olacak şekilde oluşturuldu. HPLC için belirleme limiti 5 ng/µl, LC-MS için belirleme limiti 0,1 ng/µl'dir.

## **7. İstatistiksel Analizler**

Tezde elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamalarının yapılması için SPSS 20.0 istatistik programı kullanıldı. Canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancı, yemden yararlanma, TBA analizi parametreleri için Kruskal Wallis Testi kullanılarak aritmetik ortalamalar ve standart hatalar hesaplandı. Glukoz, büyüme hormonu, leptin, adiponektin, kortizol ve östrojen kan parametrelerinin analizi için Mann-Whitney U Testi, karkas parametreleri ve histolojik parametrelerin hesaplanmasında One-Way Anova Tukey HSD Testi kullanıldı. Hesaplanan tüm veriler için  $p < 0,05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## BULGULAR

### 1. Performans Parametreleri

Tere tohumunun farklı oranlarıyla beslenen etçi tavukların performans parametreleri (canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları) Tablo-5 ve Şekil-12-14'te sunulmuştur.

#### 1.1. Canlı Ağırlıklar

Canlı ağırlıklar incelendiğinde (Tablo-5) ; 1. haftada istatistiksel olarak herhangi bir önem bulunmazken 2. haftada erkek hayvanlarda kontrol grubuyla grup 1 ve 3 arasında; 3. haftada erkek hayvanlarda grup 1 ile grup 3 arasında; 4. haftada erkek hayvanlarda kontrol grubuyla grup 1 ve grup 3 arasında ve 6. haftada erkek hayvanlarda kontrol grubuyla grup 1 ve grup 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Ayrıca bütün grup ve cinsiyetlerdeki canlı ağırlıklar 2. haftaya kadar birbirleriyle benzerlik göstermiştir. Erkek kontrol grubu, 5. haftadaki erkek grup 2 hariç, diğer gruplara göre daha ağır olduğu belirlenmiştir. Tüm erkek hayvan ağırlıkları birbiriyle benzerlik göstermekle birlikte 5. haftadaki tüm gruplardaki dişi piliçlerden canlı ağırlıkları daha fazla olduğu görülmüştür. Dişi piliç canlı ağırlıkları erkeklere göre daha düşük ve erkek grup 2'nin 6. haftadaki canlı ağırlıkları hariç, erkek grupların canlı ağırlıkları daha fazla bulunmuştur. Grup içerisinde erkek hayvanların canlı ağırlıkları dişilere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. 3. ve 4. haftalardaki dişi gruplarda herhangi bir fark görülmemiştir.

#### 1.2. Canlı Ağırlık Kazancı

Canlı ağırlık kazancı incelendiğinde (Tablo-5 ve Şekil-12); 1., 3., 4. ve 5. haftalarda istatistiksel olarak herhangi bir önem görülmezken, 2. haftada erkek hayvanlarda kontrol grubuyla grup 1, 2 ve 3 arasında; dişi hayvanlarda ise kontrol grubu ile grup 1; grup 1 ile 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. 6. haftada erkek hayvanlarda kontrol grubuyla grup 3; grup 1 ile 2 ve grup 2 ile 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Dişi hayvanlarda ise kontrol grubu ile grup 3; grup 1 ile 2 ve grup 2 ile 3 arasında  $p<0,05$

düzeyinde önem bulunmuştur. Ayrıca 1., 3. ve 4. haftalarda gruplar ve cinsiyetler arasında herhangi bir önem görülmemiştir. 1. ve 2. gruplar hariç 2. haftadaki erkek hayvanlar dişilere göre daha fazla canlı ağırlık kazanmışlardır. Kontrol erkek grubu diğer gruplara göre daha çok canlı ağırlık kazancı sağlarken, 2. haftadaki dişi grup 2 hariç, dişi grup 1’de diğer gruplara göre daha fazla canlı ağırlık kazancı elde edilmiştir.

5. haftada grup 2 hariç diğer gruplardaki erkek piliçler, daha fazla canlı ağırlık artışı kazanmıştır. Ayrıca 5. haftada erkek ve dişi gruplar kendi aralarında ağırlık artışı bakımından benzerlik göstermiştir. Buna benzer olarak kontrol ve grup 3’te erkek hayvanların canlı ağırlık kazancı dişilere göre daha fazla olmuştur. 6. haftada ise grup 2 ve 3’teki erkek ve dişi hayvanların canlı ağırlıkları benzerlik göstermiştir. Genel olarak grup 3 hariç aynı gruptaki, erkek hayvanlar dişilere göre daha fazla canlı ağırlık kazanmıştır. Tüm gruplardaki dişi hayvanlarda canlı ağırlık kazancı açısından bir fark görülmemiştir. Bunun yanında erkek hayvanlarda birbirleri arasında benzer canlı ağırlık kazançlarına sahip olduğu görülmüştür.

### **1.3. Yem Tüketimi**

Yem tüketimi açısından (Tablo-5 ve Şekil-13) erkek ve dişi grupları kendi aralarında istatistiksel olarak herhangi bir önem bulunmamıştır. 5. hafta ve genel ortalamalar hariç gruplar ve cinsiyetler arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Aynı gruptaki dişi ve erkek hayvanlar benzer miktarlarda yem tüketmiştir. Sadece 5. haftada dişi kontrol ve dişi grup 1’e göre erkek grup 2’nin daha fazla yem tüketimi olduğu görülmüştür. Genel ortalama yem tüketimine bakıldığında grup 2 ve 3’teki erkek piliçlerin yem tüketiminin dişilere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Kontrol ve grup 1’in dişi ve erkek piliçlerinde yem tüketimi benzer değerlerde olmakla beraber erkek grup 2’de en yüksek yem tüketimi elde edilmiştir. Tüm dişi gruplar arasında yem tüketimi açısından önemli bir fark görülmemiştir. Bunun yanında erkek grup 2 hariç diğer erkek gruplar arasında benzer değerler bulunmuştur.

### **1.4. Yemden Yararlanma Oranı**

Yemden yararlanma oranı (Tablo-5 ve Şekil-14) erkek hayvanlarda kontrol grubu ile grup 3; grup 1 ile 3 ve grup 2 ile 3 arasında; dişi hayvanlarda ise kontrol grubu ile grup 2 ve 3; grup 1 ile 2 ve grup 2 ile 3 arasında  $p < 0,05$  düzeyinde önem göstermiştir. Ayrıca tüm grup ve cinsiyetlerde 6. hafta hariç, yemden yararlanma oranı bakımından fark görülmemiştir. 6.

haftada erkek kontrol ve grup 1’de dişilere göre daha iyi yemden yararlanma oranları bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Grup 3 hariç, erkeklerde benzer yemden yararlanma oranları elde edilmiştir ve erkek grup 3, en az yemden yararlanma oranına sahip olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Dişi grup 2 piliçlerde daha iyi yemden yararlanma oranları hesaplanmış ve diğer dişi gruplarda herhangi bir fark olmamıştır.

## 2. Biyokimyasal Parametreler

Tere tohumunun farklı oranlarıyla beslenen etçi tavukların serum parametreleri (adiponektin, büyüme hormonu, glukoz, kortizol, leptin ve östrojen) Tablo-6 ve Şekil-6-11’de sunulmuştur.

Deneme boyunca serum adiponektin konsantrasyonlarına bakıldığı zaman (Şekil-6 ve Tablo-6) 1. ve 42. günde alınan örneklerde gruplar arasında herhangi bir önem bulunmaz iken, 21. günde erkek hayvanlarda grup 3 ile kontrol ve grup 1 arasında  $p<0,05$  düzeyinde; dişi hayvanlarda ise kontrol ve grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur.

Serum büyüme hormonu konsantrasyonları incelendiğinde (Şekil-7 ve Tablo-6) 1. gün serum örneklerinde gruplar arasında herhangi bir önem bulunmaz iken, 21. günde dişilerde grup 2 ile kontrol, grup 1 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Ayrıca 42. günde alınan örneklerde ve erkek hayvanlarda kontrol ile grup 1, 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Dişi hayvanlarda grup 1 ile kontrol ve grup 2 arasında; grup 2 ile kontrol, grup 1 ve 3 arasında ve grup 3 ile kontrol ve grup 2 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Serum glukoz konsantrasyonları (Şekil-8 ve Tablo-6) çalışmanın 1. gün alınan örneklerinde istatistiksel olarak herhangi bir önem göstermez iken, 21. gün alınan örnekler ve erkek hayvanlarda kontrol ile grup 1 arasında; grup 1 ve 2 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Dişi hayvanlarda ise grup 1 ile kontrol, grup 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. 42. günde alınan örnekler ve erkek hayvanlarda serum glukoz konsantrasyonları kontrol ile grup 1, 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde; dişi hayvanlarda ise kontrol ile grup 1, 2 ve 3 arasında; grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında; grup 2 ve 3 ile kontrol ve grup 1 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Serum kortizol konsantrasyonları (Şekil-9 ve Tablo-6) 1 ve 21. gün gruplar arasında istatistiki öneme sahip bir farklılık göstermemiştir. Fakat 42. gün ve erkek hayvanlarda grup 2 ile 3 arasında ve dişi

hayvanlarda grup 2 ile 3 arasında  $p<0.05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Serum leptin konsantrasyonları (Şekil-10 ve Tablo-6) incelendiği zaman 1. gün gruplar arasında istatistiki önem bulunmaz iken, 21. gün alınan numunelerde ve erkek hayvanlarda kontrol ve grup 3 ile grup 1 ve 2 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Ayrıca dişi hayvanlarda kontrol ile grup 1; 42. günde erkek hayvanlarda grup 1 ve 2 ile kontrol ve grup 3 arasında; dişilerde ise grup 1 ve kontrol ile grup 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. Serum östrojen konsantrasyonlarına bakıldığında (Şekil-11 ve Tablo-6) 1. gün gruplar arasında istatistiki önem bulunmaz iken 21. gün alınan numunelerde grup 1 ile kontrol, grup 2 ve 3 arasında; 42. gün alınan numunelerde ise kontrol ve grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur.

### **3. Karkas Parametreleri**

Tere tohumunun farklı oranlarıyla beslenen etçi tavukların karkas parametreleri (kesim öncesi ağırlıkları, karkas ağırlıkları ve karkas verimi) Tablo 7’de sunulmuştur. Kesim öncesi canlı ağırlıklar ve karkas ağırlıkları gruplarda cinsiyete bağlı olarak değişiklik göstermiştir ( $p<0,05$ ). Kesim öncesi canlı ağırlıklar ve karkas ağırlıkları tüm gruplardaki erkeklerde dişilere göre daha fazla olmuştur ( $p<0,05$ ). Buna ek olarak erkek ve dişi grup içinde kendi aralarında ve karkas verimi açısından cinsiyet ve gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir.

### **4. Göğüs Etinde MDA Düzeyi (TBA Analizi)**

Tere tohumunun farklı oranlarıyla beslenen etçi tavukların MDA düzeyleri Tablo 8 ve Şekil-15’te gösterilmiştir. Çalışmada çiğ göğüs etinin buzdolabında muhafaza edilip 1., 7. ve 15. günlerdeki diyetere tere tohumu katılmasının MDA düzeyleri üzerine etkisi incelenmiş ve 1., 7. ve 15. günlerdeki MDA oluşumu ile ölçülen lipid oksidasyon düzeyleri kontrol ve gruplar arasındaki farklar ( $p<0,05$ ) belirlenmiştir. Bu çalışmada en düşük MDA düzeyi yüksek dozda tere tohumu içeren grup 2 ve 3’te görülmüştür. Ayrıca 1. gün MDA düzeyleri erkek hayvanlarda kontrol grubu ile grup 1, 2 ve 3 arasında; grup 1 ile kontrol ve grup 3 arasında; dişi hayvanlarda ise kontrol ve grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında; grup 2 ile 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur. 7. gün MDA düzeyleri incelendiği zaman erkek hayvanlarda kontrol ile grup 2 ve 3 arasında ve dişi hayvanlarda kontrol ile grup 3 arasında  $p<0,05$

düzeyinde önem bulunmuştur. 15. günde ise MDA düzeyleri erkek hayvanlarda kontrol ve grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında; dişi hayvanlarda kontrol ve grup 1 ile grup 2 ve 3 arasında  $p<0,05$  düzeyinde önem bulunmuştur.

## **5. Histolojik Bulgular**

Yapılan histolojik incelemeler sonucunda, villus uzunluğu, kadeh hücre sayısı, kript derinliği histometrik analizlerle belirlenerek, Tablo-9-10'da ve Resim-1-11'de gösterilmiştir.

### **5.1. Duodenuma Ait Histolojik ve Histometrik Bulgular**

Araştırmanın 21. ve 42. günlerinde kontrol ve deney gruplarından alınan duodenum bölgesine ait preparatlarda yapılan histolojik değerlendirmelerde özellikle Tunika mukoza katmanındaki değişikliklerin belirgin olduğu saptanmıştır. Histomorfometrik değerlendirmeler sonucunda aynı gruptaki dişi ve erkek hayvanlar arasında farklılık görülmemiştir. Bundan dolayı erkek dişi ayırımı yapılmadan kontrol ve deney grupları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol ve deney gruplarında lamina epiteliyalisi oluşturan çizgili kenarlı, asidofilik sitoplazmalı epitel hücreleri incelendiğinde özellikle deney guplarında hücre sınırlarının oldukça belirgin, yüksek prizmatik olduğu gözlenirken (Resim-1-3) kontrol grubuna ait epitel hücreleri oldukça düzensiz biçimli olup kalın bir katman halinde, hatta yalancı çok katlı prizmatik epitel görünümünde olduğu saptanmıştır (Resim-4). Deney grupları arasında ise lamina epiteliyaliste belirgin bir değişiklik olmadığı görülmüştür. 21. ile 42. günlerde kontrol ile deney gruplarında aynı bulgular gözlenmiştir.

Lamina epiteliyalisi oluşturan epitel hücrelerinin aralarında bulunan kadeh hücreleri deney gruplarında kontrole oranla hem 21. hem de 42. günlerde daha çok sayıda olduğu görülmüştür (Resim-5,6) (Tablo-9,10 ). Değerlendirmeler sonucunda kontrol gruplarına göre deney gruplarına ait kadeh hücre sayıları istatistiki yönden önem gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Kontrol ve deney gruplarına ait villus intestinalis uzunlukları karşılaştırıldığında özellikle deney gruplarında daha uzun ve ince, kontrol grubunda ise daha kısa, fakat kalın olduğu

saptanmıştır. Villus uzunluğu 21 günlüklerde kontrol ve grup 1 arasında  $p<0,05$  düzeyinde, grup 2 ve 3 ile  $p<0,001$  düzeyinde istatistiki bir önem saptanmıştır. 42 günlük kontrol ile grup 1 arasında istatistiki bir önem bulunmazken, kontrol grubu ile grup 2 ve 3 arasında istatistiki önem saptanmıştır ( $p<0,001$ ).

Kontrol ve deney gruplarına ait kriptlerinin derinliği, 21. günde istatistiki yönden değerlendirildiğinde kontrol grubu ile grup 1 arasında önem görülmezken, kontrol grubu ile grup 2 arasında  $p<0,05$  ve  $p<0,01$  düzeylerinde; grup 3 ile kontrol grubu arasında  $p<0,001$  düzeyinde istatistiki önem bulunmuştur (Tablo-9).

Lamina epitelyalisin altında yer alan lamina propria katmanı özellikle kriptler, bağ doku iplikleri ve serbest hücreler (lenfositler, plazma hücreleri, nötrofil granulositler ile makrofajlar) içeren sıkı bağdokusu yapısındadır. Bu bağ doku incelediğinde özellikle kontrol grubu preparatlarında lenfosit infiltrasyonları oldukça dikkat çekici bulunmuştur (Resim-7).

Mukozanın diğer alt katmanları kontrol ve deney grupları arasında benzerlik göstermektedir. Tunika muskularis, Tunika seroza deney ve kontrol grupları arasında belirgin bir farklılık göstermemiştir.

## **5.2. Musculus Femoralis ve Musculus Pectoralis'e ait Histolojik Bulgular**

Araştırmanın 21. ve 42. günlerinde kontrol ve deney gruplarından alınan Musculus femoralis ve Musculus pectoralis'den üçlü boyama tekniği ile hazırlanan enine kesitler incelendiğinde kontrol ve deney grupları arasında, hatta aynı gruptaki dişi ve erkek hayvanlar arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Musculus femoralis ve Musculus pectoralis'den üçlü boyama tekniği ile hazırlanan enine kesitlerin incelenmesiyle, kas tellerinin değişik sayılarda bir araya gelerek primer demetleri oluşturdukları endomizyumun oldukça dar bir alanda yer aldığı, perimizyumun ise daha geniş ve gevşek bağ dokusu yapısında olduğu saptandı. Musculus femoralis'in, Musculus pectoralis'e oranla daha geniş endomizyum ve perimizyuma, ayrıca daha fazla kan damarlarına sahip olduğu da görülmüştür (Resim-8, 9).

Sudan Black-B boyama tekniği ile hazırlanan preparatlarda kas hücreleri, endomizyum ve perimizyum lipid varlığı yönünden incelenmiştir. Her iki kas grubunda değişik oranlarda lipidden zengin, orta derecede lipid içeren ve lipidden fakir kas telleri saptanmıştır.

Musculus pectoralis'i oluşturan kas telleri lipid içeriği yönünden değerlendirildiğinde lipidden zengin hücrelerin az sayıda ve küçük çaplı olduğu bunun yanında lipidden fakir kas tellerinin ise daha çok sayıda ve büyük çaplı olduğu saptanmıştır. Endomizyum lipid yönünden fakir bulunurken, perimizyumda yağ hücrelerinin gruplar oluşturduğu görülmüştür.

Musculus femoralis lipidden zengin kas teli miktarı Musculus pectoralis'e oranla oldukça fazla olup orta derecede lipid içeren ve lipidden fakir kas telleri de saptanmıştır. Endomizyumda lipid, damlacıklar tarzında görülürken, perimizyumda yağ hücreleri kitle halinde görülmüştür. Musculus femoralis ile Musculus pectoralis lipid içeriği yönünden karşılaştırıldığında Musculus femoralis belirgin şekilde lipidden daha zengin bulunmuştur (Resim-10,11).



**Tablo-5** Tere Tohumunun Farklı Oranlarıyla Beslenen Etçi Tavukların Performans Parametreleri (n=78)

Gruplar	Haftalar						
		Ortalama± SH					
Canlı Ağırlıklar (g/d)	Cinsiyet	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	5. Hafta	6. Hafta
Kontrol	E	149,21 ± 2,05	437,37 ± 5,04 <sup>a</sup>	870,99 ± 10,24 <sup>ae</sup>	1569,39 ± 15,87 <sup>a</sup>	2284,54 ± 19,13 <sup>a</sup>	2879,82 ± 23,04 <sup>a</sup>
	D	142,85 ± 2,29	399,99 ± 6,17 <sup>b</sup>	764,96 ± 9,67 <sup>bf</sup>	1345,63 ± 13,06 <sup>b</sup>	1935,91 ± 16,26 <sup>b</sup>	2386,59 ± 20,88 <sup>b</sup>
Grup 1	E	140,97 ± 1,94	406,18 ± 6,59 <sup>b</sup>	831,51 ± 12,55 <sup>acf</sup>	1475,70 ± 20,48 <sup>c</sup>	2178,57 ± 32,45 <sup>a</sup>	2718,64 ± 38,67 <sup>cd</sup>
	D	141,18 ± 1,96	411,93 ± 4,28 <sup>b</sup>	801,48 ± 8,76 <sup>bef</sup>	1378,18 ± 15,80 <sup>b</sup>	1984,03 ± 26,36 <sup>b</sup>	2503,95 ± 33,36 <sup>b</sup>
Grup 2	E	142,09 ± 1,94	417,01 ± 6,17 <sup>ab</sup>	845,21 ± 10,88 <sup>ace</sup>	1515,54 ± 16,13 <sup>ac</sup>	2243,36 ± 25,36 <sup>a</sup>	2813,73 ± 26,40 <sup>ade</sup>
	D	141,38 ± 1,88	404,44 ± 5,49 <sup>b</sup>	801,40 ± 8,83 <sup>cdf</sup>	1364,84 ± 14,91 <sup>b</sup>	1961,03 ± 21,66 <sup>b</sup>	2465,33 ± 27,04 <sup>b</sup>
Grup 3	E	140,95 ± 1,91	409,29 ± 5,35 <sup>b</sup>	880,79 ± 10,72 <sup>e</sup>	1490,26 ± 18,81 <sup>c</sup>	2227,82 ± 27,96 <sup>a</sup>	2712,75 ± 31,74 <sup>ce</sup>
	D	141,79 ± 1,87	394,85 ± 5,49 <sup>b</sup>	788,64 ± 12,27 <sup>f</sup>	1386,27 ± 18,11 <sup>b</sup>	1991,03 ± 28,11 <sup>b</sup>	2464,62 ± 37,31 <sup>b</sup>
<b>Canlı Ağırlık Kazancı (g/d)</b>							
Kontrol	E	106,46 ± 1,18	287,92 ± 3,51 <sup>a</sup>	434,26 ± 13,37	697,86 ± 18,26	715,12 ± 10,92 <sup>a</sup>	596,09 ± 28,61 <sup>ac</sup>
	D	100,34 ± 0,16	257,04 ± 3,76 <sup>bf</sup>	364,30 ± 25,65	581,10 ± 16,60	590,24 ± 2,27 <sup>b</sup>	449,95 ± 41,86 <sup>b</sup>
Grup 1	E	98,56 ± 2,38	265,34 ± 3,77 <sup>bef</sup>	548,55 ± 16,28	520,89 ± 19,68	702,13 ± 41,28 <sup>ac</sup>	540,52 ± 27,89 <sup>ab</sup>
	D	97,12 ± 4,51	284,32 ± 14,46 <sup>acd</sup>	375,99 ± 24,43	576,62 ± 14,02	606,10 ± 20,26 <sup>bc</sup>	519,57 ± 12,72 <sup>abd</sup>
Grup 2	E	99,23 ± 1,55	274,73 ± 4,70 <sup>ce</sup>	427,86 ± 20,59	670,33 ± 22,46	728,49 ± 12,97 <sup>a</sup>	570,48 ± 9,73 <sup>cd</sup>
	D	98,24 ± 1,82	263,06 ± 6,32 <sup>bde</sup>	396,96 ± 14,34	563,66 ± 16,98	596,44 ± 20,91 <sup>bc</sup>	505,06 ± 28,36 <sup>abe</sup>
Grup 3	E	97,44 ± 4,70	268,42 ± 5,39 <sup>def</sup>	471,62 ± 12,42	610,21 ± 30,94	737,94 ± 34,38 <sup>a</sup>	485,37 ± 20,97 <sup>be</sup>
	D	99,53 ± 2,74	253,07 ± 3,77 <sup>b</sup>	393,80 ± 37,74	597,63 ± 14,96	604,75 ± 16,34 <sup>bc</sup>	473,59 ± 12,10 <sup>ce</sup>
<b>Yem Tüketimi (g/d)</b>							
Kontrol	E	116,67 ± 3,20	396,53 ± 11,17	807,57 ± 22,31	965,28 ± 19,97	1186,24 ± 62,21 <sup>ab</sup>	1431,95 ± 44,13
	D	121,44 ± 8,71	373,98 ± 15,88	700,70 ± 35,41	988,70 ± 67,21	1162,88 ± 71,87 <sup>a</sup>	1354,39 ± 83,71
Grup 1	E	114,71 ± 5,16	346,21 ± 34,37	782,60 ± 53,17	1068,79 ± 67,97	1280,02 ± 26,40 <sup>ab</sup>	1397,40 ± 29,89
	D	129,89 ± 9,85	352,11 ± 14,35	776,36 ± 37,70	972,40 ± 65,20	1175,43 ± 115,07 <sup>a</sup>	1425,43 ± 29,45
Grup 2	E	115,89 ± 0,05	372,45 ± 10,67	786,79 ± 65,57	1105,35 ± 15,70	1472,96 ± 17,28 <sup>b</sup>	1479,25 ± 43,59
	D	129,94 ± 2,97	363,22 ± 2,50	773,16 ± 59,80	1004,15 ± 26,06	1212,69 ± 65,14 <sup>ab</sup>	1280,59 ± 69,19
Grup 3	E	114,73 ± 5,86	343,35 ± 13,39	814,74 ± 16,52	1086,23 ± 19,90	1359,41 ± 17,15 <sup>ab</sup>	1375,40 ± 26,98
	D	113,16 ± 2,09	338,56 ± 23,72	699,89 ± 58,61	1040,22 ± 11,53	1212,35 ± 14,76 <sup>ab</sup>	1342,06 ± 40,43
<b>Yemden Yararlanma Oranı (g/g)</b>							
Kontrol	E	1,10 ± 0,02	1,37 ± 0,05	1,86 ± 0,08	1,39 ± 0,06	1,66 ± 0,10	2,41 ± 0,05 <sup>a</sup>
	D	1,21 ± 0,08	1,45 ± 0,06	1,92 ± 0,03	1,73 ± 0,11	2,06 ± 0,25	2,88 ± 0,18 <sup>b</sup>
Grup 1	E	1,16 ± 0,06	1,30 ± 0,12	1,65 ± 0,40	1,57 ± 0,08	1,83 ± 0,09	2,59 ± 0,10 <sup>a</sup>
	D	1,34 ± 0,13	1,25 ± 0,10	2,11 ± 0,02	1,71 ± 0,11	1,88 ± 0,20	2,75 ± 0,11 <sup>bc</sup>
Grup 2	E	1,17 ± 0,02	1,36 ± 0,06	1,86 ± 0,23	1,64 ± 0,08	2,02 ± 0,06	2,59 ± 0,07 <sup>ac</sup>
	D	1,32 ± 0,05	1,39 ± 0,04	1,96 ± 0,21	1,78 ± 0,01	2,03 ± 0,04	2,54 ± 0,07 <sup>a</sup>
Grup 3	E	1,19 ± 0,10	1,28 ± 0,07	1,72 ± 0,02	1,79 ± 0,08	1,84 ± 0,08	2,84 ± 0,11 <sup>b</sup>
	D	1,14 ± 0,04	1,33 ± 0,10	1,78 ± 0,06	1,74 ± 0,02	2,00 ± 0,07	2,83 ± 0,30 <sup>b</sup>

Kontrol: Kontrol Grup; Grup 1:10g/kg tere tohumu; Grup 2:20g/kg tere tohumu; Grup 3: 31g/kg tere tohumu, E:Erkek, D:Dişi. <sup>a,b,c,d,e,f</sup>: Kullanılan küçük harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir (p<0,05)..



**Tablo-6** Tere Tohumunun Farklı Oranlarıyla Beslenen Etçi Tavukların Serum Parametreleri (n=10)

<i>Parametreler Gruplar Cinsiyet</i>			<i>1. Gün</i>	<i>21. Gün</i>	<i>42. Gün</i>
			<i>Ortalama ± S.H.</i>		
Adiponektin (µg/ml)	Kontrol	E	16,39 ± 2,73 <sup>ab</sup>	23,42 ± 0,96 <sup>a</sup>	13,44 ± 0,44 <sup>b</sup>
		D	17,60 ± 2,07 <sup>a</sup>	17,73 ± 1,98 <sup>a</sup>	8,41 ± 1,55 <sup>b</sup>
	Grup 1	E	19,09 ± 1,59 <sup>a</sup>	17,19 ± 1,47 <sup>a</sup>	8,65 ± 1,41 <sup>b</sup>
		D	16,84 ± 1,85 <sup>a</sup>	18,32 ± 2,63 <sup>a</sup>	8,81 ± 1,29 <sup>b</sup>
	Grup 2	E	18,78 ± 2,51 <sup>a</sup>	12,82 ± 0,84 <sup>ab</sup>	11,66 ± 0,94 <sup>b</sup>
		D	20,75 ± 0,74 <sup>a</sup>	14,15 ± 1,10 <sup>b</sup>	12,71 ± 1,47 <sup>b</sup>
	Grup 3	E	17,30 ± 1,34 <sup>a</sup>	13,16 ± 0,82 <sup>b</sup>	10,68 ± 1,50 <sup>b</sup>
		D	18,41 ± 1,09 <sup>a</sup>	12,39 ± 2,13 <sup>b</sup>	12,30 ± 0,65 <sup>b</sup>
Büyüme Hormonu (pg/ml)	Kontrol	E	2776,81 ± 276,72 <sup>a</sup>	2855,13 ± 198,30 <sup>a</sup>	2135,13 ± 114,45 <sup>a</sup>
		D	3088,69 ± 623,67 <sup>a</sup>	2982,45 ± 148,82 <sup>a</sup>	2632,62 ± 304,20 <sup>a</sup>
	Grup 1	E	3317,41 ± 288,74 <sup>a</sup>	3112,30 ± 511,12 <sup>a</sup>	1943,06 ± 154,79 <sup>b</sup>
		D	3781,56 ± 391,74 <sup>a</sup>	2993,10 ± 227,41 <sup>a</sup>	2265,66 ± 103,22 <sup>b</sup>
	Grup 2	E	3758,84 ± 415,57 <sup>a</sup>	3136,41 ± 347,18 <sup>ab</sup>	2497,07 ± 306,03 <sup>b</sup>
		D	3787,33 ± 212,71 <sup>a</sup>	2990,11 ± 134,35 <sup>b</sup>	2011,24 ± 123,92 <sup>c</sup>
	Grup 3	E	2993,33 ± 605,46 <sup>ab</sup>	2871,16 ± 111,82 <sup>a</sup>	1786,17 ± 118,52 <sup>b</sup>
		D	2932,92 ± 645,55 <sup>ab</sup>	2627,90 ± 104,14 <sup>a</sup>	2067,39 ± 158,73 <sup>b</sup>
Glukoz (mg/dl)	Kontrol	E	96,69 ± 1,47 <sup>a</sup>	107,70 ± 3,50 <sup>a</sup>	83,72 ± 4,15 <sup>c</sup>
		D	95,69 ± 3,07 <sup>ba</sup>	117,35 ± 3,68 <sup>b</sup>	91,28 ± 4,65 <sup>c</sup>
	Grup 1	E	101,84 ± 7,69 <sup>a</sup>	123,91 ± 5,37 <sup>b</sup>	108,66 ± 5,69 <sup>ab</sup>
		D	114,03 ± 13,62 <sup>ab</sup>	114,97 ± 7,44 <sup>a</sup>	91,64 ± 2,83 <sup>b</sup>
	Grup 2	E	101,92 ± 10,77 <sup>a</sup>	113,90 ± 5,41 <sup>a</sup>	89,88 ± 7,64 <sup>a</sup>
		D	95,48 ± 5,81 <sup>a</sup>	126,20 ± 7,54 <sup>b</sup>	76,86 ± 2,45 <sup>a</sup>
	Grup 3	E	87,53 ± 6,60 <sup>ba</sup>	103,63 ± 7,09 <sup>ab</sup>	86,07 ± 1,80 <sup>a</sup>
		D	86,32 ± 2,99 <sup>a</sup>	114,78 ± 4,77 <sup>b</sup>	76,89 ± 5,51 <sup>a</sup>
Kortizol (ng/ml)	Kontrol	E	1,84 ± 0,11	2,38 ± 0,50	1,44 ± 0,21
		D	2,19 ± 0,39	1,60 ± 0,41	1,78 ± 0,29
	Grup 1	E	1,92 ± 0,37	1,06 ± 0,10	1,43 ± 0,26
		D	2,19 ± 0,37	1,25 ± 0,17	2,10 ± 0,86
	Grup 2	E	2,84 ± 0,29 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,11 <sup>b</sup>	1,32 ± 0,10 <sup>b</sup>
		D	3,23 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,66 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,11 ± 0,11 <sup>c</sup>
	Grup 3	E	2,58 ± 0,42 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,72 ± 0,28 <sup>a</sup>
		D	2,06 ± 0,51 <sup>a</sup>	1,01 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,24 ± 0,13 <sup>a</sup>
Leptin (ng/ml)	Kontrol	E	3,37 ± 0,44 <sup>a</sup>	1,62 ± 0,26 <sup>b</sup>	7,95 ± 0,33 <sup>c</sup>
		D	4,62 ± 1,84 <sup>ab</sup>	1,88 ± 0,16 <sup>a</sup>	7,88 ± 0,41 <sup>b</sup>
	Grup 1	E	2,07 ± 0,19 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,32 <sup>a</sup>	6,94 ± 0,59 <sup>b</sup>
		D	7,46 ± 1,11 <sup>a</sup>	1,91 ± 0,30 <sup>b</sup>	8,07 ± 0,97 <sup>a</sup>
	Grup 2	E	7,68 ± 2,42 <sup>ab</sup>	2,04 ± 0,05 <sup>a</sup>	7,84 ± 0,48 <sup>b</sup>
		D	3,35 ± 1,15 <sup>a</sup>	1,54 ± 0,34 <sup>a</sup>	8,13 ± 0,96 <sup>b</sup>
	Grup 3	E	5,05 ± 1,14 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,40 <sup>b</sup>	8,46 ± 0,65 <sup>c</sup>
		D	2,02 ± 0,35 <sup>a</sup>	2,51 ± 0,37 <sup>a</sup>	7,24 ± 0,72 <sup>b</sup>
Östrojen (pg/ml)	Kontrol	D	52,86 ± 11,38 <sup>a</sup>	178,41 ± 18,23 <sup>b</sup>	118,56 ± 10,51 <sup>b</sup>
	Grup 1	D	46,89 ± 15,15 <sup>a</sup>	90,43 ± 6,29 <sup>c</sup>	165,25 ± 10,06 <sup>b</sup>
	Grup 2	D	47,86 ± 9,13 <sup>a</sup>	140,32 ± 23,81 <sup>b</sup>	75,12 ± 7,65 <sup>c</sup>
	Grup 3	D	52,31 ± 10,09 <sup>a</sup>	155,17 ± 19,20 <sup>b</sup>	77,95 ± 5,68 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c</sup> : Küçük harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05). Kontrol: Kontrol; Grup1:10g/kg tere tohumu;

Grup 2: 20g/kg tere tohumu; Grup 3: 31g/kg tere tohumu; E:Erkek, D:Dişi.

**Tablo-7** Tere Tohumunun Farklı Oranlarıyla Beslenen Etçi Tavukların Karkas Parametreleri (n=15)

Gruplar	Cinsiyet	Kesim öncesi	Karkas	Karkas
		Ağırlıklar (g)	Ağırlıkları (g)	Verimi (%)
		Ortalama $\pm$ S.H.		
Kontrol	Erkek	3015,33 $\pm$ 46,07 <sup>a</sup>	2459,47 $\pm$ 38,23 <sup>a</sup>	81,86 $\pm$ 0,46
	Dişi	2418,20 $\pm$ 44,69 <sup>b</sup>	1980,00 $\pm$ 38,88 <sup>b</sup>	81,58 $\pm$ 0,56
Grup 1	Erkek	2873,33 $\pm$ 67,25 <sup>a</sup>	2318,67 $\pm$ 53,85 <sup>a</sup>	80,71 $\pm$ 0,37
	Dişi	2372,80 $\pm$ 61,61 <sup>b</sup>	1951,47 $\pm$ 58,39 <sup>b</sup>	82,12 $\pm$ 0,59
Grup 2	Erkek	2863,13 $\pm$ 58,32 <sup>a</sup>	2331,53 $\pm$ 53,25 <sup>a</sup>	81,41 $\pm$ 0,64
	Dişi	2441,73 $\pm$ 30,85 <sup>b</sup>	2002,93 $\pm$ 28,93 <sup>b</sup>	82,01 $\pm$ 0,42
Grup 3	Erkek	2720,87 $\pm$ 82,21 <sup>a</sup>	2203,13 $\pm$ 75,83 <sup>a</sup>	80,82 $\pm$ 0,62
	Dişi	2400,27 $\pm$ 42,49 <sup>b</sup>	1967,93 $\pm$ 34,65 <sup>b</sup>	82,01 $\pm$ 0,53

Kontrol: Kontrol grup; Grup 1: 10g/kg tere tohumu; Grup 2: 20g/kg tere tohumu; Grup 3: 31g/kg tere tohumu.

<sup>a,b</sup> : Kullanılan küçük harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir (p<0,05).

**Tablo-8** Tere Tohumunun Farklı Oranlarıyla Beslenen Etçi Tavukların MDA Düzeyleri (n=10)

Gruplar	Cinsiyet	TBA Analizi (mg MDA/ kg et)		
		1. Gün	7. Gün	15. Gün
		Ortalama $\pm$ S.H.		
Kontrol	Erkek	0,34 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,49 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,10 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
	Dişi	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,45 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	1,08 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
Grup 1	Erkek	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,43 $\pm$ 0,03 <sup>abc</sup>	1,07 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
	Dişi	0,20 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,41 $\pm$ 0,02 <sup>bc</sup>	1,02 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
Grup 2	Erkek	0,18 $\pm$ 0,02 <sup>bc</sup>	0,41 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>	0,77 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
	Dişi	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,40 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,49 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>
Grup 3	Erkek	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,36 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	0,57 $\pm$ 0,07 <sup>bc</sup>
	Dişi	0,12 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,35 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,58 $\pm$ 0,03 <sup>bc</sup>

Kontrol: Kontrol Grup; Grup 1: 10g/kg tere tohumu; Grup 2: 20g/kg tere tohumu; Grup 3: 31g/kg tere tohumu.

<sup>a,b,c</sup>: Kullanılan küçük harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir (p<0,05).

**Tablo-9** Kontrol ve deney gruplarına ait duodenum bölgesinin 21. güne ait histometrik değerlendirmeleri

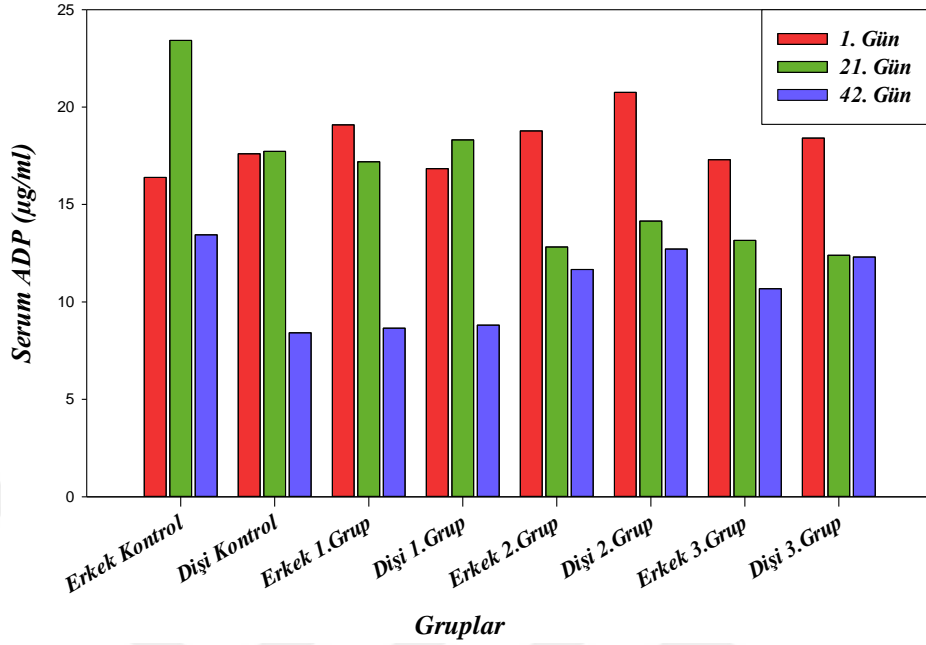
	<i>n</i>	<b>Kontrol</b>		<b>Grup 1</b>		<b>Grup 2</b>		<b>Grup 3</b>	
		<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>
<b>Kadeh Hücreleri (mm<sup>2</sup>)</b>	10	57,50 ± 2,76	56,80 ± 2,15	77,10 ± 2,81 <sup>***</sup>	75,10 ± 3,16 <sup>**</sup>	123,30 ± 3,04 <sup>***</sup>	123,60 ± 2,45 <sup>***</sup>	137,00 ± 3,33 <sup>***</sup>	132,70 ± 3,70 <sup>***</sup>
<b>Kript Derinliği (mm)</b>	10	0,47 ± 0,040	0,51 ± 0,046	0,64 ± 0,042	0,66 ± 0,043	0,69 ± 0,038 <sup>*</sup>	0,72 ± 0,055 <sup>**</sup>	0,75 ± 0,043 <sup>**</sup>	0,77 ± 0,042 <sup>***</sup>
<b>Villus Uzunluğu (mm)</b>	10	88,10 ± 1,69	89,10 ± 1,44	98,00 ± 2,39 <sup>*</sup>	99,40 ± 1,89 <sup>*</sup>	107,70 ± 2,34 <sup>***</sup>	106,40 ± 2,32 <sup>***</sup>	105,70 ± 2,62 <sup>***</sup>	109,10 ± 2,57 <sup>***</sup>

**Tablo-10** Kontrol ve deney gruplarına ait duodenum bölgesinin 42. güne ait histometrik değerlendirmeleri

	<i>n</i>	<b>Kontrol</b>		<b>Grup 1</b>		<b>Grup 2</b>		<b>Grup 3</b>	
		<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>	<i>Dişi</i>	<i>Erkek</i>
<b>Kadeh Hücreleri (mm<sup>2</sup>)</b>	10	139,20 ± 3,13	138,90 ± 3,21	170,70 ± 8,6 <sup>*</sup>	182,30 ± 12,74 <sup>**</sup>	213,30 ± 5,43 <sup>***</sup>	214,30 ± 4,67 <sup>***</sup>	217,40 ± 5,69 <sup>***</sup>	220,80 ± 5,52 <sup>***</sup>
<b>Kript Derinliği (mm)</b>	10	0,82 ± 0,033	0,78 ± 0,053	0,94 ± 0,045	0,97 ± 0,036	0,94 ± 0,047	0,93 ± 0,039	0,88 ± 0,047	0,92 ± 0,059
<b>Villus Uzunluğu (mm)</b>	10	108,00 ± 2,84	107,30 ± 2,712	115,00 ± 2,36	116,10 ± 2,40	126,90 ± 2,28 <sup>***</sup>	126,80 ± 2,34 <sup>***</sup>	120,80 ± 3,60 <sup>*</sup>	126,80 ± 2,97 <sup>***</sup>

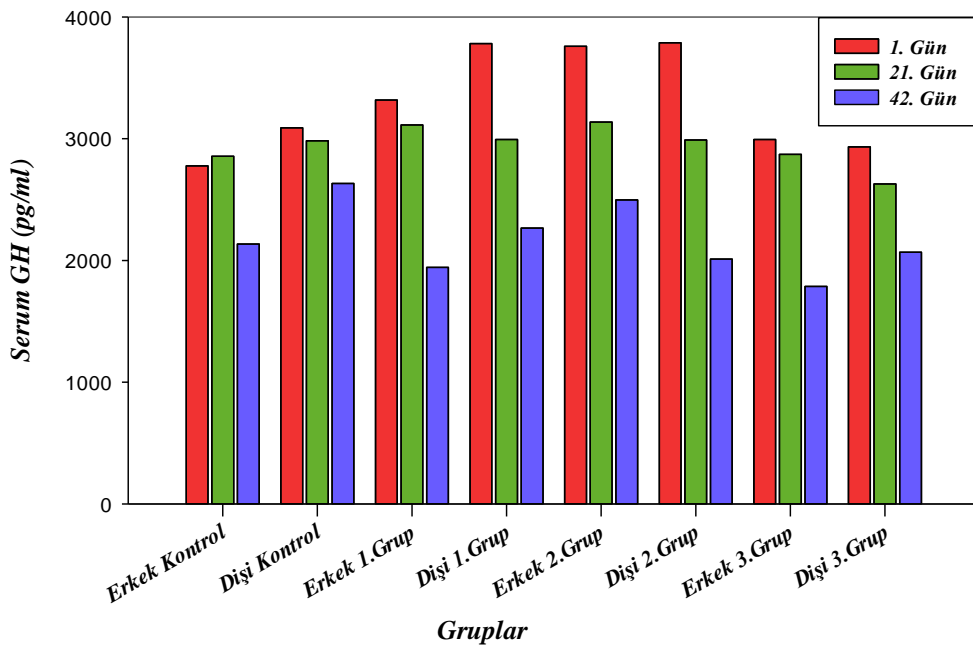
\* : Kontrol ve deney grupları arasında p< 0,05  
\*\* : Kontrol ve deney grupları arasında p< 0,01  
\*\*\* : Kontrol ve deney grupları arasında p< 0,001

### Adiponektin Konsantrasyonları



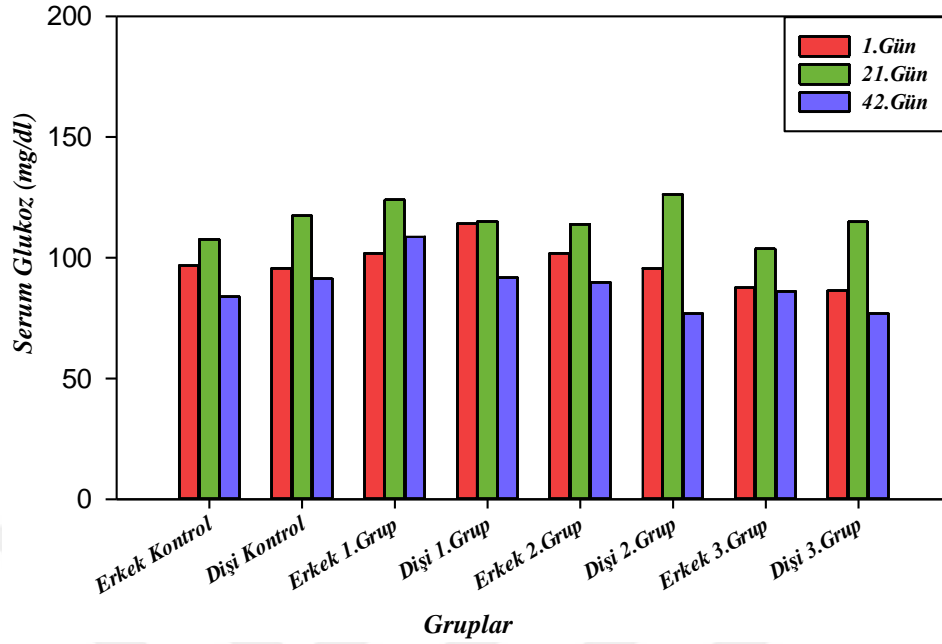
Şekil-6 Kontrol ve deneme gruplarına ait adiponektin konsantrasyonları

### Büyüme Hormonu Konsantrasyonları



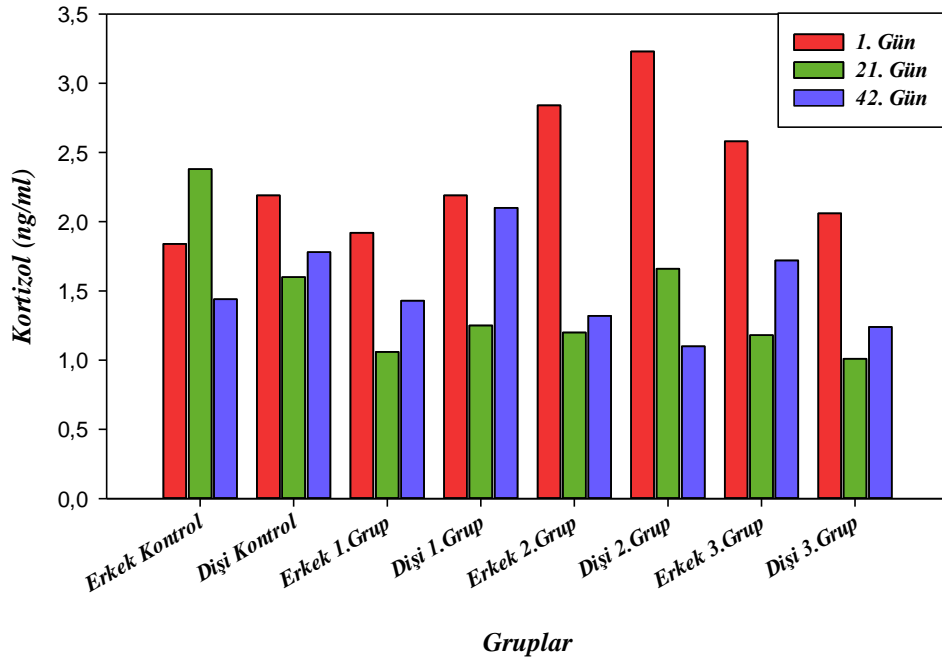
Şekil-7 Kontrol ve deneme gruplarına ait büyüme hormonu konsantrasyonları

## Glukoz Konsantrasyonları



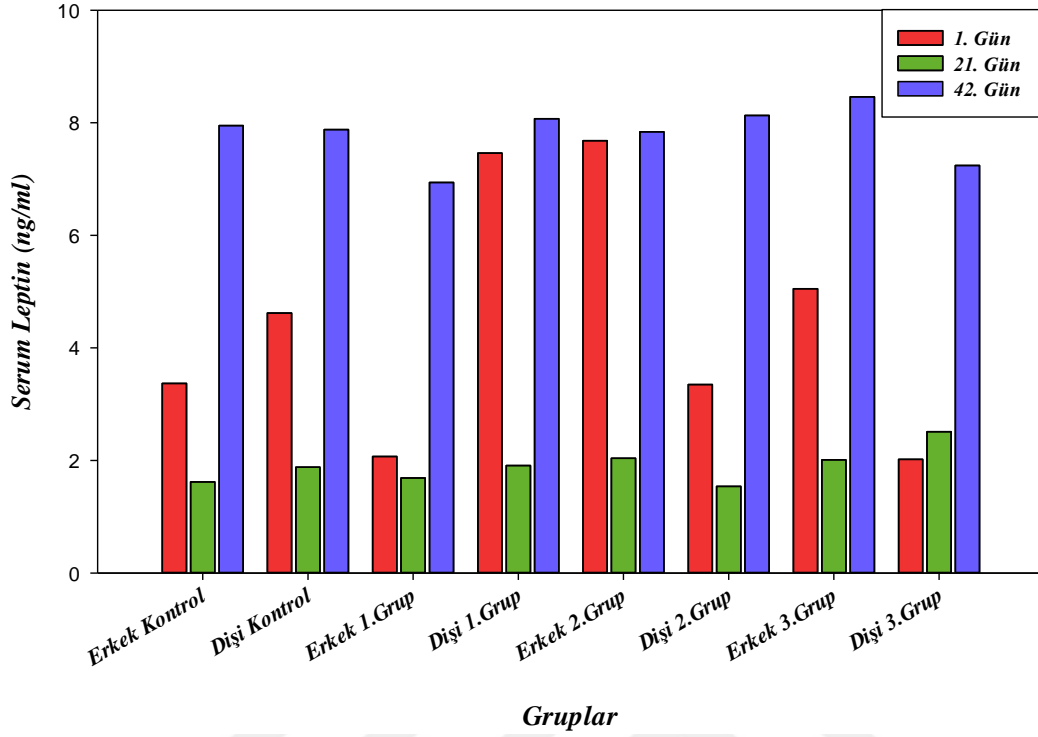
Şekil-8 Kontrol ve deneme gruplarına ait glukoz konsantrasyonları

## Kortizol Konsantrasyonları



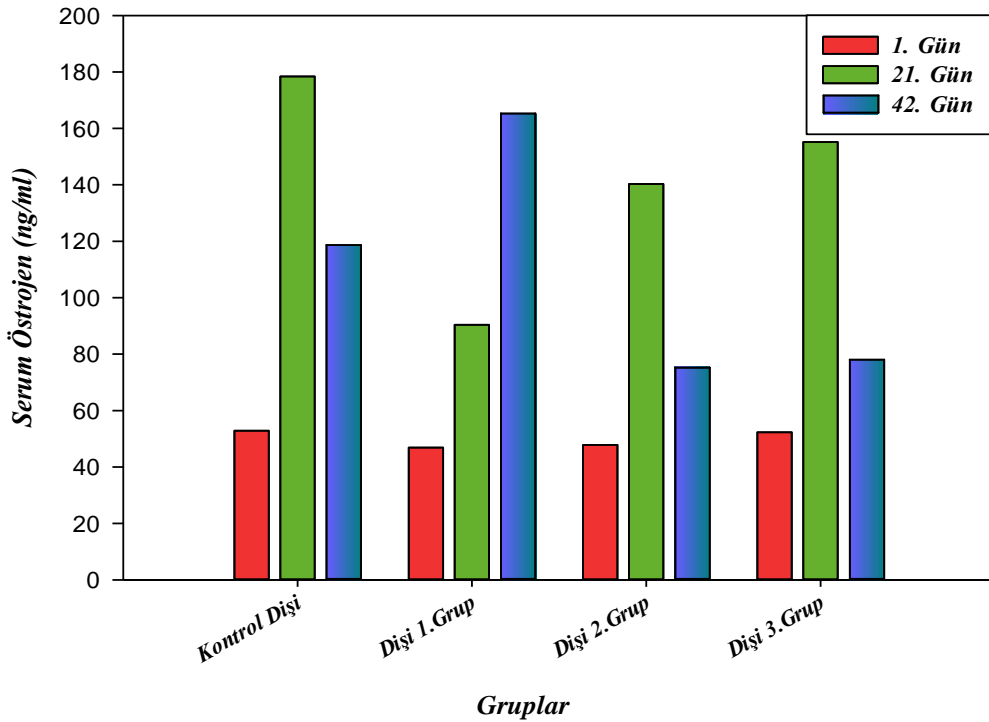
Şekil-9 Kontrol ve deneme gruplarına ait kortizol konsantrasyonları

### Leptin Konsantrasyonları



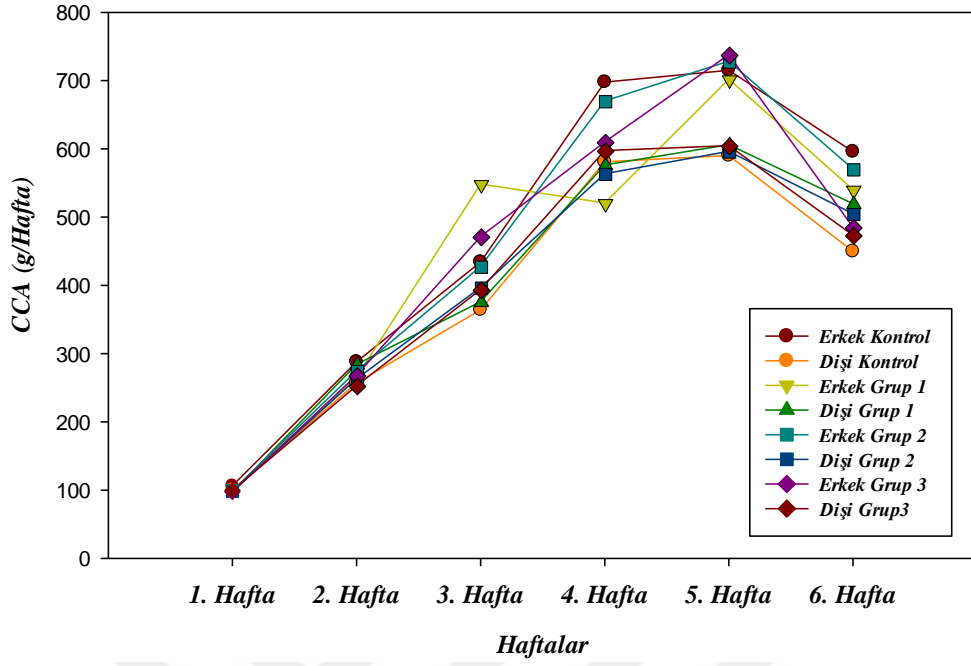
Şekil-10 Kontrol ve deneme gruplarına ait leptin konsantrasyonları

### Östrojen Konsantrasyonları



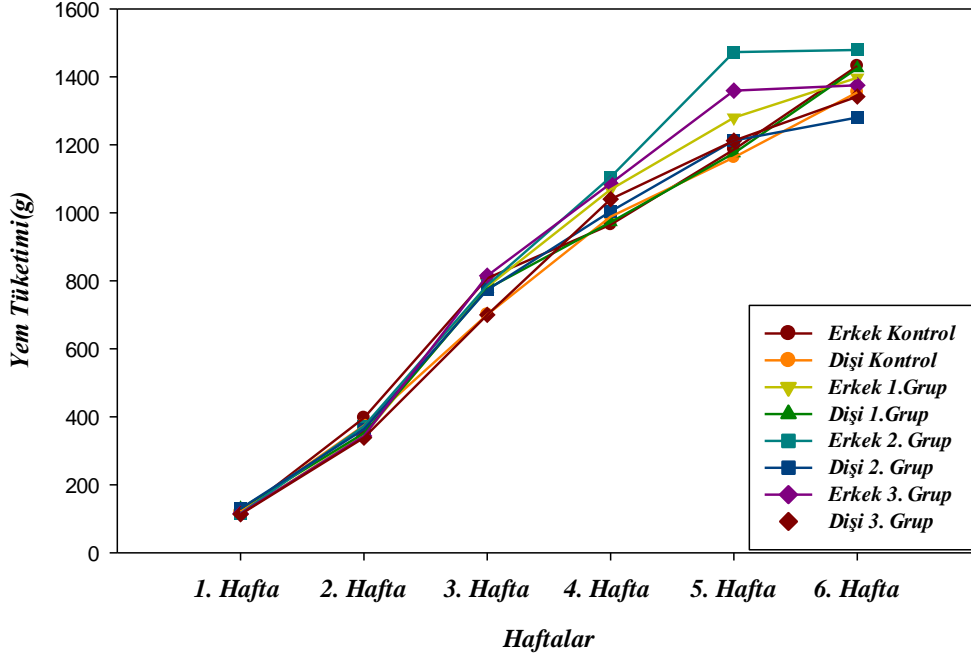
Şekil-11 Kontrol ve deneme gruplarına ait östrojen konsantrasyonları

### Canlı Ağırlık Artışı



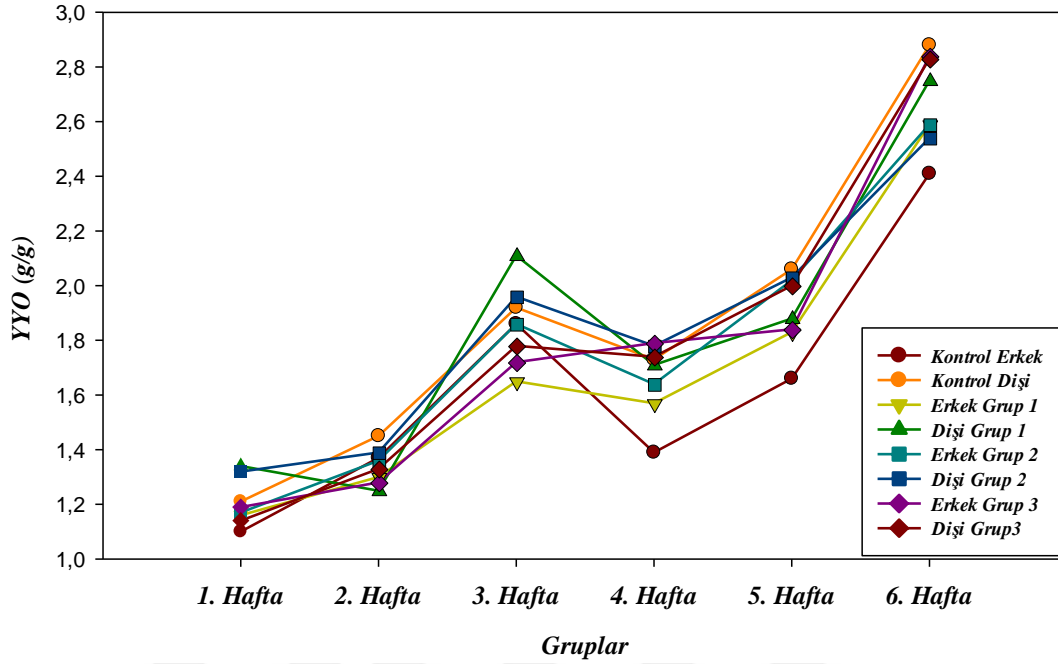
Şekil- 12 Kontrol ve deneme gruplarına ait canlı ağırlık artışları

### Yem Tüketimi



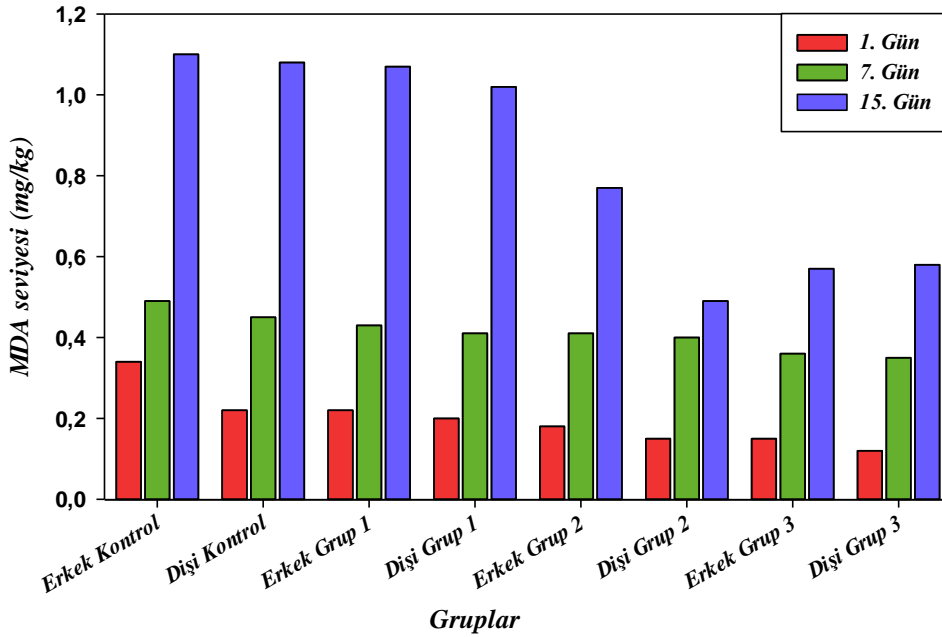
Şekil-13 Kontrol ve deneme gruplarına ait yem tüketimleri

### Yemden Yararlanma Oranları



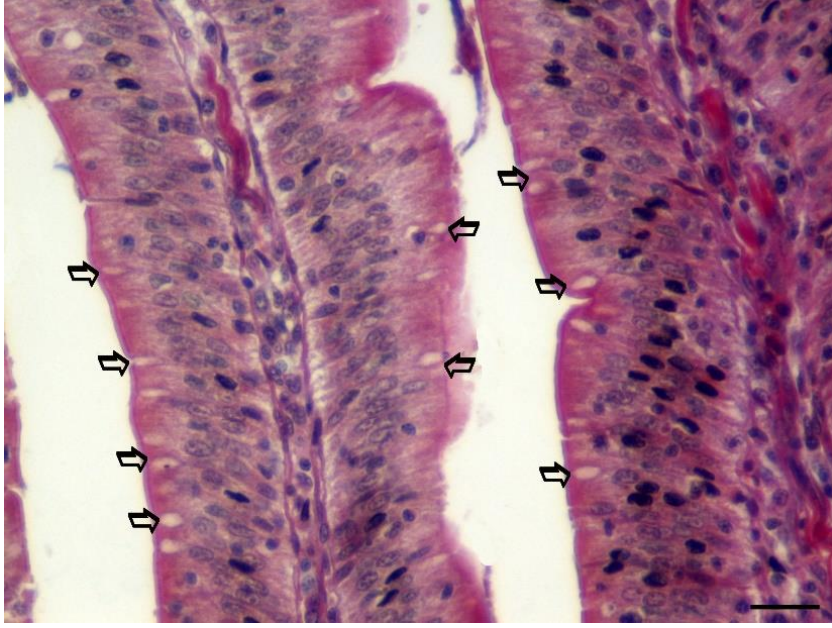
Şekil-14 Kontrol ve deneme gruplarına ait yemden yararlanma oranları

### TBA Analizi

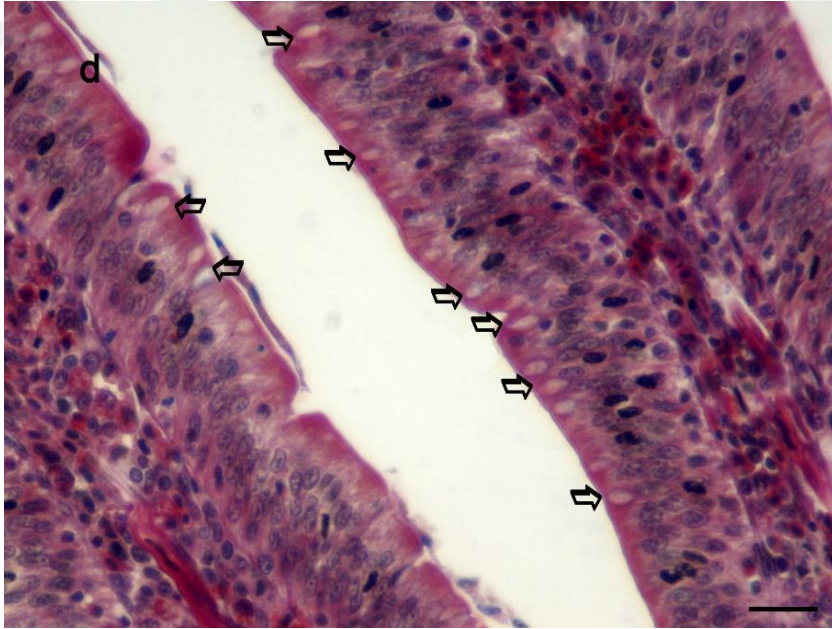


Şekil-15 Kontrol ve deneme gruplarına MDA seviyeleri

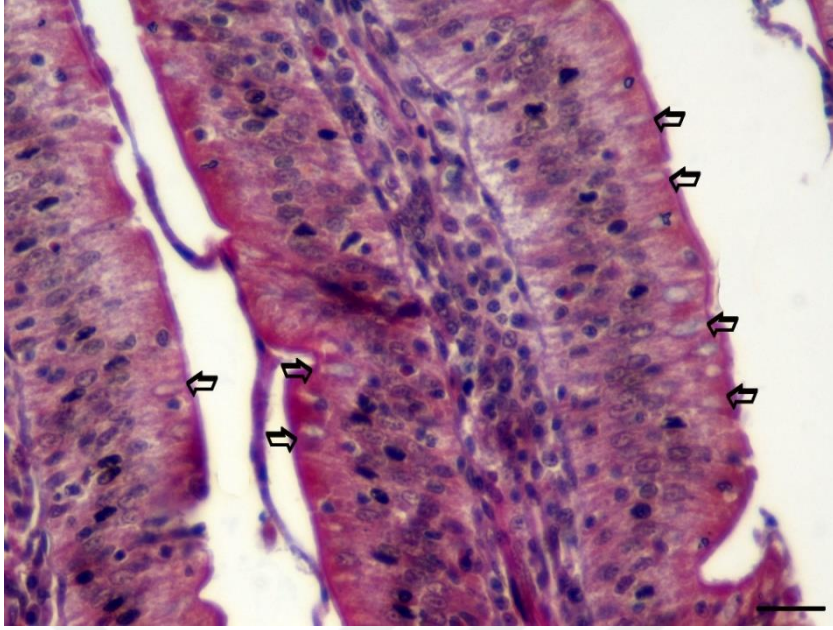




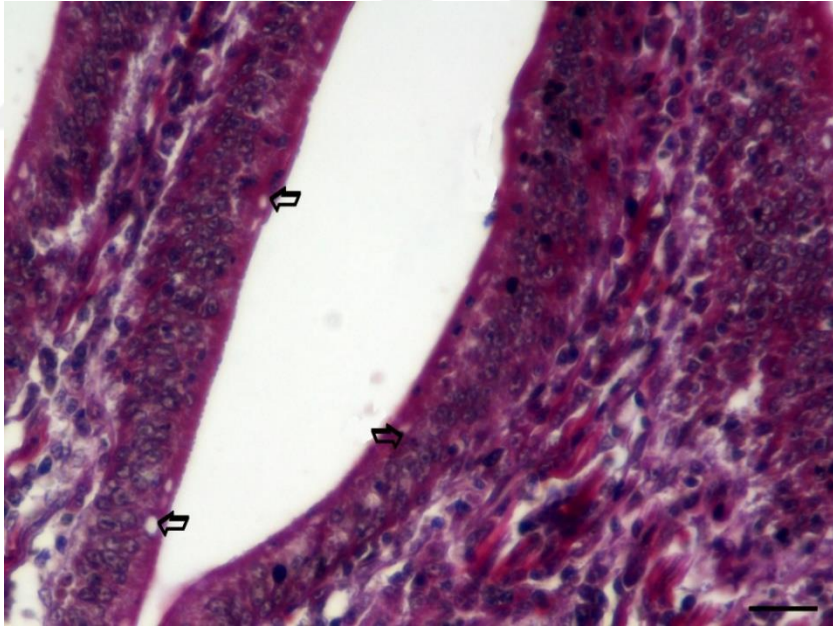
**Resim-1** Grup 1'e ait duodenum bölgesindeki yüksek prizmatik epitel hücreleri ve kadeh hücreleri (oklar). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



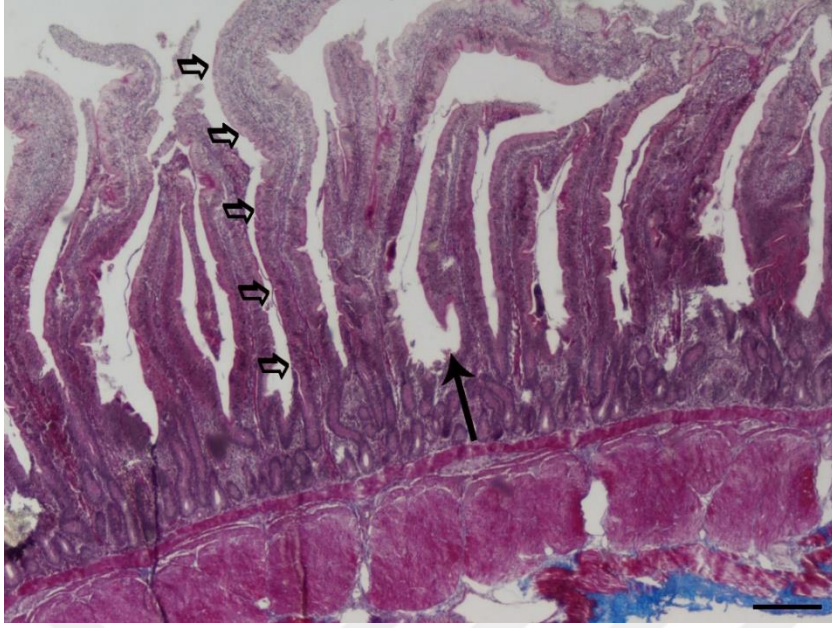
**Resim-2** Grup 2'ye ait duodenum bölgesindeki yüksek prizmatik epitel hücreleri ve kadeh hücreleri (oklar). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



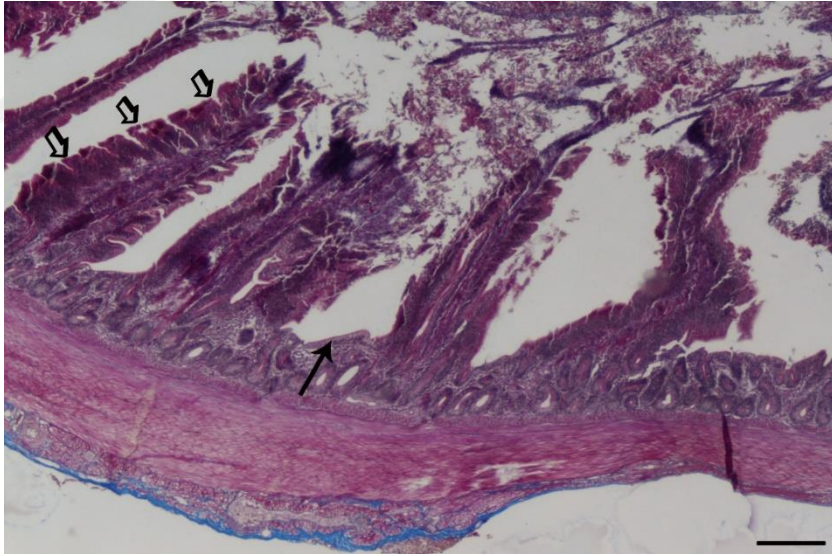
**Resim-3** Grup 3'e ait duodenum bölgesindeki yüksek prizmatik epitel hücreleri ve kadeh hücreleri (oklar). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



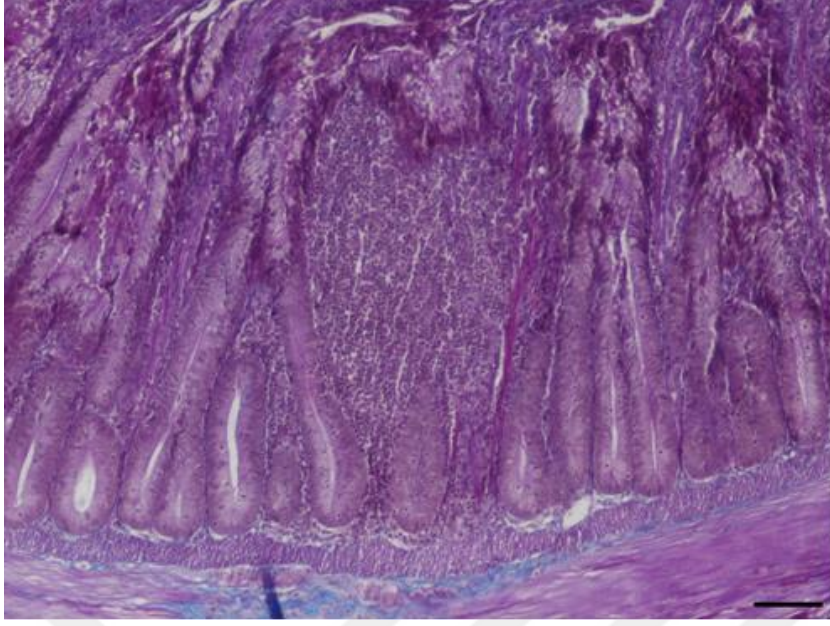
**Resim-4** Kontrol grubuna ait duodenum bölgesindeki epitelin, yalancı çok katlı prizmatik görünümü ve kadeh hücreleri (oklar). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



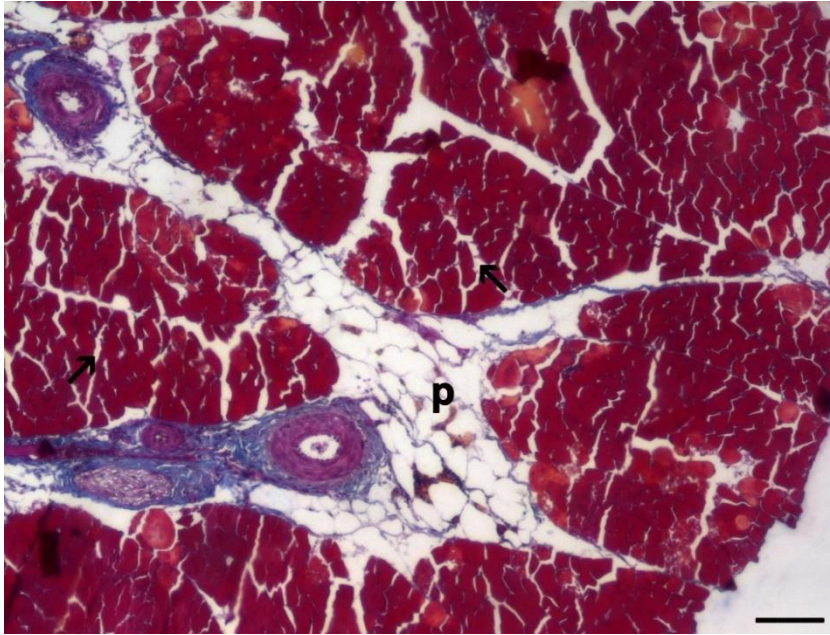
**Resim-5** Deneme grubunun duodenum bölgesine ait villus intestinalisler (kalın oklar) ve kriptler (ince ok). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 100 $\mu$ .



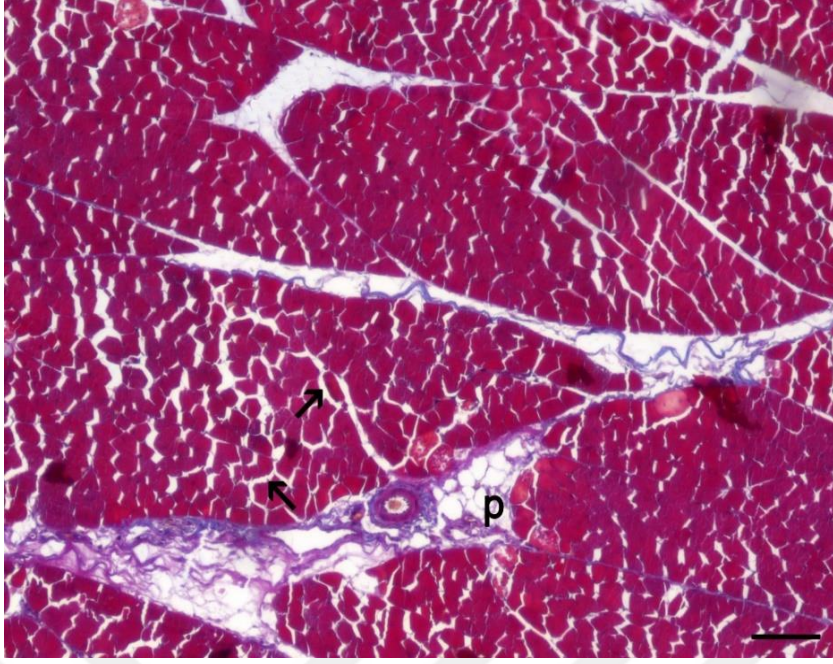
**Resim-6** Kontrol grubunun duodenum bölgesine ait villus intestinalisler (kalın oklar) ve kriptler (ince ok). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 100 $\mu$ .



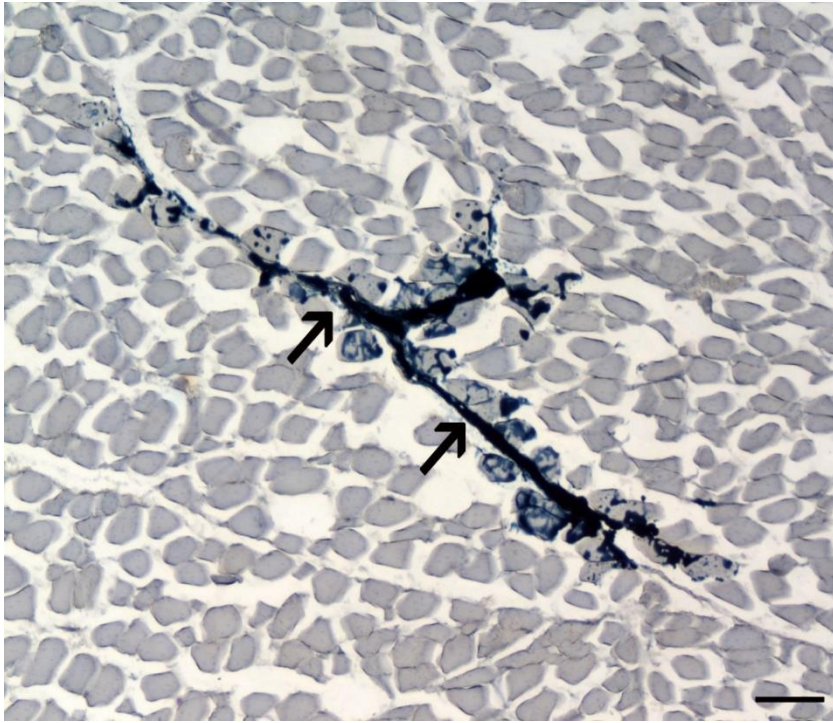
**Resim-7** Duodenum bölgesindeki lenfosit infiltrasyonu, Üçlü Boyama Tekniği, Bar 100 $\mu$ .



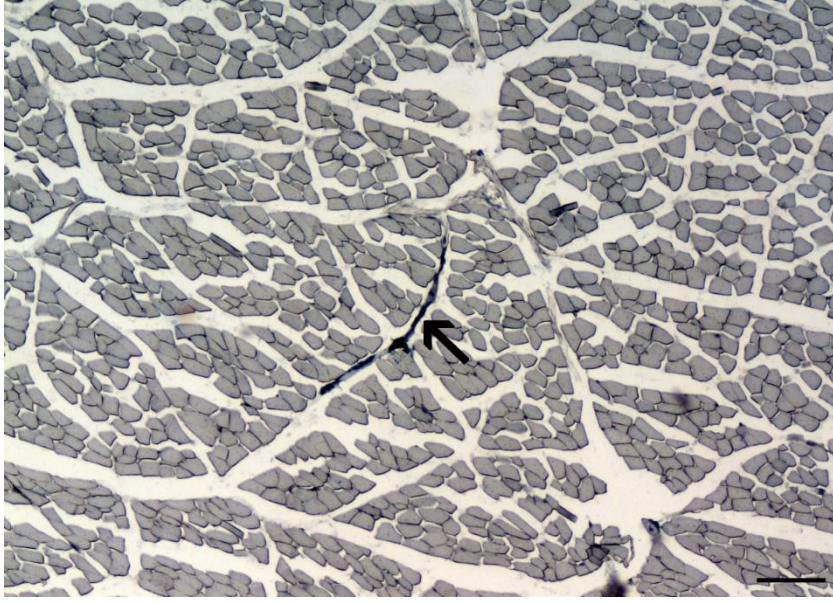
**Resim-8** Musculus femoralis endomizyum (ok) ve perimizyum (p). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



**Resim-9** Musculus pectoralis endomizyum (ok) ve perimizyum (p). Üçlü Boyama Tekniği, Bar 50 $\mu$ .



**Resim-10** Musculus femoralis'de lipid demonstrasyonu. Sudan Black Boyaması, Bar 50 $\mu$ .



**Resim-11** Musculus pectoralis’de lipid demonstrasyonu Sudan Black Boyaması, Bar 50 $\mu$ .

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Etlik piliç; yemleme süresinin çok kısa olması, birim alanda yoğun üretim yapılabilmesi, yemin ete dönüşme oranının yüksek olması, iş gücünün diğer tarımsal işletmelere nazaran daha düşük olması, kırmızı etle kıyaslandığında tavuk etinin ucuz, kolesterol ve yağ oranının düşük, sindiriminin kolay, besin değeri açısından iyi bir protein kaynağı olması nedeniyle üretimi hayvancılık sektöründe özel bir önem arz etmektedir.

Standartlara göre, uygun bir şekilde etçi tavukçuluk yapabilmek için, tavukların beslemesinde kullanılacak yemlerin, tamamıyla organik tarım prensiplerine göre üretilen, iyi kalitede yem ham maddelerini içermesi gerekmektedir. Sadece, organik bitkisel ürünlerin uygun metotlarla işlenmesi sonucu elde edilen yan ürünler, organik tavuk beslenmesinde kullanılabilir. Kanatlı yemlerine Ocak 2006 yılından itibaren antimikrobiyal etkili büyütme faktörlerinin katkı olarak kullanılması yasaklanmıştır (3). Sentetik renklendiriciler, antibiyotikler, büyümeyi uyarıcı hormon ve benzeri yem katkı maddeleri, iştah açıcılar, üre, hayvansal yan ürünler, saf amino asitler ve genetik olarak değiştirilmiş yem hammaddeleri veya mikroorganizmalar gibi suni yollardan sağlanan yem ve yem katkı kaynakları tavuk beslemede kullanılmamalıdır. Buna paralel olarak yoğun antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkan sorunlar nedeniyle alternatif yem katkılarının kullanımını ön plana çıkaran yeni yaklaşımlar uygulanmaya başlanmıştır (4). Vitaminler, iz elementler ve diğer yem katkıları için alternatif olarak tıbbi ve aromatik bitkilerin farklı kısımları veya bunların özütleri gibi doğal kaynakların kullanımında artışlar olmaktadır (116).

Bitkiler ve bitkisel ekstraktlar, uzun yıllardan beri pek çok ülkede tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Söz konusu bitkiler sindirim sistemi rahatsızlıklarında, antiseptik, sedatif, antidiyaretik, analjezik, ekspektoran, diüretik ve böbrek taşı düşürücü, antiparazitik, antihelmintik ve karaciğer rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (117,118). Aromatik bitkiler bakımından zengin bir flora sahip olan ülkemizde toplam floranın 1/3'ü aromatik bitkilerden oluşmaktadır. Bu nedenle, Türkiye'de yetişen bitkilerin yaklaşık 3000 çeşidinin aromatik özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (119). Son yıllarda bu özellikleriyle beraber bitkilerden destilasyon yoluyla elde edilen esansiyel yağların aktif komponentlerinin bakteriostatik ve bakterisit etkilerinin yanı sıra, fungusit özelliklerinin de olduğu pek çok çalışmayla ortaya konulmuştur (120). Bu nedenle aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, çeşitli hastalıkların tedavisinde ve gıdaların raf ömrünün artırılmasında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak son 5 yıl içinde İngiltere, Amerika ve Yunanistan başta olmak üzere pek çok ülkede yeni dönem verim artırıcı yem katkı maddeleri olarak bitkiler ve

bitkisel ekstraktlar kanatlı karma yemlerinde geniş ölçüde kullanılmaya başlanmıştır (121). Bu nedenle bitki ekstraktlarının kullanım şekillerinin, kullanım dozlarının ve hayvansal ürünlerdeki özellikle aromatik etkilerinin daha ayrıntılı araştırılmasında fayda vardır.

Bu çalışmada *Lepidium sativum* cinsi, Brassicaceae familyasına ait olan tere tohumu kullanılmıştır. Tere tohumu içerisinde glukotropaeolin ve glukonasturiin isimli glukosinolatların bulunduğu bildirilmiştir (52). Tere tohumunun antioksidan, hipokolestolemik, antimikrobiyal, antidiariyal, ekspektoran, hipoglisemik, antikarsinojenik, karsinojenik birçok etkisi olduğu bilinmektedir (53-55). Glukosinolatların etkilerini incelemek amacıyla tere tohumu, yem katkısı olarak kullanılmıştır.

Etçi tavuklarda glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin enerji dengeleri, performans ve biyokimyasal parametreler üzerine olan etkilerinin incelendiği bu çalışmada, serum adiponektin düzeyleri genel olarak 8,41-23,42 µg/ml arasında bulunmuştur. Serum adiponektin düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, kontrol erkeklerinde en düşük 16,39 µg/ml, grup 2 dişilerinde en yüksek 19,75 µg/ml; 21. gün, gruplar arasında, grup 3 dişilerinde en düşük 12,39 µg/ml, kontrol erkeklerinde en yüksek 23,42 µg/ml ve 42. gün, gruplar arasında, kontrol dişilerinde en düşük 8,41 µg/ml, kontrol erkeklerinde en yüksek 13,44 µg/ml olarak saptanmıştır (Tablo-6 ve Şekil-5).

21. günde diyetlere % 0,10 ve % 0,15 etken madde içerikli tere tohumu eklendiği zaman serum adiponektin değerlerinin kontrol ve % 0,05 etken madde içeren grup 1'e göre diğer gruplarda düşme eğilimine girdiği gözlenmektedir. 21. gün canlı ağırlıklarına bakıldığında zaman, erkek hayvanlarda kontrol grubuna göre % 0,15 etken madde içerikli grup 3'de en yüksek olduğu, dişi hayvanlarda ise kontrol grubuna göre % 0,05 ve % 0,10 etken madde içerikli grup 1 ve 2'de en yüksek ve değerlerin benzer olduğu gözlenmiştir. 42. günde ise etlik piliçlerin kesim yaşına gelmesi ile birlikte diyetlere eklenen tere tohumu oranlarının artmasıyla serum adiponektin seviyelerinin de arttığı gözlenmektedir. 42. gün canlı ağırlıkları erkek hayvanlarda, etken madde oranlarının artmasıyla azalma gösterdiği; dişi hayvanlarda % 0,10 etken madde içerikli grup 1'de en fazla olduğu saptanmıştır (Tablo 5 ve 6). Bu bilgiler doğrultusunda, 21. günde serum adiponektin değerleri ile canlı ağırlıklar arasında etken madde oranlarının artmasıyla birlikte ters orantı olduğu; 42. günde etken madde oranlarının artırılmasının canlı ağırlıkları, kesim öncesi ağırlıkları, karkas ağırlıkları ve karkas verimini arttırmada erkek ve dişi hayvanlarda anlamlı olmadığı, buna karşın serum adiponektin seviyeleri etken madde oranlarının artmasıyla arttığı ve yine anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

21. günde canlı ağırlık kazancı % 0,05 etken madde içeren grup 1 erkek hayvanlarında (548,55 g/d) kontrol grubuna göre (434,26 g/d) en büyük artış sağlanırken; % 0,10 etken



madde içeren grup 2 dişi hayvanlarında (396,96 g/d) kontrol grubuna göre (364,30 g/d) en büyük artış sağlanmıştır. 42. günde ise etken maddenin değişik oranlarının eklenmesinin canlı ağırlık kazancı üzerine erkek hayvanlarda bir azalmaya, dişi hayvanlarda bir artmaya neden olduğu tespit edilmiştir. 42. günde yemden yararlanma oranlarına bakıldığı zaman etken maddenin % 0,15 eklendiği grup 3 erkek hayvanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığını görmekteyiz. Yapılan bir çalışmada, plazma adiponektin konsantrasyonlarının; plazma glukoz, insülin ve trigliserid düzeyleri ve vücut kütle indeksi ile negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (122). Pajvani ve arkadaşları (123), adiponektin düzeylerinin vücut yağ oranı ve abdominal yağ miktarıyla negatif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Serum büyüme hormonu düzeyleri genel olarak 1786,17-3787,33 pg/ml arasında bulunmuştur. Serum büyüme hormonu düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, kontrol erkeklerinde en düşük 2776,81 pg/ml, grup 2 dişilerinde en yüksek 3787,33 pg/ml; 21. gün, gruplar arasında, grup 3 erkeklerinde düşük 2627,90 pg/ml, grup 2 erkeklerinde en yüksek 3136,41 pg/ml ve 42. gün, gruplar arasında, grup 3 erkeklerinde en düşük 1786,17 pg/ml; kontrol dişilerinde en yüksek 2632,62 pg/ml olarak saptanmıştır (Tablo-6 ve Şekil-6).

21. günde diyetlere katılan glukosinolat oranı % 0,10 ve 0,15 etken madde içerikli tere tohumu eklendiği zaman serum büyüme hormonu değerlerinin erkek hayvanlarda kontrol grubuna göre grup 1, 2 ve 3'de artma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Dişi hayvanlarda ise grup 1 ve 2'de çok az bir yükselmeye sınırlı kalıp grup 3'de istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir. 21. gün canlı ağırlıklarına bakıldığı zaman, hem erkek ve hem de dişi hayvanlarda paralel bir etki gözlenmemiştir. 42. günde ise etlik piliçlerin kesim yaşına gelmesi ile diyetlere eklenen tere tohumu oranlarının özellikle % 0,10 oranında eklenen grup 2'de serum büyüme hormonu seviyesi istatistiksel olarak önemli olmakla ( $p < 0,05$ ) birlikte 2497,07 pg/ml olarak saptanmıştır. Erkek hayvanların canlı ağırlıklarına, canlı ağırlık kazancına, yem tüketimine ve yemden yararlanma oranına bakıldığında büyüme hormonuyla doğru veya ters orantı içinde olmadığı tespit edilmiştir. Dişi hayvanlarda ise en yüksek büyüme hormonu seviyesi kontrol grubunda olması nedeniyle canlı ağırlıklara, canlı ağırlık kazancına, yem tüketimine ve yemden yararlanma oranına etkisinin olup olmadığı tespit edilememiştir. Moravej ve arkadaşları (124) tarafından 3200 Kcal ME/kg metabolik enerjiye sahip yem ile beslenen erkek etçi piliçlerde yapılan bir çalışmada büyüme hormonu değerleri, 1800-3200 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu değerler yapılan çalışma ile uyum göstermektedir. Rosebrough ve McMurtry ile Rosebrough arkadaşları (125,126) tarafından yapılan çalışmalarda büyüme hormonu üzerine özellikle düşük ve yüksek-protein oranlı yemlerin etkili olduğu belirtilmiştir. Düşük-protein oranına sahip yemler büyüme hormonu

değerlerini yükseltirken yüksek-protein oranlı yemlerin azalttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Rosebrough ve arkadaşları ile Tanaka ve arkadaşları (126,127), yavaş gelişen tavuklarla karşılaştırıldığında hızlı gelişen tavuklarda büyüme hormonu seviyelerinin düşük olduğu bildirilmiştir. Gonzales ve arkadaşları (128), canlı ağırlıklar ile büyüme hormonunu inceledikleri bir çalışmada, en hafif canlı ağırlığa sahip tavuklar ile karşılaştırıldığında en ağır olanların daha düşük büyüme hormonu seviyesine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Serum glukoz düzeyleri genel olarak 76,86-126,20 mg/dl arasında bulunmuştur. Serum glukoz düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, grup 3 erkeklerinde en düşük 86,32 mg/dl, grup 1 dişilerinde en yüksek 114,03 mg/dl; 21. gün, gruplar arasında, grup 3 erkeklerinde en düşük 103,63 mg/dl, grup 1 erkeklerinde en yüksek 123,91 mg/dl ve 42. gün, gruplar arasında, grup 3 dişilerinde en düşük 76,89 mg/dl; grup 1 erkeklerinde en yüksek 108,66 mg/dl olarak saptanmıştır (Tablo-6 ve Şekil-7). Abou-Elkhair ve arkadaşları (129) tarafından etçi piliçlerde yapılan bir çalışmada 35 günlük kontrol grubu için verilen canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı ve serum glukoz değerleri sırasıyla 1698 g, 2595 g, 0,65 ve 189,6 mg/dl olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada aynı gündeki verilerimiz ise sırasıyla 715 g, 1186 g, 1,66 ve 83,72-91.28 mg/dl olarak bulunmuş, Abou-Elkhair ve arkadaşlarının çalışması ile uyum göstermemiştir. Lien ve arkadaşları (130) ise etçi piliçlerde serum glukoz değerini 172,07 mg/dl, Kusnadi ve Djulardi (131) ise 109,0-228,5 mg/dl olarak tespit etmişlerdir.

En önemli glukokortikoidlerden biri olan kortizolün görevleri arasında lenfosit fonksiyonunu, lökosit popülasyonunu ve antikorların üretimi ile hareketlerini inhibe ederek immunosupresif etkilerinin olduğu bilinmektedir. Yaptığımız çalışmada serum kortizol düzeyleri genel olarak 1,01-3,23 ng/ml arasında bulunmuştur. Serum kortizol düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, kontrol erkeklerinde en düşük 1,84 ng/ml, grup 2 dişilerinde en yüksek 3,23 ng/ml; 21. gün, gruplar arasında, grup 3 dişilerinde en düşük 1,01 ng/ml, kontrol erkeklerinde en yüksek 2,38 ng/ml ve 42. gün, gruplar arasında, grup 2 dişilerinde en düşük 1,11 ng/ml; grup 1 dişilerinde en yüksek 2,10 ng/ml olarak saptanmıştır (Tablo-6 ve Şekil-8). Samanta ve arkadaşları (132), etçi tavuklarda yaptıkları bir çalışmada, serum kortizol seviyelerini kesim yaşında 1232,1 mmol/L olarak bulmuşlardır. Bahrami ve arkadaşları (133), kesim yaşına gelmiş (42 günlük) Ross 308 ırkı etçi tavuklarda yaptıkları çalışmada, serum kortizol seviyesini ortalama 2,72 ng/mL olarak tespit etmişlerdir. Ebrahimzadeh ve arkadaşları (134), etçi Ross 308 ırkı tavuklarda yaptıkları bir çalışmada, serum kortizol düzeylerini 21. günde 9,62 ng/dl; 42. günde ise 10,42 ng/dl olarak bildirmişlerdir.

Serum leptin düzeyleri genel olarak 1,54-8,46 ng/ml arasında bulunmuştur. Serum leptin düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, grup 3 dışlarında en düşük 2,02 ng/ml, grup 2 erkeklerinde en yüksek 7,68 ng/ml; 21. gün, gruplar arasında, grup 2 dışlarında en düşük 1,54 ng/ml, grup 3 dışlarında en yüksek 2,51 ng/ml ve 42. gün, gruplar arasında, grup 1 erkeklerinde en düşük 6,94 ng/ml; grup 3 erkeklerinde en yüksek 8,46 ng/ml olarak saptanmıştır (Tablo-6 ve Şekil-9). Sun ve arkadaşları (135) plazma leptin seviyesini 13,28 ng/ml olarak tespit etmişlerdir. Bu değer bizim leptin değerlerimizle uyum göstermemektedir. Bilgili ve arkadaşları (136) tarafından yapılan bir çalışmada obez kişilerde artan yağ dokusunda leptin salınımı yağ kütlesi arttıkça belirgin şekilde arttığını göstermektedir. Yapılan diğer bir çalışmada ise vücut ağırlığındaki azalma ile birlikte leptin düzeylerinin de azaldığı bildirilmektedir (137). Taouis ve arkadaşları (138) plazma leptin seviyelerinin normal beslenenlere göre aç olanlarda önemli derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tavuk adipoz dokusunda leptin mRNA salımının 24 saatlik açlık oluşumu tarafından azaltıldığı ve daha sonra beslenmeye geçildiği zaman bu salımının normal seyrine geri döndüğünü göstermektedir (139, 140). Leptin, bir protein sinyali, besin alımı ve vücut-enerji dengesini düzenlemek için merkezi sinir sistemiyle bağlantılı olarak görev almaktadır. Buna karşın, tavuklarda leptinin besin alımına etkisinin çok az veya hiç olmadığı yönünde bilgiler bulunmaktadır. Raver ve arkadaşları (141) bu durumun leptinin 4. pozisyonunda izolöysin yerine ekstra bir sisteyinin bulunduğu kaynaklandığını bildirmişlerdir. Diyetlerde kalori aşımı, yağ depolarında bir artışa neden olur ve leptin salgılanmasını stimüle eder. Bu durumda daha fazla sentezlenen leptin, trigliseridlerin birikmesinden dolayı adipositlerin hacminde bir artışa neden olur. Ashwell ve arkadaşları (142), insülin seviyesinin düşük ve glukagon seviyesinin yüksek olduğu zaman leptin seviyelerinin düşme eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir. Nurulhuda ve arkadaşları (143) tarafından antilipidemik etkiye sahip olan doğal bitkilerin, leptin seviyelerini etkilemekte, intraselüler yağ birikimini ve canlı ağırlığı etkilemeksizin ette daha düşük adiposit oranlarını oluşturabilecekleri bildirilmiştir.

Serum östrojen düzeyleri, genel olarak 46,89-178,41 pg/ml arasında bulunmuştur. Serum östrojen düzeyleri 1. gün, gruplar arasında, grup 1 dışlarında en düşük 46,89 pg/ml, kontrol dışlarında en yüksek 52,86 pg/ml; 21. gün, gruplar arasında, grup 1 dışlarında en düşük 90,43 pg/ml, kontrol dışlarında en yüksek 178,41 pg/ml ve 42. gün, gruplar arasında, grup 2 dışlarında en düşük 75,12 pg/ml; grup 1 dışlarında en yüksek 165,25 pg/ml olarak saptanmıştır (Tablo 6 ve Şekil-10). Özellikle 42. gün östrojen değerlerine bakıldığı zaman grup 1'de en yüksek değer görülmektedir. Grup 1'in serum östrojen değerlerinin canlı ağırlık, canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranları, kesim öncesi ağırlık ve

karkas ağırlıkları ile diğer gruplarla negatif; karkas verimi ile pozitif orantılı olduğu tespit edilmiştir. Sun ve arkadaşları (135) tarafından yapılan çalışmada plazma östrojen seviyesini 164.26 pg/ml olarak tespit etmişlerdir. Bu değer, 42. gün grup 1 değerimiz ile uyum göstermektedir. Ashwell ve arkadaşları (142), etçi tavuklarda leptin seviyelerinin östrojen ve glukagon tarafından düşürüldüğünü; insülin tarafından ise yükseltildiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda 42. gün en yüksek östrojen seviyesine baktığımızda leptin seviyesi ile ters orantıya sahip olduğu görülmektedir.

### **Karkas Parametreleri**

Tere tohumlarının farklı oranlarıyla beslenen etçi tavukların kesim öncesi ve karkas ağırlıklarına bakıldığı zaman erkek hayvanların kontrol grubuna göre grup 1, 2 ve 3'de giderek azaldığı görülmektedir. Dişi hayvanlarda ise diğer gruplara göre grup 2'de önem arz etmeyecek bir artış gözlenmiştir. Ayrıca karkas veriminin % değerleri de incelendiği zaman yine erkek hayvanlar da diğer gruplara göre anlamlı olmamak kaydıyla daha yüksek; dişi hayvanlarda grup 1'de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buradan elde edilen bilgilere göre glukosinolatların farklı dozlarının yemlere katılmasının kesim öncesi ve karkas ağırlıklarına beklenen etkilerinin oluşmadığı gözlenmiştir. Sadece cinsiyetler arasında  $p < 0.05$  düzeyinde istatistiksel olarak önem bulunmuştur.

### **TBA Analizi (MDA Düzeyleri )**

Kanatlı etindeki doymamış yağ asitlerinin yoğun olması oksidasyonun ve bununla birlikte etteki bozulma olayının daha hızlı başlamasına neden olmaktadır. Oksidatif bozulma ilk olarak, membrandaki fosfolipidlerin doymamış yağ asitlerinde başlamaktadır. Bu durum hidroksiperoksitlerin üretimine ve besinlerin kalitesini kötü yönde etkileyen kısa zincirli aldehit ve ketonların oluşmasına yol açmaktadır. Oluşan lipid oksidasyonunu önlemek amacıyla antioksidanlar kullanılmaktadır (144-146). Çalışmanın amaçlarından bir tanesi de tere tohumunun antioksidan özelliğinin TBA analizi ile incelenmesi ve ortaya konması idi. Bu amaçla çalışmada çiğ göğüs eti +4 °C'de muhafaza edildi ve 1., 7. ve 15. günlerde TBA analizi yapıldı. 1., 7. ve 15. günlerdeki MDA oluşumu ile ölçülen lipid oksidasyon düzeylerinin kontrol ve deneysel gruplar arasındaki farkları ( $p < 0,05$ ) belirlendi. MDA düzeyleri erkek hayvanlarda 15. günde en yüksek 1.10 mg MDA/kg; dişi hayvanlarda ise 15. günde en yüksek kontrol grubunda 1,08 mg MDA/kg; erkek hayvanlarda 1. günde en düşük

0,15 mg MDA/kg ve dişilerde 1. günde en düşük 0,12 mg MDA/kg olarak tespit edildi (Tablo 8, Grafik 8).

Kanatlı eti, düşük yağ içeriği ve çoklu doymamış yağ asidi konsantrasyonlarının yüksek olması ile beğenilen bir besindir (147). TBA analizi, yağların acılaşması sonucu oluşan malondialdehit miktarını bulmak için kullanılan bir yöntemdir. TBA değerinin düşük olması, yağların oksidasyon sonucu oluşan acılaşmanın söz konusu olmadığını göstermektedir. Soyer ve arkadaşları (148), tavuklarda yaptıkları bir çalışmada TBA değerlerini 0,28-0,35 mg MDA/kg olarak bulmuşlardır. Bir çalışmada, çiğ tavukta malondialdehit miktarı 0,44 mg/kg (149); başka bir çalışmada ise tavuk but ve göğüs etlerinin TBA değerlerinin 0,38 mg/kg'dan 0,60 mg/kg'a kadar değiştiği bildirilmiştir (150). Tablo 8'e bakıldığında glukosinolatların diyetlere eklenen oranlarının artmasıyla birlikte TBA değerlerinin de kontrol grubuna göre grup 1, 2 ve 3'de orantılı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum, glukosinolatların tavuk etlerinde oluşabilecek acılaşmayı yani malondialdehit miktarını azalttığını ayrıca tere tohumu oranının daha fazla olduğu gruplarda antioksidan özelliğin daha etkili olduğunu göstermiştir.

### **Histolojik Değerlendirme**

Kontrol ve deney gruplarının duodenum bölgesine ait alınan örneklerde Crossman üçlü boyama ve Sudan Black B yöntemleri kullanılarak histolojik preparatlar hazırlanmıştır. Duodenumun tunika mukoza katmanındaki villus uzunluğu, kript derinliği, kadeh hücre sayılarının histomorfometrik analizleri yapılmıştır.

21. ve 42. gün alınan örneklerdeki histomorfometrik değerlendirmede aynı analizde yer alan erkek ve dişi hayvanlar arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır ( $p < 0,05$ ). Bu sebepten dolayı dişi ve erkekler birlikte değerlendirilmiştir. Duodenumdaki lamina epitaliyalisin kadeh hücrelerinde kontrol grupları ile grup 1 arasında  $p < 0,05$  düzeyinde; grup 2 ve 3 arasında  $p < 0,001$  düzeyinde fark bulunmuştur. 21. güne göre 42. günde yaşa bağlı olarak kadeh hücrelerinde artış olduğu görülmektedir. Duodenuma ait örneklerin kadeh hücrelerine bakıldığında 21. ve 42. günlerde kontrol grubuna göre % 0,05 ve % 0,10 dozunda tere tohumu uygulanan grup 2 ve 3'teki kadeh hücrelerinde önemli bir artış olduğu görülmektedir. Broiler tavuklarda probiyotik ve bazı yem katkılarından sonra, villus morfolojisinde ve kadeh hücresi yoğunluğunda değişmelerin olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (151-153).

Duodenumun villus intestinalis dokusunun uzunlukları incelendiğinde 21. günde kontrol grupları ile grup 1 arasında  $p < 0,05$  düzeyinde, kontrol grupları ile grup 2 ve 3

arasında ise  $p < 0,001$  düzeyinde fark bulunmuştur. 42. günde ise kontrol grubu ve grup 1 arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken kontrol grubu ile grup 2 ve 3 arasında anlamlı bir önem bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). İji ve arkadaşları (154) da, etlik civcivlerde 0-21. günler arasında tüm ince bağırsak kısımlarında villus uzunluğunun arttığını, en uzun villusların duodenum bölgesinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca villus uzunluğunun artışı ile barsaklarda emilim de doğru orantılı olarak artmaktadır. Villus uzunluğunun besin emilimi ile pozitif korelasyona sahip olduğu bilinmektedir (155, 156). Buna bağlı olarak da hayvanlarda yemden yararlanma oranlarında da artış beklenmektedir. Bizim çalışmamızda da % 0,15 dozunda tere tohumu uygulanan grup 3'te yaşın artışıyla da birlikte en iyi yemden yararlanma oranlarına sahip olduğu görülmüştür.

Duodenuma ait kripler derinlik yönünden incelendiğinde 21. günde kontrol ve grup 1'e göre, grup 2 ve grup 3'te istatistiki fark bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). 42. günde kriplerin derinliği bakımından herhangi bir fark bulunmamıştır. Kripler, epitel hücre çoğalmasının meydana geldiği bölgelerdir. Dolayısıyla kriplerin gelişimi, villus gelişimini ve bağırsak emilim yüzeyini direkt etkilemektedir (157). Kriplerin ortasında bulunan stem hücrelerinden epitel hücreler oluşur ve bu epitel hücreleri besin maddelerinin emiliminden sorumludur (158). Verim artışına bağlı olarak villus uzunluğunda artış olmakta, fakat kriplerin derinliği artış göstermemektedir. Kriplerin derinliğinin artması barsak emiliminde sorun olduğu bunu telafi etmek için dokuların kriplerin derinliğini artırmaya çalıştığı bilinmektedir. Yüksek kanola katkılı yemle beslenen broilerlerde yapılan bir çalışmada duodenumdaki villusların uzunluğunun azaldığı fakat kriplerin derinliğinin arttığı bulunmuştur. Buna bağlı olarak da bu çalışmada broiler performans parametrelerinde düşüş görülmüştür (159).

Sonuç olarak; tavuklarda glukosinolat ve hidroliz ürünlerinin enerji dengeleri ve performans parametreleri üzerine etkilerinin incelendiği çalışma, tere tohumunun etçi tavuklarda daha ucuz yem katkısı olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak için yapıldı. Elde edilen bulgular doğrultusunda, etçi tavuklara verilen tere tohumunun içinde bulunan glukosinolat ailesinin bir üyesi olan glukotropaeolinin % 0,05, 0,10 ve 0,15 oranlarının yem katkısı olarak kullanılması performans (özellikle canlı ağırlık ile canlı ağırlık kazancı) ve karkas parametreleri üzerine etkilerinin olmadığı, fakat yem tüketimini % 0,10 oranında tere tohumu eklenen grup 2 dişilerinde azalttığı; yemden yararlanma oranlarının % 0,15 oranında eklenen grup 3 erkeklerinde anlamlı derecede artırdığı tespit edilmiştir.

Histolojik parametreler incelendiğinde; duodenumun villus intestinalis dokusunun uzunluklarında ve duodenuma ait kadeh hücrelerinde 21.ve 42. günlerde kontrol grubuna göre deneme gruplarında artış görüldü. Aynı zamanda, % 0,10 ve 0,15 oranında etken maddenin

eklendiği grup 2 ile 3 dişi ve erkeklerinde MDA düzeylerinde azalma görülmüş ve bu oranların özellikle ticari anlamda tavuk etlerindeki lipid oksidasyonunu engelleyerek raf ömrünü uzatmakta yardımcı olacağı düşünülmektedir.

İlk defa ucuz yem kaynağı olarak bir araştırmada kullanılan brassiceae ailesine ait glukotropaeolin içeren tere tohumunun etçi tavuklarda beklenen performans ve karkas parametreleri üzerine olan pozitif etkileri bu dozlarda belirlenmiş, fakat beklenen etkiler yeterli düzeyde saptanamamıştır. Dolayısıyla bundan sonra yapılacak çalışmalarda glukotropaeolinin doz oranları kademeli bir şekilde artırılarak veya glukosinolatların diğer hidroliz üyelerinin kullanılacağı çalışmalarda etçi tavuklarda enerji, performans ve karkas parametreleri üzerine etkilerinin araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca glukosinolatların diğer hidroliz ürünlerinin antikarsinojenik etkilerini araştırmak amacıyla daha uzun süreli çalışmaların planlanması düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. KARADEMİR G, KARADEMİR, B. Yem katkı maddesi olarak kullanılan biyoteknolojik ürünler. Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi, 41: 61-74, 2003.
2. YEGANI M. Egg yolk antibodies an alternative to antibiotics?. World Poultry, 23: 5-6, 2007.
3. HARTOG LA, OMS GA, DOORENBOS J, MINAMBRES AF. Proceeding of the 15<sup>th</sup> European Symposium on poultry nutrition, Hungary, page 224-232, 2005.
4. KAHRAMAN Z. Bitkisel yem katkı maddelerinin yumurta tavuğu yemlerinde kullanımı. Tavukçuluk Araştırma Dergisi, 8: 34-41, 2009.
5. DINKOVA-KOSTOVA TA, KOSTOV RV. Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. Trends in Molecular Medicine, 18: 337-347, 2012.
6. TRIPATHI MK, MISHRA AS. Glucosinolates in animal nutrition: A review. Animal Feed Science and Technology, 132: 1-27, 2007.
7. DAS S, TYAGI AK, KAUR H. Cancer modulation by glucosinolates: A review. Current Science, 79: 1665-1671, 2000.
8. GADAMER J. Ue ber das Sinigrin. Berichte Deutschen Chemischen Gessellschaft, 30: 2322-2327, 1897.
9. ETTLINGER MG, LUNDEEN AJ. First Synthesis of a mustard glucoside: An enzymatic rearrangement. Journal of American Chemical Society, 79: 1764-1765, 1957.
10. CHALLENGER F. The natural mustard oil glucosides and related isothiosyanates and nitriles. In: Aspects of the organic chemistry of sulphur, Butterworths, page 115-161, 1959.
11. CARTEA ME, VELASCO P. Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. Phytochemistry Reviews, 7: 213-229, 2008.
12. PETERSEN BL, CHEN SX, HANSEN CH, Composition and content of glucosinolates in developing, arabidopsis thaliana. Planta, 214: 562-571, 2002.
13. FAHEY JW, ZALCMANN AT, TALALAY P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry, 56: 5-51, 2001.
14. HOLST B, WILLIAMSON G. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Natural Product Reports, 21: 425-447, 2004.
15. BRIGNALL MS. Prevention and treatment of cancer with indole-3-carbinol. Alternative Medicine Review, 6: 580-589, 2001.



16. STONER G, CASTO B, RALSTON S, ROEBUCK B, PEREIRA C, BAILEY G. Development of a multi-organ rat model for evaluating chemopreventive agents: Efficacy of indole-3-carbinol. *Carcinogenesis*, 23: 265-272, 2002.
17. RIBY JE, CHANG GH, FIRESTONE GL, BJELDANES LF. Ligand-independent activation of estrogen receptor function by 3,3'-diindolylmethane in human breast cancer cells. *Biochemical Pharmacology*, 60: 167-177, 2000.
18. RAHMAN KM, SARKAR FH. Steroid hormone mimics: Molecular mechanisms of cell growth and apoptosis in normal and malignant mammary epithelial cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 80: 191-201, 2002.
19. ROBIQUET PJ, BOUTRON F. Sur la semence de moutarde. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 17: 279-282, 1831.
20. KJAER A, LARSEN OP. Non-protein amino acids, cyano-genic glycosides and glucosinolates. In: Geissman, T.A. (Ed.), *Specialist Periodical Reports*, The Chemical Society, page 71-105, 1973.
21. UNDERHILL EW. Glucosinolates, In: Bell E.A., Charlwood B.V. (Eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*. Springer, page 493-511, 1980.
22. BROWN PD, MORRA MJ. Control of Soil-Borne Plant Pests Using Glucosinolate-Containing Plants. *Advances in Agronomy*, 61: 167-231, 1997.
23. KRISTINA L, WADE A, LAN J, GARRARD B, FAHEY JW. Improved Hydrophilic Interaction Chromatography Method for The Identification and Quantification of Glucosinolates. *Journal of Chromatography*, 1154: 469-472, 2007.
24. VERKERK R, SCHREINER M, KRUMBEIN A, CISKA E, HOLST B, ROWLAND I, SCHRIJVER RD, HANSEN M, GERHÄUSER C, MITHEN R, DEKKER M. Glucosinolates in brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53: 219-265, 2009.
25. TRAKA M, MITHEN R. Glucosinolates, isothiocyanates and human health. *Phytochemistry*, 8: 269-282, 2009.
26. SIMPSON MG. *Plant Systematics*. Elsevier-Academic Press, Amsterdam, page 50, 2006.
27. FORTE A, DE SANCTIS R, LEONETTI G, MANFREDELLI S, URBANO V, BEZZI M. Dietary chemoprevention of colorectal cancer. *Annali Italiani di Chirurgia*, 79: 261-267, 2008.
28. NASKA A, FOUSKAKIS D, OIKONOMOU E, ALMEIDA MDV, BERG MA, GEDRICH K, MOREIRAS O, NELSON M, TRYGG K, TURRINI A, REMAUT AM, VOLATIER JL, TRICHOPOULOU A. Dietary patterns and their socio-demographic

- determinants in 10 European countries: data from the DAFNE databank. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60: 181-190, 2005.
29. WURR DCE, FELLOWS JR, PHELPS K. Investigating trends in vegetable crop response to increasing temperature associated with climate change. *Scientia Horticulturae*, 66: 255-263, 1996.
30. BJORKMAN M, KLINGEN I, BIRCH ANE, BONES AM, BRUCE TJA, JOHANSEN TJ, MEADOW R, MOLMANN J, SELJASEN R, SMART LE, STEWART D. Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health- Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72: 538-556, 2011.
31. HALKIER AB, DU L. The biosynthesis of glucosinolates. *Trends in Plants Science*, 2: 425-431, 1997.
32. JAMES DC, ROSSITER JT. Development and characteristics of myrosinase in *Brassica napus* during early seedling growth. *Physiologia Plantarum*, 82: 163-170, 1991.
33. CAMPBELL LD, SLOMINSKI BA, STANGER NE. Influence of cecectomy and dietary antibiotics on the fate of ingested intact glucosinolates in poultry. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, Poznan, Poland, 1704-1709, 1987.
34. KLEINWACHTER M, SELMAR D. A novel approach for reliable activity determination of ascorbic acid depending myrosinases. *Journal of Biochemical Biophysical Methods*, 59: 253-265, 2004.
35. BONES AM, ROSSITER JT. The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum*, 97: 194-208, 1996.
36. RASK L, ANDREASSON E, EKBOM B, ERIKSSON S, PONTOPPIDAN B, MEIJER J. Myrosinase: Gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*, 42: 93-113, 2000.
37. JORGENSEN LB. Myrosine cells ve and dilated cisternaeof the endoplasmic reticulum in the order *Capparales*. *Nordic Journal of Botany*, 1: 433-445, 1981.
38. BENNET R, MELLON FA, KROON PA. Screening Crucifer Seeds as Sources of Specific Intact Glucosinolates Using Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography Negative Ion Electrospray Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 428-438, 2004.
39. LEONI O, IORI R, PALMIERI S, ESPOSITO E, MENEGATTI E, CORTESI R, NASTRUZZI C. Myrosinase-Generated Isothiocyanate from Glucosinolates: Isolation, Characterization and In Vitro Antiproliferative Studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 5: 1799-1806, 1997.

40. KELLY PJ, BONES A, ROSSITER JT. Sub-cellular immunolocalization of the glucosinolate sinigrin in seedlings of *Brassica juncea*. *Planta*, 3: 370-377, 1998.
41. SONG L, MORRISON JJ, BOTTING NP, THORNALLEY PJ. Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in vegetable extracts and blood plasma by LC-MS/MS. *Analytical Biochemistry*, 347: 234-243, 2005.
42. SHAPIRO TA, FAHEY JW, WADE KL, STEPHENSON KK, TALALAY P. Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiology and Biomarkers and Prevention*, 5: 501-508, 2001.
43. QUINSAC A, CHARRIER A, RIBAILLIER D. Glucosinolates in Etiolated Sprouts of Sea-Kale (*Crambe maritima L.*). *Journal of the Science of Food Agriculture*, 65: 201-207, 1994.
44. COLE R. Isothiocyanates, nitriles and thiocyanates as products of autolysis of glucosinolates in Cruciferae. *Phytochemistry*, 15: 759-762. 1976.
45. FENWICK GR, HEANEY RK, MULLIN WJ. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18: 123-201, 1983.
46. MCGREGOR DI. Collaborative study of glucosinolate analysis. In: *Canola Council of Canada, Analytical Chemistry of Rapeseed and its Products: A Symposium*, page 59-98, 1980.
47. HALKIER BA. Biosynthesis and evolution of glucosinolates. 6th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity, Los Angeles, United States, 2002.
48. MITHEN R. Glucosinolates- biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation*, 34: 91-103, 2001.
49. MEYER V, JANNY A. Ueber die Acetoxime. *Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft*, 15: 1164-1167, 1882.
50. WITTSTOCK U, HALKIER BA. Glucosinolate research in the Arabidopsis era. *Trends in Plant Science*, 7: 263-270, 2002.
51. DATTA PK, DIWAKAR BT, VISWANATHA S, MURTHY KN, NAIDU KA. Safety evaluation studies on Garden cress (*Lepidium sativum L.*) seeds in Wistar rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 4: 37-43, 2011.
52. RADWAN HM, EL-MISSIRY MM, AL-SAID WM, ISMAIL AS, ABDEL KA, SHAFEEK, SEIF-EL-NASR MM. Investigation of the Glucosinolates of *Lepidium sativum*

- Growing in Egypt and Their Biological Activity. Research Journal of Medicine and Medical Sciences, 2 (2): 127-132, 2007.
53. DUKE JA. Handbook of Phytochemical Constituents of gras Herbs and Other Economical Plants, CRC Press, London, UK, 688 pages, 1992.
54. EDDOUKS M, MAGHRANI M, ZEGGWAGH NA, MICHEL JB. Study of the hypoglycaemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 97: 391-395, 2005.
55. DOKE S, GUHA M. Garden cress (*Lepidium sativum* L.) seed - an important medicinal source: A review. Journal of Natural Product Plant Resource, 4: 69-80, 2014.
56. MITHEN RF, DEKKER M, VERKERK R, RABOT S, JOHNSON IT. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80: 967-984, 2000.
57. WETTER LR, YOUNGS CG. A thiourea-UV assay for total glucosinolate content in rapeseed meals. Journal of the American Oil Chemists' Society, 53: 162-164, 1976.
58. ZHAO F, EVANS EJ, BILSBORROW PE, SCHUNG E, SYERS JK. Correction for protein content in the determination of the glucosinolate content of rapeseed by the X-RF method. Journal of the Science of Food and Agriculture, 58(3): 431-433, 1992.
59. HEANEY RK, FENWICK GR. Glucosinolates in Brassicaceae vegetables. Analysis of 22 varieties of Brussels sprout (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 31: 785-793, 1980.
60. SLOMINSKI BA, CAMPELL LD. Gas chromatographic determination of indole glucosinolates- are-examination. Journal of the Science of Food and Agriculture, 40 (2): 131-143, 1987.
61. HELBOE P, OLSEN O, SORENSEN J. Separation of glucosinolates by high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 197: 199-205, 1980.
62. MINCHINTON I, SANG J, BURKE D, TRUSCOTT JW. Separation of desulphoglucosinolates by reversed phase high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 247: 141-148, 1982.
63. BJORKQVIST B, HASE A. Separation and determination of intact glucosinolates in rapeseed with HPLC. Journal of Chromatography, 435: 501-507, 1988.
64. KAUSHIK N, AGNIHOTRI A. HPLC method for separation and quantification of intact glucosinolates. Chromatographia, 49: 281-284, 1999.
65. FAHEY JW, STEPHENSON KK. Cancer chemoprotective effects of cruciferous vegetables. Hortscience, 34: 4-8, 1999.

66. YEMİŞ O, ARTIK N. Glukosinolatlar ve insan sağlığı. *Gıda*, 32: 293-303, 2007.
67. GREER MA. The natural occurrence of goitrogenic agents. *Recent Progress in Hormone Research*, 18: 450-451, 1965.
68. DREWNOWSKI A, GOMEZ-CARNEROS C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer. *The american journal of clinical nutrition*, 32: 293-303, 2000.
69. ROZMAN KK, KLAASSEN CD. Absorption, distribution, and excretion of toxicants. In: Klaassen CD, ed. *Casarett and Doll's Toxicology; The basic science of poisons*. New York: Mc Graw-Hill, 46: 107-132, 2001.
70. AKSOY Y. Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü. *Türkiye Klinik Tıp Bilimleri*, 22: 442-448, 2002.
71. AYDEMİR B, KARADAĞ SARI E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2: 56-60, 2009.
72. FAHEY JW, TALALAY P. Antioxidant functions of sulforaphane: a potent inducer of phase II detoxication enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 973-979, 1999.
73. BROWNLEE NR, HUTTNER JJ, PANGANAMALA RV, CORNWELL DG. Role of Vitamin E in Glutathione-induced Oxidant Stress: Methemoglobin, lipid peroxidation and hemolysis. *The Journal of Lipid Research*, 18: 635-44, 1977.
74. STOCKER R, WEIDEMANN MJ, HUNT NH. Possible Mechanism Responsible for the Increased Ascorbic Acid Content of Plasmodium Vinckei-infected Mouse Erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 882: 391-397, 1986.
75. VIG AP, RAMPAL G, THIND ST, ARORA S. Bio-protective effects of glucosinolates. *Food Science and Technology*, 42: 1561-1572, 2009.
76. GUEGUEN Y, MOUZAT K, FERRARI L. Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. *Annales de biologie clinique*, 64: 535-548, 2006.
77. LEWIS DF. P450 structures and oxidative metabolism of xenobiotics. *Pharmacogenomics*, 4: 387-395, 2003.
78. BENSON AM, HUNKELER MJ, TALALAY P. Increase of NAD(P)H:quinone reductase by dietary antioxidants: Possible role in protection against carcino-genesis and toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 77: 5216-5220, 1980.
79. KENSLER TW. Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxication enzymes. *Environmental Health Perspectives*, 105: 964-970, 1997.
80. PRESTERA T, TALALAY P, ALAM J, AHN YI, LEE PJ, CHOI AMK. Parallel induction of heme oxygenase-1 and chemoprotective phase II enzymes by elec-trophiles and

antioxidants: regulation by upstream antioxidant-responsive elements (ARE). *Molecular Medicine*, 1: 827-837, 1995.

81. TALALAY P. The role of enzyme induction in protection against carcinogenesis. *Cancer Chemoprevention*, CRC Press, Boca Raton, FL, page 469-478, 1992.

82. MURRAY RK, GRANNER DK, MAYES PA, RODWELL VW. Metabolism of the xenobiotics. *Harper's Biochemistry*, Appleton & Lange, a Publishing Division of prentice Hall 26<sup>th</sup> Edition, page 626-632, 2003.

83. RODRIGUEZ-CANTU LN, GUTIERREZ-URIBE JA, ARRIOLA-VUCOVICH J, DIAZ-DE LA GARZA RI, FAHEY JW, SERNA-SALDIVAR S. Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) Sprouts and extracts rich in glucosinolates and isothiocyanates affect cholesterol metabolism and genes involved in lipid homeostasis in hamsters. *Journal of Food Agricultural and Chemistry*, 59: 1095-1103, 2011.

84. LEE JJ, SHIN HD, LEE YM, KIM AR, LEE MY. Effect of broccoli sprouts on cholesterol-lowering and anti-obesity effects in rats fed high fat diet. *Journal of the Korean Society Food Science Nutrition*, 38: 309-318, 2009.

85. HSIAO-PEI CHANG MS, MEI-LIN WANG MS, MING-HSING CHAN MD, YEN-SHUO CHIU MD, YUE-HWA, CHEN PD. Antiobesity activities of indole-3-carbinol in high-fat-diet-induced obese mice. *Nutrition*, 27: 463-470, 2011.

86. MEIER U, GRESSNER AM. Endocrine regulation of energy metabolism. Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clinical Chemistry*, 50: 1511-1525, 2004.

87. STOFKOVA A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocrine Regulations*, 43: 157-168, 2009.

88. SAVINO F, PETRUCCI E, NANNI MO GE. Adiponectin: an intriguing hormone for paediatricians. *Acta Paediatrica*, 97: 701-705, 2008.

89. OUCHI N, PARKER JL, LUGUS JJ, WALSH K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Review Immunology*, 11: 85-97, 2011.

90. MATSUBARA M, MARUOKA S, KATAYOSE S. Inverse Relationship Between Plasma Adiponectin and Leptin Concentrations in Normal-Weight and Obese Women. *European Journal of Endocrinology*, 147: 173-180, 2002.

91. HOUSEKNECHT KL, BAILE CA, MATTERI RL, SPURLOCK ME. The biology of leptin: A review. *Journal of Animal Science*, 76: 1405-1420, 1998.

92. VERNON RG, DENIS RG, SORENSEN A, WILLIAMS G. Leptin and the adaptations of lactation in rodents and ruminants. *Hormone and Metabolic Research*, 34: 678-685, 2002.

93. RICHARDS BJ. <http://www.wellnessresources.com/health/articles>, I3C and DIM for breast prostate cancer prevention, 2012.
94. AL-HAMEDAN WA. Protective Effect of *Lepidium sativum* L. Seeds Powder and Extract on Hypercholesterolemic Rats. *Journal of American Science*, 6 (11): 873-879, 2010.
95. BARAN MS, KOCABAĞLI N. Yemlerdeki östrojenik etkili maddeler ve hayvanlar üzerindeki etkileri, *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26: 141-48, 2000.
96. DROCHNER W. Aktuelle Aspekte Zur Wirkung Von Phytohormonen, Mykotoxinen und Ausgewählten Schädlichen Pflanzeninhaltsstoffen Auf Die Fruchtbarkeit Beim Weiblichen Rind. *Übers Tierernährg*, 18: 177-196, 1990.
97. GARDNER JJ, ADAMS NR. The effect of zeranol and testosterone on merino wethers exposed to highly oestrogenic subtterranean clover pasture. *Australian Veterinary Journal*, 63: 188-190, 1986.
98. STEINMETZ KA, POTTER JD. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96: 1027-1039, 1996.
99. BLOCK G, PATTERSON B, SUBAR A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18: 1-29, 1992.
100. TALALAY P. The war against cancer: new hope. *Proceedings of the American Philosophical Society* 143: 52-72, 1999.
101. MATUSHESKI N, JEFFREY EH. Comparision of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli: sulphoraphane and sulphoraphane nitrile. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5743-5749, 2001.
102. PROCHASKA HJ, SANTAMARIA AB, TALALAY P. Rapid detection of inducers of enzymes that protect against carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 89: 2394-2398, 1992.
103. FAHEY JW, ZHANG Y, TALALAY P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 94: 10367-10372, 1997.
104. ZHANG Y, KENSLER TW, CHO CG, POSNER GH, TALALAY P. Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 91: 3147-3150, 1994.
105. HARVEY CJ, THIMMULAPPA RK, SETHI S, KONG X, YARMUS L, BROWN RH, FELLER-KOPMAN D, WISE R, BISWAL S. Targeting Nrf2 signaling improves bacterial clearance by alveolar macrophages in patients with COPD and in a mouse model. *Science Translational Medicine*, 3: 78-85, 2011.

106. MAHASSNI SH, AL-REEMI RM. Cytotoxic effect of an aqueous extract *Lepidium sativum* L. seeds on human breast cancer cells. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12 (4): 605-613, 2013.
107. NORMARK S, NILSSON C, NORMARK BH, HORNEF MW. Persistent infection with *Helicobacter pylori* and the development of gastric cancer. *Advances in Cancer Research*, 90: 63-89, 2003.
108. FAHEY JW, HARISTOY X, DOLAN PM, KENSLER TW, SCHOLTUS I, STEPHENSON KK, TALALAY P, LOZNIEWSKI A. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 99: 7610-7615, 2002.
109. WU L, ASHRAF MHN, FACCI M, WANG R, PATERSON PG, FERRIE A, JUURLINK BHJ. Dietary approach to attenuate oxidative stress, hypertension, and inflammation in the cardiovascular system. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 101: 7094-709, 2004.
110. TALALAY P, FAHEY JW, HEALY ZR, WEHAGE SL, BENEDICT AL, MIN C, DINKOVA-KOSTOVA AT. Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 104: 17500-17505, 2007.
111. MAGHRANI M, ZEGGWAGH NA, MICHEL JB, EDDOUKS M. Antihypertensive effect of *Lepidium sativum* L. in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 193-197, 2005.
112. ABUELGASIM A, NUHA HS, MOHAMMED AH. Hepatoprotective effect of *lepidium sativum* against carbon tetrachloride induced damage in rats. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 3: 20-23, 2008.
113. SARWAR M, KIRKEGAARD JA, WONG PTW, DESMARCHELIER JM. Biofumigation potential of brassicas. III in-vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant and Soil*, 201: 103-112, 1998.
114. LEBLOVA-SVOBODOVA S, KOSTIR J. Action of isothiocyanates on germinating plants. *Experientia*, 18: 554-555, 1962.
115. BETZ JM, FOX WD. High-performance liquid chromatographic determination of glucosinolates in Brassica vegetables, In: *Food phytochemicals. I: Fruits and vegetables*. ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC, page:181-196, 1994.



116. ŞAHİN A, KUTLU HR, GÖRGÜLÜ M. Organik Tavukçuluk: Organik Tarım Prensiplerine Uygun Bakım ve Besleme ile Piliç Eti ve Yumurta Üretimi. 4. Zootekni Bilim Kongresi, Isparta, 2004.
117. LASIL E, TANKER M, SAR S. Headache folk remedies used in Central Anatolia region. Journal of Faculty of Pharmacy, Ankara, 14: 67-80, 1984.
118. BAYTOP T. Türkiye'de bitkiler ile tedavi. İstanbul üniversitesi Yayınları, No. 3255, 1984.
119. DAVIS PH. Flora of Turkey and the east aegen island. Edinburg University Press, volume 5: 1-10, 1982.
120. COWAN MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564-582, 1999.
121. GILL C. Hebs and plant extracts as growth enhancers. Feed Interntional, 20 (4): 20-22, 1999.
122. HOTTA K, FUNAHASHI T, ARITA Y, TAKAHASHI M, MATSUDA M, OKAMOTO Y. Plasma concentrations of a novel adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Arteriosclerosis and Thrombosis Vascular Biology, 20: 1595 -1599, 2000.
123. PAJVANI UB, DU X, COMBS TP, BERG AH, RAJALA MW, SCHULTHESS T. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin Implications fpr metabolic regulation and bioactivity. Journal of Biological Chemistry, 278: 9073-9085, 2003.
124. MORAVEJ H , HOMAYOUN KHAZALI H , SHIVAZAD M, MEHRABANI-YEGANEH H. International Plasma Concentrations of Thyroid Hormone and Growth Hormone in Lohmann Male Broilers Fed on Different Dietary Energy and Protein Levels. Journal of Poultry Science, 5 (5): 457-462, 2006.
125. ROSEBROUGH RW, MCMURTRY JP. Protein and energy relationships in the broiler chicken effect of protein quantity and quality on metabolism. British Journal of Nutrition, 70: 667-678, 1993.
126. ROSEBROUGH RW, MCMURTRY JP, VASLATOS-YONKEN RV. Dietary fat and protein interactions in the broiler. Poultry Science, 78: 992-998, 1999.
127. TANAKA T, OHTANI S, SHIGENO K. Effects of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. Poultry Science, 62: 4450-4518, 1983.
128. GONZALES E, BUYSE J,LODDI MM, TAKITA TS, BUYS N, DECUPYERE E. Performance, incidence of metabolic disturbances and endocrine variables of food-restricted male broiler chickens. British Poultry Science, 39: 671-678, 1998.

129. ABOU-ELKHAIR, AHMED HA, SELIM S. Effects of black pepper (*Piper Nigrum*), Turmeric Powder (*Curcuma Longa*) and Coriander Seeds (*Coriandrum Sativum*) and their combinations as feed additives on growth performance, carcass traits, some blood parameters and humoral immune response of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27 (6): 847-854, 2014.
130. LIEN TF, HORNG YM, YANG KH. Performance, serum characteristics, carcass traits and lipid metabolism of broilers as affected by supplement of chromium picolinate. *British Poultry Science*, 40: 357-363, 1999.
131. KUSNADI E, DJULARDI A. Physiological Dynamic of Broiler at Various Environmental Temperatures. *International Journal of Poultry Science*, 10 (1): 19-22, 2011.
132. SAMANTA S, HALDAR S, BAHADUR V, GHOSH TK. Chromium picolinate can ameliorate the negative effects of heat stress and enhance performance, carcass and meat traits in broiler chickens by reducing the circulatory cortisol level. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 787-796, 2008.
133. BAHRAMI A, MOEINI MM, GHAZI SH, TARGHIB MR. The effect of different levels of organic and inorganic chromium supplementation on immune function of broiler chicken under heat-stress conditions. *Journal of Applied Poultry Research*, 21: 209-215, 2012.
134. EBRAHIMZADEH SK, FARHOOMAND P, NOORI K. Immun response of broiler chickens fed diets supplemented with different level of chromium methionine under heat stress conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25: 256-260, 2012.
135. SUN JM, RICHARDS MP, ROSEBROUGH RW, ASHWELL CM, MCMURTRY JP, COON CN. The Relationship of Body Composition, Feed Intake, and Metabolic Hormones for Broiler Breeder Females. *Poultry Science*, 85: 1173-1184, 2006.
136. BILGILI S, CELEBILER AC, DOĞAN A, KARACA B. Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients. *Endocrine Regulations*, 42: 63-68, 2008.
137. CONSIDINE RV, SINHA MK, HEIMAN ML, KRIAUCIUNAS A, STEPHENS TW, NYCE MR. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England Journal of Medicine*, 334: 292-295, 1996.
138. TAOUIS M, DRIDI S, CASSY S, BENOMAR Y, RAVEN N, RIDEAU N, PICARD M, WILLIAMS J, GERTLER A. Chicken leptin: properties and actions. *Domestic Animal Endocrinology*, 21: 319-327, 2001.

139. SATO K, TAKAHASHI T, TAKAHASHI Y, SHIONO H, KATOH N, AKIBA Y. Preparation of chylomicrom and VLDL with monoacid-rich triacylglycerol and characterization of kinetic parameters in lipoprotein lipase mediated hydrolysis in chickens. *Journal of Nutrition*, 129:126-131, 1999.
140. SATO K, NISHIDA M, TAKAHASHI T, AKIBA Y. Nutritional regulation of leptin expression in adipose tissues of broiler chickens. XXI Montreal: World's Poultry Congress, Page 27, 2000.
141. RAVER N, TAOUIS M, DRIDI S, DEROUET M, SIMON J, ROBINZON B, DJIANE J, GERTLER A. Large-Scale Preparation of Biologically Active Recombinant Chicken Obese Protein (Leptin). *Protein Expression and Purification*, 14: 403-408, 1998.
142. ASHWELL CM, CZERWINSKI SM, BROCHT DM, MCMURTRY JP. Hormonal regulation of leptin expression in broiler chickens. *American Journal of Physiology*, 276: 226-232, 1999.
143. NURULHUDA MH, AZLAN A, ISMAIL A, AMOM Z, SHAKIRIN FH. Cholesterol-lowering and arteriosclerosis inhibitory effect of sibu olive in cholesterol fed-rabbit. *Asian Journal of Biochemistry*, Volume 7, 2012.
144. GRAY JI, PEARSON AM. Rancidity and warmed-over flavor. *Advances in Meat Research*, 3: 221-269, 1987.
145. VERCELLOTTI JR, ANGELO AJ, SPANIER AM. Lipid oxidation in foods, an overview, *Lipid Oxidation in Food*, page 112-145, Washington DC, American Chemical Society Press, 1992.
146. YAMAMOTO Y, NIKI E. Role of antioxidants in lipid peroxidation, in: vigo-pelfrey, c. (ed) *Membrane Lipid Oxidation*, page 233-256, Boca Raton, FL, CRC Press, 1990.
147. BOTSOGLOU NA, CHRISTAKI E, FLETOURIS DJ, FLOROU-PANERI P, SPAIS AB. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sciences*, 62: 259-265, 2002.
148. SOYER A, KOLSARICI N, CANDOĞAN K. Tavuk Etlerinin Bazı Kalite Özellikleri ve Besin Öğelerine Geleneksel ve Mikrodalga ile Pişirme Yöntemlerinin Etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(2): 289-296, 1999.
149. NEWBURG DS, CONCON JM. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. *Journal of Food Science*, 45: 1681-1683, 1980.

150. PIKUL J, LESZCZYNSKI DE, BECHTEL PJ, KUMMEROW FA. Effects of frozen storage and cooking on lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Food Science*, 49: 838-843, 1984.
151. ICHIKAWA H, KUROIWA T, INAGAKIA A, SHINEHA R, NISHIHIRA T. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. *Digestive Diseases Sciences*, 44: 2119-2123, 1999.
152. SHAMATO K, YAMAUCHI K. Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. *Poultry Science*, 79: 718-723, 2000.
153. SAMANYA M, YAMAUCHI K. Histological villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var.natto. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 133: 95-104, 2002.
154. IJI PA, SAKI A, TIVEY DR. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science*, 42: 505-513, 2001.
155. YAMAUCHI K, TARACHAI P. Changes in intestinal villi, cell area, and intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. *British Poultry Science*, 41: 416-423, 2000.
156. MATHLOUTHI N, LALLES JP, LEPERCQ P, JUSTE C, LARBIER M. Xylanase and glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. *Journal of Animal Science*, 80: 2773-2779, 2002.
157. GEYRA A, UNI Z, SKLAN D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science*, 80: 776-782, 2001.
158. DE SANTA-BARBARA P, VAN DEN BRIK GR, ROBERTS DJ. Development and differentiation of the intestinal epithelium. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60: 1322-1332, 2003.
159. SHARIFI SD, GOLESTANI G, YAGHOBFAR A, KHADEM A, PASHAZANUSSI H. Effects of supplementing a multienzyme to broiler diets containing a high level of wheat or canola meal on intestinal morphology and performance of chicks. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22: 671-679, 2013.

## TEŞEKKÜR

Doktora tez konumun belirlenmesi, gerçekleştirilmesi ve yazım aşamalarında yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Ümit POLAT'a, tezimin çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Meltem TANRIVERDİ, Doç. Dr. Nazmiye GÜNEŞ, Doç. Dr. Abdullah YALÇIN, Yard. Doç. Dr. Saime GÜZEL, Yard. Doç. Dr. Duygu UDUM KÜÇÜKŞEN'e ve çalışma arkadaşım Araş. Gör. S. Can ÖZCAN'a, tezimin deneysel aşamasında tavukların bakım beslenmesinde yardımcı olan U.Ü. Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi tavukçuluk ünitesinde görevli Vet. Hek. Dr. Ahmet MISIRLIOĞLU'na, Zootekni Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Abdülkadir ORMAN'a, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Derya YEŞİLBAĞ'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Hatice ERDOST ve Yard. Doç. Dr. Tuncay İLHAN'a, HPLC analizlerinin gerçekleştirilmesini sağlayan United States Department of Agriculture USA'de görevli Dr. Mark A. BERHOW'a, manevi desteğini hiç esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili annem Ayşe Zafer KARAKÇI ve babam Dr. Naim KARAKÇI'ya ve sevgili eşim Mahmut BELENLİ'ye çok teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

03.02.1982 yılında Ankara’da doğdum. 1993 yılında Ticaret ve Sanayi Odası İlköğretim Okulu ve 1997 yılında Özel Tunçsiper Okullarında ilköğrenimimi ve 2000 yılında Bursa Cumhuriyet Lisesi’nde ortaöğrenimimi tamamladım. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde öğrenimime başladım. 2004 yılında 45 gün süreyle yaz stajımı yapmak üzere Justus Liebig Üniversitesi Giessen /Almanya’ya gittim. 2005 yılında üniversiteden mezun oldum. Mezun olduktan sonra çeşitli özel şirketlerde ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nda çalıştım. 2009 yılında Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım. 2013 yılında araştırma görevlisi olarak atandım. 2014 yılında cruciferious sebzelerinin bazı kanser türleri üzerine etkilerini araştırmak amacıyla Erasmus kapsamında Dundee Üniversitesi Jacqui Wood Kanser Araştırma Enstitüsü İskoçya’ya 3 ay süreyle gittim. Görev sürem içerisinde anabilim dalında gerçekleşen araştırma projelerinde yer aldım.