

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KANATLI HAYVAN YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI



**RASYONLARINA NAR KABUĞU TOZU VE PROBİYOTİK
İLAVESİ YAPILAN ETLİK PİLİÇLERİN SERUMLARINDA
BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SERKAN YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK

BOLU, EKİM - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Serkan YILDIZ tarafından hazırlanan “**Rasyonlarına Nar Kabuğu Tozu ve Probiyotik İlavesi Yapılan Etlik Piliçlerin Serumlarında Büyüme Faktörlerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 30/10/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Ömür Gülsüm DENİZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Cansu ÖNAL
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan 2022/16/A3 sayısı ile etik izin alınmıştır.

SERKAN YILDIZ

ÖZET

**RASYONLARINA NAR KABUĞU TOZU VE PROBİYOTİK İLAVESİ
YAPILAN ETLİK PİLİÇLERİN SERUMLARINDA BÜYÜME
FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SERKAN YILDIZ
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KANATLI HAYVAN YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ HAYRİYE SOYTÜRK)**

**BOLU, EKİM - 2024
XII + 34**

Bu çalışma rasyonlarına probiyotik, nar kabuğu tozu ve karışımları eklenen etlik piliçlerin serumlarındaki büyüme faktörlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Kontrol grubu bazal yemle, diğer gruplar ise bazal yeme probiyotik (1,5 g/kg), nar kabuğu tozu (3 g/kg), ve probiyotik (1,5 g/kg) + nar kabuğu tozu (3 g/kg) ilave edilen yemlerle beslenmiştir. Deneme 42 gün sürdürülmüş ve yemleme ad-libitum olarak yapılmıştır. Çalışmadaki hayvanlardan alınan kanlardan serum elde edilmiştir. Elisa yöntemi ile serumlardaki İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), büyüme hormonu (BH) ve Leptin değerleri tespiti edilmiştir. Serum IGF-1 seviyesi probiyotik (PR) ve Nar kabuğu (NK) grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0.015$; $0,043$) ($p<0.05$). Serum Leptin seviyesi probiyotik (PR) ve Probiyotik +Nar kabuğu (PR+NK) kontrol ve Nar Kabuğu (NK) grubundan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). PR grubu ve NK+PR grubunda serum leptin seviyesi Kontrol ve Nar kabuğu (NK) grubundan anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,05$). Serum Büyüme Hormonu seviyesi probiyotik (PR) ve Nar kabuğu (NK) kontrol ve Probiyotik +Nar Kabuğu (PR+NK) grubundan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Nar kabuğu tozunun etlik piliçlerde büyüme faktörleri üzerine etkili olacağı dozların tespiti amacıyla daha düşük ve yüksek dozlarla yeni çalışmalar yapılabilir.

ANAHTAR KELİMELEER: Nar kabuğu tozu, Probiyotik, Etlik piliç, Büyüme faktörleri, Leptin

ABSTRACT

DETERMINATION OF GROWTH FACTORS IN THE SERUM OF BROILER CHICKENS WHOSE DIETS WERE SUPPLEMENTED WITH POMEGRANATE PEEL POWDER AND PROBIOTICS

MSC THESIS

SERKAN YILDIZ

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF POULTRY SCIENCE

(SUPERVISOR: ASSIST PROF. DR. HAYRİYE SOYTÜRK)

BOLU, OCTOBER 2024

XII + 34

This study was conducted to determine the growth factors in the serum of broiler chickens whose diets were supplemented with probiotics, pomegranate peel powder and mixtures. The control group was fed with basal feed, while the other groups were fed ad libitum with feeds containing probiotics (1.5 g/kg), pomegranate peel powder (3 g/kg), and probiotics (1.5 g/kg) + pomegranate peel powder (3 g/kg) added to the basal feed. The trial lasted for 42 days. Serum was obtained from blood taken from the animals in the study. Growth hormone (GH), Insulin-like growth factor (IGF-1) and Leptin values in serum were determined by the Elisa method. Serum IGF-1 level was found to be significantly lower in the probiotic (PR) and Pomegranate peel (NK) groups than in the control group ($p=0.015$; 0.043 , respectively) ($p<0.05$). Serum Leptin level was found to be significantly lower in probiotic (PR) and Probiotic + Pomegranate Peel (PR+NK) groups than in control and Pomegranate Peel (NK) groups ($p<0.05$). Serum leptin level in the PR group and NK+PR group was significantly lower than the Control and Pomegranate peel (NK) groups ($p<0.05$). Serum Growth Hormone level was found to be significantly lower in the probiotic (PR) and Pomegranate Peel (NK) control and Probiotic + Pomegranate Peel (PR+NK) groups ($p<0.05$). New studies can be conducted with lower and higher doses to determine the effective doses of pomegranate peel powder on growth success in broiler chickens.

KEYWORDS: Pomegranate peel powder, Probiotic, Broiler, Growth factors, Leptin

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ	ix
FOTOĞRAF LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Nar	3
2.1.1 Nar Üretimi.....	3
2.1.2 Narın Kimyasal Bileşimi	4
2.1.3 Nar Kabuğu ve Nar Kabuğu Tozu	4
2.2 Probiyotikler	7
2.3 Büyüme Hormonu	7
2.4 IGF-1.....	9
2.5 Leptin	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1 Doku Materyali	15
3.2 Deneme Hayvanlarının Bakımı ve Beslenmesi	15
3.3 İstatistik Analizler.....	19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	20
4.1 IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1)	26
4.2 Leptin (LEP)	26
4.3 Büyüme Hormonu (BH)	27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	29
6. KAYNAKLAR.....	30

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Karaciğer dokusunda IGF-1 geninin ekspresyon seviyesi.....	9
Şekil 4.1. Standart hazırlanması	18
Şekil 4.2. IGF-1 konsantrasyonu	22
Şekil 4.3. Leptin Konsantrasyonu	23
Şekil 4.4. Büyüme Hormonu (BH) konsantrasyonu	25
Şekil 4.5. Serum IGF-1 seviyesi (^a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; NK+PR grubu ile karşılaştırıldığında).....	26
Şekil 4.6. Serum Leptin(LEP) seviyesi (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; NK+PR grubu ile karşılaştırıldığında).....	27
Şekil 4.7. Serum Büyüme Hormonu (BH) seviyesi (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; NK+PR grubu ile karşılaştırıldığında).....	27

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan etlik piliç yemleri ve besin madde kompozisyonları.	16
Tablo 4.1. IGF1 elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar	20
Tablo 4.2. Leptinin elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar	22
Tablo 4.3. BH'nın elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar.....	24
Tablo 4.4. Etlik piliç serumlarındaki büyüme hormonu, insulin benzeri büyüme faktörü ve leptin seviyeleri. (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; NK+PR grubu ile karşılaştırıldığında).....	26

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 2.1. Nar.....	3
Fotoğraf 2.2. Nar kabuğu ve nar kabuğu tozu.....	5



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

%	: Yüzde
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BH	: Büyüme Hormonu
Ca	: Kalsiyum
cDNA	: Komplementer DNA
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksribonükleik asit
Fe	: Demir
g	: Gram
HDL-C	: Yüksek seviye kolesterol
IGF-1	: İnsülün Benzeri Büyüme Faktörü
Kcal	: Kilo kalori
Kg	: Kilogram
LAB	: Lactobacillus
LDL-C	: Düşük düzey kolesterol
Lep	: Leptin
ME	: Metabolik Enerji
Mg	: Magnezyum
mmol	: Milimol
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asit
°C	: Santigrat
P	: Fosfor
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve tez yazım sürecim boyunca bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK hocama, tez savunma jürisinde yer alan Dr. Öğr. Üyesi Ömür Gülsüm DENİZ ve Dr. Öğr. Üyesi Cansu ÖNAL hocalarıma ve bu süreç boyunca beni destekleyen sevgili anneme ve babama çok teşekkür ederim.

Araştırmayı destekleyen BAİBÜ BAP Birimine teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma BAİBÜ BAP kapsamında 2024-TYL-6.12.57-0004 numaralı proje ile desteklenmiştir.



1. GİRİŞ

Günümüzde artan dünya nüfusu ve bu artışa bağlı gıda ihtiyacı büyük bir sorun teşkil etmektedir. İnsanların yeterli ve kaliteli gıda ihtiyacını karşılamak için hayvansal ürün üretimi çok önemlidir. Etlik piliç yetiştiriciliği yetiştirme süresinin kısa oluşu, birim alanda daha fazla üretim yapılabilmesi, piliçler tarafından tüketilen yemin ete dönüşüm oranının yüksek olması, diğer hayvansal üretim alanlarına göre daha az iş gücü gerektirmesi sebebiyle büyük avantajlar sağlamaktadır.

Yüksek miktarda protein içermesi, yağ ve kolesterol oranının düşük olması, sindiriminin kolay olması ve diğer etlere göre ucuz olması sebebiyle tavuk eti üretimi diğer hayvancılık sektörlerine göre özel bir önem arz etmektedir.

Etlik piliçler yumurtadan çıktığı andan itibaren büyük bir özenle standartlara uygun olarak yaklaşık 45 gün boyunca beslenmektedir. 45 günlük yetiştiricilik süresinden sonra etlik piliçler gerekli kontrollerden geçerek kesime sevk edilir. Etlik civcivler kümeslere getirildikleri andan itibaren ısı, ışık, havalandırma ve nem etmenlerinin optimum olduğu koşullarda yetiştirilmektedir. Civcivler kendi vücut sıcaklıklarını yaklaşık 12-14 günlük oluncaya kadar sabit tutamazlar. Bu süreçte kümeste ideal sıcaklık sağlanarak civcivlerdeki ideal vücut sıcaklığı korunur. İlk gün kümesteki sıcaklık yaklaşık 35°C civarında tutulur. Sonraki günlerde her geçen gün sıcaklık bir derece azaltılır. 4. Hafta itibariyle kümesteki sıcaklık 23°C’de sabit tutulur. Havalandırma etlik piliç yetiştiriciliğinde büyük bir zorunluluktur. Karbondioksit ve amonyak gibi zararlı gazların uzaklaştırılabilmesi ve kümesin temiz ve hijyenik tutulabilmesi için havalandırmanın payı oldukça önemlidir. Işık etlik piliçlerin gelişmesinde rol oynayan önemli bir diğer etmendir. Aydınlatma işlemi ilk günlerde 24 saat aydınlık olacak şekilde yapılır. İlerleyen günlerde 1 saat karanlık 23 saat aydınlık olacak şekilde program düzenlenir. Etlik piliçler, solunum, hareket, sindirim olayları, kan dolaşımı, yem maddelerinin parçalanması, vücut sıcaklığının çevre şartlarına göre ayarlanması, değişik metabolizma ürünlerinin üretilmesi, büyümenin sürekliliği yani yaşama olaylarının devamı ve verim verebilmesi için belirli seviyelerde enerjiye ihtiyaç duyarlar. Yaşama payı, verim payı, büyüme ve tüy oluşumu için gerekli proteinler etlik piliçlerin toplam protein ihtiyacını oluşturmaktadır. Etlik piliçlerde hızlı gelişim amacıyla erken yaşlarda

enerji açısından düşük, protein açısından zengin yemler kullanılırken, ilerleyen günlerde protein oranı düşük, enerji oranı yüksek yemler kullanılmaktadır.

Etlik piliçlerde üzerinde durulan performans özelliklerinde canlının ağırlığın sıkı takibiyle beraber yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, yaşam gücü, kesim randımanı da bu performans özelliklerine girmektedir.

Hayvancılıkta giderlerin yaklaşık %70'ini yem oluşturur. Besleme büyüme ile doğrudan ilişkilidir. Etlik piliç yem çeşitleri ve yemleme süreleri civciv üreticisi olan damızlık firmanın talimatı dolayısıyla değişebilmektedir. Beslenme hem maliyet hem de canlı hayvan sağlığı ve ağırlığında en etkili hususlardan biridir. Hayvana verilen yem seçilirken kalitesi ile besin değerleri dikkatli bir şekilde incelenir. Besin değerlerindeki farklılık hayvanın istenilen kesim ağırlığına ulaşma hızını da doğru orantıda etkilemektedir. Hayvan ne kadar kümeste kalırsa maliyetin de o kadar artacağı göz önüne alındığında süreyi kısaltmak adına yapılan çalışmaların da yakından takip edilmesi gerekmektedir. Bir günlük yaştaki ortalama 40-45 g olan etlik piliç civcivleri çok kısa sürede gelişirler ve 6-7 hafta sonuna kadar 1.8-2.2 kg canlı ağırlığa ulaşırlar.

Gelişme hızı öncelik olarak hayvanın genetik özelliği, metabolizması ve fizyolojisi ile çok yakından ilgilidir. Büyümeyi etkileyen en önemli üç faktör, BH, IGF-1 ve Leptindir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Nar

Lythraceae familyasının (Kınagiller) Punica (*Punica granatum*) cinsi grubunda yer alan nar, çok yıllık bir bitki olup yüksek ticari değere sahip bir meyvedir (Gölükcü vd., 2015). Akdeniz, Batı Asya ve İran anavatanı olmakla birlikte günümüzde ABD'nin Kaliforniya ve Arizona eyaletleri, Çin, Hindistan, Afganistan, Kuzey Meksika, İran, Arabistan, Şili ve Arjantin'de de yetiştirilmektedir (Opara vd., 2009; da Silva vd., 2013; Kurt ve Şahin 2013; Gündoğdu vd. 2015, Özgüven vd., 2015).



Fotoğraf 2.1. Nar.

2.1.1 Nar Üretimi

Nar üretimi epeyce eskilere uzanmakla birlikte meyve-sebze sektöründeki gelişimi 2000'li yıllarla beraber büyük önem kazanmıştır (Kurt ve Şahin 2013). Ülkemiz 2000 yılında 59 bin ton, 2010 yılında 208,5 bin ton, 2020 yılında 600 bin ton ve 2023 yılında 638,8 bin ton nar üretimine ulaşmıştır (TÜİK, 2024).

Nar üretiminin tabii bir sonucu olarak narın meyve suyu sanayisinde işlenen miktarı da artmaktadır. 2010 yılında üretilen yaklaşık 208 bin ton narın yaklaşık 78,7 bin tonunun yani yaklaşık %36'sının nar suyu üretiminde kullanıldığı ve 2010 yılında 7,5 bin ton konsantre nar suyu üretildiği görülmektedir (Akdağ, 2011). Nar meyvesinin %26-40'ını kabuk kısmının oluşturduğu göz önüne alındığında nar suyu üretiminde kullanılan 78,7 bin ton nardan 7,5-11,5 ton kalan kabuk-posanın atık olarak ayrıldığı hesaplanabilir. (İsmail vd., 2012; Çam vd., 2014).

2.1.2 Narın Kimyasal Bileşimi

Polifenoller ve basit fenolik maddeler fenolik bileşikleri oluşturmaktadır. Polifenoller, flavanoidleri ve tanninleri; basit fenolik maddeler ise kumarinleri ve fenolik asitleri içermektedir (Topkaya, 2017). Bir kısım fenolik bileşikler sebze ve meyvelerin lezzetinin oluşmasında etkilidirler. Diğer bir kısmı ise sebze ve meyvelerin sarı, kırmızı, mavi ve mor tonlarında renklerinin oluşmasında rol oynamaktadırlar. Fenolik bileşiklere beslenme fizyolojisi yönünde olumlu katkıları nedeniyle “biyoflavanoid” de denilmektedir. Narın içinde bulunan delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyaninler ve punikalin, ellagatin ve ellagik asit gibi fenolik bileşenlerden ötürü oldukça yüksek antioksidan kapasitesiye sahip olduğu bilinmektedir (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

Nar kabuğu fenolik bileşikler açısından zengindir. Bu bileşiklerin çoğunu flavanoidler (antosiyanin, kateşin ve diğer kompleks flavanoidler) ve tanenler (punikalin, punikalagin, gallik asit ve ellagik asit) oluşturmaktadır (İsmail vd., 2012). Fenolik bileşenler antioksidan aktivite gösteren doğal bileşenlerdir. Antioksidan açısından zengin beslenmenin, serbest radikallerin sebep olduğu kanser, kalp-damar rahatsızlıkları, kan glikoz seviyesini koruma, sitokinlerin (hücrelerin birbirleriyle olan iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu) oluşturulmasını normal oranda destekleme, doğal tümörleri yok eden hücre kapasitelerini arttırma, nörolojik hastalıklar, deri hastalıkları gibi birçok rahatsızlığa yakalanma ihtimalini azaltma ve buna benzer faydalarının olduğu bildirilmektedir (Elmastaş ve Gerçekçioğlu, 2006; Karakaya ve El, 2006; Özkan ve Göktürk Baydar, 2006; Aizawa ve Inakuma, 2007; Sikora vd., 2008; Nizamlioğlu ve Nas, 2010; Yıldırım vd., 2016).

2.1.3 Nar Kabuğu ve Nar Kabuğu Tozu

Nasr vd., (1996)’ı narın antimitojenik özelliğinin kabuğunda da bulunan ellagik asit, ellagitannin ve gallik asitten kaynaklanabileceği belirtmiştir (Negi vd, 2003).



Fotoğraf 2.2. Nar kabuğu ve nar kabuğu tozu.

Okumuş vd., (2015) nar meyvesinin içeriğindeki antosiyanidinlerin yaklaşık olarak %30'unun kabuk tarafında yoğunlaştığını, kabuk renginde de etkili olan bu bileşiklerin yoğunluğu meyvenin tür çeşit ve gelişim aşamalarına bağlı olarak farklılık gösterebileceğini belirtmişlerdir.

Guo vd. (2003), yaptıkları çalışmada 28 farklı meyvenin kabuk, çekirdek ve pürelerinin antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada nar püresinin, nar çekirdeğinin ve nar kabuğunun antioksidan aktivite değerleri demir sülfat eşdeğeri olarak sırasıyla 3.10, 0.72 ve 82.11 mmol/100g olarak tespit edilmiştir. Sonuçta nar kabuğunun antioksidan aktivite değerinin diğer meyve kabukları ile kıyaslandığında oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite bazında yüksekte düşüğe doğru sıralandığında nar kabuğunu alıç kabuğu (29.25 mmol/100g), hurma kabuğu (16.69 mmol/100g), kivi kabuğu (11.13 mmol/100g), kırmızı üzüm kabuğu (11.02 mmol/100g), guava kabuğu (10.24 mmol/100g) ve mango kabuğu (10.13 mmol/100g) izlemektedir. Sonuçlarda ayrıca kırmızı üzüm çekirdeğinin antioksidan aktivite değerinin 55.54 mmol/100g iken nar kabuğunun antioksidan aktivite değerinin 82.11 mmol/100g bulunmuş olması da dikkat çekicidir. Nar kabuğunun gallik asit, ellagik asit ve punikalagin, antioksidan aktivitelerine ek olarak başta enterik patojenler *Escherischia coli*, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri, *Vibrio cholerae* de dahil olmak üzere bağırsak florası üzerinde antibakteriyel etkiye de sahip olduğu bilinmektedir.

Ismail vd., (2012). İn vitro (agarda) ve in situ (balıkta) koşullarda yaptıkları bir çalışmada nar kabuğunun %80'lik methanoldeki ekstraktının *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherischia coli* ve *Yersinia enterocolitica* üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (Al-Zoreky, 2009).

Tunustan temin edilen nar kabuklarını ekstrakte ederek yaptıkları çalışmada nar kabuğunun 216,9±7,3 mg/gr gallik aside denk polifenol, 0,310±0,045 mg/gr ellajik tanen, 0,117±0,001 mg/gr ellajik asit, 0,030±0,001 mg/gr gallik asit barındırdığını bulmuşlardır. Buna ek olarak 47,46±4,11 mg/gr demir (Fe), 4,69±0,27 mg/gr bakır (Cu) ve 32,33±2,05 mg/gr magnezyum (Mg) içerdiğini de tespit etmişlerdir.

Nar kabuğunun toz haline getirilmiş hali yüksek antioksidan içeriği ve karaciğer gösterge değerlerinde olumlu yönde değişim meydana getirdiğinden tıbbi ve aromatik bitkilerden sayılmıştır.

Fareler üzerinde ve in vivo yapılan bir çalışmada nar kabuğunun tozu ve ekstraktının karaciğer çalışma düzenini iyi yönde etkilediği bildirilmiştir (Chidambara Murthy vd., 2002). Nar çekirdeği, posası ve kabuğunun içinde olan polifenollerden olan kondense tanenlerin veya proantosiyanidinlerin; kolesterolün taşınmasını ve safra asidi atılımını çoğaltarak, bağırsaktan kolesterolün emilimini negatif yönde etkilediği bildirilmektedir.

Erkek fareler üzerinde yapılan çalışmada farelerin rasyonlarına yüksek oranda yağ ilave edilmiştir. Bu farelerin diyetlerine nar kabuğu ilavesinin vücut hacmini ve serum toplam kolestrol, trigliserit, düşük düzey kolestrol (LDL-C), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) değerlerini düşürdüğünü buna karşılık yüksek seviye kolestrol (HDL-C) değerini artırdığı sonucuna varılmıştır (Sadeghipour vd., 2014).

Histopataolojik bulgulara göre çok yağlı yemler ile beslenen farelerde karaciğer hasarlarının azaldığı bildirilmiştir (Abarghuei vd., 2014). İneklerle yapılan çalışmada nar kabuğu ekstraktı ile yapılan beslemede yemdeki azot kullanım etkinliğinin yükseldiği, kan ve sütte ürede azalma, sütte toplam doymuş yağ asitlerinde azalma görülmüştür. Omega6/omega3 oranı, yine sütte daha fazla PUFA birikmesini tespit etmişlerdir. Nar kabuğu ekstraktı ilave edilen yemle beslenen ineklerden alınan sütün insanlar için daha yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

2.2 Probiyotikler

Probiyotikler, gastrointestinal hastalıkların azaltılmasını patojen olan mikroorganizmaların bağırsakta çoğalmalarını ve gelişmelerini önleyerek, barsak mikro florasını dengeleyebilmekte böylece canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanmayı arttırmaktadır. Bunca faydasına rağmen probiyotiklerin etki şekilleri hala karmaşıklığını korumakta ve tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Probiyotiklerin içeriğindeki mikroorganizmaya, hayvana verilme miktarına, hayvanın türüne ve fiziksel kondisyonuna, kötü çevre koşulları gibi hayvanda strese sebep olan bir durum bulunup bulunmamasına göre farklılık göstermektedir.

Çeşitli moleküller için temel öncüler olarak görev yaparlar ve canlı organizmaların büyümesi, gelişmesi, sağlığı ve homeostazisi için hayati önem taşıyan metabolik ve düzenleyici roller sergilerler. Amino asitler, gıda katkı maddeleri, bitki ekstraktları, probiyotikler, protein sentezi, hücre döngüsü, doku onarımı, glukoneogenez, yara iyileşmesi ve bağışıklık tepkisi dahil olmak üzere temel fizyolojik işlevlerde yer alan önemli besinlerdir (Cai vd., 2020).

2.3 Büyüme Hormonu

Günümüzde piliçler esas olarak hızlı büyümeye ve yüksek yem dönüşüm oranına sahiptir bu da yemleme döngüsünün kısalmasına neden olur (Dixon, 2020; Güz vd., 2021). Piliçlerin başlangıç dönemlerindeki beslenme ve sağlık durumları, yaşam döngüleri boyunca sağlıkları üzerinde giderek daha fazla etkili olmaktadır (Ravindran, 2021). Embriyonik gelişim döneminden kuluçkadan sonraki ilk birkaç güne kadar olan dönem, kümes hayvanlarında gastrointestinal sistem ve bağışıklık sisteminin gelişimi için kritik bir dönemdir (Wang vd., 2020a).

Noy (2001), civcivlerin zorlu dış ortamla başa çıkmak için emilebilir besinlere daha fazla bağımlı olduklarını ve üç ana besin maddesinin (karbonhidratlar, protein ve lipit) kullanım verimliliğinin sürekli olarak arttığını tespit edilmiştir. Buna karşılık Van der Wagt vd. (2020), besin kaynağının kademeli olarak iç yumurta sarısından dışsal yeme doğru kaydığını ve bu ayarlamaların dolaylı olarak civcivlerde sindirim sisteminin gelişimini desteklediğini bildirmiştir. Ayrıca, ekzojen besleme ne kadar geç başlatılırsa, yeni doğan civcivler tarafından yumurta sarısının emilim etkinliği o kadar düşük olur ve yumurta sarısı emilim döneminde

büyüme ve gelişme o kadar zayıf olur ve sonuçta organizmanın büyüme homeostazisi etkilenir (Proszkowiec-Weglarz vd., 2019; Wang vd., 2020b). Günümüz piliç tavukları hızlı bir büyüme oranı, artan kas kütlesi ve yüksek yem dönüşüm oranı sergilemektedir (Zahoor vd., 2017).

Ayrıca bu kuşlar yüksek bir metabolizma hızına sahiptir, düşük ısı dağıtma kabiliyetine sahiptir, zayıf ısı toleransına sahiptir ve çevre sıcaklığındaki değişikliklere karşı oldukça hassastır (Uyanga vd., 2022). Isı stresi kanatlı üretimini etkileyen önemli bir çevresel stres etkenidir. Kanatlıların büyümesi, üretkenliği, sağlığı ve refahı üzerinde ciddi zararlı etkilerle ilişkilidir (Saeed vd., 2019).

Isı stresi, glikoz, insülin, protein, toplam kolesterol ve trigliserit gibi kan bileşenlerinin konsantrasyonundaki önemli değişikliklerle kendini gösteren besin metabolizmasını değiştirir (Wang vd., 2021). Isı stresinin bu metabolitler üzerindeki etkileri, termal yükün büyüklüğü ve süresi ile ilişkilidir (Nawaz vd., 2021).

Bu nedenle kan biyokimyasal profilinin incelenmesi vücudun fizyolojik durumu hakkında kısa ve öz bilgiler sağlar (Chand vd., 2018).

Yapılan birçok deneysel çalışmada, kümes hayvanı üretiminde sıcaklık stresini azaltmak için önlemler önerilmiştir. Belirli amino asitlerin kullanımını içeren beslenme modifikasyonunun benimsenmesinin, ısı stresi etkilerinin hafifletilmesinde faydalı olduğu kanıtlanmıştır (Kalvandi vd., 2019; Attia vd., 2020; Dioninzio vd., 2021).

Gıda takviyesi, metabolik bozuklukların iyileştirilmesinde ve protein sentezi ve kas büyümesi için gerekli metabolik dönüşümlerin artırılmasında faydalıdır (Wu, 2013; Uyanga vd., 2022). Protein sentezi ve protein parçalanması birden fazla yolla düzenlenir, öyle ki protein sentezi oranındaki net artış iskelet kası hipertrofisine neden olur (Zuo vd., 2015). Büyüme süreçlerinin düzenlenmesi, somatotropik eksenin önemli bir rol oynadığı çeşitli hormonların karmaşık etkileşimini içerir (Del Vesco vd., 2015).

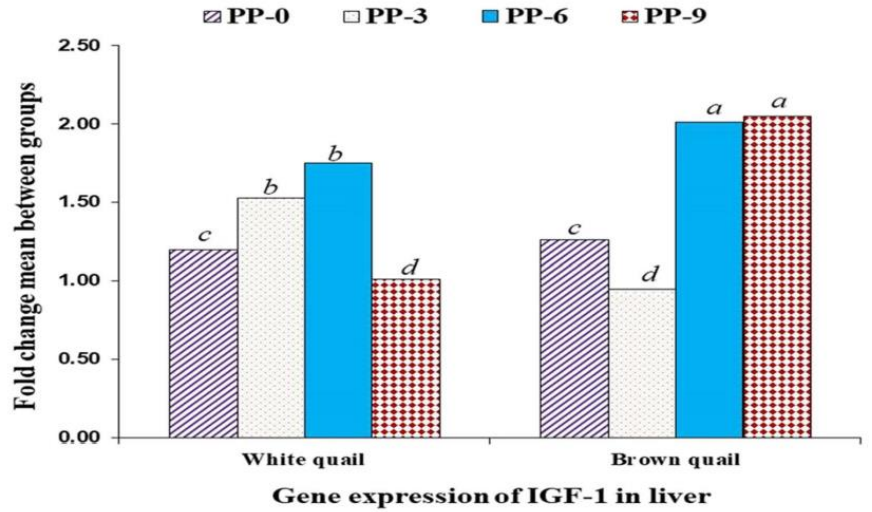
Büyüme hormonu (BH) doğrudan büyüme yanıtlarını düzenler ve dolaşımdaki toplam GH'nin önemli bir oranı (~%50) büyüme hormonu bağlayıcı proteinler tarafından bir komplekse bağlanır (Baumann, 2002).

Dahası, birçok çalışma ısı stresinin etlik piliçlerde büyüme performansını, amino asit metabolizmasını, protein sentezini ve iskelet kası gelişimini olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur (Ma vd., 2018; Li vd., 2021; Ma vd., 2021).

2.4 IGF-1

Hayvanlarda büyüme ve metabolizma temel olarak büyüme hormonuna (GH) bağlıdır (Jiang, 2001). GH'nin etkilerine büyüme hormonu reseptörleri (GHR) aracılık eder. Bu reseptörler karaciğerde mevcuttur (Herington vd., 1976). Dolaşım sistemine giren GH, IGF-I'in salınması ve sentezi için sinyal veren karaciğer üzerinde doğrudan etkiye sahiptir (Switonski, 2002). Ayrıca Gasparino vd., (2014), daha yüksek büyüme oranlarına sahip kuşların, düşük büyüme oranlarına sahip kuşlara göre karaciğer ve kaslarında daha yüksek düzeyde GHR ekspresyonuna sahip olduğunu göstermiştir.

Fig. 2 Effect of genetic type × dietary treatments interactions on hepatic Insulin Growth Factor-1 (IGF-1) expression of Japanese quails. Values marked with the different letters on the bars are significantly different ($P < 0.05$)



Şekil 2.1. Karaciğer dokusunda IGF-1 geninin ekspresyon seviyesi.

İran'da yapılan bir çalışmada, kuluçkahaneden ağırlık ortalaması $44,3 \pm 0,4$ g olan 300 adet 1 günlük Ross 308 civcivi alınmış. Deneme deseni 100 civcivden oluşan 3 muamele şeklinde planlanmıştır. Her muamele 4 alt gruba ayrılmıştır. Çalışma 6 hafta sürdürülmüştür. Muameleler kontrol grubu, doğal LAB grubu ve

ticari LAB grubu olarak belirlenmiştir. *Escherichia coli* popülasyonları önemli ölçüde azalırken ($P<0.04$) probiyotik ilave edilen gruplarda karaciğer dokusunda IGF-1 geninin ekspresyonu kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır (Salehizadeh, 2019).

Beyaz ve kahverengi suşlardan 240'ar adet 1 günlük Japon bildircinlerinin kullanıldığı bir çalışmada hayvan materyali 4 muamele ve 6 alt grup şeklinde ayrılmıştır. Bildircinlerin rasyonlarına %0, %3, %6 ve %9 oranında nar kabuğu tozu katılmıştır. Çalışma 42 gün sürmüştür. %3 ve %6 nar kabuğu tozu ilaveli yemle beslenen beyaz bildircinlerde hepatik GHR geninin ekspresyon seviyesi daha yüksek bulunmuştur. Hepatik IGF-1 geninin ekspresyonu, %6 ve %9 nar kabuğu tozu diyetiyle beslenen kahverengi bildircinlerde önemli ölçüde ($P<0.05$) daha yüksek bulunmuştur. %6 nar kabuğu tozu diyetiyle beslenen bildircinlerin deneme sonunda en yüksek canlı ağırlığa sahip olması nedeniyle ekspresyon seviyesi fenotip sonuçlarıyla uyumludur (Kamel, 2021). Sonuç olarak besleme düzeyi, besin kullanımını ve büyüme performansını artırabilecek önemli bir faktör olarak düşünülebilir.

Ayrıca insüline benzeyen büyüme faktörü-1 (IGF-1), hücre büyümesini, hayatta kalmasını, olgunlaşmasını, çoğalmasını ve protein anabolizmasını teşvik etmek için GH'nin aşağısında hareket eden önemli bir hormondur (Laron, 2001; Barclay vd., 2019).

Bununla birlikte, ısı stresi gibi koşullar altında, GH ve IGF-1 üretimi bozulur ve artan termal yüke karşı homeoretik bir ayarlama olarak GH-IGF ayrılmasına neden olur (Rhoads vd., 2010).

Bunun yanı sıra argininin, insülin, GH ve IGF gibi temel büyüme faktörlerinin kana salınmasını uyarma kapasitesi sayesinde hücre ve doku büyümesini destekleyebildiği de rapor edilmiştir (Chromiak, 2002; Oh vd., 2017).

Araştırılan diğer hormonal düzenleyiciler arasında cAMP, insüline benzeyen büyüme faktörü (IGF) I, büyüme hormonu ve testosteron bulunmaktadır (Considine, 1997; Murakami, 1995).

2.5 Leptin

Leptin, proteinden oluşan bir hormondur ve yem alımının kontrolünde, enerji homeostazının ve yağ birikiminin düzenlenmesinde ve ayrıca 1994 yılında keşfedilen beslenmeye adaptasyonda önemli roller oynar. Leptin, hayvanların eksik

beslenme karşısındaki adaptasyonunu sağlayarak iştahın, enerjinin birikiminin ve harcanmasının düzenlenmesinde ve üreme-bağıışıklık sistemlerinde doğal bir özellik gösterir. Vücut ağırlığının leptin tarafından dengelendiğı bildirilmiştir.

Leptinin sentez ve salgılanmasının düzenlenmesi, yağ hücrelerinin miktarıyla doğru orantılı olarak değışir. Leptin seviyesi beslenme, fizyolojik ve endokrin faktörler üzerinde etkilidir. Son yıllarda hayvancılık alanında yapılan özel çalışmalar, leptinin etkilerinin dikkat çekici olduğunu ileri sürmüştür. Ghrelin ve leptin organizmalarda geri bildirimle etki eder ve vücut ağırlığı bu şekilde kontrol edilir. Her iki hormon seviyesi de organizmada birkaç faktöre bağılı olarak ayarlanır. Hormon seviyeleri birbirine zıt yönlerde değışebilir.

Son yıllarda gastrointestinal sistem tarafından üretilen ghrelin hormonunun leptin ile beraber sinir sistemindeki özel nöronları etkileyerek enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol aldığı bildirilmiştir. Leptinin aksine ghrelinin iştah açıcı ve yağ toplamını yükseltici özellikleri olduğu bildirilmektedir.

Ghrelin ve leptin, “Ying-Yang” prensibi mekanizması dahilinde canlıda görev yapmaktadırlar. Diğer bir değışle hipotamusta bulunan Y nöronları yardımı ile grelin/leptin derişimleri “feed back” mekanizmasıyla kontrol edilmekte ve vücut kütlesi de bu yolla kontrolde tutulmaktadır. Her iki hormonun seviyeleri açlık-tokluk, glukoz ve diyet, insulin, barsak hormonları, parasempatik hareket, yaş, gebelik, aşırı kilo, cinsiyet, polikistik over sendromu, enerji seviyesi, insülin direnci ve diabetes mellitus, GH eksikliği, akromegali, hipo ve hipertiroidizm, neonatal dönem ve bazı nöroendokrin gastrointestinal tümörler gibi faktörlerle etkili olarak ayarlanmaktadır. İntraserebroventriküler olarak leptin verildiğinde, arteriyel basınçta artma, ghrelin verildiğinde ise azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Küçükkurt, 2015).

Polipeptit bir hormon olan leptin memelilerde gıda alımının düzenlenmesinde, enerji metabolizmasında ve üremede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Leptin, memeli adipositleri tarafından salgılanır ve yağ depolanması için hormonal bir algılama mekanizması olarak işlev görür (Brunner, 1997; Gura, 1997).

Adipositler, yağ depolaması arttıkça daha fazla leptin üretip salgılar, beyne gıda alımını azaltması ve enerji harcamasını artırması için sinyal gönderir. Bu mekanizmanın homeostatik doğası son birkaç yılda birçok çalışmaya konu olmuştur. Yapılan çalışmalarda insülinin leptin ekspresyonunu düzenlemedeki rolünü araştırmıştır. İnsülinin kemirgenlerde ve insanlarda leptin mRNA'sını ve dolaşımdaki leptin seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (Cohen, 1996). Ayrıca glukokortikoidlerin kemirgenlerde ve insanlarda leptin mRNA'sını ve dolaşımdaki leptin düzeylerini artırdığı rapor edilmiştir (Reul, 1997). Östrojenin sıçanlarda ve insanlarda leptin üretimini arttırdığı rapor edilmiştir (Shimizu, 1997).

Obez geni tarafından kodlanan polipeptit hormonu olan leptinin, yağ dokusu tarafından salgılandığı ve memelilerde tokluğu uyardığı ve enerji tüketimini arttırdığı gösterilmiştir. Etlik piliçlerin karaciğer ve yağ dokularında leptin homologunun varlığı gösterilmiştir. Leptin ekspresyonu ayrıca tavuk embriyonik döneminde karaciğerinde ve yumurta sarısında da tespit edildi.

Tavuklarda hormon tedavisinin leptin ekspresyonu üzerindeki etkileri de araştırılmış ve karaciğerdeki leptin ekspresyonu insülin ve deksametazon ile artarken, glukagon ve östrojen ile azalır. Hiçbir tedavide adipoz dokuda leptin ekspresyonu indüklenmezken, yalnızca östrojen adipoz ekspresyonunu azaltmıştır. Karaciğer ve yağ dokusu üzerindeki farklı etki, tavuklardaki adipositlerin maksimum oranda leptin eksprese ettiğini veya ekspresyon düzenleme mekanizmasının karaciğerden farklı olduğunu düşündürmektedir. Tavuklarda gözlenen leptin ekspresyonunun lokalizasyonu ve hormon tedavilerinin leptin ekspresyonu üzerindeki dokuya özgü etkileri, leptin ile kuş lipid metabolizması arasında bir ilişkiye işaret edebilir (Ashwell, 1999).

Bu çalışmalar, leptin mRNA ekspresyon seviyeleri ile dolaşımdaki leptin konsantrasyonları arasındaki doğrudan ilişkiyi göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalar leptin ekspresyonunun enerji alımına ve hormonal çevreye duyarlı olduğunu kesin olarak göstermiştir. Hem karaciğerde hem de yağ dokusunda leptin ekspresyonu, kuşların yem alımı ve enerji harcamasının leptin düzenlenmesi için memelilerden farklı bir mekanizmaya sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Kuşlarda leptin ekspresyonunun düzenlenmesini araştırmak için, etlik piliçlerde leptin ekspresyonunu modüle etmeye yönelik çeşitli hormon tedavilerinin etkisini araştırdık.

Tavuk metabolizması, yüksek kan şekeri seviyesi (2 g/l), eksojen insülinin zayıf hipoglisemik etkisi ile hiperinsülinemi açısından dikkate değerdir (Simon, 1993). Bu özellikler ob/ob farelerinde açıklananlara benzemektedir. Tavuk aynı zamanda memelilerle karşılaştırıldığında yüksek karaciğer lipogenezi aktivitesi ile karakterize edilir (Simon vd., 1991). Leptin geni çok sayıda memeli türünden klonlanmış olsa da ~~gen~~ kuş kaynağından izole edilmemiştir.

Friedman vd. (Zhang vd., 1994), (P32) etiketli fare leptin probu ile tavuk genomik DNA'sı kullanıldığında Southern blotta zayıf bir pozitif sinyal göstermiştir. Tavuk leptini cDNA'sı, karaciğerde ve yağ dokusunda lokalize bir ekspresyonla memeli homologuna yüksek bir homoloji göstermektedir. Hepatik ekspresyonun büyük olasılıkla bu organın kuş türlerinde lipojenik aktivitede oynadığı birincil rol ile ilişkili olması dikkat çekici olmaktadır. Memelilerde olduğu gibi tavuk leptini ekspresyonu hormonal ve beslenme durumuna göre düzenlenir. Bu düzenleme dokuya özgüdür ve karaciğerde yağ dokusuna göre yüksek hassasiyete sahiptir.

Kan leptin seviyeleri beslenme durumu tarafından düzenlenir ve tokluk durumundaki seviyeler açlığa göre daha yüksek olmaktadır. Rekombinant tavuk leptini, memelilerde bildirildiği gibi gıda alımını belirgin şekilde inhibe eder, bu da hipotalamik bir leptin reseptörünün varlığını düşündürmektedir. Tavuk leptin reseptörü tanımlanmıştır ve tüm fonksiyonel motifler, memeli homologlarına kıyasla yüksek oranda korunmuştur. Tavuk leptin reseptörü hipotalamusta eksprese edilir ve ayrıca leptinin insülin sekresyonunu inhibe ettiği pankreas gibi diğer dokularda da eksprese edilir ve dolayısıyla bu türde besin kullanımının düzenlenmesinde anahtar rol oynayabilir (Dridi, 2001). Kütles hayvanlarında, hayvanın hızlı büyüme hızı, toplam vücut metabolizmasının bozulmasıyla ilişkili aşırı vücut yağına ve üreme fonksiyonlarında ve kas gelişiminde bozukluklara yol açarak düşük performans ve yüksek ölüm oranlarına yol açmıştır. Tavuk metabolizması, yüksek kan şekeri seviyesi (11 mM) ve heterolog insülinin zayıf hipoglisemik etkisi ile dikkat çekicidir.

Tavuk aynı zamanda memelilere (Richards, 2000; Fried, 2000) ve lipemik plazmaya kıyasla yüksek karaciğer lipojenik aktivitesiyle de karakterize edilir. Bu bağlamda, bu türde vücut enerjisini ve yağlanmayı kontrol eden mekanizmaların anlaşılması çok önemlidir. Bu nedenle tavukta leptini içeren besin alımı ve enerji

harcamasını düzenleyici mekanizmaların anlaşılması, yönetim ve refah konularının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

Akbalık (2019), immunohistokimyasal yöntemler ile kekliklerin bağırsak yüzeyinde peptit hormonlarının lokalizasyonu, ekspresyonu ve olası fizyolojik görevlerini ortaya koymak amacıyla yürüttükleri çalışmada amaçlarının ghrelin, leptin ve obestatin ekspresyonunun kanatlı bağırsaklarında bu faktörlerin var olduğu, dağılımları ve fonksiyonel ilişkileri ile ilgili verilerin sınırlı olması etkili olmuştur.

Kekliklerin bağırsak bölmelerinde ghrelin, leptin ve obestatinin değişik konsantrasyonlarda ancak ghrelinin düz kas hücrelerinde, obestatinin sadece luminal ve kript epitel hücrelerinde, leptinin luminal ve kript epitel hücrelerinde ve kan damarlarında belirli olarak lokalize olduğu tespit edildi. Bu yüzden çalışılan metabolik parametrelerin kekliklerin metabolizması, beslenmesi ve enerji ihtiyaçlarının düzenlenmesinde bazı görevler alabileceği düşünülmektedir. Ek olarak yapılan çalışma, peptit hormonlarının bağırsağın tüm bölümlerinden de salgılanabileceğini göstermiştir. Bununla beraber ghrelin, leptin ve obestatinin kanatlı bağırsağındaki tam görevini açıklamak için daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (Akbalık, 2019).

Literatürde leptinin gastrointestinal kanal mukozasında büyümeyi uyarıcı etki etmediğini gösteren birtakım deliller olmasıyla beraber, birçok çalışmada leptinin gastrointestinal kanala besin ile ilgili bir faktör olarak etki ettiğini, ekzojen olarak verildiğinde ise bağırsak epitel hücre çoğalmasını uyarabildiğini göstermiştir. Bununla beraber yeni doğan memeli hayvan yavrusunda leptinin, bağırsak mukoza morfolojisinin büyümesinde, mukoza epitel hücrelerinin artmasında, enterositlerin fırçamsı kenar sınırındaki enzimatik aktivitede tetkleyici bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Son raporlar, memelilerin duodenum, jejunum, ileum ve colon'undaki enterositlerinde, kanatlıların da gastrointestinal kanalındaki epitel katmanında leptin immünoreaktivitesini işaret etmiştir. yapılan çalışma, leptin ekspresyonunun özellikle luminal ve kript epitel hücrelerinde daha kuvvetli olduğunu göstermiştir. Böylece leptinin enerji isteği ve/veya beslenme gibi aktivitelerin düzenlenmesinde önemli görevi olduğu ileri sürülebilir (Akbalık, 2019)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Doku Materyali

Bu çalışmada kullanılan serum materyali, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan 2022/16 sayısı ile etik izin alınmış “Broyler Rasyonlarına Nar Kabuğu Tozu ve Probiyotik İlavesinin Büyüme Performansı Üzerine Etkisi” yüksek lisans tezinde kullanılan etlik piliçlerden alınmıştır.

Doku örneği alınan etlik piliçlerin yetiştirilme koşulları aşağıda belirtilmiştir.

3.2 Deneme Hayvanlarının Bakımı ve Beslenmesi

Hayvanların Barınma Koşulları

- Çalışma öncesi etlik piliçlerin barındırılacağı yer ve kullanılacak ekipmanlar temizlenerek dezenfekte edilmiştir. Çalışma süresince biyogüvenlik ve hijyen kurallarına azami ölçüde uyulmuştur.
- Kümes sıcaklığı gün içerisinde düzenli aralıklarla kontrol edilmiştir. İlk hafta boyunca ortam ısısı 33-35°C olarak uygulanmış, bu ısı son iki haftaya kadar olan döneminde 22-24°C düzeylerinde, son iki hafta içerisinde ise 20°C’ye kadar düşürülmüştür.
- Gece ve gündüz arasında oluşan sıcaklık farkının kümese yansımaması sağlanmıştır.
- Çalışma boyunca 24 saat aydınlatma sağlanmıştır.
- Cıvciv dönemi boyunca kafeslerde bulunan nipelli suluklar kullanılmıştır.
- Kafeslerin üzerinde bulunan su depoları düzenli olarak kontrol edilmiştir. Çalışma boyunca hayvanlara temiz ve taze su sağlanmıştır.
- Yemler her kafesin önünde bulunan özel yemliklerle verilmiştir.
- Hayvanların dışkıları, kafes altında yer alan tavalarda biriktirilmiş ve temizlik işlemi tavaların günlük temizliği şeklinde olmuştur.

- Hayvanların bakım ve besleme işlemleri ile birimin ve kafeslerin temizliğinin günlük olarak yapılmıştır.

Deney Hayvanlarının Temini ve Deney Gruplarının Oluşturulması

Araştırmada gruplar Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre 4 gruba ayrılmıştır. 96 adet 1 günlük yaştaki etlik civcivler, 6 tekerrürden oluşan ve her tekerrür grubunda 4 hayvan bulunacak şekilde düzenlenmiştir.

Bu gruplar;

- Grup 1 (Kontrol Grubu) n=24; Normal yem.
- Grup 2 (Probiyotik Grubu) n=24; Normal yem + 1,5 gr/ kg probiyotik mix.
- Grup 3 (Nar Kabuğu tozu 3 gr/kg yem Grubu) n=24; Normal yem + 3 gr nar kabuğu tozu / kg yem.
- Grup 4 (Nar Kabuğu tozu 3 gr/kg + 1,5 gr/kg probiyotik mix yem Grubu) n=24; Normal yem + 3 gr nar kabuğu tozu / kg yem + 1,5 gr/ kg probiyotik mix

Yem Materyali: Etlik civciv için önerilen besin madde ve enerji ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde 42 gün süreyle etlik civciv ve etlik piliç yemi verilmiştir. Deneme boyunca kullanılan yemler özel bir yem fabrikasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan yemler ve besin madde kompozisyonları Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan etlik piliç yemleri ve besin madde kompozisyonları.

	Kuru madde	Ham protein	Ham selüloz	Ham yağ	Ham kül	Ca	P	ME, kcal/kg
Etlik Civciv Başlangıç Yemi	89,90	22,50	3,10	6,60	6,00	0,93	0,62	3050
Etlik civciv yemi	89,38	21,00	3,10	9,20	5,02	0,78	0,62	3124
Etlik piliç yemi	90,04	20,00	3,00	9,90	4,75	0,73	0,57	3205
Kesim öncesi etlik piliç yemi	89,93	20,00	3,00	9,90	4,75	0,73	0,57	3220

Deneme Hayvanların Beslenmesi ve Deneme Süresi: Deneme Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi Kanatlı Araştırma Ünitesinde yürütülmüştür. Deneme boyunca ad libitum yemleme yapılmıştır. Su her kafes bölmesindeki iki adet nipel sulukla sağlanmıştır. Deneme 42 gün sürdürülmüştür.

Kan Parametreleri

42. günde kesim sırasında hayvanlardan kan alınarak jelli tüpe konulmuş 4000 rpm de 15 dk santrifüj yapılarak serumlar elde edilmiş ve bunlar -80°C'de çalışılincaya kadar saklanmıştır.

Elisa Kitleri

Serumların analizinde ELK Biotechnology markası ve Cat: ELK2724, ELK2035, ELK5559 katalog numaralı Leptin, IGF-1 ve Büyüme Hormonu elisa kitleri kullanılmıştır.

Elisa Testinin Prensibi

Bu kitte Sandviç enzim immünoassay test prensibi uygulanmaktadır. Bu kitte sağlanan mikrotitre plakası, Tavuk LEP', IGF1ve BH'a özgü bir antikorla daha öncesinden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun mikrotitre plakası kuyularına eklenir ve ardından Tavuk LEP, IGF1ve BH'a 'ine özgü bir biyotin konjuge antikor eklenir. Daha sonrasında, her bir mikro plaka kuyusuna Horseradish Peroxidase (HRP) ile konjuge Avidin eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat çözeltisi ilave edildikten sonra, yalnızca Tavuk LEP, biyotin konjuge antikor ve enzim konjuge Avidin içeren kuyular renk değişikliği gösterecektir. Sülfürik asit çözeltisinin eklenmesiyle enzim-substrat reaksiyonu bitirilir ve renk değişimi, 450 nm $\pm$ 10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerdeki Tavuk LEP konsantrasyonu, standart eğriyle numunelerin OD'sinin karşılaştırılması sonucu belirlenir.

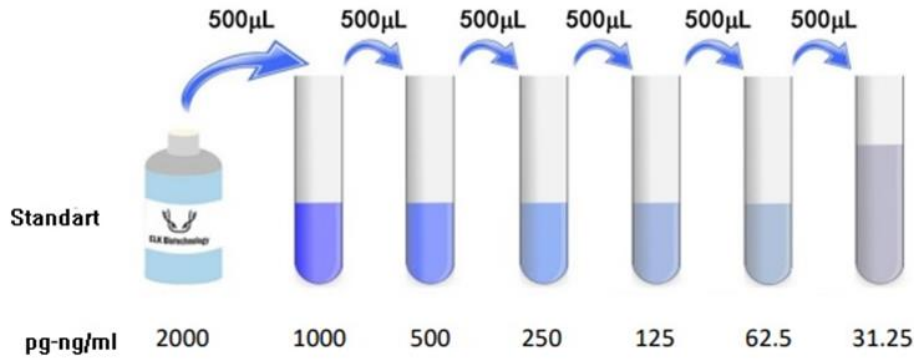
Çalışmada kullanılan serumlardaki büyüme faktörlerini tespit etmek amacıyla Elisa reader olarak; Heales marka Cat.No: MB580 cihazı kullanılmıştır.

Reaktif Hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm kit bileşenleri ve örnekleri oda sıcaklığına (18-25°C) getirildi. Kiti kullanmadan önce tüm bileşenlerin çözüldüğünden ve iyice karıştırıldığından emin olundu.

2. 25× Yıkama Tamponu çift damıtılmış su ile 1× Yıkama Tamponuna seyreltildi.

3. Standart Çalışma Solüsyonu - Standardı 1000 × g'de 1 dakika santrifüjlendi. Standardı 1,0 mL Standart Seyreltici Tamponla yeniden oluşturuldu, oda sıcaklığında 10 dakika tutuldu, hafifçe çalkalandı. Stok solüsyonundaki Standardın konsantrasyonu 2000 pg/mL'dir. 0,5 mL Standart Seyreltici Tampon içeren 7 tüp hazırlandı ve Seyreltilmiş Standardı kullanılarak aşağıdaki resme göre çift seyreltme serisi üretildi. Her tüp bir sonraki transferden önce iyice karıştırılması için çözelti birkaç kez yukarı aşağı pipetlendi. 2000 pg/mL, 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,25 pg/mL gibi 7 Seyreltilmiş Standart nokta ayarlandı ve Standart Seyreltici içeren son EP tüpleri 0 pg/mL olarak boş bırakıldı. Deneysel sonuçların geçerliliğini garantilemek için her deney için yeni Standart Çözeltiyi kullanıldı. Standardı yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona seyreltirken her seyreltme için pipet ucunu değiştirildi.



Şekil 3.1. Standart hazırlanması

5. 1× Biotinillenmiş Antikor ve 1× Streptavidin-HRP - Kullanmadan önce stok Biotinillenmiş Antikor ve Streptavidin-HRP'yi kısaca döndürüldü ve santrifüjlendi. Bunları sırasıyla Biotinillenmiş Antikor Seyreltici ve HRP Seyreltici ile çalışma konsantrasyonunun 100 katına seyreltildi.

Örnek Hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm malzemeler ve hazırlanan reaktifleri oda sıcaklığına getirildi. Şişelerin içinde köpük oluşmamasına dikkat edilerek tüm malzemeler iyice karıştırıldı.

2. Tüm testte kullanılan olası örnek miktarı hesaplandı.

Analiz Prosedürü

1. Seyreltilmiş Standart, Boş ve Örnek için kuyucuklar belirlendi. Standart için 7, Boş için 1 kuyucuk hazırlandı. Uygun kuyucuklara her birinden 100 µL Standart Çalışma Çözeltilisi veya 100 µ L örnek eklendi. Plaka Kapağı ile kapatıldı. 37°C'de 80 dakika inkübe edildi.
2. Her bir kuyucuğun sıvısı döküldü. Solüsyonu aspire edildi ve her bir kuyucuğa 200 µL 1× Yıkama Solüsyonu eklendi ve 1-2 dakika bekletildi. 3 kez tamamen yıkandı. Son yıkamadan sonra kalan yıkama tamponu aspire edilerek veya boşaltılarak çıkartıldı.
3. Her kuyuya 100 µL Biotinillenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu eklendi, kuyuların üzerini kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.
4. 2. adımda gerçekleştirilen aspirasyon, yıkama işlemini toplam 3 kez tekrarlandı.
5. Her kuyuya 100 µL Streptavidin-HRP Çalışma Solüsyonu eklendi, kuyuları plaka kapatıcı ile kapatıldı ve 37°C'de 50 dakika inkübe edildi.
6. 2. adımda gerçekleştirilen aspirasyon, yıkama işlemi toplam 5 kez tekrarlandı.
7. Her kuyuya 90 µL TMB Substrat Solüsyonu eklendi. Karanlıkta 37°C'de 20 dakika inkübe edildi (30 dakika aşılmalıdır). Sıvı, TMB Substrat Solüsyonu eklendiğinde maviye dönmüştür.
8. Her bir kuyuya 50 µL Durdurma Reaktifi eklendi. Sıvı, Durdurma Reaktifi eklendiğinde sarıya dönmüştür.
9. Plakanın altındaki herhangi bir su damlası ve parmak izi silindi ve sıvının yüzeyinde kabarcık olmadığı doğrulanarak mikrolaka okuyucuda 450 nm'de ölçüm yapıldı.

3.3 İstatistik Analizler

Çalışmadaki muameleler için istatistiki hesaplamalar ve gruplar arasındaki ortalama değerlerin farklılıkların önem derecesi için one way anova metodu yapılmış posdoc olarak ise LSD testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

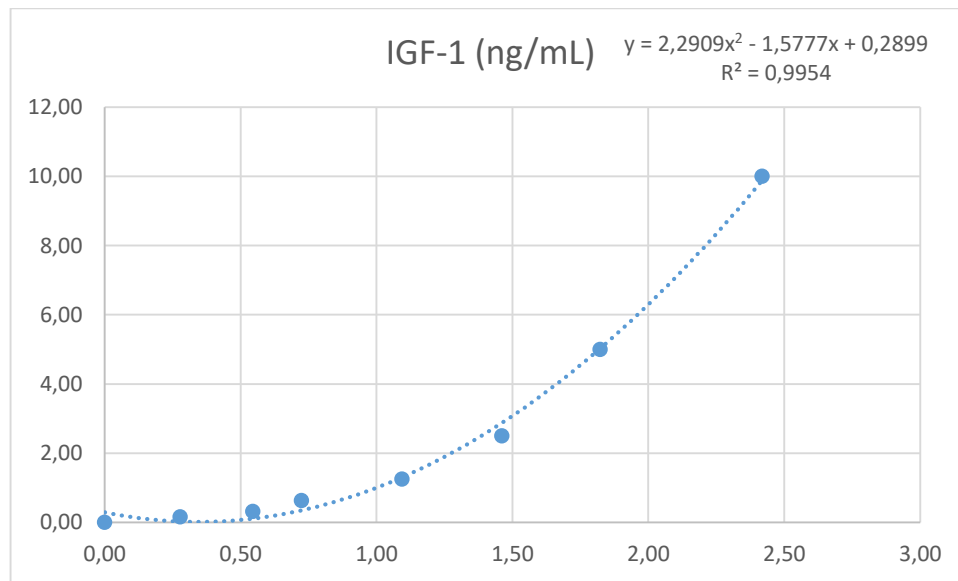
Rasyonlarına nar kabuğu tozu, probiyotik ile nar kabuğu tozu ve probiyotik karışımı ilave edilen etlik piliçlerden kan dokusu alınarak santrifüj işlemi sonrası serumlar elde edilmiştir. Elisa yöntemi kullanılarak serumlardaki büyüme faktörleri tespit edilmiştir. Büyüme faktörü olarak büyüme hormonu (BH), insülin bezneri büyüme faktörü (IGF-1) ve leptin üzerinde durulmuştur. Elisa yöntemiyle analiz edilen serumlardaki IGF-1 faktörüne ait hesaplama sonuçları Tablo 4.1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1. IGF1 elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar

Grup İsimleri	SIRA	Örnek İsimleri	OD	OD-BLANK	EXP	IGF-1 (ng/mL)
STANDARTLAR	1	STD1	2.49	2.42	10.00	9.87
	2	STD2	1.90	1.82	5.00	5.03
	3	STD3	1.54	1.46	2.50	2.88
	4	STD4	1.17	1.09	1.25	1.30
	5	STD5	0.80	0.72	0.63	0.35
	6	STD6	0.62	0.54	0.32	0.11
	7	STD7	0.35	0.28	0.16	0.03
	8	STD8	0.07	0.00	0.00	0.29
K GRUBU	1	K1	0.80	0.72	*	0.35
			0.80	0.73	*	0.36
	2	K2	0.79	0.71	*	0.33
			0.80	0.73	*	0.35
	3	K3	0.77	0.70	*	0.31
			0.77	0.70	*	0.31
	4	K4	0.77	0.69	*	0.30
			0.80	0.73	*	0.36
	5	K5	0.75	0.68	*	0.28
			0.74	0.66	*	0.25
	6	K6	0.84	0.77	*	0.43
			0.79	0.71	*	0.33
PR GRUBU	7	PR1	0.76	0.68	*	0.28
			0.75	0.68	*	0.27
	8	PR2	0.76	0.69	*	0.29
			0.79	0.71	*	0.33
	9	PR3	0.74	0.67	*	0.26
			0.74	0.66	*	0.25
	10	PR4	0.75	0.68	*	0.28
			0.76	0.69	*	0.29
	11	PR5	0.76	0.69	*	0.29

Tablo 4.1.'in devamı.

			0.75	0.67	*	0.26
	12	PR6	0.74	0.67	*	0.26
			0.76	0.68	*	0.28
NK GRUBU	13	NK1	0.73	0.66	*	0.25
			0.73	0.65	*	0.24
	14	NK2	0.73	0.66	*	0.24
			0.74	0.66	*	0.25
	15	NK3	0.77	0.69	*	0.30
			0.76	0.69	*	0.29
	16	NK4	0.80	0.73	*	0.36
			0.83	0.76	*	0.41
	17	NK5	0.74	0.67	*	0.26
			0.73	0.66	*	0.24
	18	NK6	0.77	0.70	*	0.30
			0.78	0.70	*	0.31
PR+NK GRUBU	19	PR+NK1	0.75	0.68	*	0.27
			0.74	0.67	*	0.26
	20	PR+NK2	0.76	0.69	*	0.29
			0.80	0.73	*	0.35
	21	PR+NK3	0.77	0.69	*	0.29
			0.76	0.68	*	0.28
	22	PR+NK4	0.77	0.70	*	0.30
			0.77	0.69	*	0.30
	23	PR+NK5	0.79	0.72	*	0.34
			0.80	0.72	*	0.35
	24	PR+NK6	0.84	0.77	*	0.42
			0.87	0.79	*	0.48



Şekil 4.1. IGF-1 konsantrasyonu

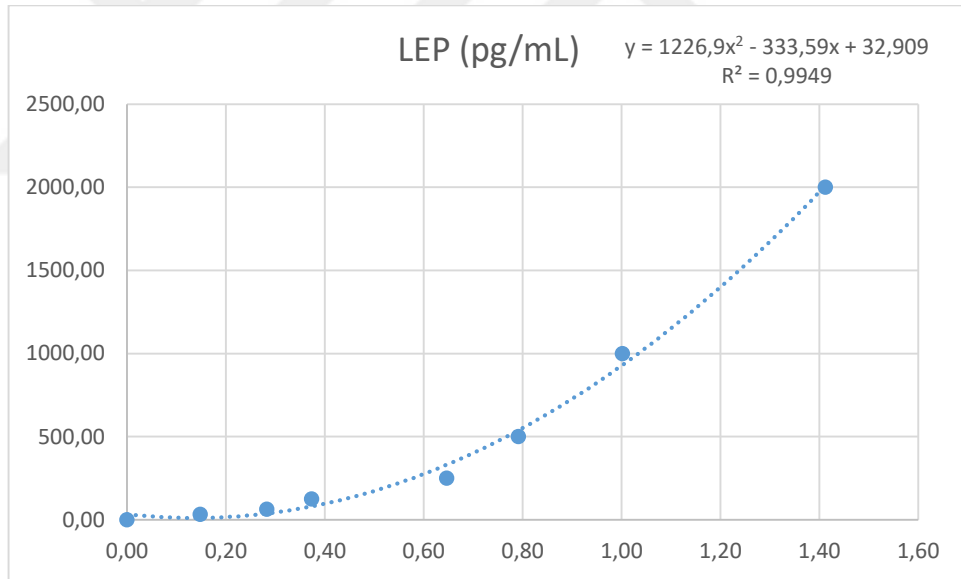
Elisa yöntemi kullanılarak analiz edilen serumlardaki Leptin faktörüne ait sonuçlar Tablo 4.2’de görülmektedir.

Tablo 4.2. Leptinin elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar

Grup İsimleri	Sıra	Örnek İsimleri	OD	OD-BLNK	EXP	LEP (pg/mL)
STANDARTLAR	1	STD1	1.56	1.41	2000.00	2010.51
	2	STD2	1.15	1.00	1000.00	930.95
	3	STD3	0.94	0.79	500.00	537.49
	4	STD4	0.79	0.65	250.00	330.42
	5	STD5	0.52	0.37	125.00	79.29
	6	STD6	0.43	0.28	62.50	36.66
	7	STD7	0.29	0.15	31.25	10.41
	8	STD8	0.15	0.00	0.00	32.91
K GRUBU	1	K1	0.78	0.63	*	312.01
			0.77	0.63	*	304.63
	2	K2	0.74	0.59	*	261.84
			0.74	0.59	*	264.07
	3	K3	0.76	0.61	*	289.22
			0.74	0.59	*	263.06
	4	K4	0.73	0.59	*	257.63
			0.73	0.58	*	254.56
	5	K5	0.76	0.61	*	288.51
			0.74	0.59	*	265.63
	6	K6	0.74	0.59	*	265.07
			0.74	0.59	*	266.75
PR GRUBU	7	PR1	0.74	0.60	*	272.28
			0.74	0.59	*	262.40
	8	PR2	0.70	0.55	*	222.10
			0.71	0.56	*	234.41
	9	PR3	0.76	0.61	*	288.28
			0.72	0.58	*	250.31
	10	PR4	0.71	0.57	*	237.56
			0.71	0.56	*	233.88
	11	PR5	0.70	0.55	*	225.17
			0.71	0.57	*	237.35
	12	PR6	0.69	0.54	*	210.34
			0.69	0.54	*	212.82
NK GRUBU	13	NK1	0.81	0.66	*	353.12
			0.78	0.64	*	316.65
	14	NK2	0.73	0.59	*	260.51
			0.73	0.58	*	253.14
	15	NK3	0.76	0.62	*	294.15
			0.72	0.57	*	240.85

Tablo 4.2.'nin devamı.

PR+NK GRUBU	16	NK4	0.71	0.56	*	235.14
			0.72	0.57	*	246.42
	17	NK5	0.77	0.62	*	302.35
			0.78	0.63	*	314.82
	18	NK6	0.72	0.58	*	248.90
			0.75	0.60	*	275.69
	19	PR+NK1	0.74	0.59	*	266.75
			0.71	0.57	*	236.83
	20	PR+NK2	0.71	0.56	*	231.27
			0.72	0.57	*	241.17
	21	PR+NK3	0.75	0.60	*	273.98
			0.75	0.60	*	273.87
	22	PR+NK4	0.71	0.56	*	230.33
			0.70	0.55	*	224.25
	23	PR+NK5	0.73	0.58	*	251.18
			0.71	0.56	*	233.88
	24	PR+NK6	0.72	0.57	*	243.84
			0.74	0.60	*	271.15



Şekil 4.2. Leptin Konsantrasyonu

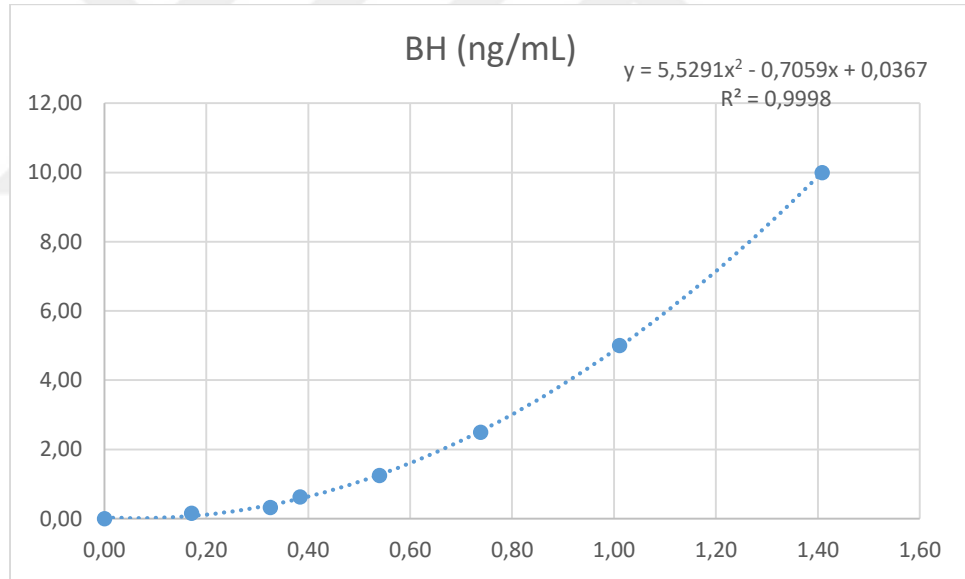
Büyüme hormonunun Elisa yöntemiyle analiz sonuçları Tablo 4.3.'te yer almaktadır.

Tablo 4.3. BH'nın elisa çalışmaları sonucu yapılan hesaplamalar

Grup İsimleri	Sıra	Örnek İsimleri	OD	OD-BLNK	EXP	BH (ng/mL)
Standartlar	1	STD1	1.57	1.41	10.00	10.00
	2	STD2	1.17	1.01	5.00	4.97
	3	STD3	0.90	0.74	2.50	2.53
	4	STD4	0.70	0.54	1.25	1.27
	5	STD5	0.54	0.38	0.63	0.58
	6	STD6	0.48	0.33	0.32	0.39
	7	STD7	0.33	0.17	0.16	0.08
	8	STD8	0.16	0.00	0.00	0.04
K Grubu		K1	0.72	0.56	*	1.38
		K2	0.69	0.53	*	1.23
		K3	0.73	0.57	*	1.46
		K4	0.69	0.53	*	1.22
		K5	0.69	0.53	*	1.23
		K6	0.66	0.50	*	1.07
		K7	0.67	0.52	*	1.14
		K8	0.69	0.53	*	1.24
		K9	0.67	0.52	*	1.15
		K10	0.69	0.53	*	1.22
		K11	0.69	0.53	*	1.22
		K12	0.68	0.52	*	1.17
PR Grubu		PR1	0.68	0.52	*	1.19
		PR2	0.66	0.51	*	1.10
	8	PR3	0.67	0.51	*	1.13
		PR4	0.70	0.54	*	1.28
	9	PR5	0.69	0.53	*	1.20
		PR6	0.66	0.50	*	1.08
	10	PR7	0.67	0.51	*	1.13
		PR8	0.68	0.52	*	1.18
	11	PR9	0.67	0.51	*	1.11
		PR10	0.65	0.50	*	1.05
	12	PR11	0.65	0.50	*	1.05
		PR12	0.67	0.52	*	1.15
NK Grubu	13	NK1	0.69	0.54	*	1.24
		NK2	0.69	0.53	*	1.22
	14	NK3	0.70	0.55	*	1.31
		NK4	0.68	0.52	*	1.16
	15	NK5	0.68	0.52	*	1.16
		NK6	0.65	0.49	*	1.03
	16	NK7	0.67	0.51	*	1.11
		NK8	0.68	0.52	*	1.17

Tablo 4.3.'ün devamı.

	17	NK9 NK10	0.67	0.51	*	1.12
			0.64	0.48	*	0.98
	18	NK11 NK12	0.66	0.51	*	1.09
			0.68	0.53	*	1.20
PR+NK Grubu	19	PR+NK1 PR+NK2	0.68	0.52	*	1.15
			0.66	0.50	*	1.08
	20	PR+NK3 PR+NK4	0.68	0.52	*	1.17
			0.69	0.53	*	1.23
	21	PR+NK5 PR+NK6	0.70	0.55	*	1.30
			0.67	0.51	*	1.12
	22	PR+NK7 PR+NK8	0.70	0.55	*	1.30
			0.72	0.56	*	1.39
	23	PR+NK9 PR+NK10	0.70	0.54	*	1.29
			0.66	0.51	*	1.09
	24	PR+NK11 PR+NK12	0.69	0.53	*	1.22
			0.72	0.56	*	1.40



Şekil 4.3. Büyüme Hormonu (BH) konsantrasyonu

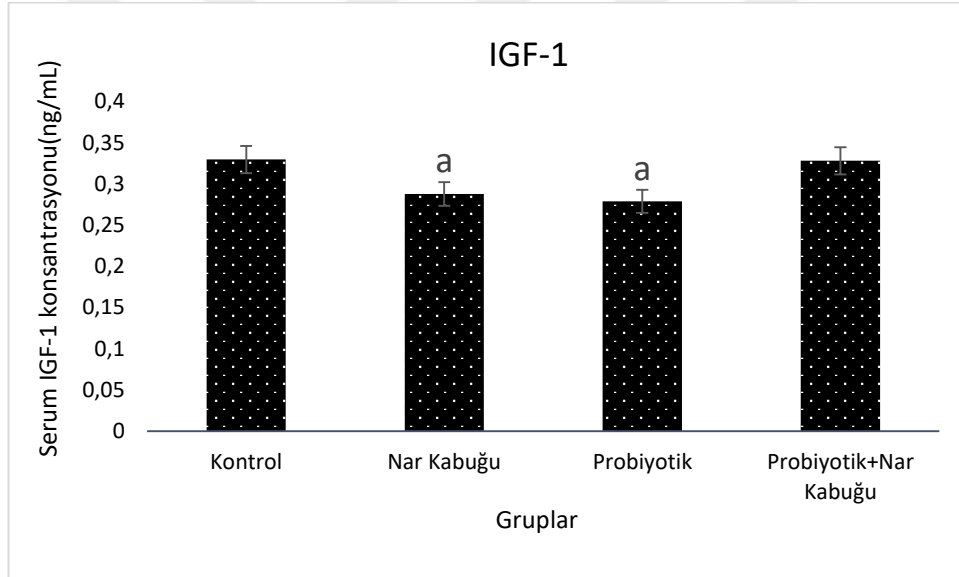
Yapılan çalışma sonucunda nar kabuğu tozu ve probiyotik ilave edilen gruplarda büyüme faktörü değerleri kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur.

Tablo 4.4. Etlik piliç serumlarındaki büyüme hormonu, insulin benzeri büyüme faktörü ve leptin seviyeleri. (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; PR + NK grubu ile karşılaştırıldığında)

	Kontrol	NK	PR	PR+ NK
BH	1.226±0.03	1.151±0.03 ^{ac}	1.137±0.02 ^{ac}	1.229±0.03
IGF-1	0.329±0.01	0.287±0.02 ^a	0.278±0.02 ^a	0.328±0.02
LEPTİN	274.416±5.53	278.478±10.78 ^b	240.57±6.86 ^{ab}	248.208±5.36 ^b

4.1 IGF-1 (Insülin Benzeri Büyüme Faktörü 1)

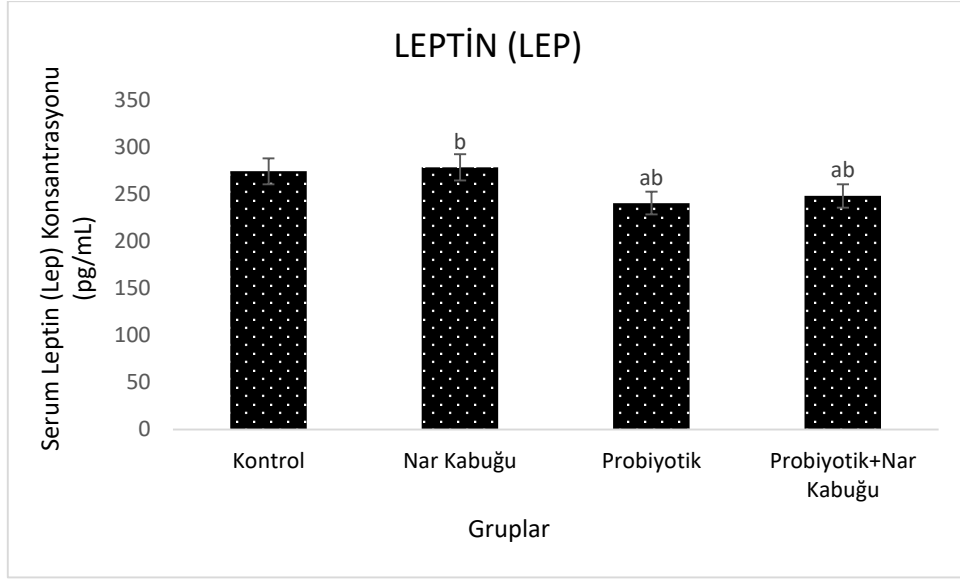
Serum IGF-1 seviyesi probiyotik (PR) ve Nar kabuğu (NK) grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p<0.05). (p değerleri sırasıyla p=0.015; 0,043).



Şekil 4.4. Serum IGF-1 seviyesi (^a p<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; PR +NK grubu ile karşılaştırıldığında)

4.2 Leptin (LEP)

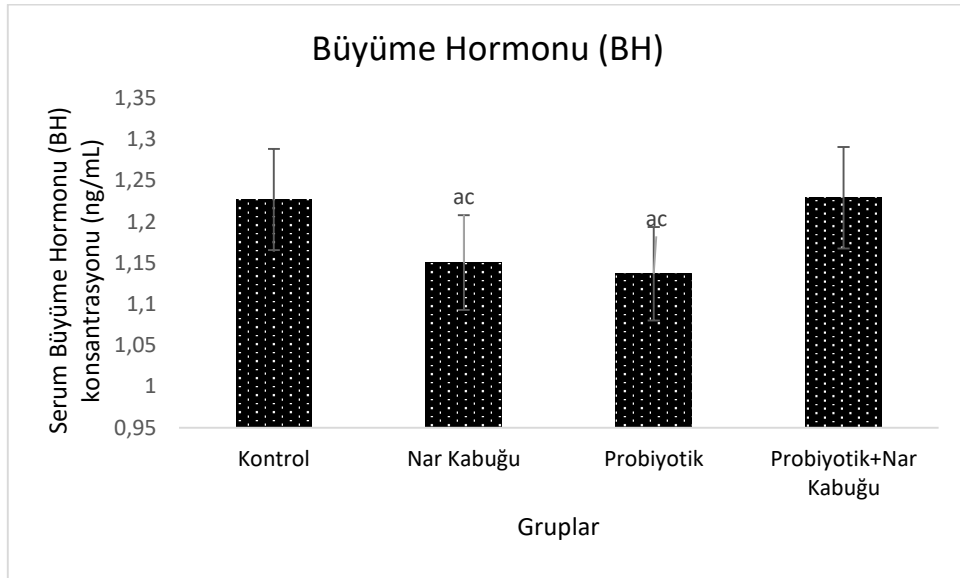
Serum Leptin seviyesi Probiyotik (Pr) ve Probiyotik +Nar kabuğu (PR+NK) grubunda, kontrol ve Nar Kabuğu (NK) grubundan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p<0.05).



Şekil 4.5. Serum Leptin(LEP) seviyesi (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; PR+NK grubu ile karşılaştırıldığında)

4.3 Büyüme Hormonu (BH)

Serum Büyüme Hormonu seviyesi Probiyotik (PR) ve Nar kabuğu (NK) grubunda kontrol ve Probiyotik +Nar Kabuğu (PR+NK) grubundan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p<0.05).



Şekil 4.6. Serum Büyüme Hormonu (BH) seviyesi (^a P<0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ^b p<0.05; NK grubu ile karşılaştırıldığında; ^c p<0.05; PR+NK grubu ile karşılaştırıldığında)

Beyaz ve kahverengi suşlardan 240'ar adet 1 günlük Japon bildircinlerinin kullanıldığı bir çalışmada hayvan materyali 4 muamele ve 6 alt grup şeklinde

ayrılmıştır. Bildircinların rasyonlarına %0, %3, %6 ve %9 oranında nar kabuğu tozu katılmıştır. Çalışma 42 gün sürmüştür. %3 ve %6 nar kabuğu tozu ilaveli yemle beslenen beyaz bildircinlarda hepatik GHR geninin ekspresyon seviyesi daha yüksek bulunmuştur. Hepatik IGF-1 geninin ekspresyonu, %6 ve %9 nar kabuğu tozu diyetiyle beslenen kahverengi bildircinlarda önemli ölçüde ($P<0.05$) daha yüksek bulunmuştur. %6 nar kabuğu tozu diyetiyle beslenen bildircinların deneme sonunda en yüksek canlı ağırlığa sahip olması nedeniyle ekspresyon seviyesi fenotip sonuçlarıyla uyumludur (Kamel, 2021). Sonuç olarak besleme düzeyi, besin kullanımını ve büyüme performansını artırabilecek önemli bir faktör olarak düşünülebilir.

İran’da yapılan bir çalışmada, kuluçkahaneden ağırlık ortalaması $44,3\pm0,4$ g olan 300 adet 1 günlük Ross 308 civcivi alınmış. Deneme deseni 100 civcivden oluşan 3 muamele şeklinde planlanmıştır. Her muamele 4 alt gruba ayrılmıştır. Çalışma 6 hafta sürdürülmüştür. Muameleler kontrol grubu, doğal LAB grubu ve ticari LAB grubu olarak belirlenmiştir. *Escherichia coli* popülasyonları önemli ölçüde azalırken ($P<0.04$) probiyotik ilave edilen gruplarda karaciğer dokusunda IGF-1 geninin ekspresyonu kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır (Salehizadeh, 2019).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada günümüzde antibiyotiklere alternatif olma özelliğine sahip yem katkı maddesi olarak kullanılan probiyotik ve nar kabuğu tozu ile bunların karışımının etlik piliç yemlerine ilavesinin serumda büyüme hormonu, insulin benzeri büyüme faktörü ve leptin üzerine etkisi incelenmiştir.

Elisa yöntemi ile analiz edilen serumlarda IGF – 1 ve büyüme hormonu seviyeleri kontrol grubuna göre nar kabuğu ve probiyotik ilaveli gruplarda daha düşük bulunmuştur. Leptin seviyesi ise probiyotik ve probiyotik + nar kabuğu grubunda kontrol grubuna göre daha düşük seviyede tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada yemlere katılan nar kabuğu ve probiyotik ilavesinin büyüme faktörlerini yeterli düzeyde artırmadığı tespit edilmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda farklı dozlarda nar kabuğu ve probiyotik kullanılması ideal dozun tespiti için yararlı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y., Salem, A. Z. M., & Zamiri, M. J. (2014). Nitrogen balance, blood metabolites and milk fatty acid composition of dairy cows fed pomegranate-peel extract. *Livestock Science*, 164, 72-80.

Aizawa, K., & Inakuma, T. (2007). Quantitation of carotenoids in commonly consumed vegetables in Japan. *Food science and technology research*, 13(3), 247-252.

Akbalık, M. E. (2019). Keklik (Alectoris chukar) Barsağında Ghrelin, Leptin ve Obestatin Dağılımı. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 117-121.

Akdağ, E. (2011). Industrial reports of fruit juice, nectar and fruit drink in Turkey (Türkiye meyve suyu vb ürünler sanayi raporu). *Istanbul, MEYED*.

Aksoylu, Z., Çağındı, Ö., & Köse, E. (2012). Bisküvinin fonksiyonel bileşenlerce zenginleştirilmesi. *Akademik Gıda*, 10(3), 70-78.

Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. *International journal of food microbiology*, 134(3), 244-248.

Ashwell, C. M., Czerwinski, S. M., Brocht, D. M., & McMurtry, J. P. (1999). Hormonal regulation of leptin expression in broiler chickens. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 276(1), R226-R232.

Attia, Y. A., Bovera, F., Wang, J., Al-Harhi, M. A., & Kim, W. K. (2020). Multiple amino acid supplementations to low-protein diets: Effect on performance, carcass yield, meat quality and nitrogen excretion of finishing broilers under hot climate conditions. *Animals*, 10(6), 973. doi:10.3390/ani10060973

Barclay, R. D., Burd, N. A., Tyler, C., Tillin, N. A., & Mackenzie, R. W. (2019). The role of the IGF-1 signaling cascade in muscle protein synthesis and anabolic resistance in aging skeletal muscle. *Frontiers in nutrition*, 6, 146. doi:10.3389/fnut.2019.00146.

Baumann, G. (2002). Growth hormone binding protein. The soluble growth hormone receptor. *Minerva endocrinologica*, 27(4), 265-276.

Brunner, L., Nick, H. P., Cumin, F., Chiesi, M., Baum, H. P., Whitebread, S., ... & Levens, N. (1997). Leptin is a physiologically important regulator of food intake. *International journal of obesity*, 21(12), 1152-1160.

Cai, B., Zhou, M. H., Huang, H. L., Zhou, A. C., Chu, Z. D., Huang, X. D., & Li, C. W. (2020). Protective effects of citrulline supplementation in ulcerative colitis rats. *PLoS One*, 15(10), e0240883. doi:10.1371/journal.pone.0240883.

Çam, M., İçyer, N. C., & Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 117-123.

Chand, N., Naz, S., Rehman, Z., & Khan, R. U. (2018). Blood biochemical profile of four fast-growing broiler strains under high ambient temperature. *Applied Biological Chemistry*, 61(3), 273-279. doi:10.1007/s13765-018-0358-4

Chromiak, J. A., & Antonio, J. (2002). Use of amino acids as growth hormone-releasing agents by athletes. *Nutrition*, 18(7-8), 657-661. doi:10.1016/s0899-9007(02)00807-9

- Cohen, B., Novick, D., & Rubinstein, M. (1996). Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 274(5290), 1185-1188.
- Considine, R. V., & Caro, J. F. (1997). Leptin and the regulation of body weight. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(11), 1255-1272.
- da Silva, J. A. T., Rana, T. S., Narzary, D., Verma, N., Meshram, D. T., & Ranade, S. A. (2013). Pomegranate biology and biotechnology: A review. *Scientia Horticulturae*, 160, 85-107.
- Del Vesco, A. P., Gasparino, E., Grieser, D. O., Zancanela, V., Voltolini, D. M., Khatlab, A. S., ... & Neto, A. R. O. (2015). Effects of methionine supplementation on the expression of protein deposition-related genes in acute heat stress-exposed broilers. *PLoS One*, 10(2), e0115821. doi:10.1371/journal.pone.0115821
- Dixon, L. M. (2020). Slow and steady wins the race: The behaviour and welfare of commercial faster growing broiler breeds compared to a commercial slower growing breed. *PLoS one*, 15(4), e0231006.
- Elmastaş, M. and Gerçekçioğlu, R. (2006). "Antioxidant Activity of Some Soft Fruits Species", II. National Soft Fruits Symposium, Tokat, 295-298.
- Fried, S. K., Ricci, M. R., Russell, C. D., & Laferrère, B. (2000). Regulation of leptin production in humans. *The Journal of nutrition*, 130(12), 3127S-3131S.
- Gasparino, E., Del Vesco, A. P., Voltolini, D. M., Nascimento, C. D., Batista, E., Khatlab, A. S., ... & Guimarães, S. E. F. (2014). The effect of heat stress on GHR, IGF-I, ANT, UCP and COXIII mRNA expression in the liver and muscle of high and low feed efficiency female quail. *British poultry science*, 55(4), 466-473.
- Gölküçü, M., Toker, R., & Tokgöz, H. (2015). Hasat Zamanının Nar Suyunun Şeker ve Organik Asit Bileşimleri Üzerine Etkisi. *Gıda*, 36(6), 351-357.
- Gündoğdu, M., Yılmaz, H., & Canan, İ. (2015). Nar (*Punica granatum* L.) çeşit ve genotiplerin fizikokimyasal karakterizasyonu. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 1(2), 57-65.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12), 1719-1726.
- Gura, T. (1997). Obesity sheds its secrets. *Science*, 275(5301), 751-753.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.
- Güz, B. C., de Jong, I. C., Da Silva, C. S., Veldkamp, F., Kemp, B., Molenaar, R., & van den Brand, H. (2021). Effects of pen enrichment on leg health of fast and slower-growing broiler chickens. *PLoS One*, 16(12), e0254462.
- Herington, A. C., Phillips, L. S., & Daughaday, W. H. (1976). Pituitary regulation of human growth hormone binding sites in rat liver membranes. *Metabolism*, 25(3), 341-353.
- Ismail, T., Sestili, P., & Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 397-405.
- Kalvandi, O., Sadeghi, A., & Karimi, A. (2019). Methionine supplementation improves reproductive performance, antioxidant status, immunity and maternal antibody transmission in breeder Japanese quail under heat stress conditions. *Archives Animal Breeding*, 62(1), 275-286. doi:10.5194/aab-62-275-2019

Kamel, E. R., Shafik, B. M., Mamdouh, M., Elrafaay, S., & Abdelfattah, F. A. I. (2021). Response of two strains of growing Japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) to diet containing pomegranate peel powder. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-11.

Karakaya, S., & El, S. N. (2006). Total phenols and antioxidant activities of some herbal teas and in vitro bioavailability of black tea polyphenols. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 23(1), 1-8.

Kurt, H., & Şahin, G. (2013). Bir Ziraat Coğrafyası Çalışması: Türkiye’de Nar (*Punica granatum* L.) Tarimi. *Marmara coğrafya dergisi*, (27), 551-574.

Laron, Z. (2001). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Molecular Pathology*, 54(5), 311. doi:10.1136/mp.54.5.311

Li, X., Zhang, M., Feng, J., & Zhou, Y. (2021). Myostatin and related factors are involved in skeletal muscle protein breakdown in growing broilers exposed to constant heat stress. *Animals*, 11(5), 1467. doi:10.3390/ani11051467

Ma, B., He, X., Lu, Z., Zhang, L., Li, J., Jiang, Y., ... & Gao, F. (2018). Chronic heat stress affects muscle hypertrophy, muscle protein synthesis and uptake of amino acid in broilers via insulin like growth factor-mammalian target of rapamycin signal pathway. *Poultry science*, 97(12), 4150-4158. doi:10.3382/ps/pey291

Ma, B., Zhang, L., Li, J., Xing, T., Jiang, Y., & Gao, F. (2021). Heat stress alters muscle protein and amino acid metabolism and accelerates liver gluconeogenesis for energy supply in broilers. *Poultry Science*, 100(1), 215-223.

Murakami, T., Iida, M., & Shima, K. (1995). Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 214(3), 1260-1267.

Nawaz, A. H., Amoah, K., Leng, Q. Y., Zheng, J. H., Zhang, W. L., & Zhang, L. (2021). Poultry response to heat stress: Its physiological, metabolic, and genetic implications on meat production and quality including strategies to improve broiler production in a warming world. *Frontiers in veterinary science*, 8, 699081. doi:10.3389/fvets.2021.699081.

Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., & Jena, B. S. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food chemistry*, 80(3), 393-397.

Nizamlioğlu, N. M., & Nas, S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 20-35.

Noy, Y., & Sklan, D. (2001). Yolk and exogenous feed utilization in the posthatch chick. *Poultry science*, 80(10), 1490-1495.

Oh, H. S., Oh, S. K., Lee, J. S., Wu, C., & Lee, S. J. (2017). Effects of l-arginine on growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Food science and biotechnology*, 26, 1749-1754. doi:10.1007/s10068-017-0236-6.

Okumuş, G., Yıldız, E., & Bayizid, A. A. (2015). Doğal antioksidan bileşikler: Nar yan ürünlerinin antioksidan olarak değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2).

Opara, L. U., Al-Ani, M. R., & Al-Shuaibi, Y. S. (2009). Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, 2, 315-321.

Özgüven, A. I., Yılmaz, C., Yılmaz, M., İmrak, B. ve Dikkaya, Y. R. (2015). “Nar Yetiştiriciliği: Kıbrıs Ekolojik Koşullarında Değişik Nar Çeşitlerinin Adaptasyonu” KKTC Gıda Tarım ve Enerji Bakanlığı, Tägep Proje No:5.2.2.3.

Özkan, G., & Göktürk Baydar, N. (2006). A direct RP-HPLC determination of phenolic compounds in Turkish red wines. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(2), 229-234.

Proszkowiec-Weglarz, M., Schreier, L. L., Miska, K. B., Angel, R., Kahl, S., & Russell, B. (2019). Effect of early neonatal development and delayed feeding post-hatch on jejunal and ileal calcium and phosphorus transporter genes expression in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(4), 1861-1871.

Ravindran, V., & Abdollahi, M. R. (2021). Nutrition and digestive physiology of the broiler chick: State of the art and outlook. *Animals*, 11(10), 2795.

Reul, B. A. (1997). Insulin and insulin-like growth factor I antagonize the stimulation of ob gene expression by dexamethasone in cultured rat adipose tissue. *Biochemical Journal*, 342, 605-610.

Rhoads, M. L., Kim, J. W., Collier, R. J., Crooker, B. A., Boisclair, Y. R., Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2010). Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. *Journal of Dairy Science*, 93(1), 170-179. doi:10.3168/jds.2009-2469.

Richards, M. P., Caperna, T. J., Elsasser, T. H., Ashwell, C. M., & McMurtry, J. P. (2000). Design and application of a polyclonal peptide antiserum for the universal detection of leptin protein. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 45(2), 147-156.

Sadeghipour, A., Eidi, M., Ilchizadeh Kavgani, A., Ghahramani, R., Shahabzadeh, S., & Anissian, A. (2014). Lipid lowering effect of Punica granatum L. peel in high lipid diet fed male rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.

Saeed, M., Abbas, G., Alagawany, M., Kamboh, A. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., & Chao, S. (2019). Heat stress management in poultry farms: A comprehensive overview. *Journal of thermal biology*, 84, 414-425. doi:10.1016/j.jtherbio.2019.07.025.

Salehizadeh, M., Modarressi, M. H., Mousavi, S. N., & Ebrahimi, M. T. (2019). Effects of probiotic lactic acid bacteria on growth performance, carcass characteristics, hematological indices, humoral immunity, and IGF-I gene expression in broiler chicken. *Tropical animal health and production*, 51, 2279-2286.

Shimizu, H., Shimomura, Y., Nakanishi, Y., Futawatari, A., Ohtani, K., Sato, N., & Mori, M. (1997). Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *Journal of Endocrinology*, 154(2), 285-292.

Sikora, E., Cieřlik, E., & Topolska, K. (2008). The sources of natural antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 5-17.

Simon, J., Chevalier, B., Derouet, M., & Leclercq, B. (1991). Normal number and kinase activity of insulin receptors in liver of genetically fat chickens. *The Journal of nutrition*, 121(3), 379-385.

Switonski, M. (2002). Molecular genetics in beef cattle breeding-a review. *Animal Science Papers and Reports. Supplement*, 20(1).

Topkaya, C. (2017). *Nar kabuğu tozu ilavesinin keklerin besinsel, duyuusal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi* (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

TÜİK, (2024). <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>. Eriřim Tarihi: 10.10.2024.

Uyanga, V. A., Oke, E. O., Amevor, F. K., Zhao, J., Wang, X., Jiao, H., ... & Lin, H. (2022). Functional roles of taurine, L-theanine, L-citrulline, and betaine during heat stress in poultry. *Journal of animal science and biotechnology*, 13(1), 1-20. doi:10.1186/s40104-022-00675-6.

van der Wagt, I., de Jong, I. C., Mitchell, M. A., Molenaar, R., & van den Brand, H. (2020). A review on yolk sac utilization in poultry. *Poultry Science*, 99(4), 2162-2175.

Wang, G., Li, X., Zhou, Y., Feng, J., & Zhang, M. (2021). Effects of heat stress on gut-microbial metabolites, gastrointestinal peptides, glycolipid metabolism, and performance of broilers. *Animals*, 11(5), 1286. doi:10.3390/ani11051286.

Wang, J. S., Hu, H. J., Xu, Y. B., Wang, D. C., Jiang, L., Li, K. X., ... & Zhan, X. A. (2020b). Effects of posthatch feed deprivation on residual yolk absorption, macronutrients synthesis, and organ development in broiler chicks. *Poultry science*, 99(11), 5587-5597.

Wang, J., Wang, D., Li, K., Xia, L., Wang, Y., Jiang, L., ... & Zhan, X. (2020a). Effects of first feed administration on small intestinal development and plasma hormones in broiler chicks. *Animals*, 10(9), 1568.

Wu, G. (2013). Functional amino acids in nutrition and health. *Amino acids*, 45, 407-411. doi:10.1007/s00726-013-1500-6.

Yıldırım, A., Çetin, S., Öğretmen, H., Sarı, P., & Hayoğlu, İ. (2016). Narın çikolata üretiminde kullanımı. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20(1), 12-19.

Zahoor, I., de Koning, D. J., & Hocking, P. M. (2017). Transcriptional profile of breast muscle in heat stressed layers is similar to that of broiler chickens at control temperature. *Genetics Selection Evolution*, 49, 1-11. doi:10.1186/s12711-017-0346-x.

Zuo, J., Xu, M., Abdullahi, Y. A., Ma, L., Zhang, Z., & Feng, D. (2015). Constant heat stress reduces skeletal muscle protein deposition in broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(2), 429-436. doi:10.1002/jsfa.6749.