



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE KAPSÜLE EDİLMİŞ
REZENE TOHUMU (*Foeniculum vulgare* Mill.)
UÇUCU YAĞI İLAVESİNİN PERFORMANS İLE
BAĞIRSAK MİKROFLORASI, MORFOLOJİSİ VE
TRANSKRİPTOMİK PROFİLLEMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Doktora Tezi

Hasan Hüseyin İPÇAK

Zootekni Anabilim Dalı

İzmir

2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE KAPSÜLE EDİLMİŞ
REZENE TOHUMU (*Foeniculum vulgare* Mill.)
UÇUCU YAĞI İLAVESİNİN PERFORMANS İLE
BAĞIRSAK MİKROFLORASI, MORFOLOJİSİ VE
TRANSKRİPTOMİK PROFİLLEMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hasan Hüseyin İPÇAK

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ALÇİÇEK

Zootekni Anabilim Dalı
Yemler ve Hayvan Besleme Doktora Programı

İzmir
2020

Hasan Hüseyin İPÇAK tarafından Doktora tezi olarak sunulan “Etlik Piliç Yemlerine Kapsüle Edilmiş Rezene Tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) Uçucu Yağı İlavesinin Performans ile Bağırsak Mikroflorası, Morfolojisi ve Transkriptomik Profillemesi Üzerine Etkileri” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesinin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 18/12/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Ahmet ALÇİÇEK

Raportör Üye : Prof. Dr. Zümrüt AÇIKGÖZ

Üye : Prof. Dr. Metin ÇABUK

Üye : Prof. Dr. Güldehen BİLGİN

Üye : Prof. Dr. Muzaffer DENLİ

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum "Etlik Piliç Yemlerine Kapsüle Edilmiş Rezene Tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) Uçucu Yağı İlavesinin Performans ile Bağırsak Mikroflorası, Morfolojisi ve Transkriptomik Profillemesi Üzerine Etkileri" başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarım ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

18/12/2020



Hasan Hüseyin İPÇAK

ÖZET

**ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE KAPSÜLE EDİLMİŞ REZENE
TOHUMU (*Foeniculum vulgare* Mill.) UÇUCU YAĞI İLAVESİNİN
PERFORMANS İLE BAĞIRSAK MİKROFLORASI,
MORFOLOJİSİ VE TRANSKRİPTOMİK PROFİLLEMESİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

İPÇAK, Hasan Hüseyin

Doktora Tezi, Zootekni Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet ALÇİÇEK

Aralık 2020, 197 sayfa

Bu çalışma, kapsüle edilmiş rezene tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağı'nın (RUY) karma yemlere ilavesinin, etlik piliçlerin büyüme performansı ile ince bağırsak mikroflorası ve morfolojisi üzerindeki etkinliğini ortaya koymak ve bu biyolojik süreçlerdeki genetik ve moleküler mekanizmaları nutrigenomik teknolojileri kullanarak ince bağırsak transkriptomik profillemesi üzerinden incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada toplam 400 adet 1 günlük yaştaki Ross-308 genotipindeki erkek civcivler her grupta 16 tekerrür olacak şekilde 5 gruba tesadüfi olarak dağıtılmıştır. Deneme, hiçbir yem katkı maddesi içermeyen standart yemle beslenen kontrol grubu ve her 1 kg standart yeme 50 mg (RUY50), 100 mg (RUY100), 200 mg (RUY200) veya 400 mg (RUY400) kapsüle edilmiş RUY ilavesiyle beslenen etlik piliç gruplarından oluşmuştur. Çalışma tesadüf parselleri deneme planına göre 6 hafta devam etmiştir.

Elde edilen performans parametreleri değerlendirildiğinde canlı ağırlıklar (CA) ve Avrupa üretim etkinlik faktörü (EPEF) değerlerinin RUY50 grubunda artma eğiliminde olduğu, RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarında ise benzer ve kontrol grubuna kıyasla önemli derecede arttığı saptanmıştır ($P<0.05$). Canlı ağırlık kazancı'nın (CAK) RUY düzey artışına paralel olarak arttığı ve en yüksek RUY400 grubunda görüldüğü tespit edilmiştir ($P<0.05$). Yem tüketimi'nin (YT)

ise RUY düzey artışından etkilenmediği ($P>0.05$), yemden yararlanma oranı'nın (YYO) da kontrol grubuna kıyasla tüm RUY düzeylerinde iyileştiği ($P<0.05$), ancak RUY ilaveli gruplar arasında fark olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$). RUY'un ölüm oranını ise rakamsal olarak azalttığı görülmüştür. RUY düzey artışının sıcak karkas randımanını ve göğüs kası ağırlığını artırdığı bulunmuştur. Özellikle de RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarında abdominal yağ, karaciğer, bursa fabricius ve total ince bağırsak ağırlıkları önemli derecede artmıştır ($P<0.05$). RUY'un duodenum, jejunum ve ileum morfolojisini iyileştirdiği, duodenum ve jejunumdaki mukozal tabaka ile, jejunum ve ileumdaki musküler tabaka kalınlığını artırdığı saptanmıştır ($P<0.05$). Ayrıca jejunum ve ileumdaki patojen mikroorganizmaları baskılayarak *Lactobacillus* spp. popülasyonunun artmasını sağlamıştır ($P<0.05$).

İnce bağırsak dokularından alınan örneklerde yapılan mikroarray analizi sonucu elde edilen transkriptom profilinde ise kontrol grubuna kıyasla, RUY50 grubunda 261 genin (206 upregüle, 55 downregüle), RUY100 grubunda 302 genin (218 upregüle 84 downregüle), RUY200 grubunda 292 genin (231 upregüle, 61 downregüle) ve RUY400 grubunda 348 genin (268 upregüle, 80 downregüle) mRNA ekspresyon seviyelerinin değiştiği saptanmıştır. Upregüle genlerin büyük çoğunluğunun katalitik aktivite, bağlayıcı/binding, transkripsiyon regülatör ve transkripsiyon faktör, anatomik yapı ve hücrel gelişim ile protein bağlanma aktivite düzenleyicisiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Downregüle genler ise çoğunlukla taşıyıcı ve protein modifiye edici enzim sınıflarında yer almıştır. Mikroarray analizinin validasyonu için seçilen genlerin qRT-PCR ile analizi sonucunda da kontrol grubuna kıyasla RUY100 grubunda anti-inflamatuar IL-10 geni (4.41 kat) önemli derecede artmış, proapoptotik BAK1 geni ise (-1.23 kat) azaltmıştır ($P<0.05$). Sonuç olarak, özellikle 100, 200 veya en çok 400 mg/kg düzeylerindeki rezene tohumu uçucu yağı ilavesinin etlik piliçler üzerinde olumlu etkileri gözlenmiştir. Ancak yem katkı maddelerinin kanatlı endüstrisi tarafından kabulü büyük ölçüde yem girdi maliyetlerine bağlı olduğundan, maliyet etkinliği açısından 100 mg/kg rezene tohumu uçucu yağ düzeyi önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Etlik piliç, rezene tohumu uçucu yağı, performans, mikroflora, histomorfoloji, nutrigenomik, mikroarray, qRT-PCR.

ABSTRACT**EFFECTS OF ENCAPSULATED FENNEL SEED (*Foeniculum vulgare* Mill.) ESSENTIAL OIL ADDITION TO BROILER DIET ON PERFORMANCE AND MICROFLORA, MORPHOLOGY AND TRANSCRIPTOMIC PROFILING OF INTESTINE**

İPÇAK, Hasan Hüseyin

PhD thesis Department of Animal Science

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ALÇİÇEK

December 2020, 197 pages

The aim of this study is to reveal the effect of the addition of the capsulated fennel seed (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil (RUY) into the mixed feeds on the growth performance of broilers, small intestine microflora and morphology, and to examine the genetic and molecular mechanisms in these biological processes over small intestine transcriptomic profiling by using nutrigenomic technologies. In the study, a total of 400 1-day-old male chicks of the Ross-308 genotype were randomly distributed into 5 groups, with 16 replications in each group. The experiment included a control group fed with standard feed containing no feed additives and broiler groups fed with the addition of 50 mg (RUY50), 100 mg (RUY100), 200 mg (RUY200) or 400 mg (RUY400) capsulated RUY per 1 kg standard feed. The research continued for 6 weeks according to the randomized plot trial design.

When the obtained performance parameters were evaluated, it was determined that the body weights (BW) and European production efficiency factor (EPEF) values tended to increase in the RUY50 group, while the RUY100, RUY200 and RUY400 groups were similar and significantly increased compared to the control group ($P<0.05$). It was found that body weight gains (BWG) increased in parallel with the RUY levels increase and was highest in the RUY400 group ($P<0.05$). It was determined that feed intake (FI) was not affected by the

increase in RUY levels ($P>0.05$), and that feed conversion rates (FCR) improved at all RUY levels ($P<0.05$) compared to the control group, but there was no difference between the RUY added groups ($P>0.05$). RUY was observed to decrease the mortality rate numerically. It was found that hot carcass yield and breast muscle weights increased parallel to the increase in RUY levels. Particularly abdominal fat, liver, bursa of fabricius and total small intestine weights increased significantly in the RUY100, RUY200 and RUY400 groups ($P<0.05$). It was found to improve the duodenum, jejunum and ileum morphology, and to increase mucosal layer thickness in duodenum and jejunum, and muscular layer thickness in jejunum and ileum ($P<0.05$). It also provided an increase in the population of *Lactobacillus* spp. by suppressing the pathogenic microorganisms in the jejunum and ileum ($P<0.05$).

In the transcriptome profile obtained as a result of microarray analysis of samples taken from small intestine tissues, the mRNA expression levels of 261 genes in the RUY50 group (206 upregulated, 55 downregulated), 302 genes in the RUY100 group (218 upregulated, 84 downregulated), 292 genes in the RUY200 group (231 upregulated, 61 downregulated) and 348 genes in the RUY400 group (268 upregulated, 80 downregulated) were found to have changed compared to the control group. The majority of the upregulated genes were observed to be associated with catalytic activity, binding, transcription regulator and transcription factor, anatomical structure and cellular development, and protein binding activity modulators. Also, downregulated genes are mostly included in transporter and protein modifying enzyme classes. As a result of the qRT-PCR analysis of the genes selected for the validation of the microarray analysis, the anti-inflammatory IL-10 gene (4.41-fold) increased significantly in the RUY100 group, and the pro-apoptotic BAK1 gene (-1.23-fold) decreased compared to the control group ($P<0.05$). Consequently, positive effects of fennel seed essential oil addition at a level of 100, 200 or max. 400 mg/kg on broilers were observed. However, as the acceptance of feed additives by the poultry industry largely depends on feed input costs, 100 mg/kg fennel seed essential oil level could be recommended for cost efficiency.

Keywords: Broiler, fennel seed essential oil, performance, microflora, histomorphology, nutrigenomic, microarray, qRT-PCR.

ÖNSÖZ

Tarımda antibiyotiklerin terapötik olmayan amaçlar için yanlış ve aşırı kullanımı, insan ve hayvan sağlığı açısından potansiyel bir tehdit oluşturan antimikrobiyal direncin gelişmesine yol açmıştır. Antibiyotiklerin bu şekilde yem içi kullanımının yasaklanmasının ardından birçok fitojenik yem katkı maddesi'nin (FYK) etlik piliçlerin beslenmesinde alternatif antibiyotik büyütme faktörü (ABF) olarak etkisi incelenmiştir. Ancak ABF yerine kullanılacak FYK'nin tam uygulanabilirliği için etlik piliçler üzerindeki etkinliklerine ait moleküler mekanizmalarının aydınlatılması son derece önemlidir. Nitekim gelişen teknolojiyle birlikte Nutrigenomik pratikte bağımsız olarak veya sistem biyolojisi yaklaşımıyla diğer "omik" bilimlerle entegre bir şekilde uygulanarak, çeşitli karma yem bileşenlerine karşı oluşan, hücresel ve moleküler tepkileri analiz etmeyi mümkün kılmaktadır. Bu bakış açısından yola çıkarak doktora tez konusunu 'Etlik Piliç Yemlerine Kapsüle Edilmiş Rezene Tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) Uçucu Yağı İlavesinin Performans ile Bağırsak Mikroflorası, Morfolojisi ve Transkriptomik Profillemesi Üzerine Etkileri' olarak belirlenmiştir. Yapılan literatür incelemelerinde, etlik piliçlerde RUY aracılı besin-gen etkileşimlerinin anlaşılması için uygulanan mikroarray temelli bir gen ekspresyon profillemeye çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle RUY aracılı elde edilen bu transkriptom veri setleri, performans, bağırsak sağlığı vb. ekonomik açıdan önemli özellikler ilgili gen belirteçlerinin keşfinde ve rasyon formülasyonlarında uygulanmasında, sürdürülebilir hayvancılık üretimine katkı sağlayabilecektir. Ayrıca hayvan besleme uzmanlarının hayvansal üretim verimliliğini artırmaları için beslemenin moleküler mekanizmalarını kullanmalarına ve etlik piliçlerin büyümesini, sağlığını ve üretimini teşvik etmek için genotipe özgü yemler veya yem katkı maddeleri geliştirmelerinde yeni bir bakış açısı oluşturmalarına yardımcı olabilecektir.

Bu proje, TÜBİTAK 1002-Hızlı Destek Programı kapsamında 119O982 numaralı projeye ve TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

İZMİR

18/12/2020

Hasan Hüseyin İPÇAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK.....	ii
KABUL ONAY SAYFASI	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxvii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1 Büyütme Faktörü Antibiyotikler.....	7
2.2 Antimikrobiyal Direnç.....	9
2.3 Büyütme Faktörü Antibiyotiklere Alternatifler	11
2.3.1 Fitojenik yem katkı maddeleri	13

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.2 Bitki sekonder metabolitleri	16
2.4 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Performans Üzerine Etkileri	22
2.5 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin İmmün Sistem Üzerine Etkileri	24
2.6 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkileri	27
2.7 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Gen Ekspresyonuna Etkileri	28
2.8 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Monogastrik Hayvanlarda Kullanıma Yönelik Yapılan Çalışmalar	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1 Gereç	46
3.1.1 Hayvan materyali	46
3.1.2 Yem materyali	46
3.1.3 Araştırmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler	49
3.2 Yöntem	53
3.2.1 Deneme planının kurulması ve yürütülmesi	53
3.2.2 Deneme yemlerinin kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi ve ME düzeylerinin hesaplanması	55

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.2.3 RUY'un uçucu bileşenleri, fenolik bileşikleri ve yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesi.....	56
3.2.4 RUY'un antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi.....	59
3.2.5 Performans parametrelerinin ölçülmesi.....	60
3.2.6 Karkas özellikleri ve organ ağırlıklarının belirlenmesi	61
3.2.7 İnce bağırsak morfolojisinin belirlenmesi	61
3.2.8 İnce bağırsak mikroflorasının belirlenmesi	65
3.2.9 Total ince bağırsak transkriptom profillemesi analizi	69
3.2.10 mRNA transkriptlerinin Real Time PCR ile kontrolü	75
3.2.11 İstatistik analizler.....	79
4. BULGULAR.....	81
4.1 Rezene Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimleri	81
4.1.1 Rezene uçucu yağının uçucu bileşenleri.....	81
4.1.2 Rezene uçucu yağının fenolik ve diğer bileşenleri	83
4.1.3 Rezene uçucu yağının yağ asitleri kompozisyonu	85
4.2 Rezene Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi.....	85

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.2.1 Rezene uçucu yağının minimum inhibisyon konsantrasyonu	85
4.2.2 Rezene uçucu yağının minimum mikrobisidal konsantrasyonu	88
4.3 Performans	88
4.3.1 Canlı ağırlık.....	88
4.3.2 Canlı ağırlık kazancı	91
4.3.3 Yem tüketimi.....	93
4.3.4 Yemden yararlanma oranları.....	95
4.4 Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Ölüm Oranları.....	97
4.5 Karkas Randımanı ve Karkas Parametreleri	99
4.6 Organ Ağırlıkları.....	101
4.6.1 İç organ ağırlıkları ve relatif değerleri	101
4.6.2 Bağırsak ağırlıkları ve relatif değerleri	103
4.7 İnce Bağırsak Morfolojisi	105
4.7.1 Proksimal ince bağırsak morfolojisi.....	105
4.7.2 Distal ince bağırsak morfolojisi	108
4.8 Bağırsak Mikroflorası	110

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.9 İnce Bağırsak Transkriptom Profili	112
4.9.1 Veri işleme ve gen ekspresyon verilerinin deney kalitesinin değerlendirilmesi	112
4.9.2 Verilerin karşılaştırılmalı analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.....	116
4.9.3 PANTHER sınıflandırma sistemi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	117
4.9.4 STRING analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.....	134
4.10 Validasyon için Seçilen Genlerin mRNA Ekspresyon Seviyeleri	139
5. TARTIŞMA.....	141
5.1 Performans	141
5.2 Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Ölüm Oranları.....	145
5.3 Karkas Randımanı, Karkas Parametreleri ve Organ Gelişimi	146
5.4 İnce Bağırsak Morfolojisi	148
5.5 İnce Bağırsak Mikroflorası	151
5.6 İnce Bağırsak Transkriptom Profili	153
6. SONUÇ.....	161
7. ÖNERİLER.....	162

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

KAYNAKLAR DİZİNİ163

TEŞEKKÜR.....195

ÖZGEÇMİŞ196

EKLER.....



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kanatlı üretiminde kullanılan büyütme faktörü antibiyotiklere alternatif sınıflar	13
2.2. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. taksonomisi	18
2.3. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. doğal habitatında (a); kök (b); çiçek salkımı ve çiçekler (c); yapraklar (d); meyveler (e); tohum (f)	19
2.4. Rezene uçucu yağının ana biyoaktif bileşenlerinin moleküler yapısı	20
2.5. Hücresel gen-besin etkileşim mekanizmaları	30
3.1. Deneme karma yemlerinin hazırlandığı yem üretim tesisine ait fotoğraflar (Orijinal); A) Dışarıdan görünüm, B) Mini yem tesisi (içeriden görünüm)	47
3.2. Deneme karma yemlerine RUY ilavesine ait fotoğraflar (Orijinal); A) Kapsüle edilmiş RUY, B) Ön karışımın hazırlanışı, C) Ön karışımın standart karma yemlere ilavesi, D) Deneme grubu yemlerinin torba/kovalara alınışı	49
3.3. Denemenin yürütüldüğü kümese ait görüntüler	54
3.4. Kanatlı hayvanlarda ince bağırsak bölümleri	62
3.5. İnce bağırsak segmetlerinde mukoza kalınlığının ölçümü	64
3.6. İnce bağırsak segmetlerine ait histomorfolojik ölçümler; A) Villus yüksekliği, B) Kript derinliği, C) Villus genişliği, D) Villus alanı, 100 µm	65

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.7. Santrifüj işlemi ardından oluşan fazlar.....	70
3.8. Affymetrix Mikroarray analiz aşamaları.....	73
4.1. Deneme sonu gruplara ait canlı ağırlıklar (42. gün).....	89
4.2. Deneme sonu gruplara ait yem tüketimleri (42. gün).....	93
4.3. Gruplardaki ortalama yemden yararlanma oranları (42. gün).	97
4.4. Gruplardaki ortalama EPEF değerleri (42. gün).	98
4.5. Işık mikroskobu altında çekilen gruplara ait proksimal ince bağırsak görüntüleri.	106
4.6. Işık mikroskobu altında çekilen gruplara ait distal ince bağırsak görüntüleri.	108
4.7. Mikroarray analiz örneklerinde 3' hibridizasyon kontrolünden gelen sinyal verileri.....	113
4.8. Mikroarray analiz örneklerinde 5' hibridizasyon kontrolünden gelen sinyal verileri.....	114
4.9. Deneme gruplarına ait gen çip üzerindeki prob sinyal şiddetlerinin logaritmik dağılımı sırasıyla; 1) Kontrol, 2) RUY50, 3) RUY100 4) RUY200 ve 5) RUY400.....	115
4.10. Üçlü temel bileşenler analizi (Principle Component Analysis).	116

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.11. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile moleküler fonksiyon analizi.....	117
4.12. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile biyolojik süreç analizi.....	118
4.13. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile protein sınıflandırılması analizi.....	119
4.14. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile moleküler fonksiyon analizi.....	119
4.15. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile biyolojik süreç analizi.	120
4.16. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile protein sınıflandırması analizi.....	120
4.17. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.....	122
4.18. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.....	122
4.19. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.....	123
4.20. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.....	124

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.21. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.....	124
4.22. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.	125
4.23. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.	126
4.24. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.	127
4.25. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.	127
4.26. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.	128
4.27. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.....	129
4.28. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.	129
4.29. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.	130
4.30. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.	131

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.31. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırma analizi.....	132
4.32. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.....	132
4.33. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.	133
4.34. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.....	133
4.35. RUY50 grubundaki upregüle olan genlerin STRING analizi.....	134
4.36. RUY50 grubundaki downregüle olan genlerin STRING analizi.....	135
4.37. RUY100 grubundaki upregüle genlerin STRING analizi.....	135
4.38. RUY100 grubundaki downregüle genlerin STRING analizi.....	136
4.39. RUY200 grubundaki upregüle olan genlerin STRING analizi.....	136
4.40. RUY200 grubundaki downregüle olan genlerin STRING analizi.....	137
4.41. RUY400 grubundaki upregüle genlerin STRING analizi.....	138
4.42. RUY400 grubundaki downregüle genlerin STRING analizi.....	138

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Rezene uçucu yağının farklı biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri ile organizmadaki olası etki mekanizmaları.....	21
3.1. Etlik civciv başlatma yemlerinin bileşimi (g/kg), besin madde içerikleri (%) ve Metabolik Enerji (kcal/kg) düzeyleri.	51
3.2. Etlik piliç bitirme yemlerinin bileşimi (g/kg), besin madde içerikleri (%) ve Metabolik Enerji (kcal/kg) düzeyleri.....	52
3.3. Denemede oluşturulan muamele grupları ve özellikleri.....	54
3.4. Mikroorganizmalara ait ileri ve geri primerler.....	67
3.5. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.	68
3.6. Real-Time PCR protokolü.....	68
3.7. Chicken Array örneklerinin ölçülen konsantrasyon ve saflık değerleri.....	71
3.8. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.	76
3.9. Thermal Cyler protokolü.	76
3.10. Genlere ait ileri ve geri primerler.	77
3.11. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.	78
3.12. Real-time PCR protokolü.....	78
4.1. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) uçucu yağının uçucu bileşenleri.....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.2. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) uçucu yağının LC/Q-TOF/MS taraması.....	84
4.3. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) yağ asitleri kompozisyonu.....	86
4.4. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) uçucu yağının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri.....	87
4.5. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.) uçucu yağının minimum bakterisidal/fungisidal konsantrasyon (MBK/MFK) değerleri.....	88
4.6. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin canlı ağırlıklar (CA) üzerine etkisi (g).....	90
4.7. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin canlı ağırlık kazancı (CAK) üzerine etkisi (g).....	92
4.8. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin yem tüketimi (YT) üzerine etkisi (g).....	94
4.9. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin yemden yararlanma oranları (YYO) üzerine etkisi (g yem tüketimi/g canlı ağırlık artışı).....	96
4.10. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) ve ölüm oranı üzerine etkisi.....	98
4.11. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif karkas parametrelerine etkisi.....	100

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.12. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif iç organ ağırlıklarına etkisi.	102
4.13. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif bağırsak ağırlıklarına etkisi.....	104
4.14. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin proksimal ince bağırsak morfolojisine etkisi.....	107
4.15. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin distal ince bağırsak morfolojisine etkisi	109
4.16. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin bağırsak mikroflora kompozisyonuna etkisi (\log_{10} kopya sayısı/g).....	111
4.17. Mikroarray analizi örneklerine ait kalite kontrol ölçüt değerleri.	112
4.18. Kontrol grubuna kıyasla rezene uçucu yağı ilaveli gruptaki validasyon için seçilen genlerin kat değişimleri.....	140

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ABF	Antibiyotik Büyütme Faktörü
AMD	Antimikrobiyal Direnç
CA	Canlı Ağırlık
CAK	Canlı Ağırlık Kazancı
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dk	Dakika
ppm	Parts per million, milyonda bir
EYK	Uçucu Yağ Karışımı
EPEF	Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü
FDA	Food and Drug Administration
HK	Ham Kül
HP	Ham Protein
HS	Ham Selüloz
HY	Ham Yağ
g	Gram
KD	Kript Derinliği

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Kg	Kilogram
KM	Kuru Madde
ME	Metabolik Enerji
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungusidal Konsantrasyon
ml	Mililitre
mg	Miligram
mRNA	Messenger (haberci) RNA
PANTHER	Protein Analysis Through Evolutionary Relationships
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
FYK	Fitojenik Yem Katkı Maddeleri
RNA	Ribo Nükleik Asit
rpm	Dakika Devir Sayısı
RUY	Rezene Uçucu Yağı
sn	Saniye

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
STRING	Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
TF	Transkripsiyon Faktörleri
YT	Yem Tüketimi
YYO	Yemden Yararlanma Oranı
VG	Villus Genişliği
VA	Villus Alanı
VY	Villus Yüksekliği
WHO	World Health Organization
μ M	Mikrometre
μ l	Mikrolitre
max.	Maksimum
Ct	Threshold cycle

1. GİRİŞ

Antibiyotikler kanatlı kümes hayvanları endüstrisinde neredeyse 70 yıldır yaygın olarak kullanılmaktadır. Önceleri, hayvan sağlığını ve refahını iyileştirmek için terapötik olarak kullanılsa da, daha sonraları profilaktik amaçlar veya büyümeyi teşvik etmek amacıyla diyetlere sub-terapötik düzeylerde katılmaya başlanmıştır (Huyghebaert et al., 2011). Birkaç yıl içinde, bu uygulama tüm dünya çapındaki hayvancılık ve özellikle kanatlı kümes hayvanları endüstrileri tarafından kolayca benimsenmiştir (Li et al., 2000). Büyütme faktörü olarak antibiyotiklerin (ABF) karma yemde kullanımının, büyüme ve yem dönüşüm verimliliğinde % 3-5 oranında bir artış sağladığı gözlenmiştir (Choct, 2001; Butaye et al., 2003; Dahiya et al., 2006; Miles et al., 2006). Bu nedenle ABF, hayvancılık üretiminin ekonomik etkinliğine önemli katkılarda bulunmuştur (Wierup, 2000). Ancak, ABF'lerin büyüme hızını artırmalarının yanı sıra yemden yararlanma oranını iyileştirmede, morbiditeyle mortaliteyi azaltmada ve hastalık sorununa karşı direnci arttırmada çok kez kanıtlanmış faydalı etkilerine rağmen, kullanımının bazı dezavantajlara neden olduğu bildirilmiştir (Zeng et al., 2015a; Gadde et al., 2017).

Karma yemlerde ABF kullanımı, insan sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturan antibiyotiğe dirençli bakterilerin gelişime yol açan en önemli sebeplerden biri olarak görülmektedir (Sageman, 2015). Diğer yandan antimikrobiyal direncin (AMD) gelişimi ve yayılması hayvan sağlığını da tehdit etmektedir. Barton (2000) tarafından yayımlanan raporda Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yılda yaklaşık 16 milyon kg antibiyotiğin yaklaşık % 70'inin terapötik olmayan amaçlar için kullanıldığı bildirilmiştir. Bir başka raporda ise Gıda ve İlaç İdaresi'ne (Food and Drug Administration, FDA) göre, ABD'de satılan tüm antibiyotiklerin % 80'i çarpıcı bir şekilde insanlara değil çiftlik hayvanlarına verildiğidir (NRDC, 2015). Nitekim AMD'nin gelişim ve yayılımı, hayvancılık sektöründe yoğun olarak kullanılan büyüme faktörü olarak kullanılan antibiyotikler tarafından doğrudan veya dolaylı olarak etkilenmiştir. Ancak antibiyotik direnç genlerinin hayvanlardan insan patojenlerine transferi konusunda henüz net bir bilgiye ulaşılamamıştır.

NRDC (2015) tarafından ortaya konulan görüşlerden biri; karma yemlerde ABF kullanımının, zayıf olan mikroorganizmaları baskıladığı veya öldürdüğü,

fakat yok edilmesi güç olan mikroorganizmaların direnç kazanmalarına sebep olduğudur. Superbug olarak da adlandırılan AMD geliştiren bu mikroorganizmalar su, toprak, hava ve direkt hayvanlarla temas halinde bulunan insanlarla çiftliklerden yayılabilmektedir. Bununla birlikte hayvansal ürünlerle market reyonlarına ulaşım, milyonlarca insanı enfekte edebilmektedirler. Dünya Sağlık Örgütü'ne (World Health Organization, WHO 2012) göre de, hayvansal kökenli gıda ürünlerinde artan küresel ticaret ile superbugların bir ülkeden diğerine gıda yoluyla taşınabileceği ve ayrıca yetersiz pişirilmiş gıdaların tüketimi, çiğ gıdaların işlenmesi veya diğer gıdalarla çapraz kontaminasyon yoluyla da superbugların insanlara bulaşabileceğidir. Diğer yandan WHO (2012), son yıllardaki ikinci en önemli halk sağlığı tehdidini AMD'nin oluşturduğunu ve bugün dünyada giderek hızlı büyüyen küresel bir halk sağlığı sorunu haline geldiğini bildirmiştir. O'Neill (2014) tarafından yayımlanan raporda ise her yıl en az 700.000 kişinin ilaca dirençli hastalıklardan öldüğünü, bu durumu düzeltmek için hiçbir şey yapılmazsa, 2050'de ilaca dirençli hastalıklardan yaklaşık 10 milyon insan ölebileceğini ve bu sayının kansere bağlı toplam ölüm sayısından çok fazla olabileceğini bildirmiştir.

Birçok ülkede, hayvansal gıda zinciri yoluyla dirençli bakterilerin yayılması ve çoğalması konusundaki artan endişe, Ocak 2006'dan bu yana Avrupa Birliği'nde ABF kullanımının yasaklanmasına yol açmıştır (Brenes and Roura, 2010). Ancak ABF'lerin uzaklaştırılması, entansif etlik piliç yetiştiriciliğinde hayvanların, kirli ve kalabalık koşulları telafi etmek için kendi bağışıklık sistemlerine daha fazla bağımlı kalmalarına neden olmuştur (Korver, 2012). Özellikle de hızlı gelişen etlik piliç hatlarında sadece kendi bağışıklık sistemlerinin bu koşulları tolere edebilmesi yeterli olmadığından, bu uygulama mortalite oranının artmasıyla sonuçlanmıştır. Diğer olumsuz etkileri ise performans problemlerine, yem dönüşüm artışlarına ve (subklinik) nekrotik enterit gibi bazı hastalıkların insidansında önemli artışlara ve buna bağlı olarak hayvan refahı sorunlarına yol açmıştır (Wierup, 2001; Cervantes, 2015). Bunun sonucunda da hastalıkların tedavisi için terapötik antibiyotik kullanımı artmış ve üretim karlılığı düşmüştür (Casewell et al., 2003). Bu nedenle ABF kullanımının yasaklanmasıyla oluşan kaybı telafi etmek için çok sayıda araştırma, doğal, güvenilir, ekonomik, patojenlerin direnç gelişime olanak sağlamayan, hayvan sağlığını ve performansını koruyan veya iyileştiren antibiyotik alternatiflerinin geliştirilmesine odaklanmıştır.

Kanatlı kümes hayvanlarının üretiminde, probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler, organik asitler, enzimler, fitojenikler, bitki ekstraktları, uçucu yağlar, bakır ve çinko gibi nutrasötikler ile antimikrobiyal peptitler vb. çok sayıda ABF alternatifi sınıflar test edilmiştir (Thacker, 2013; Gadde et al., 2017). Bunlar içerisinde son 20 yıldır üzerinde en çok çalışma yapılan sınıf, fitojenik olmuştur. Ancak ideal bir ABF alternatifinin geliştirilebilmesi için fitojenik sınıfında yer alan her bir bileşiğin tek tek incelenmesi, kanatlı kümes hayvanları üzerindeki spesifik etkinliklerinin ortaya konulması gerekmektedir. Nitekim rezene (*Foeniculum vulgare* mill.), sarı çiçekleri ve tüylü yaprakları olan, *Apiaceae* (Umbelliferaceae) familyasına ait aromatik yenilebilir bir bitkidir (Abd el-Hack et al., 2020; Anka et al., 2020). Rezene, yenilebilir aksamaları ve tohumları için hemen hemen dünyanın her yerinde yoğun olarak yetiştirilmektedir (Badgujar et al., 2014). Türkiye’de doğal olarak yetişmesine karşın, Tarım ve Orman Bakanlığının tıbbi, aromatik ve süs bitkisi yetiştiriciliğine yönelik destekleriyle beraber özellikle Akdeniz bölgesinde TÜİK (2019) verilerine göre 4.6 bin ton civarında üretimi gerçekleşmiştir.

Rezene geleneksel ve alternatif tıpta uzun yıllardır bitkisel ilaç (herbal medicine) olarak kullanılmıştır (Ghasemian et al., 2020). Günümüzde de en yaygın kullanılan bitkisel ilaç olmaya devam ettiği ve yeni ilaçların geliştirilmesi veya formülasyonunda gelecekteki klinik uygulamalar için farmasötik biyolojide dikkate değer bir temel sağladığı bildirilmiştir. (Badgujar et al., 2014). Nitekim bilimsel değerlendirmelere dayanan bulgular rezenenin, antibakteriyel, antioksidan, galaktojenik, östrojenik, antikanser, antitümör, apoptotik, hepatokoruyucu, antiviral, antiülser, anti-inflamatuar ve antikolitik gibi farklı biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Rather et al., 2012; Badgujar et al., 2014; Diao et al., 2014; Kooti et al., 2015; Rani and Das, 2016). Ancak rezenenin sözkonusu etkileri yapısındaki uçucu bileşenler, flavonoidler, hidrokarbonlar, fenolik bileşenler, yağ asitleri ve amino asitler gibi çok sayıda değerli fitokimyasal bileşenin varlığına ve çeşitliliğine göre değişebilmektedir. En fazla fitokimyasal bileşenin ise rezene tohumu uçucu yağı’nda (RUY) olduğu saptanmıştır (Badgujar et al., 2014).

RUY’un ana uçucu bileşeni trans-anethole’dür ve bu bileşenin esasen, organizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir

(Kubo et al., 2008; Shahat et al., 2011; Ghasemian et al., 2020). Nitekim geçmişte RUY'un antimikrobiyal, antimikobakteriyel ve antiviral potansiyelini kanıtlayan birçok *in-vitro* çalışma yapılmıştır. RUY, *E. coli* 0157: H7, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* (Cantore et al., 2004), *Bacillus megaterium*, *E. coli*, ve *S. aureus* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etki göstermiştir (Mohsenzadeh, 2007). Gulfraz et al. (2008) rezenenin etanolik ve metanolik tohum ekstraktlarının yanı sıra uçucu yağının, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas syringae* ve *Candida albicans*'lara karşı antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre, RUY'un, bazı mikroorganizmalara karşı metanolik ve etanolik ekstraktlarına kıyasla daha fazla antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca RUY'un en düşük minimum inhibisyon (MİK) ve minimum bakterisidal (MBK) konsantrasyon değerleri *C. albicans* ve *E. Coli*'de saptanmıştır. Diao et al. (2014) gıda patojenlerine karşı RUY'un antibakteriyel aktivitesini ölçtüğü çalışmada, RUY'un *Streptomyces albus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae* ve *E. coli* üzerinde antibakteriyel etkiler sergilediği ve en düşük MİK (0.125 mg/ml) ve MBK (0.250 mg/ml) değerleri ise *S. dysenteriae*'de ölçtüğünü bildirmiştir. Diğer yandan Jazani et al. (2009) çoklu antibiyotiğe dirençli bakteri suşları üzerinde yaptığı çalışmada da RUY'un antibakteriyel etkiye sahip olduğunu saptamıştır.

RUY'un etlik piliçler üzerindeki etkilerini inceleyen *in vivo* çalışmalarda ise daha çok, sıcaklık ve *Eimeria* spp. kaynaklı stres faktörlerine verilen humoral, hücrel immün yanıt ve antioksidan savunma gibi konular üzerine odaklanılmıştır. Mohammed and Abbas (2009) farklı düzeylerde (1, 2 veya 3 g/kg) rezene tohumu ile besledikleri etlik piliçlerde kontrol grubuna kıyasla canlı ağırlık ve yemden yararlanmanın iyileştiğini, kırmızı kan hücreleri, hemoglobin ve paketlenmiş hücre hacminin önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Ayrıca 2 ve 3 g rezene tohumu/kg ilaveli diyetlerle beslenen piliçlerde ise hetrofil/lenfosit oranında önemli bir düşüş olduğunu saptamıştır. Bir başka çalışmada, sıcak yaz (34 °C) aylarında etlik piliç diyetlerine % 1 veya 2 düzeyindeki rezene tohumu ilavesinin yem tüketimi, lökosit ve göğüs eti (%) değerlerini önemli derecede iyileştirdiği ve rezene tohumunun sıcaklık stresi altındaki piliçlerin vücut ısılarını düşürerek, ölüm oranını azalttığı bildirilmiştir (Ragab et al., 2013).

Safaei-Cherehh et al. (2018) ise, erkek etlik piliçlerde 100 mg/kg rezene ekstraktının canlı ağırlık ve lipoprotein seviyesini artırdığını, ürik asidi ise düşürdüğünü ve Newcastle (yalancı veba) ile 35. günde enfekte edilmiş hayvanlarda deneme sonunda (42. günde) bakteriye karşı bağışıklığı artırdığı fakat immunoglobulin ve bağırsak mikroflorası üzerine etkili olmadığını saptanmıştır.

Drăgan et al. (2014) içme sularına % 7.5 oranında *Artemisia annua*, ve *Foeniculum vulgare* uçucu yağ (1:1) karışımının ilave edildiği etlik piliçlerde, *Eimeria tenella* ile enfekte olmuş etlik piliçlere kıyasla dışkı oositlerinde, kanlı ishalde ve lezyon skorunda anlamlı bir azalma olduğunu ve özellikle *A. Annua* yaprak tozlarından sonra bu karışımın da etlik piliçlerde koksidiyozun önlenmesinde kullanılabileceğini bildirmiştir. Ayrıca Ghasemian et al. (2020) RUY'un hücrelerdeki moleküler hedeflere müdahale eden anason aldehit bakımından zengin olduğunu bildirmiştir. Nitekim Kim et al. (2013a) mikroarray hibridizasyon ile yaptıkları gen ekspresyon profillemesi sonucunda 15 mg/kg anethole takviyeli yemlerle beslenen *Eimeria acervulina* ile enfekte edilmiş etlik piliç bağırsak lenfositlerinde, enfekte edilen kontrol gruplarına kıyasla 1810 transkript (677 upregüle, 1133 downregüle) tespit etmiştir. Elde edilen transkriptomdaki genlerin biyolojik fonksiyonunun inflamatuvar yanıt ile ilgili olduğunu bildirmiştir. Böylece bu yeni bilgiler ile de anethole'ün yeme ilavesinin ardından tavuklarda meydana gelen ve koksidiyoza karşı koruyucu bağışıklık yanıt ile ilgili olabilecek immünolojik ve genomik değişiklikleri belgelemiştir.

RUY üzerine yapılan hem *in-vitro* hem de *in-vivo* çalışma sonuçlarında tutarsızlıklar görülmüştür. Bunun sebebi olarak, kullanılan RUY'un bileşeni, saflığı, dozu, yetiştirildiği coğrafya, hasat dönemi, hatta uygulanan hayvan genotipi, yetiştirme koşulları gibi daha birçok faktör sıralanabilir. Uçucu yağların, yem bileşenlerini emmesiyle antimikrobiyal aktiviteleri azalabilir. Bu nedenle çoğu uçucu yağ, yem işleme veya asıl etkilerinin gözlemlendiği ince bağırsaklara ulaşmadan gastrointestinal sistemde kaybolabilir (Yang et al., 2015). Ayrıca lipofilik doğaları gereği, bu bileşenlerin bağırsağa iletilmesi zordur (Upadhaya and Kim, 2017). Bu nedenle iyi bir taşıyıcıya ihtiyaç duyarlar (Dhama et al., 2015). Nanoteknolojinin gelişimiyle birlikte bu problem, mikroenkapsülasyon tekniğiyle çözülebilmektedir (Yang et al., 2015). Mikroenkapsülasyon, biyoaktif bir maddenin bir veya daha fazla kaplama maddesi ile sarılıp birkaç mikrondan bir milimetreye

kadar değişen boyutlara sahip kapsüllere hapsedilmesi işlemdir (Anal and Singh, 2007). Diğer bir ifade ile enkapsülasyon, besin maddelerinin belirli bir ortamla olan etkileşimlerini kontrol etmek için uygulanan kaplama işlemdir. Nitekim RUY da, sıvı formdan toz forma dönüştürülerek daha homejen yem karmalarının oluşturulması ve hedeflenen sindirim kanalında istenilen şekilde salınımının sağlanması amacıyla kapsüle edilmiştir.

RUY'un antibakteriyel, antifungal, antiviral veya antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği *in vitro* çalışmalar olsa da immünomodülatör olarak büyümeyi teşvik etme, yem dönüşüm verimliliğini iyileştirme, genel bağırsak sağlığını artırma ve bağışıklığı güçlendirme gibi etki mekanizmaları hakkında çok az *in vivo* çalışma bulunmaktadır. RUY'un antimikrobiyal özelliğine dayanan spesifik etkilerinin ortaya konması ve büyümeyi teşvik edici etkilerinin moleküler mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması, şüphesiz diyet antibiyotiklerine ve bunların tam uygulamalarına yeni alternatiflerin geliştirilmesinde kritik önem taşımaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, güçlü bir antimikrobiyal olan RUY'un farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) karma yemlere ilavesinin, etlik piliçlerin performansı, bağırsak mikroflorası ve morfolojisi üzerindeki etkinliğini ortaya koymak ve mikroarray teknolojisinden yararlanarak bağırsak transkriptomik profillemesi üzerinden RUY aracılı besin-gen etkileşimlerini incelemektir. Böylelikle bu çalışmadan elde edilecek bulgular, hayvansal üretim verimliliğini sürdürmek veya artırmak için gelecekte, rasyon formülasyon sistemlerine nutrigenomik veri setlerinin dahil edilmesinde önemli bir kaynak oluşturabilecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde büyütme faktörü antibiyotikler, antimikrobiyal direnç, büyütme faktörü antibiyotiklere alternatifler, fitojenik yem katkı maddeleri (FYK), uçucu yağlar, rezene (*Foeniculum vulgare* Mill) uçucu yağı, monogastrik hayvanlarda ve özellikle de etlik piliçlerde FYK'ların performans, immün sistem, bağırsak sağlığı ve gen ekspresyonu üzerine etkileri ile organizma üzerindeki etki mekanizmaları hakkında detaylı bilgi verilerek, bu alanda yapılan güncel literatür bildirişleri özetlenmiştir.

2.1 Büyütme Faktörü Antibiyotikler

Antibiyotik terimi, belirli mantar ve bakteriler tarafından hem doğal olarak üretilen bileşikler hem de sentetik olarak üretilen benzer maddeleri ifade etmektedir. (Mahon et al., 2011). Yirminci yüzyılın başlarında Alexander Fleming tarafından ilk antibiyotik olan penisilinin keşfettiğinden bu yana, antibiyotikler sadece insan tıbbında değil, aynı zamanda hayvancılıkta da kullanılmıştır (FAO, 2016). Kanatlı kümes hayvanları endüstrisinin ilerlemesinde ve refahında antibiyotikler, önemli bir rol oynamıştır (Gadde et al., 2017). Başlangıçta hastalıkları önlemek ve çiftlik hayvanlarını tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. Ancak küresel gıda üretimi, ekonomik genişleme ve nüfus artışı nedeniyle büyümeyi teşvik etmek için antibiyotikler (ABF) hayvancılıkta sub-terapötik dozda yem içerisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, antibiyotiklerin bu şekilde kullanımı 1940'ların sonları ile 1950'lerin başları arasındaki yıllara kadar başlamamıştır (Gong et al., 2014). Antibiyotiklerin performansı artırma üzerindeki etkisi ilk olarak Moore et al., (1946) tarafından, streptomisin ile beslenen kuşlarda büyümenin daha fazla olduğunu bildirdikleri çalışmada rapor edilmiştir (Gadde et al., 2017). Daha sonra çiftlik hayvanlarında ABF'lerin kullanımı ilk olarak 1966'da ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış birkaç yıl içinde de bu uygulama dünya çapındaki hayvancılık ve kanatlı kümes hayvanları endüstrileri tarafından hızlıca benimsenmiştir (Mao et al., 2005).

Kanatlı kümes hayvanları endüstrisinde ABF kullanımının büyüme ve yemden yararlanma verimliliğinde % 3-5 oranında bir artış sağladığı ileri

sürülmüştür (Dahiya et al., 2006). Her ne kadar hayvan büyümesini destekleme üzerinde antibiyotik etki mekanizmaları hala tam olarak anlaşılammış olsa da bunun büyük ölçüde bağırsak mikrobiyotası ve enterik patojenlerin baskılanmasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Gaskins et al., 2002; Mao et al., 2005). Diğer yandan, besinler için konakçı mikroorganizma rekabetin azalmasıyla besin madde emiliminin artması, toksik metabolit üretiminin azalması ve safrakatabolizmasının önlenmesi önerilen mekanizmalar arasındadır (Anderson et al., 1999; Verstegen and Williams, 2002; Gong et al., 2014). Ayrıca yem içi ABF kullanımının artan performans ile ilişkisinin anlaşılması için yapılan birkaç çalışmada, bağırsaktaki safra tuzu hidrolaz (STH) enzim aktivitesini azalttığı bildirilmiştir. Bağırsak bakterileri tarafından üretilen STH'ın, safra asitlerinin dekonjugasyonunu katalize ettiği ve konak lipit metabolizmasını değiştirebilmektedir. ABF'lerin ise STH üreten bakteri sayısını azaltarak etki ettikleri öne sürülmüştür (Guban et al., 2006; Lin, 2014). Cox et al. (2014) ise fareler ile yaptığı çalışmada, düşük doz antibiyotiklere erken yaşta maruz kalmanın, normal yaşa bağlı mikrobiyota gelişimini hızlandırarak ve bağışıklıkla ilgili genlerin ileal ekspresyonunu değiştirerek uzun süreli konak metabolik etkilere neden olduğunu bildirmiştir.

Antibiyotiklerin mikroorganizmaları öldürebileceği veya engelleyebileceği birçok farklı yol vardır. En yaygın etki mekanizmalarından biri, prokaryotik hücrelerde bulunan ancak ökaryotik hücrelerde bulunmayan hücre duvarını hedeflemektir. Gram pozitif olarak sınıflandırılan bakterilerde, hücre duvarı bir peptidoglikan tabakası ve bir iç hücre zarından oluşmaktadır. Gram negatif bakteriler ise gram pozitif bakterilerinden farklı olarak ek bir dış hücre zarına sahiptir. Bu dış hücre zarı bazen gram negatif bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidoglikanı bozabilecek antibiyotiklerden korunmalarına yardımcı olabilmektedir (Young, 2011). Antibiyotikler için ökaryot hücrelerde bulunmayan bu peptidoglikan yapı ideal bir hedef olmaktadır. Bazı antibiyotikler peptidoglikan moleküllerinin oluşumunu, bazıları ise bu moleküllerin hücre duvarını oluşturmak için moleküllerin birbirine bağlanmalarını önleyerek hücrenin yapısal bütünlüğünü bozmaktadır. Bu da hücre duvarının çökmesine veya patlamasına yol açarak mikroorganizmanın ölümüne neden olabilmektedir (Mahon et al., 2011; Sageman, 2015). Bazı antibiyotikler ise gram negatif bakterilerin dış hücre zarının yapısal bir bileşeni olan lipopolisakkariti hedef alır ve zarın bütünlüğünü bozarak

hücrenin ölümünü sağlarlar (Falagas and Vardakas, 2010). Bir başka antibiyotik grubu ise bakteriyel hücrelerin 30S ve 50S ribozomal alt birimlerine bağlanarak (Mahon et al., 2011) veya DNA replikasyon sürecini bozarak (Sageman, 2015) bakteriostatik, bakterisidal etkili olabilir.

Tarihsel sürece bakıldığında, hayvancılıkta antibiyotikler terapötikler (yani, tedaviler), profilaktikler (yani, önleyiciler) ve büyütme faktörleri olarak üç farklı amaç için kullanılmıştır (Johnson, 2011). Yem içi antibiyotik kullanımı hayvancılık sektörlerinde yıllardır yaygın bir şekilde uygulanmıştır. WHO (2012) yüksek gelirli ülkelerde üretilen kilogram et başına kullanılan antibiyotik miktarları arasında büyük farklılıklar olduğunu ve bununla birlikte küresel et üretiminin % 70'ini kapsadığını bildirmiştir. Dolayısıyla tarımda antibiyotiklerin terapötik olmayan amaçlar için yanlış ve aşırı kullanımı, insan ve hayvan sağlığı açısından potansiyel bir tehdit oluşturan antimikrobiyal direncin gelişmesine yol açmıştır.

2.2 Antimikrobiyal Direnç

Kanatlı kümes hayvanları endüstrisinde antibiyotikler uzun yıllar boyunca genellikle hasta hayvanları iyileştirmek için değil büyümeyi hızlandırmak ve çiftliklerinde yaygın olan kirli, kalabalık koşulları telafi etmek için kullanılmıştır (NRDC, 2015). ABF'lerin yem içi kullanımının özellikle etlik piliçlerde performansı iyileştirmede, hastalıklara karşı direnci artırmada, morbidite ve mortaliteyi azaltmada faydalı etkileri gözlenmesine rağmen, bu şekilde kullanımlarının ciddi dezavantajları bulunmaktadır (Brenes and Roura, 2010). Her gün düşük seviyelerde yem içi antibiyotik kullanımının hayvanlarda yok edilmesi zor olan bakterilerin antimikrobiyal direnç (AMD) geliştirmelerine önemli ölçüde neden olmuştur (Thacker, 2013).

AMD, antimikrobiyal ilaçlara (antibiyotikler, antifungallar, antiviraller, antimalaryaller ve antihelminetikler gibi.) maruz kalan mikroorganizmalarda (bakteri, mantarlar, virüsler ve parazitler gibi) zaman içinde doğal olarak ve genellikle genetik değişikliklerle ortaya çıkmıştır (Anonim, 2018). Esasen, antibiyotiklerin terapötik amaçla yaygın olarak kullanılmaya başlandığı 1940'lardan beri, antibiyotiğe dirençli suşların görülme sıklığı artmıştır (Sageman,

2015). Zhao et al. (2010) ise 1980'lerde dünya çapında patojenik bakterilerde çoklu antibiyotiklere direnç ortaya çıktığını ve o zamandan beri istikrarlı bir şekilde yayıldığını bildirmiştir. Bugün ise AMD dünya çapında büyük bir sağlık tehdit haline gelmiştir (WHO, 2012). Bu tehdidin en önemli nedenleri ise mikroorganizmaların yaşadıkları çevreye uyum sağlamak için sürekli değişimleri (Gong et al., 2014) ve zaman içinde antibiyotiklere karşı doğal olarak sahip oldukları veya geliştirdikleri birçok direnç mekanizmalarından kaynaklanmaktadır (Sageman, 2015).

Bu mekanizmaların en önemlilerinden biri, bir hücreden diğerine aktarılabilen DNA parçaları olan direnç plazmidlerinin üretilmesi ve bakteriler arasında paylaşılmasıyla bakteriler, antibiyotiklere karşı direnç kazanmaktadır (Clewel, 2014). Galdiero et al. (2012) tarafından bildirilen bir başka mekanizma ise antibiyotiklerin hücre içerisine girmelerinin önlenmesidir. Özellikle antibiyotiklerin, gram negatif bakterilerini öldürebilmesi veya üremelerinin engelleyebilmesi için dış hücre zarları üzerinde bulunan gözeneklerden geçmesi gerekmektedir. Ancak olası bir gen mutasyonu, hücre duvarındaki elektrik yükü veya fiziksel yapıyı etkileyerek porinlerin değişmesine neden olabilir. Böylece antibiyotiğin hücre duvarından girmesi zorlaşır ve antibiyotik fonksiyonel olarak aktif olsa dahi mikroorganizmalar etkilenmeyerek direnç geliştirebilirler. Holcomb et al. (2008) bir hücrenin AMD kazanmasının yolunu ise antibiyotiği inaktif hale getiren veya işlevselliğini azaltan bir enzimin mikroorganizma tarafından sentezlenmesiyle gerçekleşebileceğini bildirmiştir. Böylece etkisiz hale gelen antibiyotiğin hücre duvarının peptidoglikan öncüllerine yapışması önlenir ve dolayısıyla hücre duvarının bütünlüğü korunarak, mikroorganizma direnç kazanır.

Superbug olarak da adlandırılan AMD geliştiren mikroorganizmalar zamanla çoğalıp, yayılmaktadır (NRDC, 2015). AMD'nin küresel çapta yayılmasına birçok faktör ve endüstri alanı etki etmektedir. Tarım endüstrisinin de superbug'ların gelişimi ve yayılması üzerinde etkisi yadsınamaz derecede fazladır (Sageman, 2015). Özellikle çiftlik hayvanlarında ABF'lerin yem içi sürekli kullanımı superbug'ların gelişimi artırmıştır. Superbug'lar çiftliklerden hava, toprak, su ve hayvanlarla direkt temas yoluyla veya hayvansal kökenli gıda ürünleriyle insanlara yayılabilmektedir (NRDC, 2015). Daha sonrasında ise insandan insana

geçebilmekte, tedavisi güç, pahalı ve tehlikeli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (Anonim, 2018). Diğer yandan FAO (2016), AMD nedeniyle her yıl yaklaşık 700 bin insanın öldüğünü ve bu engellenemezse, önümüzdeki yıllarda 10 milyona yükselebileceğini bildirmiştir. AMD birçok açıdan endişe verici bir sorundur ve neden olduğu zararı en aza indirmek için birçok kuruluş ve araştırmacı çözüm yolu bulmaya çalışmaktadır (Inweregbu et al., 2005). Özellikle hayvancılıkta ABF kullanımını nedeniyle oluşan AMD konusundaki artan endişeler ışığında son yıllarda çok sayıda araştırmacının, kümes hayvanlarının sağlığını ve performansını korumak veya iyileştirmek için antibiyotiklere alternatiflerin geliştirilmesine odaklandığı görülmüştür.

2.3 Büyütme Faktörü Antibiyotiklere Alternatifler

Hayvancılıkta uzun yıllardan beri ABF'lerin kullanımı, hayvansal ürünlerin ve çevrenin antibiyotik kalıntılarıyla kontaminasyonuna ve zoonotik bakteriyel patojenlerde AMD'nin yayılmasına neden olmuştur (Gong et al., 2014; Yang et al., 2015). Özellikle hayvansal kökenli gıda ürünlerinde artan küresel ticaret ile birlikte, bir ülkeden diğerine gıda yoluyla dirençli patojenlerin uluslararası yayılımı, ciddi endişeler oluşturmuştur (Brenes and Roura, 2010; WHO, 2012). Küresel insan sağlığı için ciddi bir tehdit olan ABF'lerin hayvan beslemede kullanımı 1980'li yıllardan itibaren bazı Avrupa ülkelerinde (İsveç ve Danimarka) yasaklanmıştır (Gong et al., 2014; Upadhaya and Kim, 2017). Daha sonra Avrupa Birliği (AB) de 1999 yılında çeşitli ABF kaynaklarının (Avoparsin ve Virginiamisin vb.) çiftlik hayvanlarında kullanımını kısıtlamış (Wierup, 2000; Mathew et al., 2001) ve 1 Ocak 2006 tarihi itibarıyla de tamamen yasaklamıştır (Yönetmelik 1831/2003/ Avrupa konseyi).

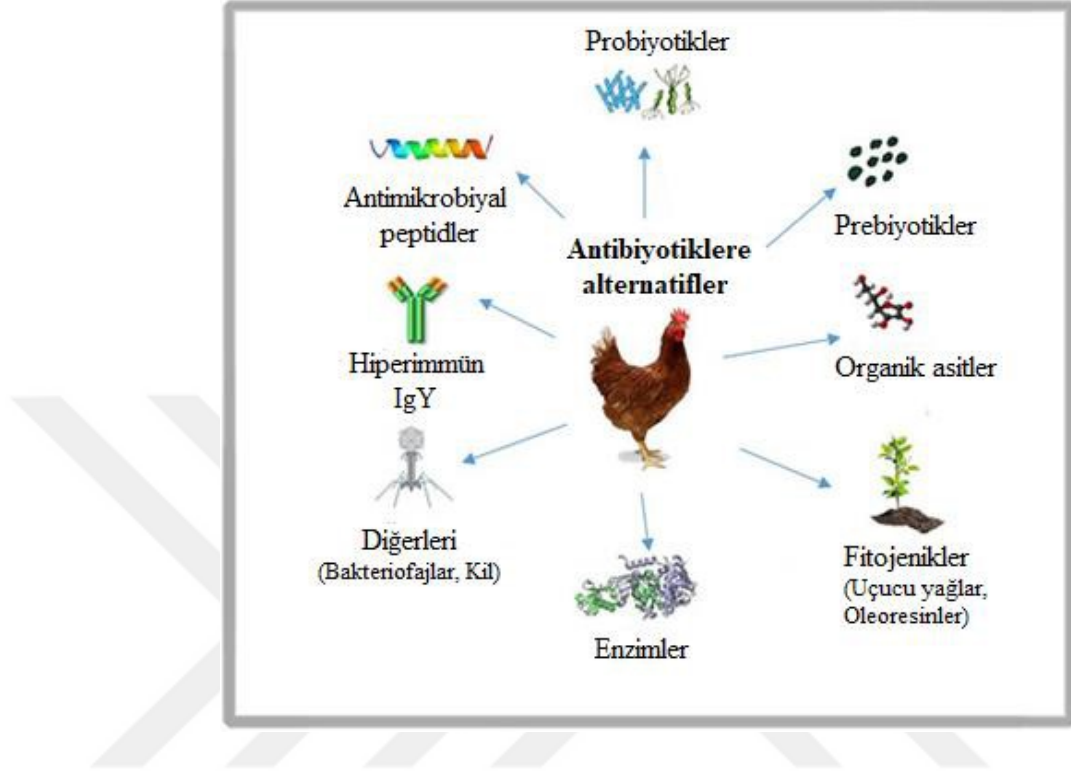
ABF'lerin uzaklaştırılması performans problemlerine, yemden yararlanmanın kötüleşmesine ve subklinik nekrotik enterit gibi bazı hayvan hastalıklarının insidansında artışa yol açmıştır (Wierup, 2001). AB broyler endüstrisinde ise, ABF'lerin yasaklanmasıyla eşzamanlı olarak ıslak altlık, malabsorbsiyon, ince bağırsak bakteriyel popülasyonunda aşırı artma ve yem geçiş sendromuna neden olan 'Disbakterioz' olarak adlandırılan hastalığın ortaya çıkmasına neden olmuştur (Huyghebaert et al., 2011). Ayrıca bu bağırsak sağlığı sorunları,

antibiyotik içermeyen üretim sistemlerinde ele alınması gereken hayvan refahı sorunlarına da yol açmıştır. Genel olarak, bu durum üretim verimliliğini ekonomik olarak olumsuz etkilemiş ve daha fazla karbon ayak izine neden olmuştur (Cervantes, 2015). Dolayısı ile bu sonuçlar, bakteriyel direnci ve hayvanlarda potansiyel yan etkileri indüklemeyen, benzer antimikrobiyal ve büyümeyi teşvik edici etkilere sahip, antibiyotiklere alternatif arayışlarına olan ilginin artmasına yol açmıştır (Verstegen and Williams, 2002). Ancak, Gadde et al. (2017) antibiyotik alternatiflerinin başarılı bir şekilde geliştirilmesi (en azından bir dereceye kadar) için ABF'lerin etki mekanizmalarının anlaşılması gerektiğini bildirmiştir. Bu bağlamda antibiyotik aracılı büyüme artışının arkasındaki biyolojik süreçleri aydınlatmak için çeşitli fikirler önerilmiştir.

Gong et al. (2014) bu konuda, ABF'lerin esas olarak sindirim sisteminde aktif olarak çalıştığını ve ABF kullanımının enterik bakteriyel patojenleri kontrol etmedeki etkinliklerine ek olarak, bağırsak mikrobiyotası ve immün yanıt modülasyon işlevleri gibi önemli avantajları olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle antibiyotiklere alternatif bir ürünün birincil işlevinin, hayvan bağırsak sağlığını iyileştirmesi olarak beklemektedir. Önerilen bir başka ABF etki mekanizması ise, ideal bir alternatif ABF'nin büyüme ve yem dönüşümü üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmasının yanı sıra mikrobiyom ve bağışıklık modüle edici aktivitelere de sahip olması gerektiğidir (Huyghebaert et al., 2011). Diğer bir ABF etkinliği de, bağırsak mikrobiyotasının popülasyonunda veya çeşitliliğinde bir azalma ile besin maddeleri için rekabetin ve büyümeyi etkileyen mikrobiyal metabolitlerin azalması şeklinde açıklanmıştır (Knarreborg et al., 2004; Gadde et al., 2017).

Uygulanılabilir alternatif bir ürünün, ABF etki mekanizmalarına benzer işlev gösterebilmesi için bağırsak pH değerini düşürmek, bağırsak müsinlerini korumak, faydalı bağırsak mikroorganizmaları için seçim yapmak ve patojenleri elimine etmek, fermantasyonu, kısa zincirli yağ asidi üretimini ve humoral bağışıklık yanıtını artırmak, besin alımını iyileştirmek gibi farklı etkileri olabilir (Gong et al., 2014). Nitekim kanatlı hayvan üretiminde probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler, organik asitler, enzimler, fitojenikler, uçucu yağlar, nutrasötikler (bakır ve çinko vb.) gibi çeşitli alternatif sınıflar test edilmiştir (Şekil 2.1). Son yıllarda ise hiperimmün yumurta sarısı antikorları, antimikrobiyal peptitler,

bakteriyofajlar ve kil mineralleri gibi yeni alternatiflerin potansiyeli tartışılmaktadır (Thacker, 2013; Yang et al., 2015; Gadde et al., 2017; Upadhaya and Kim, 2017).



Şekil 2.1. Kanatlı üretiminde kullanılan büyütme faktörü antibiyotiklere alternatif sınıflar (Gadde et al., 2017'den uyarlanmıştır).

ABF kaybının telefi edilmesi ve artan tamamen antibiyotik kullanılmayan üretim sistemlerine olan tüketici baskısı gibi sebepler, özellikle de doğal fitojenik yem katkı maddelerinin kanatlı kümes hayvanları endüstrisinde kullanılmasına öncülük etmiştir.

2.3.1 Fitojenik yem katkı maddeleri

Hayvancılık sektörleri arasında yetiştiriciliği en yoğun yapılan kanatlı kümes hayvanları endüstrisindeki özellikle besleme, hastalık kontrolü, genetik iyileştirme, diyet gereksinimlerinin yönetim ve organizasyonu gibi alanların gelişmesiyle birlikte, kanatlı ürünlerine artan talebin baskısı ve ortaya çıkan patojenlerin tehdidine rağmen tüm dünyada yıllardır ısrarla büyümektedir (Mirzaei-Aghsaghali, 2012). Dolayısıyla bu sektörün düşük maliyetli, kolay bulunabilir, kalıntı

bırakmayan, antibiyotik direnç tehdidi içermeyen vb. avantajları bulunan özellikle fitojeniklere dayalı sürdürülebilir terapötik ve üretimi destekleyici katkılara ihtiyacı vardır (Dhama et al., 2015). Fitobiyotikler olarak da adlandırılan fitojenikler hayvan beslemede ABF'lere alternatif olarak kullanılan ve hayvanlardaki performansı artırmak için yemlere katılan botanik kökenli doğal biyoaktif bileşiklerdir (Windisch et al., 2008; Kiczorowska et al., 2017). Fitojenikler biyolojik köken, formülasyon, kimyasal tanımlama ve saflık açısından çok çeşitli maddeleri içermelerine rağmen, dört grupta sınıflandırılabilirler (Windisch and Kroismayr, 2006): 1) Otlar (çiçekli, odunsu ve kalıcı olmayan bitkilerden elde edilen ürünler); 2) botanikler (kökler, yapraklar, ağaç kabuğu, baharatlar vb. gibi bir bitkinin tamamı veya işlenmiş kısımları); 3) uçucu yağlar (uçucu bitki bileşiklerinin hidrodamıtılmış ekstraktları); ve 4) oleoresinler (susuz çözücü bazlı ekstraktlar). Bu bitki türevi ürünler, sentetik antibiyotikler veya inorganik kimyasallardan farklı olarak kalıntı içermez, doğal ve daha az toksiktirler (Diaz-Sanchez et al., 2015). Birçoğu, FDA tarafından genel olarak güvenli kabul edilirler (Generally Recognized As Safe, GRAS) ve bu nedenle yem katkı maddesi olarak hayvan beslemede kullanılabilirler (Hashemi et al., 2008a; Upadhaya and Kim, 2017). Bu yem katkı maddeleri sınıfı, özellikle domuz ve kanatlı kümes hayvanlarındaki kullanımı son zamanlarda artan bir ilgi görmüştür. Bu ilginin artmasındaki en önemli sebeplerden biri ise, 2000'li yıllardan itibaren bu alandaki bilimsel yayınların sayısındaki ciddi bir artıştan kaynaklanmaktadır (Windisch et al., 2008).

Fitojenik yem katkı maddelerinin (FYK) antimikrobiyal, antiviral, antioksidatif, antihelmintik, anti-inflamasyon, antistres, ve nutrigenomik etkileri ile yem lezzetinde ve bağırsak gelişimi veya sağlığında iyileşme dahil olmak üzere çeşitli işlevlere sahip olduğu birçok çalışmada görülmüştür (Hashemi and Davoodi, 2010; Yang et al., 2015). Bu özelliklerin yanı sıra büyümeyi uyarıcı, immün modülatörü, yem alımını ve endojen enzim sekresyonunu uyardığı ve üretimi artırdığı bildirilmektedir (Upadhaya and Kim, 2017). Genel olarak, FYK'lerin faydalı etkileri, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerine atfedilir (Gadde et al., 2017). Ancak, FYK'lerin işlevleri altında yatan mekanizmalar hala büyük ölçüde belirsiz olmasına rağmen önerilen bazı teoriler şunlardır: 1) Güçlü antimikrobiyal etki aracılığıyla patojen bakteri hücrelerinin glikolipid duvarlarına zarar vererek patojenlerin inhibisyonu (enfeksiyonu azaltma), bağırsaktaki toplam bakteri

yükünün azaltılması (hayvanlar için daha fazla enerji ve besin sağlamak) (Iranparast et al., 2014; Yang et al., 2015; Kiczorowska et al., 2017); 2) oksidatif stresi azaltılması ve çeşitli dokularda antioksidan aktivitesini artırması ve böylece hayvan sağlığını iyileştirilmesi (Wang et al., 2008; Zhang et al., 2013); 3) immün sistemi uyarıcı etkisiyle özellikle lenfositlerin, makrofajların ve doğal öldürücü (Natural killer, NK) hücrelerin aktivitesini geliştirmesi, fagositozu artırması veya interferon sentezini uyarması (Frankic et al., 2009; Diaz-Sanchez et al., 2015); 4) toll benzeri reseptörlerin aktivasyonu, dendritik hücreler tarafından luminal yakalama veya epitel hücrelerinin uyarılması ve mukozada proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması (Kumar et al., 2014); 5) villusların uzaması ve bağırsak kriptlerinin derinleşmesiyle bağırsağın emici yüzeyinin genişlemesi (Kiczorowska et al., 2017); 6) bağırsak ve pankreatik enzim üretim ve aktivitesi ile safra akışını artırması ve böylece besin madde sindirilebilirliğini iyileştirmesi (Hashemipour et al., 2013b); 7) mikrobiyal toksinleri (amonyak ve biyojen aminler vb.) azaltan mikrobiyomu stabilize etmesi (Windisch et al., 2008); 8) Lactobacilli ve Bifidobacteria gibi yararlı bakterilerin çoğalmasını desteklemesi (Diaz-Sanchez et al., 2015) gibi etkiler FYK'ler için önerilen mekanizmalar arasındadır.

FYK'lerin bahsedilen biyolojik veya terapötik aktiviteleri, fitojeniklerin yapısında bulunan bitki kimyasalları (primer ve sekonder bileşikler) ile yakından ilişkilidir (Hashemi and Davoodi, 2010). Birincil bileşikler, ana besin maddeleri (protein, yağ ve karbonhidratlar) olarak kabul edilirken, ikincil bileşikler ise alkaloidler (alkoller, aldehitler, ketonlar, esterler, eterler, laktonlar vb.), bitterler, flavonoidler, glikozitler, müsilaj, saponinler, tanenler, fenolikler, polifenoller, terpenoidler (monoand seskiterpenler, steroidler), polipeptit, timol, sineol, linalool, anethole, allisin, kapsaisin, alillisotiyosiyanat ve piperin gibi birçok farklı biyoaktif bileşenlerdir (Diaz-Sanchez et al., 2015; Kiczorowska et al., 2017; Upadhaya and Kim, 2017). FYK'lerin biyoaktif bileşimlerinde, biyolojik faktörler (bitki türleri, kısımları, yaşı yetiştirme yeri ve hasat koşulları), işleme teknikleri (ekstraksiyon, damıtma ve stabilizasyon), saklama koşulları (ışık, sıcaklık, oksijen gerilimi ve zaman) iklim ve coğrafi koşullar nedeniyle birçok varyasyon vardır (Huyghebaert et al., 2011). Bu nedenle, bitki ve bitki ekstraktlarından beklenen etkiler de çeşitlilik görmektedir. Dolayısıyla fitojenik bileşiklerin diyetlere uygulanmalarını kolaylaştırmak için hayvanlar üzerindeki spesifik etkilerinin tek tek incelenmesi

kritik önem taşımaktadır (Yang et al., 2015).Diğer yandan uçucu yağlar antimikrobiyal ve büyüme destekleyici özellikleri nedeniyle fitojenikler arasında en fazla ilgi gören ana gruptur.

2.3.2 Bitki sekonder metabolitleri

2.3.2.1 Uçucu yağlar

Hayvancılığın esası, çiftlik hayvanlarının performans verimlerini artırmak ve kaliteli hayvansal ürünleri elde etmektir. Ancak bu sadece, çiftlik hayvanlarını sağlıklı tutma çabasıyla elde edilebilir (Frankič et al., 2009). Bu açıdan uçucu yağlar ekstrakte edildikleri ham maddeye kıyasla çok daha fazla biyolojik aktiviteye sahip oldukları için son yirmi yıldır hayvan beslenmede büyük bir ilgi görmüştür. Eterik yağlar olarak da adlandırılan uçucu yağlar çiçekler, tomurcuklar, tohumlar, yapraklar, dallar, ağaç kabuğu, otlar, meyveler ve kökler gibi tüm bitki organları tarafından sentezlenebilirler. Ayrıca salgı hücrelerinde, boşluklarda, kanallarda, epidermik hücrelerde veya glandüler trikomlarda depolanan sekonder bitki metabolitleridirler (Bakkali et al., 2008). Uçucu yağlar ekstraksiyon gibi çeşitli yöntemlerle aromatik bitkilerden ekstrakte edilebilmelerine rağmen özellikle su buharı damıtma (distilasyon) tekniği en yaygın kullanılan yöntemdir (Gopi et al., 2014). Sıvı, uçucu, berrak ve nadiren renklidirler. Genellikle sudan daha düşük yoğunluktaki organik çözücülerde veya yağda çözünürler (Bakkali et al., 2008).

Uçucu yağlar aynı zamanda fenoller (anethol, timol, öjenol, karvakrol, chavicol, vb.), terpenler (monoterpenler ve seskiterpenler vb.), alkoller (borneol, izopulegol, lavanduol, a-terpineol, nerolidol, santalol, a-santalol, vb.), aldehytler (sital, myrtenal, cuminaldehyde, sitronellal, sinnamaldehyde, benzaldehyde, vb.), ketonlar (carvone, menthone, pulegone, fenchone, camphor, thujone, verbenone, vb.); esterler (bomil asetat, linalil asetat, sitronelil asetat, geranil asetat, vb.); oksitler: (1,8-sineol, bisabolon oksit, linalol oksit, sklareol oksit, vb.), lektinler, polipeptitler veya poliasetilenler gibi bir çok sekonder metabolitin karışımıdır (Bakkali et al., 2008; Thacker, 2013; Adaszyńska-Skwirzyńska and Szczerbińska, 2017). Bu aktif ikincil bitki metabolitlerinin çoğunun izopren türevleri, flavonoidler

ve glukosinolat sınıflarına ait olduğu ve bu bileşiklerin büyük bir kısmının antibiyotik benzeri işlev gördüğü ileri sürülmüştür (Kumar et al., 2014).

Uçucu yağlar, nispeten yeni bir yem katkı maddesi sınıfıdır ve etki biçimleri ile uygulama yönleri hakkındaki bilgiler hala oldukça yetersizdir (Zeng et al., 2015a). Birçok uçucu yağ birden fazla aktif bileşen içerir ve bu bileşenler öncelikle bitkileri, böceklerin ve bakterilerin neden olduğu hasarlardan korumak için kullanılır (Diaz- Sanchez et al., 2015). Literatürlerde uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri yaygın olarak bildirilmiştir (Dorman and Deans, 2000; Cristani et al., 2007; Yitbarek, 2015). Büyük çoğunluğunun antibakteriyel etki gösterme mekanizması, bakteriyel hücre duvarı yapısında hareket ederek, proteinleri denatüre etme ve pıhtılaştırma şeklindedir. Uçucu yağlar, sitoplazmik zarın hidrojen (H^+) ve potasyum (K^+) iyon geçirgenliğini değiştirir. Bu değişiklik, elektron taşınması, protein translokasyonu, oksidatif fosforilasyon ve diğer enzime bağlı reaksiyonlar gibi temel hücresel süreçlerin bozulmasına yol açarak, kemiozmotik kontrolün kaybına ve sonuç olarak bakteri ölümüne yol açar (Dorman and Deans, 2000). Özellikle gram pozitif bakterilerin sitoplazmik zarının bozulması, zarlarda biriken uçucu yağların lipofilik yapısından kaynaklanmaktadır. Uçucu yağların gram negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri ise nispeten daha azdır. Ancak uçucu yağlar gram negatif bakterilerinin dış membranlarındaki gözeneklerden geçerek hücrenin ölümüne neden olabilirler (Dorman and Deans, 2000; Burt 2004).

Kumar et al. (2014) de bir başka antibakteriyel etkinin, patojen bakterilerin besin madde emiliminin inhibisyonu, enzimatik inhibisyon, bakteriyel hücreler tarafından DNA, RNA ve protein sentezlerinin baskılanması ile ilgili olabileceğini bildirmiştir. Bunun yanı sıra uçucu yağların yem tüketim aktivasyonu, sindirim sekresyonlarının salgılanması, bağışıklık uyarımı, antioksidan, koksidiyostatik, antihelmintik, antiviral, anti-inflamatuar aktivite gastrointestinal sistemin morfolojik ve histolojik modifikasyonları gibi özellikleri de vardır (Kumar et al., 2014). Uçucu yağların etki mekanizmaları birçok faktörden (ekstraksiyon yöntemi, coğrafi köken, bitki genotipi, hasat mevsimi ve saklama koşulları) etkilendiği gibi temelde uçucu yağın kimyasal bileşenlerine dayanmaktadır (Diaz-Sanchez et al., 2015). Bu nedenle uçucu yağların hayvanlar üzerindeki etkinlikleri

farklılık göstermektedir. Aşağıda ise özellikle çalışmanın ana faktörü olan rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağı hakkında detaylı bilgiler verilecektir.

2.3.2.2 Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağı

Günümüzde çok sayıdaki modern ilaç bileşiminin büyük bir kısmı, bitkisel kökenli kaynaklardan oluşmaktadır (Kaur and Arora, 2009). Nitekim Kooti et al. (2015) dünya çapında 422.000 çiçekli bitkinin 5000'den fazlasının tıbbi amaçlar için kullanıldığını bildirmiştir. Geleneksel tıba ve bitkisel ilaçlara artan ilgiyle beraber birçok tıbbi ve aromatik bitkinin tamamlayıcı veya alternatif tıpta direkt

Rezenenin Sınıflandırılması

Alem: Plantae,

Şube: Tracheophyta,

Alt Şube: Spermatophytina,

Sınıf: Magnoliopsida,

Takım: Apiales,

Aile: Apiaceae,

Cins: *Foeniculum*,

Tür: *vulgare*

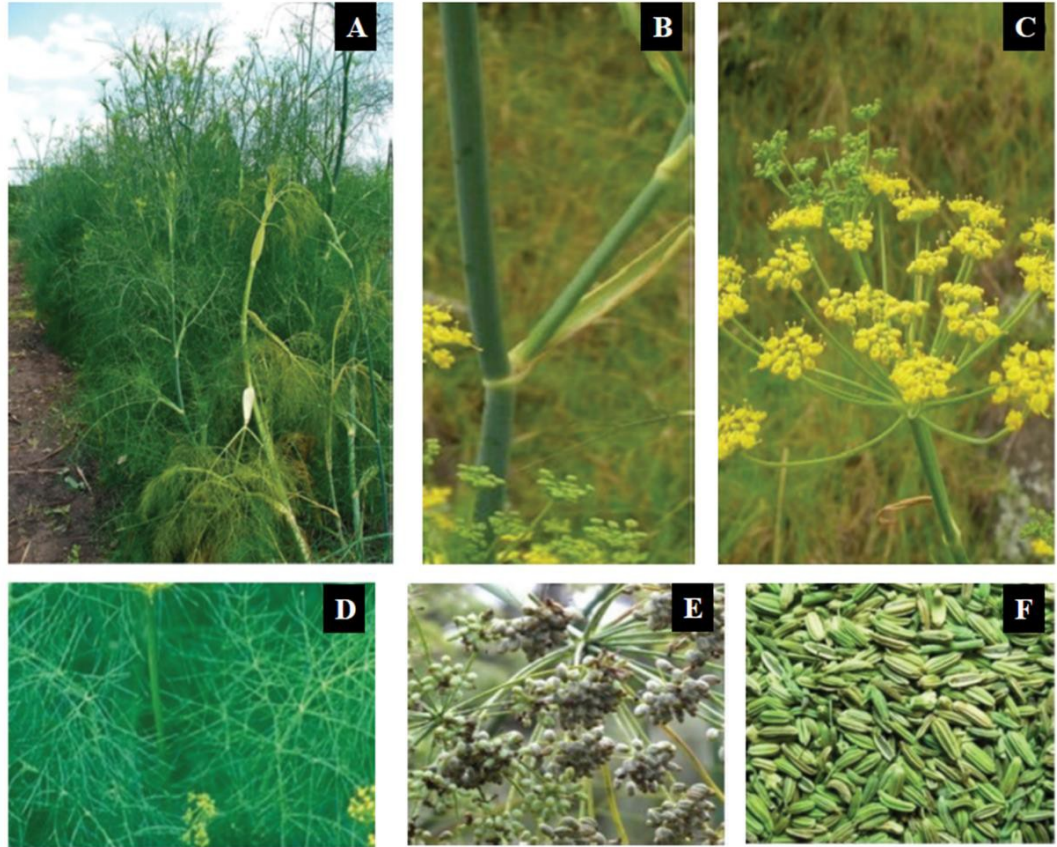
Botanik adı: *Foeniculum vulgare* Mill.

Şekil 2.2. *Foeniculum vulgare* Mill. taksonomisi.

olarak kullanımı son 20-25 yılda dramatik bir şekilde artmıştır (Jamshidi et al., 2012). Bu bitkiler arasında ilaç, gıda, kozmetik ve eczacılık alanında kullanılan ve en eski baharat bitkilerinden olan rezene (*Foeniculum vulgare* Mill), ekonomik önemi ve ilaç endüstrisinde geniş kullanımı nedeniyle dünyanın en büyük çaplı şifalı bitkilerinden biridir (Ruberto et al., 2000). Diğer yandan Badgujar et al. (2014), geleneksel kullanımlara ve bilimsel değerlendirmelere dayanan bulgulara göre *Foeniculum vulgare*'nin

en yaygın kullanılan aromatik bitki olmaya devam ettiğini bildirmiştir. Rezene Avrupa, Akdeniz ve Asya'nın birçok yerinde yoğun olarak yetiştirilen Apiaceae (Umbelliferae) familyasına (Şekil 2.2) ait tek, iki veya çok yıllık aromatik, yenilebilir bir bitki türüdür (Diao et al., 2014; Abd el-Hack et al., 2020). Şekil 2.3'te görüldüğü gibi rezene içi boş gövdelerle 2-2.5 m yüksekliğe kadar büyüebilmektedir. Dik ve silindirik, parlak yeşil ve cilalı görünecek kadar pürüzsüz, çok sayıda dallı yapraklar 40 cm'e kadar uzayabilmektedir. Bunlar yaklaşık 0.5 mm genişliğinde, lif şeklinde (iplik benzeri) nihai segmentler ile ince bir şekilde kesilirler. Çiçekler küçük parlak altın sarısı rengindedir ve 13-20 ışın çizgisi (1-6 cm uzunluğunda) arasında, düz uçlu geniş şemsiye şeklinde üretilirler. Meyveler 4-

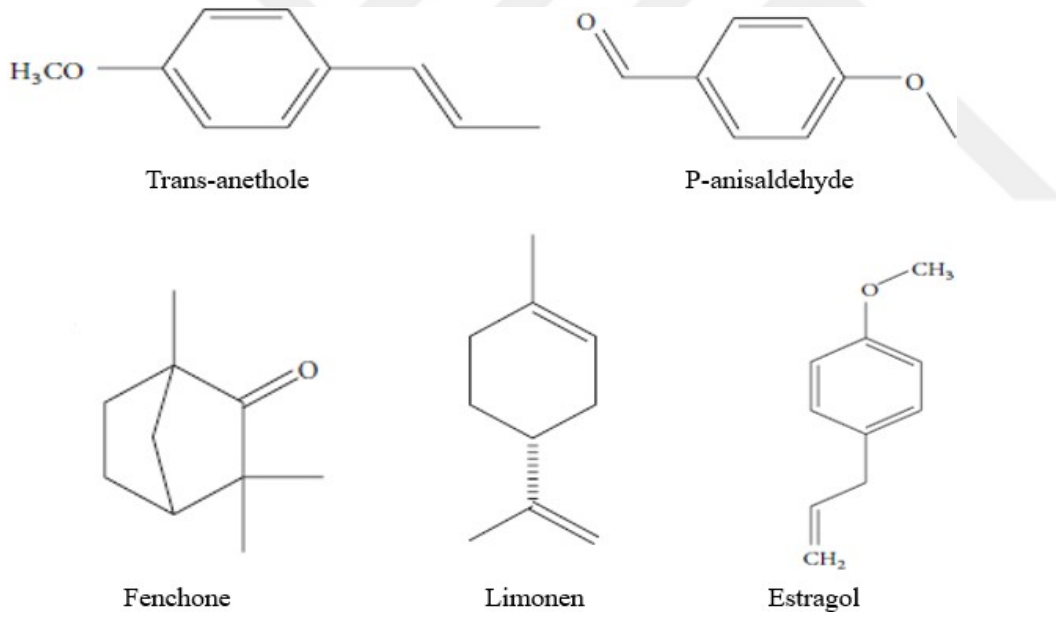
10 mm uzunluğunda ve 1.5–2.0 mm genişliğinde dikdörtgen, oval ve uzun olup, kaburgaları kuvvetlidir. Rezene tohumları ise yeşilimsi sarı renkli, dar, uzun, silindirik, hafif kavisli görünümündedir ve boyutları bitki büyümesine göre değişiklik göstermektedir (Rather et al., 2012; Kooti et al., 2015; Rani and Das, 2016; Anka et al., 2020).



Şekil 2.3. *Foeniculum vulgare* Mill. doğal habitatında (a); kök (b); çiçek salkımı ve çiçekler (c); yapraklar (d); meyveler (e); tohum (f) (Badgujar et al., 2014'ten revize edilmiştir).

Rezenenin kök, yaprak, meyve ve tohum gibi tüm kısımları aromatikdir ve dünyanın birçok mutfak geleneklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Rani and Das, 2016). Özellikle rezene tohumu önemli bir ticaret kalemidir (Badgujar et al., 2014). Nitekim rezene tohumu % 6.3 nem, % 9.5 protein, % 10 yağ, % 13.4 mineral, % 18.5 lif ve % 42.3 karbonhidrat içermektedir (Rather et al., 2012). Rezene tohumu anason aromalı bir baharattır ve unlu mamullerde, et ve balık yemeklerinde, dondurmada, alkollü içeceklerde, bitki karışımlarında, garnitürlerde, salatalarda, makarnalarda, sebze yemeklerinde hem çiğ hem de pişmiş olarak Akdeniz, Hint

Yarımadası ve Orta Doğu'daki birçok mutfak kültüründe mükemmel bir tatlandırıcı olarak yer alır (Anka et al., 2020). Rezene özüne ait bu karakteristik anason kokusu ise rezenenin uçucu yağından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte rezene kısımları üzerinde yapılan fitokimyasal araştırmalarda; uçucu bileşenler, flavonoidler, fenolik bileşenler, yağ asitleri ve hidrokarbonlar gibi çok sayıda diğer değerli ikincil metabolitin büyük çoğunluğunun, rezene tohumu uçucu yağı'nda (RUY) olduğu bildirilmiştir (Badgujar et al., 2014). RUY'un en önemli ana biyoaktif bileşeni ise, tatlı otsu bir kokuya (anason) ve tatlı bir tada sahip olan trans-anethole'dür (Acimovic et al., 2015). Trans-anethole'ün nispi konsantrasyonu rezene kısımlarına, coğrafi kökenine ve yağ ekstraksiyon yöntemine göre değişmekle birlikte genellikle % 35-82 aralığındadır (Raal et al., 2012). Trans-anethole'ün ardından diğer önemli ana biyoaktif bileşenler ise limonen, fenchone, estragol ve p-anisaldehyde olup, bileşenlere ait moleküler yapılar Şekil 2.4'te gösterilmektedir.



Şekil 2.4. Rezene uçucu yağının ana biyoaktif bileşenlerinin moleküler yapısı (Badgujar et al., 2014'ten uyarlanmıştır).

Çizelge 2.1. Rezene uçucu yağının farklı biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri ile organizmadaki olası etki mekanizmaları

Biyolojik ve farmakolojik aktiviteler	Organizmadaki olası etki mekanizmaları
Antibakteriyel aktivite	RUY hidrofobiklik doğası nedeniyle bakteri hücre zarında birikir ve elektrolit sızıntıyı (K^+ ve Na^+) artırarak hücre zarı geçirgenliği ve bütünlüğünde değişikliklere yol açar. Böylece hücre içeriğinin (protein, nükleik asit ve indirgeyici şekerler vd.) kaybına neden olarak hücrenin ölümüne sebep olur (Diao et al., 2014).
Antioksidan aktivite	Flavonoid ve fenolik bileşen içeriği nedeniyle serbest radikallerin detoksifikasyonunu sağlayarak organizmayı oksidatif stres hasarından korumaktadır (Shahat et al., 2011).
Galaktojenik Aktivite	Dopamin, süt üreten hormon olan prolaktinin salgılanmasını inhibe eder. RUY'un ana uçucu bileşeni trans-anethole'ün dopamine olan yapısal benzerliği nedeniyle uygun reseptör bölgelerinde dopamin ile rekabet ederek, dopaminin prolaktin üzerindeki antisekretuar etkisini inhibe edebilir ve böylece süt salgılanmasını artırabilir (Albert-Puleo, 1980; Badgujar et al., 2014).
Östrojenik aktivite	Trans-anethole aktif östrojenik ajan olarak, menstrüasyonu teşvik etmekte ve doğumu kolaylaştırmaktadır (Albert-Puleo, 1980; Badgujar et al., 2014).
Antikanser aktivite	Trans-anethole'ün, tümör nekroz faktörü alfa ($TNF-\alpha$) aktivasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi, anti-anjiyojenik, apoptotik ve antitümör etkiler (Kooti et al., 2015).
Hepato-koruyucu aktivite	Serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP) ve bilirubin seviyelerinin ve fibroziste $TNF-\alpha$ gibi proinflamatuvar sitokinlerin azalmasını sağlar (Kooti et al., 2015).
Anti-kolitik aktivite	Bağırsak düz kaslarının hareketliliğini düzenleyerek, bağırsak gazını azaltmaktadır (Badgujar et al., 2014).

Rezenenin mutfak baharatı olarak kullanımının yanı sıra tamamlayıcı ve alternatif tıp alanında da bitkisel ilaç olarak değerlendirilmesi uzun bir geçmişe sahiptir. Özellikle RUY'un antimikrobiyal aktivitesi birçok bilim adamı tarafından

trans-anethole dayandırılmaktadır (Kubo et al., 2008; Shahat et al., 2011; Ghasemian et al., 2020). Bunun dışında yapısındaki fitokimyasalların bileşimine bağlı olarak antibakteriyel, antioksidan, galaktojenik, östrojenik, antikanser, antitümör, apoptotik, hepatokoruyucu ve antikolitik gibi farklı biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahip olduğu Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

RUY’un ayrıca antiviral, antiülser, anti-inflamatuar, antidiyabetik, analjezik kardiyovasküler, diüretik, sitoprotektif, hipoglisemik ve antialerjik gibi etkileri bulunmaktadır (Rather et al., 2012; Badgujar et al., 2014; Diao et al., 2014; Rani and Das, 2016) Fakat en önemlisi çoklu antibiyotiğe dirençli bakterileri kontrol etmek için kullanılabilirliği (Jazani et al., 2009). Ayrıca hücrelerdeki moleküler hedeflere müdahale eden anason aldehit bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Ghasemian et al., 2020). Fakat RUY’un antimikrobiyal özellikleri incelenmiş olsa da etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler hala sınırlıdır. Dolayısıyla bu çalışmada, literatürlerden farklı olarak RUY’un antibakteriyel özelliği baz alınarak kanatlı hayvanların beslenmesinde önemli bir, alternatif ABF olabileceği ve geleneksel beslemenin dışına çıkarak beslemenin genom bazlı performans ve sağlık üzerine etkinliğinin incelenmesi hedeflenmiştir.

2.4 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Performans Üzerine Etkileri

Fitojenik (bitki ekstraktları, uçucu yağlar, biyoaktif maddeler ve oleoresinler vd.) yem katkı maddeleri (FYK), çok yönlü biyolojik aktiviteleri göz önüne alındığında kanatlı kümes hayvanlarının beslenmesinde büyümeyi teşvik edici olarak kullanılabilirler. FYK’ler kanatlı kümes hayvanlarının diyetlerine dahil edildiklerinde stres ve mikrobiyal aktivite ile mücadele ederek metabolizmayı etkilemektedir (Dhama et al., 2015). Birçok çalışma FYK’lerin etlik piliçlerin canlı ağırlık kazançları (CAK) üzerindeki olumlu etkilerini bildirmiştir (Jamroz et al., 2003; Alçiçek et al., 2004; Hernandez et al., 2004; Çabuk et al., 2006; Aji et al., 2011; Hashemipour et al., 2013b, Khattack et al., 2014; Kim et al., 2016). Nitekim kanatlı kümes hayvanlarının CAK’ları üzerindeki bu olumlu etkiyi anlamak için çeşitli stratejiler öne sürülmüştür. Windisch et al. (2008) FYK’lerin etki şeklini Eckel et al. (1992) ile Roth and Kirchgessner (1998) tarafından yapılan incelemeye dayandırarak, yem hijyenini stabilize etmelerinin yanı sıra, potansiyel

patojenleri kontrol ederek gastrointestinal mikrobiyota ekosistemini ve bağırsaklarındaki öbiyozisi olumlu yönde etkilediklerini bildirmiştir. Dolayısıyla daha stabil bir bağırsak sağlığı sayesinde hayvanlar, mikrobiyal toksinlere, amonyak ile biyojen aminler gibi diğer istenmeyen mikrobiyal metabolitlere ve besin madde rekabetine daha az maruz kalmaktadır. Böylece FYK'ler, konakçı bağışıklık sistemini güçlendirerek ve besinlerin emilimi için gerekli bağırsak kullanılabilirliğini artırarak hayvanların daha fazla canlı ağırlık kazanmalarına yardımcı olurlar.

Platel and Srinivasan (2004) ise bağırsak fonksiyonundaki iyileşmeyi esas olarak FYK'lerin sindirim enzimleri, safra ve mukus gibi sindirim sekresyonları üzerindeki olası uyarıcı etkisine dayandırmaktadır. Benzer şekilde Khan et al. (2012) de iyileşen performansı, lipaz, amilaz, tripsin ve kimotripsin gibi sindirim enzimlerinin artan salgıları sonucu, besin maddelerinin karaciğerde daha fazla değerlendirilmesiyle ilişkilendirmiştir. Ayrıca özellikle uçucu yağlar hidroklorik asit ve pepsin sekresyonunu artırarak protein sindirimini (Gopi et al., 2014), safra tuzları, pankreatik ve bağırsak lipazı üretimini artırarak ise yağların sindirebilirliğini modüle ederek performansı iyileştirebilirler (Karásková et al., 2015). Diğer yandan uçucu yağların yem tüketimi üzerindeki uyarıcı etkileri, muhtemelen artan tat ve kokudan kaynaklanan diyet lezzetliliğinin iyileşmesi veya diğer yem hammaddelerinin hoş olmayan tatlarının bastırılmasından kaynaklanmaktadır (Frankic et al., 2009). Ancak etlik piliçler kokuya karşı hassas olmadıkları için bu etki tükürüğün ve mide sıvılarının salgılanmasını uyaran yemin iştah açıcı özelliklerinden kaynaklanabilir. Sonuç olarak da artan yem tüketime bağlı olarak canlı ağırlık artışını iyileştirebilirler (Yitbarek et al., 2015).

Gastrointestinal sistem sadece besin maddelerinin emiliminin ana bölgesi değil, aynı zamanda birçok sinir ve reseptörü olan kemosensör sistemin anayeridir (Furness et al., 2013). Son zamanlarda yapılan birçok çalışma tat, kalsiyum algılama ve lipid reseptörleri gibi reseptörlerin bağırsakta da belirgin olduğunu göstermiştir (Murphy et al., 2006). Bağırsak epitelyumu, besin taşıyıcı proteinler ile emici epitel hücrelerinin yaklaşık % 90'ına ve enteroendokrin hücrelerine sahiptir. Besin taşıyıcılar, hem besin maddelerinin bağırsak lümeninden hücreye taşınması için fırça kenar membranında, hem de besinlerin kan dolaşımına veya dışına taşınması için bazolateral membranda yer alırlar (Weintraut et al., 2016). Hundal

and Taylor (2009) tarafından yapılan bir çalışmada besin taşıyıcılarının aynı zamanda lümen içindeki besin maddelerinin alıcılar olarak tespit edilmesinde katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Dolayısı ile amino asitler, peptitler, şekerler, yağ asitleri, mineraller ve vitaminler gibi besin maddeleri bağırsak kemosenörleri tarafından saptanabilirler (Yang et al., 2015). Nitekim FYK'lerin ileal mukozanın gen ekspresyon profilini düzenleyebildikleri bildirilmiştir. (Kim et al., 2013a; 2013b). Bu bağlamda FYK'ler, besin taşıyıcı genlerin ekspresyonlarını artırarak daha fazla besin maddesinin emilimi sağlayabilirler ve böylece performans verimini artırabilirler.

2.5 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin İmmün Sistem Üzerine Etkileri

İmmünomodülasyon, bağışıklık sisteminin farmakolojik yollarla manipülasyonudur (Dalloul and Lillehoj, 2005). Beslenme immünomodülasyonu ise, amaçlanan bir hedefe ulaşmak ve bağışıklık fonksiyonunun bir yönünü değiştirmek için spesifik diyet besinlerinin kullanımı olarak tanımlanabilir. Birçok besin maddesi bağışıklık sistemini modüle edebilir. Kanatlı kümes hayvanlarının bağışıklık sistemi son derece karmaşıktır ve çok faktörlü yapıdadır. Bu nedenle, beslenme immünomodülasyonundan tam olarak yararlanabilmek için kanatlı kümes hayvanların bağışıklık sisteminin nasıl çalıştığının anlaşılması gerekmektedir (Korver, 2012). Bağışıklık sisteminin temel işlevi, vücuda giren yabancı maddeleri tanımak ve yabancı maddeleri nötralize etmek veya ortadan kaldırmak için uygun fizyolojik tepkileri başlatmak ve yönetmektir (Hashemi and Davoodi 2012). Bunu yapabilmesi için kanatlı hayvanların bağışıklık sisteminin doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık olmak üzere iki ana bileşeni vardır (Korver, 2012). Doğuştan gelen bağışıklık sistemi patojen mikroorganizmalara karşı oluşturulan antijene spesifik olmayan ilk savunma mekanizmasıdır. Patojen istilasına karşı doğuştan gelen makrofajlar gibi lökositler sitokinleri açığa çıkararak patojenleri tanımalarını sağlarlar. Böylece immün yanıtı başlatır ve inflamatuvar reaksiyona yol açar (Akira et al., 2006). Kanatlı hayvanlarda deri ve mukoz membranlar gibi vücutu patojenlere karşı koruyan bariyerler mevcuttur. Eğer patojenler, bu epitel bariyerden geçmeyi başarırlarsa toll benzeri reseptörler (Toll-Like Reseptörler, TLR) ve patern tanıma reseptörleri aracılığıyla doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri (nötrofil ve makrofajlar) tarafından tanınır, içerilerine alınır (fagositoz) ve parçalanırlar (Kogut and Klasing, 2009).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, patojeni ortadan kaldıramıyor ise ve patojen sayıları bir antijen eşiğine ulaşırsa, edinilen bağışıklık yanıtı aktive olur (Murphy et al., 2007). Edinilmiş bağışıklık, antijenlerin ortaya çıkmasıyla başlatılan spesifik bir bağışıklık sistemi sürecidir. Patojenler ve eksojen uyaranlar antikor üreten B hücreleri ve spesifik istilacı patojenleri aktif olarak öldüren sitotoksik T hücreleri tarafından tanımlanır ve ortadan kaldırılırlar (Korver, 2012; Huang and Lee, 2018). Ayrıca bu hücreler, patojenlerle karşılaştıklarında lenfokinler ve sitokinler (interlökinler ve interferon) gibi bir dizi iletişim molekülü salgılar ve bu faktörler daha sonra bağışıklık yanıtını detaylandırarak hücreleri belirli patojene yönlendirirler (Abbas et al., 2007). İmmün yanıtları modüle eden iki ana yol bulunmaktadır. Bunlardan birincisi gen ekspresyonlarının düzenlenmesinde (Yang et al., 2003) hücre içi iletişim ve hücre dışı uyarıların artırılmasında (Liu et al., 2014a) ve sonuçta uygun biyokimyasal ve fizyolojik hücresel cevabın oluşturulmasında aracılık yapan aktive edilen protein kinaz'dır (Mitogen Activated Protein Kinase, MAPK). Bir diğeri de nükleer faktör kappa B'dir (Nuclear Factor kappa B, NF-κB). NF-κB inflamatuvar süreç sırasında transkripsiyon faktörü olarak çok önemli bir rol oynar. Reaktif oksijen türleri (ROT) ve bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS) dahil çeşitli indükleyiciler tarafından aktivasyonundan sonra, NF-κB sitoplazmadan çekirdeğe taşınır ve inflamasyon, apoptoz ve hücre proliferasyonunda rol oynayan sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri veya enzimler dahil çok çeşitli proinflamatuvar proteinlerin sentezini gerçekleştirir (Yang et al., 2015). Bu MAPK ve NF-κB sinyal yolları ile FYK'ler özellikle de uçucu yağlar arasında çeşitli ilişkiler mevcuttur.

Herhangi bir stres durumunda üretilen ROT'lar, LPS'ler, mitojenler veya toksinler bağırsak hücrelerinde büyük hasara neden olabilirler. Daha sonra inflamasyonu ve immün yanıtı indükleyerek NF-κB sinyallenmesinin aktivasyonunu ve ardından da daha fazla proinflamatuvar sitokinlerin interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, interferon-gamma (IFN-γ), tümör nekrosis faktör-alfa (TNF-α), ve kemokinlerin ekspresyonuna neden olabilirler. Dolayısıyla üretim verimliliğinin düşmesine neden olurlar. Nitekim *Eimeria* spp. ile enfekte olmuş ve 14.4 mg/kg sinnamaldehid ilave edilmiş diyetle beslenen etlik piliçlerde proinflamatuvar sitokinlerin IL-1β, IL-6, IL-15 ve IFN-γ'nın mRNA ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Lee et al., 2011). Sitokinler, hücrenin birbirleriyle

iletişimini sağlayan bir başka değişle hücreler arasında mediatör olarak davranan antikor olmayan proteinlerin veya peptidlerin oluşturduğu bir gruptur (Yula, 2016). Genellikle immün yanıtta ihtiyaç duyulduğunda ve özellikle enfeksiyon ve inflamasyon hastalıklarında salınırlar, depo edilmezler. Hem doğal hem de edinilmiş bağışıklık yanıtına dahil olan sitokinler, patojen varlığında T hücreleri veya makrofaj gibi bağışıklık sistemi hücrelerine sinyal ileterek enfeksiyon bölgesine gitmelerini sağlarlar. Hücreler arasındaki sinyalizasyonları oldukça değişkendir. Kimi zaman koruyucu kimi zamanda hasar verici tepkilere neden olabilirler (Yula, 2016). Diğer yandan FYK'lerin özellikle uçucu yağların antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak patojen bakterilere veya toksik metabolitlerine daha az maruz kalınması, bağırsakta bağışıklık savunma aktivitesine daha az ihtiyaç duyulmasına neden olabilir (Zeng et al., 2015a). Benzer şekilde FYK'lerin antinmikrobiyal etkileri, inflamatuvar yanıt aktivasyonunu ve dolayısıyla bununla ilişkili büyümeyi baskılayan etkileri azaltabilir (Korver, 2012). Domuz yavrularının diyetlerine narenciye kabuğu, kekik ve anason (40 mg/kg) uçucu yağ karışımı ilavesinin NF- κ B ve TNF- α gen ekspresyonunu azaltarak anti-inflamatuvar etki geliştirdiği saptanmıştır (Kroismayr et al., 2008). *In vitro* yapılan bir başka çalışmada ise tarçındaki başlıca biyoaktif bileşen olan sinnalaldehidin ve *Cinnamomum cassia* yağının LPS ile aktive olan J774A.1 hücrelerinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunu inhibe ettiği, anti-inflamatuvar sitokin IL-10'nun ise ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Pannee et al., 2014).

Doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık sistemlerinin karşılıklı yanıtları arasında bir denge söz konusudur (Huang and Lee, 2018). Monogastrik hayvanlarda *E. coli* veya *Salmonella* spp. gibi hücre içi patojenlerle karşılaştıldığında doğuştan gelen immün yanıtlar gerekirken, edinilmiş immün yanıtlar *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* veya helmintler gibi hücre dışı patojenlerle savaşmak için gerekmektedir. (Anderson and Fritsche, 2002). Bu nedenle, edinilmiş bağışıklık sisteminin işlevini artırmak, hayvanları doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından en iyi şekilde tanınan ve yok edilen patojenlere yatkın hale getirebilir ve bunun tersi de gerçekleşebilir (Korver, 2012). Bu iki sistem sürekli dengede tutulmalıdır. Dolayısıyla kanatlı hayvanların beslenmesinde immünomodülatör olarak kullanılacak FYK'lerin performans üzerindeki etkilerinin araştırılması ve immüno-

modülasyon işlevlerinin aydınlatılması için daha fazla *in vivo* çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

2.6 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Bağırsak Sağlığı Üzerine Etkileri

Bağırsak sağlığı, kümes hayvanlarının üretiminde optimum performans ve karlılık için bir ön koşuldur (Yitbarek et al., 2015). Bağırsaklar besin, elektrolit ve suyun emilimi, müsin ve immünobulinlerin salgılanması, zararlı antijenlere ve patojenlere karşı seçici bariyer koruması gibi çeşitli işlevler sergiler (Lallès et al., 2004; Yang et al., 2015). Bunun yanı sıra son yıllarda organ (bağırsak) bütünlüğü ve vücut savunmasında da aktif bir rol oynadıkları ortaya çıkmıştır (Pitman and Blumberg, 2000) Geniş bir emilim yüzey alanına sahip olan bağırsakların mukoza tabakası virüsler, bakteriler, mantarlar, toksinler veya ROT'lar gibi faktörler aracılığıyla tahrip edilerek bağırsak sağlığı bozulabilir. İnflamasyon meydana geldiğinde ise vücut reaksiyonu, proinflatuar sitokin ve kemokinleri salgılayarak hasarlı dokuların hızlandırılmış yenilenmesi şeklinde gerçekleşir (Huang and Lee, 2018). Bu süreç karmaşıktır ve enfeksiyon bölgesine uzak bağışıklık hücrelerinin toplanması için ek enerji gerektirir. Böylelikle vücut metabolik hızı (ateş) artırarak, yem alımını azaltır (Korver, 2012). Bu nedenle inflamasyonun hafifletilmesi veya önlenmesiyle bağırsak sağlığı korunarak kanatlı hayvan üretimine fayda sağlanabilir. İnflamasyonun azalmasıyla da protein üretimi, bağışıklık modülatörlerinin aksine büyümeye tahsis edilebilir (Steiner, 2006). Bir başka deyişle kanatlı hayvanların beslenmesinde FYK'lerin kullanımı, bağırsak bozukluklarını önlemede katkıda bulunabilir. Nitekim FYK'lerin mikrobiyal basıncı azaltarak, bağırsak sağlığını stabilize edebildikleri bildirilmiştir (Windisch et al., 2008; Peric et al., 2010).

Bakteriyel hastalıklar kanatlı kümes hayvanı üretiminde hala ciddi bir sorun teşkil etmektedir (Adaszyńska-Skwirzyńska and Szczerbińska, 2017). *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Eimeria* spp. vb. mikrobiyal kaynaklı hastalıklar uzun yıllardan beri endişe oluşturmaktadırlar. Nitekim ABF'lerin kullanılmadığı bir besleme programında kanatlı hayvanlar bakteri enfeksiyonlarını önlemek için kendi bağışıklık sistemlerine daha fazla bağımlı kalmaktadırlar (Korver, 2012). Ancak yoğun yetiştiricilik altında

sınırlı alanda daha fazla hayvan birbiriyle temas etmesi ve hayvanların birçok spesifik hastalık yapıcı etkenlere maruz kalmaları söz konusu olduğunda bu etkenlere karşı savaşmada hayvanların sadece kendi bağışıklık sistemlerini kullanmaları yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle verim kaybı ve ölüm oranları artabilmektedir. Özellikle Avrupa Birliği'nde ABF'lerin etlik piliç diyetlerinden çıkarılması nekrotik enterit (NE) insidansında önemli bir artışa sebep olmuştur. Bunun sonucunda da bu hastalığın tedavisi için terapötik antibiyotik kullanımına yoğun bir talep artışı olmuştur (Casewell et al., 2003). Gram pozitif, anaerobik *Clostridium perfringens*'in neden olduğu NE, kümes hayvanlarında yüksek ekonomik maliyetlere neden olan ve hayvan refahını ciddi şekilde bozan bir hastalıktır (Wallace et al., 2010). Kümes hayvanlarının maruz kaldığı diğer önemli bağırsak hastalığı da *Eimeria* spp.'nin neden olduğu parazitik bir hastalık olan koksidiyozdur (Kennedy, 2001). Esasen her iki hastalık türü de dünya çapında, kanatlı endüstrisinde bağırsak disfonksiyonuna ve buna bağlı olarak ekonomik kayıplara neden olan büyük bir sorundur (Huang and Lee, 2018). Nitekim FYK'lerin enterik enfeksiyonu ve koksidiyozu kontrol altına alma, hayvan bağışıklığını geliştirme, bağırsak fonksiyonunu iyileştirme ve bağırsak bütünlüğünü koruma üzerine etkilerinin olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Hashemi et al., 2008b; Kroismayr et al., 2008; Wati et al., 2015). Ayrıca çeşitli FYK'lerin gastrointestinal sistem üzerinde spazmolitik, yumuşatıcı (müshil) veya şişkinliğe karşı faydalı etkilerinin de olduğu bilinmektedir (Chrubasik et al., 2005). Bununla birlikte, FYK'lerin bağırsak sağlığı üzerindeki etkinliği konusunda mevcut literatür tutarlı bir tablo sunmamaktadır. Bu nedenle bu biyolojik fonksiyonların altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılabilmesi ve FYK etkinliğinin net olarak belirlenebilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

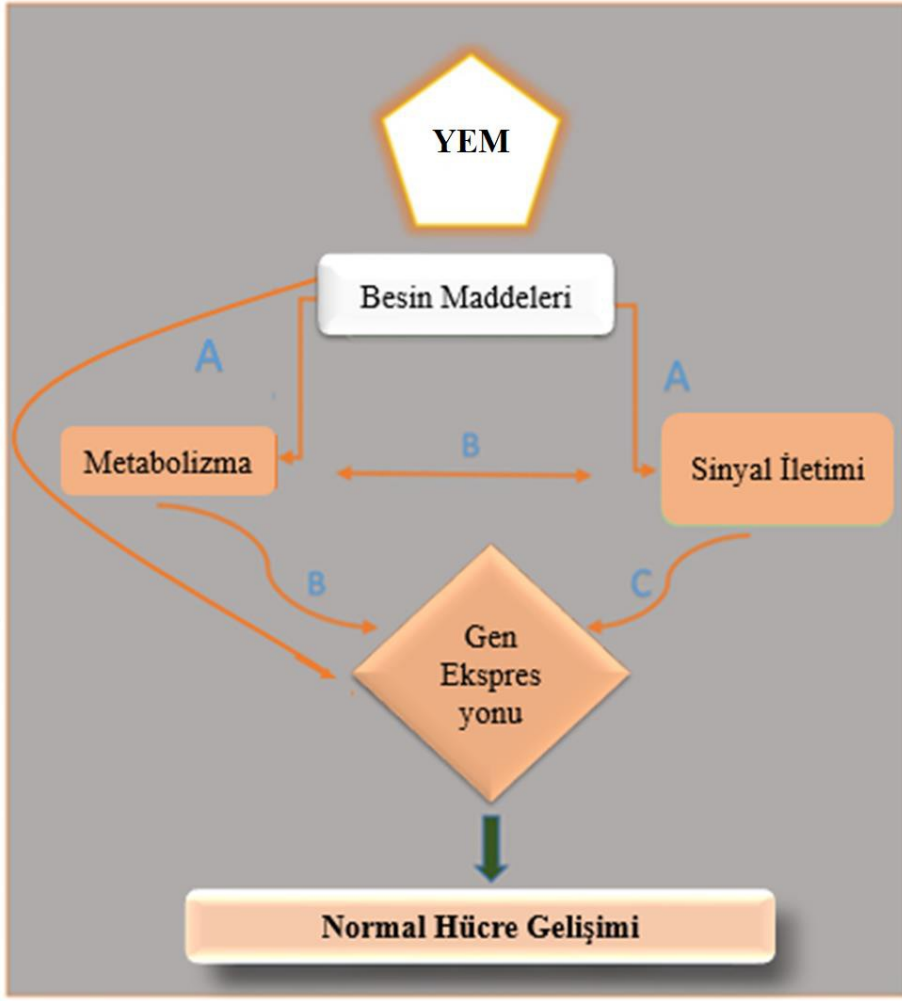
2.7 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Gen Ekspresyonuna Etkileri

Bilindiği gibi hayvanların genetik potansiyeli ve besin madde ihtiyaçlarının karşılanması kanatlı kümes hayvanlarının üretim karlılığını ve sürdürülebilirliğini belirleyen 2 temel faktördür. Modern kanatlı kümes hayvanları üretimi, büyüme hızı, yem tüketimi, yemden yararlanma, üreme, et kalitesi, sağlık veya hastalık direnci gibi ekonomik açıdan önemli özellikleri iyileştirmek için hem genetiği hem de besleme yönetimini birlikte ele alır. Önceki çalışmalarda, hayvan besleme

araştırmalarının büyük çoğunluğu, hayvan büyüme performansı, et kalitesi ve sağlığı iyileştirme veya fazla atığı azaltmak için belirli besin maddelerinin kullanımı ile ilgili parametreler üzerine odaklanmıştır (Ganguly et al., 2018). Bir başka açıdan ise yaygın olarak kullanılan klasik besleme çalışmaları, diyetlerin metabolizma üzerindeki rolüne ilişkin toplanan biyokimyasal ve hücresele fizyolojik bilgilere dayanarak, hayvan sağlığını ve üretim performansını tehlikeye atabilecek besin madde eksiklerinin giderilmesi yönünde olmuştur (Go et al., 2005; Joshi and Herdt, 2006). Ancak günümüzde post-genomik çağla birlikte hayvansal üretim verimliliğini daha da artırmak için, ileri hayvan besleme çalışmalarını dikkate almak gerekmektedir (Naji et al., 2014; Hasan et al., 2019). Nitekim bir besin maddesinin yalnızca belirli bir metabolik fonksiyon için gerekli olan kimyasal bir bileşen olmadığı, aynı zamanda hücrede bir bilgi veya sinyal verme rolü oynadığı ve böylece genotip-fenotip sürekliliğine dahil olan süreçleri etkileyebildikleri bildirilmiştir (Go et al., 2005; Anonymous, 2020). Dolayısıyla besin maddeleri gen ekspresyonunu hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalarla regüle edebilmektedir (De Caterina and Madonna, 2004; Romero-Cortes et al., 2018).

Hayvan genomu, büyüme, gelişme, üreme ve hatta hücre ölümü dahil olmak üzere tüm yaşam süreçleri için gerekli bilgileri kodlayan deoksiribo nükleik asitten (DNA) oluşur (Anonymous, 2020). Genom içinde RNA (Ribo nükleik asit) ve proteine dönüşen küçük kalıtsal DNA bölümlerine gen denir. DNA, her hayvan hücresinde çekirdek içerisinde bulunur ve tüm hücreler kökeni ne olursa olsun aynı DNA'yı içerir (Carlberg and Molnár, 2016). Bununla birlikte, genetik kod her hücre tipinde farklı zamanlarda ve miktarlarda eksprese edilir veya okunabilir. Ancak organizmanın hayatta kalması için her zaman gerekli olan proteinleri kodlayan kurucu (housekeeping) genler tüm koşullarda nispeten sabit ekspresyon seviyelerine sahiptir (Khuram, 2013). Diğer genler ise özellikle besin depolama, işleme ve metabolizma ile ilgili olanlar, hücre içi ve hücre dışı çevresel uyarımlarla (besin maddeleri vb.) indüklenebilir ve bu nedenle bazı durumlarda gen ekspresyonu kontrol edilebilir (Khuram, 2013; Anonymous, 2020). Gen ekspresyon/transkripsiyon regülasyonu, RNA üretiminin koordine edildiği temel bir mekanizmadır ve gelişim, homeostaz ve çevresel uyarımlara yanıtlar gibi önemli olayları kontrol eder (Duran et al., 2016). Hasan et al. (2019) yaşamın temelde bir dizi gen ekspresyon işlemlerinden ibaret olduğunu ve bu işlemlerin genetik olarak

önceden programlanmış olmasına rağmen, besin maddelerinin bu işlemler için "itici güç" olabileceğini bildirmiştir.



Şekil 2.5. Hücresel gen-besin etkileşim mekanizmaları (Reen et al., 2015'ten uyarlanmıştır).

Yem bileşenleri transkripsiyon süreçlerini up (yukarı) veya down (aşağı) regüle ederek gen ekspresyonunu değiştirebilir (Moul, 2012). Şekil 2.5'te hücresel besin-gen etkileşim mekanizmalarının bir örneği gösterilmektedir. Gen ekspresyonunun regülasyonu, transkripsiyon faktörleri (TF) tarafından yönetilir (Duran et al., 2016). Genlerin promotör bölgesindeki spesifik bir DNA sekansına bağlanan bir protein olan TF'ler, RNA polimerazın doğru bağlanmasına kılavuzluk ederek ya transkripsiyonu etkinleştirir (aktivatör olarak) ya da baskılayabilirler (represör olarak) (Dalmile et al., 2012). Nitekim yapılan son çalışmalarda bazı besin maddelerinin TF olarak hareket ettikleri veya TF'ler ile ligand olarak etkileşime

girdikleri (A), primer/sekonder metabolik yollarla metabolize edilerek gen regülasyonunda veya hücre sinyalizasyonunda substratların/ara maddelerin konsantrasyonlarını değiştirebildikleri (B), direkt olarak sinyal iletim yollarını ve sinyallemeği değiştirecek (C) gen transkripsiyonunu regüle ettikleri kanıtlanmıştır (Sales et al., 2014; Reen et al., 2015; Nunes et al., 2018; Asmera and Negewo, 2019). Bununla birlikte bazı araştırmacılar, D vitamini, A vitamini, hormon, aminoasit ve belirli yağ asitleri dahil olmak üzere besinlerin, nükleer reseptöre bağlanarak genin transkripsiyonunu tetikleyebileceğini bildirmiştir (De Caterina and Madonna, 2004). Dolayısıyla gen ekspresyonundaki değişiklikler, hücrede fizyolojik veya biyokimyasal fonksiyonlardan sorumlu proteinlerin stabilite ve aktivitelerini etkileyebilir. Diğer yandan, diyet bileşenlerinin hücre gen ekspresyonu, metabolik yanıtlar ve nihayetinde canlı organizmaların fenotipik değişiklikleri üzerindeki etkilerini inceleyen moleküler hayvan beslenme dalı nutrigenomik olarak adlandırılmaktadır (Fenech et al., 2011).

Nutrigenomik veya besleme genomuğu, genlerin ve gen ürünlerinin, fenotipi değiştirmek için diyet kimyasalları ile nasıl etkileşime girdiğini araştırmaktadır (Ganguly et al., 2018). Nutrigenomikte besin maddeleri, vücuttaki belirli hücrelere gönderilen sinyallerdir. Böyle bir besin maddesinin bilgilerini yorumlarken hücre, DNA'dan veya genlerden (genom bilimi) biyokimyasal bilgiyi RNA'ya (transkriptom bilimi) göndererek tepki verir. Bu da spesifik proteinlere çevrilir (proteomik bilimi) ve nihayetinde metabolik yolları belirler (metabolomik bilimi) (Moody, 2001). Tüm biyolojik süreçler, bu sıradaki bilgi akışına bağlıdır ve temelde genetik yapı tarafından kontrol edilmesine rağmen, yemler (diyet) gibi dış faktörler bu yollar üzerinde etkili olabilir (Ganguly et al., 2018). Nutrigenomik pratikte bağımsız olarak veya sistem biyolojisi yaklaşımıyla diğer genomik, epigenomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi "omik" bilimlerle entegre bir şekilde uygulanarak, çeşitli yem bileşenlerine, hücre ve moleküler tepkileri analiz etmek için kullanılırlar (Fenech et al., 2011; Hasan et al., 2019).

Transkriptomik, belirli bir zamanda belirli hücre veya dokudaki aktive edilmiş RNA (kodlanmayan RNA, mRNA, rRNA ve tRNA) transkriptlerinin tamamını inceler (Loor et al., 2015). Burada sadece mRNA, tek tek genlerin bilgilerini taşır ve genotipik mesajı bir fenotip'e iletmek için köprü görevi

görmektedir (Hasan et al., 2019). Bir hücrenin veya dokunun tüm transkribe edilmiş haberci RNA (mRNA) moleküllerinin tam seti ise transkriptom olarak adlandırılmakta ve hücrenel metabolizmanın anlık görüntüsünü ifade etmektedir (Loor et al., 2015; Nunes et al., 2018). Besinlerin, genlerin mRNA ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini tek tek ölçen teknikler olmakla birlikte, binlerce genin aynı anda incelenmesini sağlayan mikroarray (Gençip) veya RNA sekanslama (RNA-seq) gibi moleküler araçlar geliştirilmiştir. Bu yüksek verimli teknolojiler muazzam veri setleri sunmaktadır. Elde edilen bu veri setleri biyoinformatik araçlar ile işlenerek karmaşık besin-gen etkileşim mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Dolayısıyla hayvan besleme uzmanları bu verileri diyet formülasyonlarına entegre ederek hayvansal üretim verimliliğini artırmak için genotipe özgü yeni besleme yöntemleri oluşturabilirler. Ancak günümüzde diyetin genom üzerindeki etkilerinin araştırılmasında daha çok laboratuvar hayvanları (fare, rat vb.) model alınmıştır. Çiftlik hayvanlarında benzer yaklaşımlar henüz çok daha yenidir. Bununla birlikte, kanatlı kümes hayvanlarının diyetindeki özellikle fitojenik yem katkı maddelerinin aracılık ettiği immünomodülasyon etkilerin altında yatan moleküler mekanizmalar hakkında neredeyse hiçbir bilgi yoktur. Bu çalışmada da rezene uçucu yağının performans ve bağırsak sağlığı üzerindeki etkinliğinin anlaşılması için spesifik genlerin veya spesifik metabolik yolların ekspresyonu üzerindeki etkileri derinlemesine incelenecektir.

2.8 Fitojenik Yem Katkı Maddelerinin Monogastrik Hayvanlarda Kullanıma Yönelik Yapılan Çalışmalar

Fitojenik yem katkı maddelerinin monogastrik hayvanlarda ve özellikle etlik piliçlerdeki büyüme performansı, karkas parametreleri, bağırsak mikroflorası, histomorfolojisi, bağırsak sağlığı, immün yanıt ile kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) ve yüksek verimli mikroarray analizleri kullanılarak immünoloji, fizyoloji ve metabolizma ile ilişkili genlerin translasyonel regülasyonu üzerindeki etkinliği ile ilgili yapılan önceki çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

El-Deek et al. (2002), % 0.05 veya % 0.1 zencefil, anason ve rezene baharatı ya da % 0.1 bu yağların farklı kombinasyonlarıyla elde ettikleri karışımların karma yeme ilavesinin, etlik piliçlerde performans ile karkas kalitesi üzerine

etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla deneme  aşamada yürütülmüştür. Çalışmadan elde ettikleri bulgulara göre, sadece denemenin 1. aşamasında anason ile beslenen grupta canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışının iyileştiğini, diğer aşamalarda ise gruplar arasında performans ve organ ağırlıkları bakımından fark görülmediğini bildirmişlerdir.

Alçiçek et al. (2004), 2.5 g/kg organik asit (formik + laktik + sitrik asit), 1g/kg probiyotik (Lactobacillus + Bifidobacterium + Enterococcus) ya da 36 veya 48 mg/kg ticari bir esansiyel yağ karışımının (kekik + defne yaprağı + adaçayı yaprağı + mersin yaprağı + rezene tohumu + narenciye kabuğu-EYK) karma yeme ilavesinin, etlik piliçlerde performans ile karkas kalitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Elde edilen verilere göre, 42. günde en iyi yemden yararlanma oranı, en yüksek yem tüketimi ve canlı ağırlık artışı ile en düşük bağırsak oranı EYK ilaveli gruplarda olduğu saptanmıştır. alışmalarının sonunda, EYK'nin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranını iyileştirmesinden dolayı çevreci yetiştirme sistemlerinde büyüme promotörü olarak kullanılabileceği, bununla birlikte EYK ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.

Aksu ve Bozkurt (2009), yaz aylarında teknik destek bakımından yetersiz olan çiftliklerde, etlik piliçlerin karma yemine 250 ppm antibiyotik (flavomycine), 1000 ppm içinde rezenenin de bulunduğu esansiyel yağ karışımı (EYK), 1500 ppm organik asit (humik asit) veya sırasıyla 1000 ppm + 1500 ppm dozda EYK + humik asit karışımı (EYK + H) ilavesinin, performans ve bağırsak sağlığı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, 42. günde en yüksek ve en düşük canlı ağırlığın sırasıyla antibiyotik ve EYK + H muamele gruplarında olduğu, yem tüketimi ve karkas özellikleri bakımından ise, gruplar arasında fark bulunmadığı saptanmıştır. Gruplar ileo-sekal mikroorganizma sayısı bakımından karışılaştırıldığında kontrole göre en düşük *E.coli* sayısının antibiyotik muamele grubunda ve ardından tüm katkı ilaveli gruplarda olduğu saptanmıştır. Denemede en yüksek ve en düşük Lactobacilli sayısının ise, sırasıyla EYK ve antibiyotik ilaveli gruplarda olduğu ve diğer gruplar arasında fark görülmediği bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda, EYK ve/veya humik asit ilavesinin kontrole göre performans üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Mohammed and Abbas (2009), karma yeme 0, 1, 2 veya 3 g/kg düzeyinde rezene tohumu ilavesinin etlik piliçlerde performans üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, 0-22. günlerde canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında fark olmadığını, 23-42. günlerde ise düzey fark etmeksizin kontrole göre tüm rezene ilaveli gruplarda canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışının iyileştiğini bildirmişlerdir. Buna karşın, yem tüketimi bakımından gruplar arasında fark görülmemiştir. Diğer yandan, relatif bezel mide ve pankreas ağırlığı dışında, karkas özellikleri bakımından tüm grupların benzer olduğu rapor edilmiştir.

Lillehoj et al. (2011) çalışmasında yüksek verimli mikroarray teknolojisini kullanarak, bitkisel kökenli karvakrol, sinnalaldehit ve kapsikum oleoresinin koksidiyoz hastalık modeli oluşturulmuş etlik piliçlerin immünoloji, fizyoloji ve metabolizma ile ilgili genlerinin ekspresyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Koksidiyoz hastalık modelini oluşturmak için civcivler yumurtadan çıktıktan bir gün sonra oral yoldan *E. acervulina* ile enfekte edilmiştir. Koksidiyozu değerlendirmek için canlı ağırlık artışı, oosit üretimi gibi parametrelere bakmışlardır. Bağırsak dokularından alınan örneklerde yapılan mikroarray analizi sonucu elde edilen gen ekspresyon profilinde, kontrol grubuna kıyasla en çok transkriptin kapsikum oleoresin grubunda gözlemlendiğini ve bu genlerin çoğunun metabolizma ve bağışıklık ile ilişkili olduğunu saptanmışlardır. Sinnalaldehit ile indüklenen genlerin ise daha çok antijen fonksiyonu, humoral immün yanıt ve inflamatuvar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu fitokimyasalların karma yeme ilavesinin canlı koksidiyoz enfeksiyonuna karşı canlı ağırlığı koruduğunu tespit etmişlerdir.

Küçükyılmaz vd. (2012), ticari bir esansiyel yağ karışımının (kekik+defne+rezene+adaçayı+mersin yaprağı+portakal kabuğu-EYK) etlik piliçlerde performans, karkas randımanı ve organ iç ağırlıkları üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, Ekim-Kasım ve Nisan-Mayıs olmak üzere iki dönemde kurdukları denemelerinde, karma yeme 1g/kg düzeyde EYK karışımını ilave etmişlerdir. Buna göre yürütülen birinci çalışmada, EYK ilavesinin canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı ve ölüm oranı üzerine etkisinin olmadığını fakat karkas randımanını arttırdığını, ikincisinde ise canlı ağırlık ve pankreas ağırlığını arttırdığını, yemden yararlanma oranının ise iyileştiğini saptamışlardır.

Karkas randımanındaki artışın vücutta kas kitlesinin artmasına, pankreas ağırlığındaki artışı ise, EYK'nin safra asidi salgısını çoğaltmak suretiyle bağırsak mukoza ve pankreas enzim salgısını artırmasına dayandırmışlardır. Bununla beraber, her iki denemeden elde edilen bulgular arasındaki farkın, bazı manejan faktörleriyle (civciv performanslarını etkileyebilecek yönde ebeveylein beslenmesi, damızlık yaşı, yumurta depolama süresi ve kuluçka şartları gibi) ilişkili olabileceği rapor edilmiştir. Diğer yandan, elde edilen bulgulara göre, EYK'nin performans geliştirici olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Gharaghani et al. (2013), farklı zaman ve koşullarda depo edilen broiler etlerinde oksidatif stres üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, mısır ya da buğday ağırlıklı etlik piliç diyetlerine 15 g/kg düzeyinde antibiyotik (virginiamycin), 100 g/kg düzeyinde probiyotik (protexin) ve % 1 düzeyinde rezene tohumu ilave etmişlerdir. Kesim sonrası göğüs etlerinden (*Pectoralis major*) alınan örneklerde 0., 7. ve 30. günlerde malondialdehit (MDA) oranları ile karbonil seviyelerine bakmışlar; en düşük MDA oranının mısır bazlı kontrol grubundan sonra rezene tohumu ilaveli grupta, en düşük karbonil seviyesinin ise, yalnızca rezene tohumu ilaveli grupta olduğunu saptamışlardır. Buna göre, çalışmada gruplara ait MDA oranları arasındaki farkın, mısır ve buğdayın yağ asidi profili arasındaki farktan kaynaklanabileceği ve rezenenin oksidatif bozulmayı engellediği bildirilmiştir. Bundan dolayı, rezenenin yüksek antioksidan kapasiteli yem katkı maddesi olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir. Çalışmada ayrıca gruplar arasında canlı ağırlık ve yem tüketimi bakımından fark olmadığı saptanmıştır.

Hashemipour et al. (2013a), mısır ağırlıklı, karboksil metil selüloz (CMC: % 0 veya 2) içerikli karma yemlere thymol + carvacrol (1:1) (0, 100 veya 200 mg/kg) ilavesinin etlik piliçlerdeki bağırsak gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Buna göre, ileal *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* popülasyonu en yüksek CMC içermeyen ve 200 mg/kg thymol+carvacrol ilaveli grupta görülmüştür. *E.coli* sayısı ise, 100 ve 200 mg/kg ilaveli gruplarda kontrole göre azaldığı ve CMC içerikli diyetlerde ise arttığı bildirilmiştir. Diğer yandan, CMC ilavesinin 42. günde jejunum ve ileumda villus genişliği ile kript derinliğini düşürdüğü, villus genişliği ile kript derinliğini artırdığı görülmüştür. 200 mg/kg bitkisel katkının ise jejunum ve ileumda villus yüksekliği, villus yüksekliği:kript

derinliğini artırdığı saptanmıştır. Bununla beraber, bitkisel katkıların kript derinliği üzerine etkisi bulunmamıştır. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, incelenen parametrelerde esansiyel yağların bioaktif komponentleri ile CMC arasında interaksiyon bulunmadığı, bu nedenle yüksek düzeyde esansiyel yağların daha etkili performans göstermediği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, thymol + carvacrol'un patojen olmayan bakterileri artırıp, patojen bakterileri azaltarak bağırsak sağlığını modifiye ettiği ve bağırsak histomorfolojisini geliştirdiği bildirilmiştir.

Kim et al. (2013a) *Eimeria acervulina* ile enfekte edilmiş etlik piliçlerde anethole ilavesinin *in vitro* ve *in vivo* bağışıklık parametrelerine etkisini değerlendirmişlerdir. *In vitro* denemeleri sonucunda, invaziv *E. Acervulina* sporozitlerinin, anethole ile 2 veya 4 saatlik muamelesi sonucunda sırasıyla % 45 ve % 42 oranında canlılıklarını azalttığı ve kontrol grubuna kıyasla dalak hücre poliferasyonunu 6 kat daha fazla uyardığını saptamışlardır. *In vivo* denemelerinin sonucunda ise yumurtanda çıkıştan itibaren oral yolla canlı *E. Acervulina* bulaştırılmış civcivlerde, karma yeme 15 mg/kg anethole ilavesinin, enfekte kontrol grubuna (pozitif kontrol) kıyasla canlı ağırlık kazancını artırdığını, fekal oosit atılımını azalttığını ve antikor yanıtlarının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bağırsak lenfositlerindeki bağışıklık mediatörleri interlökin-6, 8 ve 10 ile tümör nekroz faktör ligand süper aile üyesi 15'i (TNFSF15) kodlayan genlerin transkripsiyon seviyelerini, anethole içeren diyetlerle beslenen enfekte etlik piliç gruplarında negatif veya pozitif kontrol gruplarına göre daha fazla artırmıştır. Ek olarak, mikrodizi hibridizasyon sonucunda anethole ile beslenen enfekte etlik piliç bağırsak lenfositlerinde, negatif ve pozitif kontrol gruplarına kıyasla 1810 transkript (677 up, 1133 down regüle) ölçülmüştür. Elde ettikleri transkriptom veri setindeki genlerin büyük çoğunluğunun biyolojik fonksiyonunun ise inflamatuvar yanıt ile ilgili olduğu saptanmıştır.

Drăgon et al. (2014), entansif üretim sistemlerinde yetiştirilen etlik piliçlerin içme suyuna % 1.5 düzeyde pelin otu (*Artemisia annua*) yaprağı ya da % 7.5 düzeyde 1:1 oranında karıştırılmış pelin otu + rezene yağı ilavesinin antikoksidiyal etkilerini araştırmışlardır. Buna göre, hayvanlar 8. günde Newcastle, 12. günde Marek ve *Eimeria tenella* ile enfekte edilmişlerdir. Elde edilen bulgulara göre,

bitkisel katkı ilaveli gruplarda kanlı ishal görünümü ve mortalite oranı azalmış, ayrıca gübrede oosit miktarı pozitif kontrole göre % 71 oranında düşerek dışkı skoru iyileşmiştir. Bu parametreler bakımından en iyi iyileşmenin ise pelin otu yaprağı ilaveli grupta olduğu saptanmıştır. Buna göre, çalışmanın sonunda % 1.5 dozda pelin otu yaprağının etlik piliçlerde koksidiyoza karşı antibiyotik alternatifi olabileceği bildirilmiştir.

Fiesel et al. (2014) süttten kesilmiş domuz diyetlerine polifenol bakımından zengin üzüm veya şerbetçi otu ilavesinin bağırsaktaki pro-inflamatuar gen ekspresyonu, besin madde sindirebilirliği ve dışkı mikrobiyotası üzerine etkilerini incelemişlerdir. Üzüm çekirdeği ve üzüm posası ekstraktı (GSGME) veya şerbetçiotu (SH) ile beslenen domuzlarda kontrol grubuna kıyasla yemden yararlanma oranının iyileştiği saptanmıştır. Ayrıca, duodenum ve jejunumdaki villus yüksekliği/kript derinliği oranı ile total sindirim kanalı besin madde sindirilebilirliği bakımından gruplar arasında fark olmadığı bildirilmiştir. Diğer yandan, dışkı mikrobiyotasında kontrole göre GSGME ve SH ile beslenen domuzlarda daha düşük ph ve uçucu yağ asitleri ile daha düşük sayıda *Streptococcus* spp. and *Clostridium Cluster XIVa* olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte kontrole kıyasla GSGME ve SH ile beslenen domuzların duodenum, ileum ve kolonlarında pro-inflamatuar genlerin ekspresyonunun daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Liu et al. (2014b) süttten kesilmiş domuzlarda (21. gün) kapsikum oleoresin, sarımsak ve zerdeçal oleoresinin ileal mukoza gen ekspresyon profili üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Deneme de toplam 32 hayvan kullanılmış ve kontrol ile 10 mg/kg kapsikum oleoresin, sarımsak ve zerdeçal oleoresinden oluşan 4 gruba rastgele dağıtılmıştır. Denemenin 9. gününde her gruptan 4 hayvan seçilerek total RNA izolasyonu için ileal mukoza örnekleri alınmıştır. Beslemenin gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini incelemek içinde mikroarray analizi yapmışlardır. Denemenin sonunda kontrol grubuna kıyasla kapsikum oleoresin ile beslenen gruplarda 490 genin (280 up, 210 down), sarımsak ile beslenen gruplarda 64 genin (33 up, 31 down) ve zerdeçal ile beslenen gruplarda 327 genin (232 up, 95 down) ekspresyonunun değiştiği saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla kapsikum oleoresin ve zerdeçal oleoresin beslemesinin tight junction ve membran bütünlüğü ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak bağırsak mukoza sağlığını

iyileştirdiği ancak hücre döngüsü yolaklarını kodlayan genlerin ekspresyonunu ise azalttığı bulunmuştur. Sonuç olarak beslemenin bağışıklık sistemini uyarabileceğini ve bu bitki özlerinin domuzların ileal mukozasındaki genlerin ekspresyonunu düzenleyerek, bağışıklık sistemini güçlendirici, bağırsak mukoza sağlığını iyileştirici faydalar sağlamış olabileceğini bildirmişlerdir.

Scherer et al. (2014), büyüme promotörü olarak kullanılan avilamycin yerine, farklı düzeylerde (500-1000 mg/kg) kapsüllenmiş formda ökaliptol (ökaliptus uçucu yağının ana bileşeni), euganolün (karanfil yağının ana bileşeni) veya 1000 mg/kg düzeyde (500 mg/kg ökaliptol+500 mg/kg eugenol) karışımlarının yeme ilavesinin etlik piliçlerde performans üzerine etkilerini araştırmışlar ve çalışma sonunda elde ettikleri bulguları hem kontrol hem de negatif kontrol (yeme 10 mg/kg avilamycin ilaveli grup) ile karşılaştırmışlardır. Çalışmanın hayvan materyalini 392 adet erkek civciv (Ross) oluşturmuş olup, deneme süresi 21 gün olarak belirlenmiştir. Ayrıca ökaliptol ve euganolün mikroenkapsülasyonu için kaplama materyali olarak malt dekstrin (20 DE) kullanılmış ve kapsülleme işlemi sprey kurutmalı yöntem ile gerçekleştirilmiştir. 21. gün sonunda gruplar performans bakımından karşılaştırıldığında karışım grubu hariç grupların benzer özellik gösterdiği, bununla beraber 1000 mg/kg ökaliptol+eugenol ilavesinin yem tüketimi ile canlı ağırlık ve kesim ağırlığını düşürdüğü görülmüştür. Denemenin sonunda etlik piliçlerde 500 mg/kg düzeyde kapsüle edilmiş ökaliptol ya da euganolün büyüme promotörü olarak 10 mg/kg avilamycine alternatif olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir.

Alhajj et al. (2015), farklı düzeylerde (1, 2, 4, 6 veya 8 g/kg) yıldız anasonunun (*Illicium verum* Hook. f) karma yeme ilavesinin etlik piliçlerde performans ve immün sistem üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, denemede pozitif kontrol ve yem katkısı ilaveli gruplar newcastle hastalığı virüsü (NBV), infeksiyöz bursal hastalığı virüsü (IBDV) ve infeksiyöz bronchitis virüsü (IBV) ile enfekte edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, 1 ve 2 g/kg yıldız anasonu ilavesi canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışını diğer gruplara göre önemli ölçüde artırmış ve yemden yararlanma oranını iyileştirmiştir. Yem tüketimi bakımından ise gruplar arasında fark gözlenmemiştir. Buna karşılık, IBDV'ye karşı antikor titresi en yüksek 1 g/kg ilaveli grupta, NBV ve IBV'ye karşı antikor titresi ise en yüksek 6 g/kg ilaveli grupta görülmüştür. Diğer yandan, grupların

timüs ve dalak ağırlıkları benzer olmuş, bursa fabricus ağırlıkları ise negatif kontrole göre pozitif kontrol ve tüm yıldız anason ilaveli gruplarda artmıştır. Elde edilen bulgulara göre, etlik piliçlerde immun sistem geliştirme ve performans iyileştirme amacıyla yıldız anasonun doğal katkı maddesi olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Akyıldız et al. (2016), etlik piliçlerin karma yemine 50 veya 100 mg/kg düzeyde tarçın ağırlıklı ticari bir esansiyel yağ karışımı (Emerald) ilavesinin, performans, bazı kan parametreleri ve bağırsak mikroflorası üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonunda, 50 mg/kg ilaveli grupta canlı ağırlık artışının arttığı ve yemden yararlanma oranının iyileştiği, yem tüketimi üzerine ise etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Kan parametreleri bakımından serum ürik asit konsantrasyonu dışında, yem katkısının serum biyokimyası üzerine etkisi bulunmamıştır. Diğer yandan, ileumun son kısmından alınan bağırsak örneklerinde, Emerald ilavesinin artan düzeyle birlikte *E.coli* sayısını önemli ölçüde düşürdüğü, laktik asit sayısı üzerinde ise önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Balasubramanian et al. (2016), içerisinde sitrik asit (% 25), sorbik asit (% 16.7), thymol (% 1.7) ve vanillin (% 1.0) bulunan enkapsüle ticari bir organik asit+esansiyel yağ karışımının (Aviplus-SV R, VetAgroSpATM, 42100 Reggio Emilia, İtalya) farklı düzeylerde (% 0, 0.05 ve 0.10) yeme ilavesinin domuzlarda gebeliğin son ve laktasyonun ilk döneminde performans ile kan parametreleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Denemede ayrıca doğan yavrularda ishal vakaları da incelenmiştir. Denemenin sonunda performans bakımından gruplar arasında fark görülmemiş, bununla beraber yavrularda ishal vakalarının kontrol grubuna göre muamele gruplarında oldukça azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle, enkapsüle edilmiş organik asit+esansiyel yağ karışımının domuzlarda büyümeyi iyileştirebileceği bildirilmiştir.

Cengiz et al. (2016), katkısız (negatif kontrol), karma yeme 200 mg/kg düzeyde α -takoferol asetat (pozitif kontrol), 100 mg/kg düzeyde kekik, rezene, biberiye yağı veya eşit oranda karışımları ile oluşturulmuş 100, 200 veya 400 mg/kg düzeydeki kombinasyonlarının ilavesinin, etlik piliçlerde performans ile serum ve kemik mineral karakteristiği (Ca ve P konsantrasyonu) üzerine etkisini

araştırmışlardır. Elde edilen bulgulara göre, 42. günde yem tüketimi bakımından kontrol ve muamele grupları arasında fark bulunmamış, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı bakımından ise 400 mg/kg karışım ilaveli grupta iyileşme olduğu görülmüştür. Diğer yandan, tibia Ca ve P oranları en yüksek rezene ile 200 ve 400 mg/kg ilaveli karışım gruplarında, serum Ca ve östrojen ise, rezene ve 400 mg/kg ilaveli karışım grubunda görülmüştür. Buna göre, çalışmada kullanılan uçucu yağlar performans bakımından önceki literatürlerin bazılarıyla uyumsuz bulunmuş ve bu durum, yağların tek ya da kombine halinde kullanımları, çeşit, yoğunluk ve diyet gibi faktörlerin etkisine bağlanmış olup, ayrıca sağlıklı kümes koşullarında ve ideal şartlar altında, performans artırıcıların etkisinin tam olarak görülmediği bildirilmiştir. Diğer yandan, 400 mg/kg ilaveli karışım grubunun performansı iyileştirmesi ve tibia Ca oranlarını artırması ile kekik, biberiye ve rezene uçucu yağlarının sinerjik etki gösterdiği, ancak yağ karışımlarının kemik kalitesi üzerine gösterdiği etki mekanizmasının açıklanmasına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.

Çetin et al. (2016), 100 mg/kg düzeyde kekik, biberiye, rezene yağları ile 100, 200 veya 400 mg/kg düzeyde karışımlarının karma yeme ilavesinin, etlik piliçlerde bağırsak bakteri florası üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonunda, en yüksek antibakteriyel aktivitenin 400 mg/kg ilaveli grupta görüldüğünü ve bu karışımın, hayvanlarda *Lactobacillus* spp. sayısını artırıp, koliform bakteri sayısını azaltarak bağırsak mikrobiyotasını geliştirmek amaçlı yem katkı maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Soycan Önenç et al. (2016), yem ve gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan bazı önemli uçucu yağların kimyasal kompozisyon ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bu amaçla, farklı bölgelerden topladıkları tarçın, kimyon, defne, nane, kekik, biberiye ve adaçayına ait uçucu yağların ana komponentlerini sırasıyla cinnamaldehyde propilene glycol acetat (% 41.50), cuminaldehyde (% 44.01), 1,8 cineole (% 39.55), (+) pullegon (% 67.80), carvacrol (% 59.03), 1,8 cineole (% 30.12) ve (+) camphor (% 17.15) olarak saptamışlardır. DPPH yöntemiyle belirledikleri antioksidan aktivite ise en yüksek % 79 ile defne uçucu yağı görülmüş, bu sırayı % 75.98 ile kimyon ve % 75.81 ile kekik uçucu yağları takip etmiştir. En düşük aktivite ise % 63.88 ile biberiye uçucu yağında bulunmuştur.

Buna göre, araştırmada kullanılan yağların antioksidan aktivitelerinin vitamin E ve Trolox'tan yüksek olduğu bildirilmiştir.

Rafeeq et al. (2016), kimyon tohumu (*Cuminum cyminum*), civanperçemi (*Achillea wilhelmali*) veya rezene tohumundan (*Foeniculum vulgare*) elde edilen alkali ekstraktların 0, 20 veya 40 ml/L düzeyde içme suyuna ilavesinin, etlik piliçlerde performans ve bağırsak mikroflorası üzerine etkilerini araştırmışlardır. Buna göre, 0-42. günde bitkisel katkı ilaveli gruplarda performansın arttığını ve karkas özelliklerinin iyileştiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, en yüksek canlı ağırlık ile en iyi canlı ağırlık artışı ve yem tüketiminin kimyon tohumu, en yüksek karkas, karaciğer ve kalp ağırlıklarının ise rezene tohumu ekstraktı ilaveli gruplarda olduğunu saptamışlardır. Tüm grupların dalak, bursa fabricus ve bağırsak ağırlıkları ise benzer bulunmuştur. Gruplar ince bağırsak bakteri popülasyonu bakımından incelendiğinde ise, kontrole göre 20 ml/L rezene tohumu dışındaki tüm gruplarda koliform bakterilerinin azaldığı saptanmıştır. Buna göre, bağırsakta biyoaktif bileşiklerin bağırsak mikroflorasını iyileştirmek suretiyle yemden yararlanmayı iyileştirmiş olabileceği bildirilmiştir.

Çakmak vd. (2017), karma yeme sumak (*Rhus coriaria*) ilavesinin, etlik piliçlerde performans, serum biyokimyası ve bağırsak mikrobiotası üzerine etkilerini farklı yerleşim sıklığında incelemişlerdir. Buna göre gruplar, yerleşim sıklığı olarak normal (10 hayvan/m²) ve yoğun (20 hayvan/m²) alanda yetiştirilmişler ve 0, 0.75 ile 1.5 g/kg sumak ilaveli karma yemle beslenmişlerdir. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, canlı ağırlık artışı bakımından yerleşim sıklığı ve yerleşim sıklığı x yem katkı interaksyonu önemli bulunurken, yem tüketimi bakımından yalnızca yerleşim sıklığı önemli olmuştur. Gruplar arasında yemden yararlanma oranı bakımından ise fark bulunmamıştır. Gruplar organ ağırlıkları bakımından incelendiğinde, karaciğer, dalak ve bezel mide ağırlıkları benzer bulunmuş, taşlık ve bağırsak ağırlığı üzerine ise, yalnızca yerleşim sıklığının etkisi önemli bulunmuştur. Gruplar bağırsak mikrobiotası bakımından incelendiğinde de *E.coli* sayısı üzerine yerleşim sıklığının, yem katkısının ve bunların interaksyonlarının önemli olarak etkilediği, buna göre artan düzeyle birlikte her iki yerleşim sıklığında *E.coli* sayısının azaldığı saptanmıştır. Bununla beraber, laktik asit bakterileri üzerine yerleşim sıklığı önemsiz fakat yerleşim

sıklığıYem katkı interaksyonunun önemli olduğu ve sumak ilavesinin laktik asit bakterilerini artırdığı görülmüştür.

Fascina et al. (2017), fitojenik katkıların, organik asitlerin ve bunların kombinasyonlarının etlik piliçlerde performans, bağırsak histomorfolojisi, lipid peroksidasyonu ve bağışıklık sistemi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla araştırmada ticari bir fitojenik katkı (PA) (Imunostart® + Enterocox® - Phytosynthese) zerdeçal özü (*Curcuma longa*), narenciye özü, üzüm çekirdeği özü (*Vitis sp.*), Çin tarçın esansiyel yağı (*Cinnamomum zeylanicum*), Şili boldo yaprağı (*Peumus boldus*) ve çemen otu tohumu (*Trigonella foenum-graecum*) ve organik asit karışımından (OA, Premium Sal-Ácido 8® - Nutriacid; % 30 laktik asit, % 25 of benzoik asit, % 7 formik asit, % 8 sitrik asit ve % 6.5 asetik asit) yararlanılmıştır. Yem katkıların karma yeme ilavesi PA için Imunostart®, 700 g/t (1-10. gün), 500 g/t (11-21. gün); Enterocox®, 300 g/t (1-10. gün), 1000 g/t (11-35. gün) ve 500 g/t (36-42. gün), OA ise 3.5 kg/t (1-21. gün), 2.5 kg/t (22-35. gün), 1.5 kg/t (35-42. gün) şeklinde olmuştur. Denemenin pozitif kontrolünü de karma yeme avilamycin (10 g/t) + monensin sodyum tuzları (100 g/t) ilaveli grup oluşturmuştur. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, 1-42. günlerde en yüksek canlı ağırlık artışı pozitif kontrolde görülürken, bunu PA ilaveli grup izlemiştir. Yem tüketimi, yemden yararlanma ve yaşama oranı üzerine ise katkıların etkisi önemsiz olmuş ve gruplara ait değerler benzer bulunmuştur. Bununla birlikte, 42. günde her iki yem katkısının da relatif immun organ ağırlıkları ve intestinal villus gelişimi üzerine etkisi önemsiz görülmüştür. Diğer yandan, 42. günde PA ve PA+OA ilavesi lipid peroksidasyonunu pozitif ve negatif kontrole göre düşürmüş ve PAxOA interaksyon etkisi önemli bulunmuştur. Çalışmanın sonunda fitojenik katkıların tek başına veya OA ile kombinasyonlarının bağışıklık sistemini güçlendirici ve bağırsak kalitesini iyileştirici olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Meimandipour et al. (2017), başlangıç, gelişme ve bitiş dönemlerinde sırasıyla % 0.02, 0.025 ve 0.05 oranında nanoenkapsüle aloevera, dereotu ve ısırğan kökü ekstraksiyon ilavesinin, aynı düzeylerde kapsüle edilmemiş, negatif veya pozitif (500 g/ton antibiyotik içeren grup) kontrol gruplarına göre etlik piliçlerde performans, karkas özellikleri ve serum immünglobülin (IgM ve IgY) üzerine etkisini araştırmışlardır. Denemede 1 günlük yaştaki 240 adet Ross-308 etlik

civcivler her muamele grubunda 10 hayvan içeren 3 adet tekerrür olacak şekilde toplamda 8 muamele grubuna rastgele dağıtılmıştır. Çalışmalarının sonunda, kapsüle edilmiş dereotu ekstraksiyon grubunun diğer gruplara göre 1-42. günler arası canlı ağırlığı artırdığı görülmüştür. Ayrıca tüm enkapsüle muamele gruplarında diğer gruplara göre yemden yararlanmanın iyileştiği ve 35. günde alınan kanlarda IgM ve IgY seviyelerinin yükseldiği saptanmıştır. Sonuç olarak, nanokapsüle edilmiş bitkisel ekstraktların bağışıklık sistemini daha fazla geliştirdiği ve performansı artırdığı bildirilmiştir.

Al-Zuhairi et al. (2018), % 5 düzeyde kişniş, rezene tohumu ya da 1:1 oranında karışımlarının karma yeme ilavesinin etlik piliçlerde performans üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda bitkisel katkıların kontrole göre canlı ağırlığı artırdığını, yem tüketimini düşürdüğünü ve yemden yararlanma oranını iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Diğer yandan, bitkisel ekstraktların karkas, karaciğer ve taşlık oransal ağırlıklarını da artırdığı ancak kalp ağırlığı üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre sonuç olarak, kişniş ve rezenenin etlik piliçlerde performans artırıcı olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Fathalla et al. (2018), bitkisel ekstraktların (moringa veya ekinezya) veya esansiyel yağların (ketene tohumu veya rezene) etlik piliçlerde antibiyotik alternatifi büyüme faktörü olarak kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Bu amaçla, bitkisel ekstraktları 1ml/L/12 saat olacak şekilde hayvanların içme suyuna, etanolde çözdürülmüş esansiyel yağları ise, sırasıyla 0.2 ve 0.3 ml/kg olacak şekilde karma yemlere ilave etmişlerdir. Elde edilen verilere göre, en yüksek canlı ağırlık, en iyi yemden yararlanma oranı ile yem tüketiminin moringa ekstraktı ilaveli grupta görüldüğü, bununla birlikte, tüm esansiyel yağ ve ekstrakt ilaveli gruplarda kontrole göre MDA oranlarının azalttığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda, yem katkılarının hayvanlar üzerindeki bu antioksidan aktivitelerinden dolayı, antibiyotik benzeri büyüme faktörü olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Sabino et al. (2018a) çalışmalarında RNAseq analizini kullanarak sulu kekik (*Origanum vulgare* L.) ekstraktının karma yeme ilavesinin etlik piliçlerin karaciğer transkriptom profili üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmalarının sonucunda, kontrol grubuna kıyasla kekik ekstraktı ile beslenen etlik piliçlerde 129 genin farklı

olarak ifade edildiğini (Log kat değişimi >1), bu genlerin yağ asidi metabolizması ile insülin sinyal yollarına dahil olan genler olduğunu ve büyük bir kısmının aşağı regüle olduğunu saptamışlardır. Ayrıca aşağı regüle olmuş genlerin yağsız tavuk hattı ile ilişkilendirilebileceği ve kekik takviyesinin hem abdominal hem de visceral yağ birikimini azaltmada potansiyel yararlı etkisinin olduğu saptanmıştır. İnsülin sinyal yolu ile ilgili genlerin aşağı regülasyonu, diyetle kekik ilavesinin obezite ve diyabet koşullarında bir seçenek olabileceğini bildirmişlerdir.

Sabino et al. (2018b) yemle alınan zeytin değirmeni atık suları'nın (OMWW) etlik piliçlerin bağırsak fonksiyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Jejunumda yapılan morfolojik ölçümler sonucunda, OMWW'nin kript derinliğini (KD) azalttığı, villus yüksekliği (VY) ve VY/KD oranını ise değiştirmedeğini saptamışlardır. Bağırsak epitel hücrelerinde yaptıkları RNA sekanslama analizi sonucunda da 280 genin farklı şekilde eksprese edildiği bildirilmiştir. Biyoinformatik analizlerle de OMWW grubundaki yukarı regüle genlerin çoğunun, viral genom replikasyonu ile ilişkili GO-terimlerinin regülasyonu tarafından aşırı temsil edildiği, aşağı regüle genlerin ise esas olarak kolesterol ve lipid metabolizmasına dahil olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, OMWW diyet takviyesinin, etlik piliç performansını ve sağlığını iyileştirmek, bağırsak hasarını önlemek, doğuştan gelen bağışıklığı artırmak ve kolesterol metabolizmasını ve yağ birikimini düzenlemek için bir beslenme stratejisi olabileceğini bildirmişlerdir.

Safaei-Cherehh et al. (2018), erkek piliçlerin karma yemine 0, 100, 200, 300 veya 400 ppm düzeyde rezene ekstraktı ilavesinin performans, karkas kalitesi ve hayvan sağlığı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Buna göre, rezene ekstraktının yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, kan glikoz, trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoproteinler üzerine etkisi bulunmazken, canlı ağırlık ve lipoprotein seviyesini artırdığını, ürik asidi ise düşürdüğünü bildirmişlerdir. Newcastle ile 35.günde enfekte edilmiş hayvanlarda 42. günde bakteriye karşı bağışıklığı artırdığı fakat immunoglobulin ve bağırsak mikroflorası üzerine etkili olmadığı saptanmıştır. Çalışmanın sonunda, 100 ppm düzeyde rezene ekstraktının performans ve karkas kalitesi artırıcı ve hayvan sağlığını iyileştirici olarak karma yeme ilave edilebileceği bildirilmiştir.

Mohiti-Aslı (2019), aralarında rezene yağının da bulunduğu tıbbi bitkilerden elde edilen esansiyel yağların (geyik otu, kekik, rezene ve biberiye) farklı kombinasyonlarının 300 mg/kg düzeyde karma yeme ilavesinin, etlik piliçlerde performans, kan metabolitleri, bağırsak mikroflorası ve et kalitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada ayrıca negatif (katkısız) kontrolün yanında, karma yeme 300 mg/kg düzeyde ticari kekik yağı ilaveli pozitif kontrol grubu da oluşturulmuştur. Elde edilen bulgulara göre, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında fark görülmemiş, kan serumu kolesterol seviyesinin ise, kontrol gruplarına göre esansiyel yağ ilaveli gruplarda düştüğü saptanmıştır. Gruplar bağırsak mikroflorası bakımından incelendiğinde *E.coli* bakımından gruplar arasında fark olmadığı, *Lactobacillus* spp. sayısının ise en düşük pozitif kontrol ile geyik otu+kekik, en yüksek de geyik otu+biberiye+kekik ilaveli gruplarda görüldüğü, diğer gruplar arasında ise fark olmadığı bildirilmiştir. Buna karşın, 30 ve 60. günlerde göğüs etlerinden alınan numunelerde, esansiyel yağ ilaveli gruplarda pozitif ve negatif kontrole göre nem, pH ve lipid peroksidasyonu bakımından fark olmamıştır.

Amiri et al. (2020) nanokapsüle kimyon uçucu yağının (KUY) etlik piliçlerin büyüme performansı, müsin 2 gen ekspresyonu, kan parametreleri ve fitohemaglutinin (PHA) ve 2,4-dinitroklorobenzene (DNCB) karşı bağışıklık yanıtına etkilerini incelemişlerdir. Denemede toplam 1050 erkek günlük yaştaki Ross-308 etlik civcivler 5 tekrarlı, kontrol (negatif), pozitif kontrol (650 mg/kg flavofosfolipol), 150 mg/kg KUY'suz kitosan nanopartikül, 100 veya 200 mg/kg nanokapsüle edilmiş KUY veya 100 veya 200 mg/kg nanokapsülsüz KUY ilaveli olmak üzere toplam 7 gruba rastgele dağıtılmıştır. Denemenin sonunda 200 mg/kg nanokapsüle edilmiş KUY ile beslenen gruplarda diğer gruplara kıyasla canlı ağırlık artışı, müsin 2 gen ekspresyonu önemli derecede arttığı ve yemden yararlanma oranının da iyileştiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, nanoenkapsülasyon KUY'un büyüme performansını, broyler immün yanıtlarını geliştirdiği ve bu nedenle antibiyotiklere ikame olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

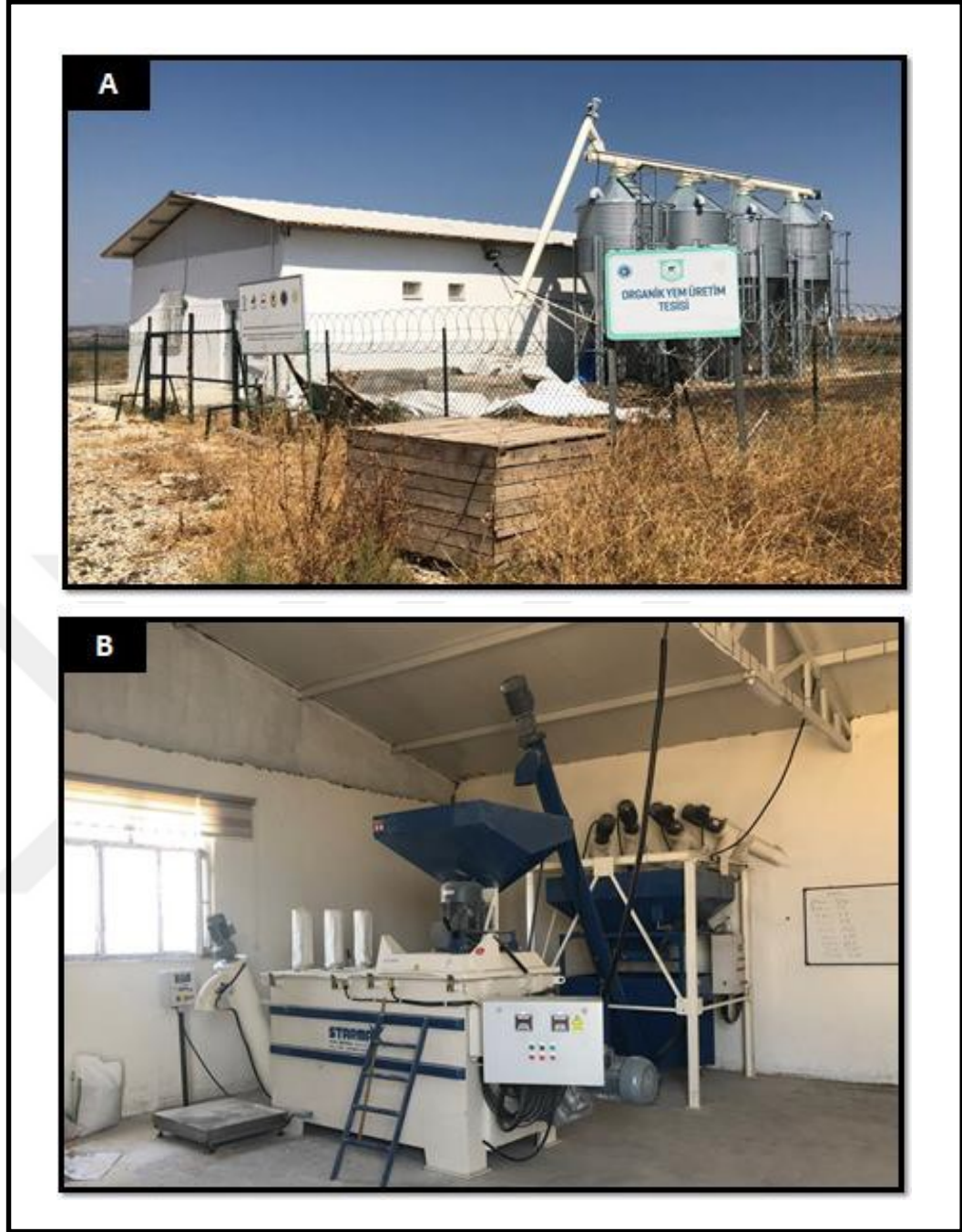
3.1.1 Hayvan materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak 400 adet Ross 308 genotipi günlük yaşta erkek etlik civciv, 33 haftalık yaştaki damızlık sürüden ve Adana'da faaliyet gösteren ticari bir kuluçkahaneden temin edilmiştir. Deneme, her biri 80 adet civciv içeren 1'i kontrol ve 4'ü muamele olmak üzere toplam 5 grup halinde yürütülmüştür. Her bir grup, 16 alt gruba ayrılmış ve her alt grupta 5 hayvan barındırılmıştır. Çalışma, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'nun (DÜHADEK) 05/07/2019 tarihli, 73439 sayılı ve 2018/24 protokol numaralı kararı ile onaylanmıştır. Ayrıca bu proje, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Başkanlığı tarafından "1002-Hızlı Destek Programı" kapsamında 27/11/2019 tarihli yazısı ve 1190982 numaralı proje kararı ile desteklenmiştir.

3.1.2 Yem materyali

3.1.2.1 Etlik civciv ve piliçlerin standart karma yemlerinin oluşturulması

Araştırmada standart karma yemlerinin oluşturulmasında kullanılan mısır, soya fasulyesi küspesi, tam yağlı soya, kemik unu, kalsit (CaCO_3), dikalsiyum fosfat (DCP), ayçiçek yağı, DL-Metiyonin, L-Lizin, sofr tuzu (NaCl) ve vitamin-mineral premiksi ticari firmalardan temin edilmiştir. Denemeye ait karma yemler Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü yem üretim tesisinde (Şekil 3.1) oluşturulmuştur. Ayrıca deneme gruplarına ait yem karmaları, ilgili yem hammaddelerinin besin madde kompozisyonları analiz edilerek, üretici firma kataloğu (Aviagen, 2014) ve NRC'de (1994) bildirilen erkek etlik civciv ve piliçlerin besin madde gereksinimleri gözetilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan karma yemler ana karıştırıcıdan (Kapasitesi 800 kg/sa) alınarak 50'şer kg'lık çuvallara aktarılmıştır.



Şekil 3.1. Deneme karma yemlerinin hazırlandığı yem üretim tesisine ait fotoğraflar (Orijinal); A) Dışarıdan görünüm, B) Mini yem tesisi (içeriden görünüm).

In vivo deneme süresince hayvanlara 1. günden 21. güne kadar etlik civciv başlatma yemi, 22. günden kesim gününe (42. gün) kadar ise etlik piliç bitirme yemi verilmiştir. Araştırmada kullanılan karma yemlerin bileşimi (g/kg), besin madde içerikleri (%) ve Metabolik Enerji (kcal ME/kg) düzeyleri Çizelge 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

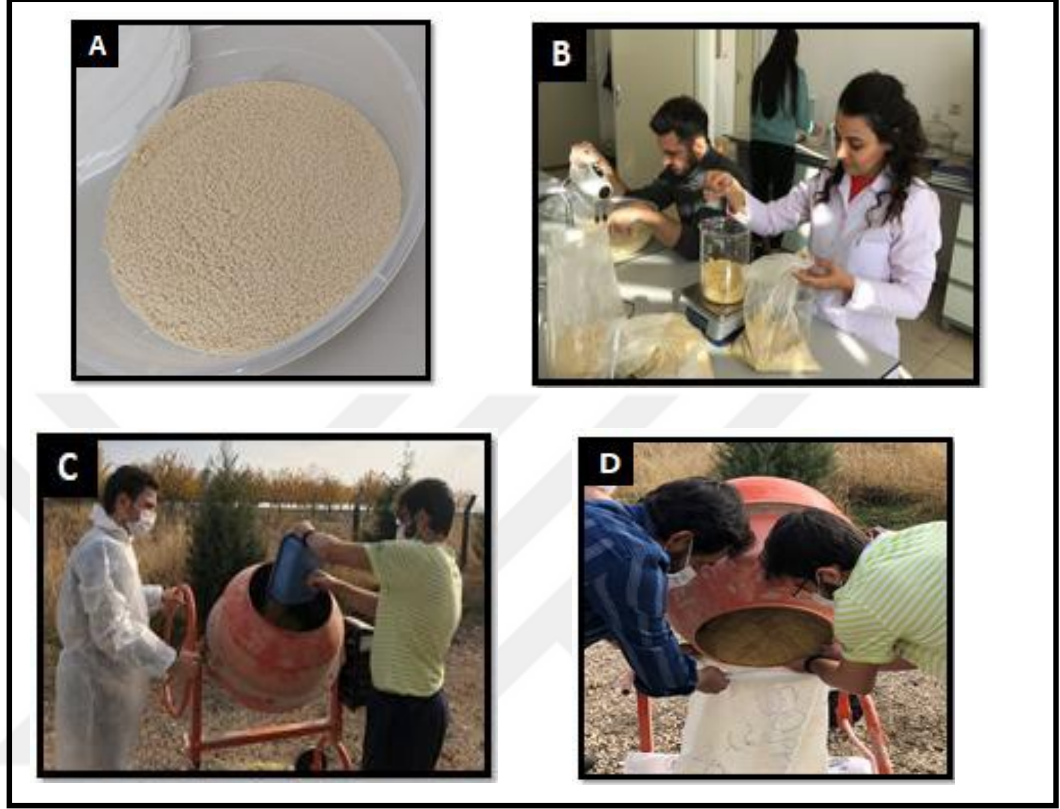
3.1.2.2 Rezene Uçucu Yağının (RUY) standart karma yemlere ilavesi

Sulu distilasyon yöntemiyle % 100 saf olarak üretilmiş RUY, ticari bir firmadan satın alınmıştır. *In vivo* deneme öncesi düzeylerinin oluşturulması ve saflık derecesi en yüksek RUY'un temin edilebilmesi için *in vitro* ortamda RUY'un uçucu bileşen, fenolik ve yağ asidi metil ester içerikleriyle antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. RUY'da saptanan bu analiz sonuçları (Bkz. Çizelge 4.4 ve 4.5) muamele gruplarına ait düzeylerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Çizelge 4.4 ve 4.5'e göre, en düşük RUY düzeyi 50 mg/kg olarak belirlenmiştir. Düzey-Yanıt anlayışı çerçevesinde ortogonal karşılaştırma (lineer ve kuadratik etki) yapabilmek için diğer muamele gruplarına ait düzeyler sırasıyla 100, 200 ve 400 mg/kg olarak saptanmıştır.

RUY'un standart karma yem içerisindeki homojen karışımını sağlayabilmek için özel bir firma tarafından kapsülasyonu sağlanmıştır. Enkapsülasyon işlemi, Reineccius (1991) ve Gouin'inin (2004) yöntemlerinin revize edilmesiyle yapılmıştır. Bu amaçla RUY, öncelikle sodyum aljinat çözeltisi ile karıştırılmış ardından $CaCl_2$ çözeltisi içerisine damlatılmıştır. Son olarak ise RUY'un, oluşan Na-aljinat jel boncukları içerisinde hapsedilmesiyle kapsülasyon işlemi tamamlanmıştır. RUY kapsülasyon işlemleri İnto Biyoteknoloji San. ve Tic. Ltd. Şti. tarafından yapılmıştır. Daha sonra kontrol grubu yemleri, standart karma yemlerden oluşurken, diğer deneme gruplarına ait yemler ise standart karma yemlere sırasıyla 50, 100, 200 ve 400 mg/kg düzeyinde kapsüle edilmiş RUY ilave edilmesiyle hazırlanmıştır.

RUY'un standart karma yemlere ilavesi, erkek civciv veya piliçlerin yem tüketimleri dikkate alınarak haftalık olarak yapılmıştır. Haftalık yem tüketimlerine ve deneme grubu düzeylerine bağlı olacak şekilde hesaplanan kapsüle edilmiş RUY miktarları üzerine, 50'şer kg'lık çuvallar içerisinde stoklanmış standart karma yemden sırasıyla 100, 100, 100, 200, 500, 1000, 1000 ve 2000 g tartılarak her bir muamele grubu için 5'er kg'lık ön karışımlar elde edilmiştir. Bu aşamadaki her bir adımda min. 3'er dk'lık süreler halinde el veya mikser ile karışım yapılmıştır. Daha sonra bu ön karışımlar, haftalık hesaplanan tüketilecek yem miktarıyla beraber küçük karıştırıcıya aktarılarak, homojen karışımlar elde

edilmiştir. Ardından bu karışımlar hava geçirmez torba veya kovalarda muhafaza edilmiştir. Kapsüle edilmiş RUY'un standart karma yeme ilavesine ait görseller Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Deneme karma yemlerine RUY ilavesine ait fotoğraflar (Orijinal); A) Kapsüle edilmiş RUY, B) Ön karışımın hazırlanışı, C) Ön karışımın standart karma yemlere ilavesi, D) Deneme grubu yemlerinin torba/kovalara alınışı.

3.1.3 Araştırmada kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

3.1.3.1 Cihazlar

- Hassas terazi (± 0.0001 g hassaslıkta, Shimadzu-ATX224)
- Terazi (± 0.01 ve 0.1 g hassaslıkta, Dikomsan)
- Toz yem üretim makinaları (Starmax, Türkiye)
- Öğütücü değirmen (Protech)

- Dijital sıcaklık ve nem ölçer (VZN)
- Etüv (Jisico)
- Kül fırını (Protech)
- Otomatik Protein/Nitrojen Analizatör (Leco FP-528, ABD)
- Kjeldahl yakma ve distilasyon ünitesi (Gerhardt, Almanya)

- Ham selüloz tayin cihazı (Gerhardt, Almanya)
- Ham yağ tayin cihazı (Velp, İtalya)
- GC-FID (Agilent 7890, ABD)
- Manyetik karıştırıcı (Heidolp-MR Hei-Standart)
- Laminer kabin (Thermo-MS1,2 Advantage, ABD)
- İnkübatör (Nüve- EN 055)
- Rotary mikrotom cihazı (Leica, ABD)
- Polarimetre (Krüss, Almanya)
- GC/MS (Agilent 5977A, ABD)
- LC/Q-TOF/MS (Agilent 6550, ABD)
- Mikropipet (10-1000 µl, Eppendorf, Almanya)
- Işık mikroskobu (ZEISS Axio Görüntüleyici A2, ABD)
- Soğutmalı Santifrj (Thermo, ABD)
- Nanodrop (Thermo-2000C, ABD)
- Roche LightCycler 480 II (Roche)

3.1.3.2 Sarf malzemeler

- Sülfürik asit (H_2SO_4)
- Bakır(II) Sülfat Pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)
- K_2SO_4 Na_2SO_4
- Borik asit (H_3BO_3)
- Brown green crousel
- Metil kırmızı ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)
- Sodyum hidroksit (NaOH)
- Ekstraktör kartuş
- Yağ balonu
- Hekzan (C_6H_{14})
- Hidroklorik Asit (HCl)
- Çinko asetat ($ZnC_4H_6O_4$)
- Asetik asit (CH_3COOH)
- Pens
- Diseksiyon makası
- Sivri uçlu makas
- Bistüri sapı, ucu
- Steril 15 ml falkon tüpleri
- Ependorf tüpler
- Hematoksilen
- Fenolftalein
- Potasyum Permanganat ($KMnO_4$)
- Eosin Solüsyonu
- Pozitif şarjlı lam
- Lamel
- Formaldehit (CH_2O)
- Parafin boncuk
- Xylene solüsyonu (C_8H_{10})
- Etanol % 96, % 99 (C_2H_5OH)
- Entellan
- Preparat lam saklama kabı
- Mikrotom bıçağı
- Doku takip kasetleri metal
- Plastik kare aparatlar
- Doku gömme kapları
- DNA izolasyon kiti
- Tripure Isolation Reagent
- cDNA Sentez Kiti
- SYBR Green Mix
- Primer Çifti
- 96 well Plate

Çizelge 3.1. Etlik civciv başlatma yemlerinin bileşimi (g/kg), besin madde içerikleri (%) ve Metabolik Enerji (kcal/kg) düzeyleri.

Yem Hammadde ve Katkı Maddeleri (g/kg)	Etlik Civciv Başlatma Yemi (0-21. Günler)				
	Kontrol	RUY50	RUY100	RUY200	RUY400
Mısır	556.00	556.00	556.00	556.00	556.00
SFK (% 46)	283.00	283.00	283.00	283.00	283.00
Tam yağlı soya (% 36)	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Kemik Unu (% 27 Ca, % 18 HP)	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Kalsit (CaCO ₃)	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
DCP	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
DL-Metiyonin	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
L-Lizin	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamin-Mineral Premiksi ¹	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
NaCl	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Kapsüle edilmiş RUY	-	0.05	0.10	0.20	0.40
Kimyasal analiz Sonuçları (%)					
Kuru madde	89.68	89.59	89.61	89.64	89.43
Ham protein	22.52	22.50	22.59	22.51	22.53
Ham yağ	7.81	7.75	7.65	7.76	7.69
Ham selüloz	3.26	3.20	3.22	3.29	3.31
Ham kül	5.60	5.80	5.65	5.90	5.45
Nişasta	36.24	36.43	36.54	36.28	36.60
Şeker	4.76	4.64	4.75	4.76	4.72
Metabolik Enerji (ME), kcal/kg	3068.88	3067.07	3070.01	3066.01	3072.53
Hesaplanmış değerler					
Lisin, %	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31
Metiyonin+sistin,	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
Ca, %	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Yararlanılabilir P,	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54

¹Vitamin premiksi: Etlik civciv veya piliç yeminin her 2.5 kg'da 12000000 IU Vitamin A; 1500000 IU Vitamin D₃; 40000 mg Vitamin E; 5000 mg Vitamin K₃; 3000 mg Vitamin B₁; 7000 mg Vitamin B₂; 5000 mg Vitamin B₆; 30 mg Vitamin B₁₂; CAL-D pantotenat 10000 mg; 75 mg Biotin; 1000 mg Folik asit; 4000 mg Niasin amid ve 400000 mg Kolin klorür, Mineral karması: her 2.5 kg mineral karmasında 80000 mg Mn sülfat; 60000 mg Fe (II) sülfat; 5000 mg Cu (II) sülfat; 60000 mg Zn sülfat; 1000 mg Ca iyodür; 150 mg Na selenit ve 1135000 mg CaCO₃ bulunmaktadır.

Çizelge 3.2. Etlik piliç bitirme yemlerinin bileşimi (g/kg), besin madde içerikleri (%) ve Metabolik Enerji (kcal/kg) düzeyleri.

Yem Hammadde ve Katkı Maddeleri (g/kg)	Etlik Piliç Bitirme Yemi (22-42. Günler)				
	RUY0	RUY50	RUY100	RUY200	RUY400
Mısır	570.00	570.00	570.00	570.00	570.00
SFK (% 46)	227.00	227.00	227.00	227.00	227.00
Tam yağlı soya (% 36)	120.00	120.00	120.00	120.00	120.00
Kemik Unu (% 27 Ca, % 18 HP)	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
Kalsit (CaCO ₃)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Ayçiçek yağı (8800 Kcal)	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
DL-Metiyonin	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
L-Lizin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin-Mineral Premiksi ¹	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
NaCl	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
Kapsüle edilmiş RUY	-	0.05	0.10	0.20	0.40
Kimyasal analiz Sonuçları (%)					
Kuru madde	90.05	89.72	89.76	90.10	89.90
Ham protein	20.64	20.58	20.62	20.63	20.60
Ham yağ	10.10	10.20	10.14	10.22	10.20
Ham selüloz	3.80	3.72	3.75	3.72	3.81
Ham kül	5.71	5.80	5.80	5.64	5.90
Nişasta	38.04	38.06	38.14	38.10	37.90
Şeker	4.20	3.98	4.10	3.95	4.18
Metabolik Enerji (ME), kcal/kg	3241.36	3241.30	3244.78	3245.45	3241.88
Hesaplanmış değerler					
Lisin, %	1.19	1.	1.19	1.19	1.19
Metiyonin+sistin,	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82
Ca, %	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07
Yararlanılabilir P,	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53

¹Vitamin premiksi: Etlik civciv veya piliç yeminin her 2.5 kg'da 12000000 IU Vitamin A; 1500000 IU Vitamin D₃; 40000 mg Vitamin E; 5000 mg Vitamin K₃; 3000 mg Vitamin B₁; 7000 mg Vitamin B₂; 5000 mg Vitamin B₆; 30 mg Vitamin B₁₂; CAL-D pantotenat 10000 mg; 75 mg Biotin; 1000 mg Folik asit; 4000 mg Niasin amid ve 400000 mg Kolin klorür, Mineral karması: her 2.5 kg mineral karmasında 80000 mg Mn sülfat; 60000 mg Fe (II) sülfat; 5000 mg Cu (II) sülfat; 60000 mg Zn sülfat; 1000 mg Ca iyodür; 150 mg Na selenit ve 1135000 mg CaCO₃ bulunmaktadır.

3.2 Yöntem

Bu bölümde deneme dizaynının kurulması, deneme hayvanlarının beslenmesi, denemenin yürütülmesi, deneme süresi, kümes içi koşullar, RUY'un uçucu bileşen, fenolik içerik ve yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi, RUY'un antimikrobiyal aktivite tayini, deneme yem hammaddelerinin kimyasal analizi, deneme grubu karma yemlerinin kimyasal kompozisyonlarının tayini ve enerji içeriklerinin hesaplanması, performans parametreleri, karkas karakteristiği ve organ ağırlıklarının ölçülmesi, alınan bağırsak içeriği örneklerinde bazı mikroorganizmaların kantitatif tayini, bağırsak doku örneklerinde histomorfolojik ölçümler, bağırsak dokusunun tüm transkriptom profilinin çıkarılması, mikroarray analizlerinin validasyonu için seçilen 5 genin mRNA ekspresyon seviyelerinin Real-time PCR (Polymerase Chain Reaction, Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile kontrolü ve verilerin istatistiksel analizlerine ait tüm yöntemler detaylı olarak verilmiştir.

3.2.1 Deneme planının kurulması ve yürütülmesi

Araştırma Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü tesislerinde bulunan, çevre denetimli kapalı etlik piliç deneme kümesinde yürütülmüştür. Deneme başlangıcında 400 adet erkek etlik civciv önce 50'şerli gruplar halinde tartılıp ortalama civciv ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra bu değer her tekerrürdeki ortalama civciv ağırlığı için referans olarak tanınmış ve böylece muamele gruplarının başlangıç civciv ağırlıklarının eşit olması hedeflenmiştir. Bunun için her bir civciv bireysel olarak ± 0.01 g'a duyarlı terazide tartılmış ve civcivler 16 tekerrürlü (her tekerrürde 5 etlik civciv) 5 muamele grubuna (80 etlik civciv/grup) tesadüfi olarak dağıtılmıştır. Denemede oluşturulan muamele grupları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Denemede altlık olarak her bir bölme için 5-8 cm kalınlığında odun talaşı serilmiştir. Her bir bölme/tekerürdeki ($0.4 \text{ m} \times 1 \text{ m} = 0.4 \text{ m}^2$) hayvanlara günlük tüketebilecekleri miktarda yem sürekli önlerinde olacak şekilde, grup yemlemesi yapılmış ve yem *ad libitum* olarak sunulmuştur. Denemenin ilk haftası civciv yemliği ve sonraki haftalarda ise askılı dikdörtgen yemlik (10 cm en x 40 cm boy x

10 cm yükseklik) kullanılmıştır. Su, her bölmede iki adet damlatıcı başlığı bulunan nipel suluk sistemiyle *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Denemenin yürütüldüğü kümese ait görüntüler Şekil 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Denemede oluşturulan muamele grupları ve özellikleri.

Grup	Özellikleri
1	İlavesiz, standart karma yemlerle beslenen kontrol grubu, (Kontrol)
2	Karma yemlere 50 mg/kg kapsüle edilmiş RUY ilaveli grup, (RUY50)
3	Karma yemlere 100 mg/kg kapsüle edilmiş RUY ilaveli grup, (RUY100)
4	Karma yemlere 200 mg/kg kapsüle edilmiş RUY ilaveli grup, (RUY200)
5	Karma yemlere 400 mg/kg kapsüle edilmiş RUY ilaveli grup, (RUY400)

Etlik piliçlerin bakım ve idare koşulları üretici firmanın tavsiyeleri ve standart etlik piliç yetiştirme usülleri doğrultusunda yapılmıştır (Anonymus, 2018). Bu amaçla; deneme süresince 23 saat aydınlık 1 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma programı uygulanmıştır. Aydınlatma, gece ampullerle sağlanmıştır.



Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü kümese ait görüntüler (Orijinal).

Kümesin ısıtılması elektrikli ısıtıcılar aracılığıyla, havalandırılması ise 1 adet fan (40 cm çapında) ve 5 adet pencereyle (20 cm en x 40 cm boy) sağlanmıştır. Kümes içi sıcaklık ilk 5 gün 32-34 °C olacak şekilde ayarlanmış daha sonraki günlerinde ise sıcaklık kademeli olarak azaltılarak en düşük 22-24 °C olacak şekilde sabit tutulmuştur. Ayrıca kümes içi % 55-60 bağıl nem koşulları sağlanmıştır.

Kümes içi sıcaklık ve nem değerleri, dijital sıcaklık ve nem ölçer (VZN, Türkiye) ile deneme süresince günlük olarak izlenmiştir. Çalışma tesadüf parselleri deneme planına göre 42 gün sürdürülmüştür.

3.2.2 Deneme yemlerinin kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi ve ME düzeylerinin hesaplanması

Denemede kullanılan yemlerin besin madde içeriklerinin belirlenmesi Weende analiz yöntemi'ne (AOAC, 2000) göre yapılmıştır. Bu yöntem, yemlerin yapısındaki ham besin maddeleri'nin (HBM) ortak özellikte olanlarını veya aynı çözümlerde eriyenlerini tek bir grupta toplanması esasına dayanmaktadır (Menke ve Huss, 1975; Bulgurlu ve Ergül, 1978). Yem örneklerinin kuru madde (KM) miktarı, belli miktarda alınan örneğin 105 °C de bir gece kurutulması ile, ham kül (HK) miktarı ise 550 °C de bir gece yakılması ile tayin edilmiştir. Ham protein (HP) Kjeldahl yöntemi esas alınarak, belli miktardaki yem örneğinin önce kuvvetli asitle yakılarak azotun amonyum sülfata, ardından baz ile muamele edilerek amonyak formuna dönüştürülmesi ve bu amonyağın belli normalitedeki bir asitle titrasyonu sonucu elde edilen sarfiyattan yararlanılarak bulunmuştur. Ayrıca deneme karma yemlerinin HP tayini, otomatik Azot/Protein analizatör (Leco FP-528, ABD) cihazında tekrarlanmış ve bu cihazla karmayı oluşturan yem hammaddelerinin HP analizi yapılmıştır. Bu cihazda HP tayini, yüksek sıcaklıkta (850–950 °C) ve saf oksijenle (% 99.9) yakılan belli bir miktardaki örnekten açığa çıkan ve helyum gazı ile tutulan azotun, ısıl öz iletkenlik (termal kondüktivite) yardımıyla ölçülmesine dayanmaktadır. Daha sonra ölçülen azot miktarının uygun protein faktörü ile çarpılması sonucunda % HP değeri cihaz üzerinde otomatik olarak saptanabilmektedir.

Ham yağ (HY), belli miktardaki yem örneğinin, eter/hekzan ile belirli bir süre ekstraksiyona tabi tutulmasıyla bulunmuştur. Ham selüloz (HS), yemin önce belli konsantrasyonlardaki asit ile daha sonra ise alkali ile kaynatılıp, en son asetonla yıkanarak kurutulması ve yakılması sonucunda saptanmıştır. Nişasta tayini, TS ISO 6493 standardına göre iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir (TSE, 2004). Bu yöntemin ilk aşamasında yem örneği, sulandırılmış tuz asidi ile kaynama sıcaklığında muamele edildikten sonra berraklaştırılarak süzölmüş ve polarimetre

cihazında (Krüss, Almanya) süzüğün, polarimetrik optik sapması ölçülmüştür. İkinci aşamasında ise aynı yem örneğinin % 40'lık etanol ile ekstraktının, tuz asidi ile muamelesinden sonra oluşan süzük berraklaştırılarak tekrar süzölmüş ve ardından optik sapması ölçülmüştür. İki ölçüm arasındaki fark belirli bir katsayı ile çarpılarak yem örneklerinin nişasta miktarı hesaplanmıştır.

Karma yemlerdeki şeker miktarının belirlenmesinde TS 12232 standardında bildirilen Luff-Schoorl yönteminden yararlanılmıştır (TSE, 1997). Bu yöntemde yem örnekleri önce Carrez I ve II çözeltileriyle muamale edilerek, uygun bir şeker içeriğine kadar seyreltilmiştir. Daha sonra invertlenmiş olan çözeltinin süzüğünden bir miktar alınıp Luff çözeltisi ile kaynatılarak, indirgen şekerlerin okside olması sağlanmıştır. Son olarak kullanılmamış olan oksidasyon maddesinin miktarı, tiyo-sülfat çözeltisi ile geri titre edilerek karma yemlerdeki şeker miktarı hesaplanmıştır. Ayrıca kanatlı hayvan karma yemlerinin ME içeriklerinin hesaplanmasında Hartel et al. (1977) tarafından bildirilen ve Resmi gazetede yayımlanan (Tebliğ no: 2004/33) aşağıdaki regresyon eşitliğinden yararlanılmıştır.

$$\text{ME, Kcal/kg} = \left\{ [(0.1551 \times \text{HP, \%}) + (0.3431 \times \text{HY, \%}) + (0.1669 \times \text{Nişasta, \%}) + (0.1301 \times \text{Toplam Şeker, \%})] / 4.184 \right\} \times 1000$$

3.2.3 RUY'un uçucu bileşenleri, fenolik bileşikleri ve yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesi

RUY'un uçucu bileşen analizi için Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS), fenolik bileşiklerinin tayini için Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (LC/Q-TOF/MS) ve yağ asidi metil esterlerinin (Fatty Acid Methyl Esters, FAME) analizi için de Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşmalı Dedektör (GC/FID) cihazı kullanılmıştır. İlgili tüm analizler aşağıdaki yöntemlere göre, Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (EGE-MATAL) gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1 RUY'un uçucu bileşenlerinin tayini

RUY'un uçucu bileşenlerinin tanımlanması için GC/MS (Agilent 5977A, ABD) ile aynı şirkete ait bir kütle dedektörü (Triple-Axis) kullanılmıştır. RUY'dan 1 ml alınarak üzerine 1 ml metanol ilave edilmiş ve RUY'un organik çözücünde çözünmesi sağlanmıştır. Analiz, DB-Wax kapiler kolon (30 m x 0.25 mm i.d.; film kalınlığı 0.25 µm) üzerinde gerçekleştirilmiştir. GC fırın sıcaklığı, başlangıçta 40 °C de 5 dk tutulmuş ardından dakikada 10 °C artacak bir oranda 250 °C'ye yükseltme ve 250 °C'de 5 dk izoterm olacak şekilde ayarlanmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 °C'de tutulmuştur. Kromatogramdaki piklerin her biri, bir bileşiğin GC kolonundan dedektöre ayrıştırıldığında oluşan sinyali temsil etmiştir. X-ekseni alıkonma süresini (Retention time, RT), y-ekseni ise enjekte edilen örnekteki bileşenin ölçülmesi için sinyal yoğunluğunu (Abundance) ifade etmektedir. RUY'un uçucu bileşen analizlerine ait kromatogram Ek-1'de verilmiştir. Her bir bileşiğin tanımlanması, bileşenlerin alıkonma sürelerinin, aynı çalışma koşullarında gerçek numune değerleriyle karşılaştırılması ve bilgisayar taraması yoluyla, kütle spektral verilerinin Wiley kütüphanesinde tutulanlar ile eşleştirilmesiyle yapılmıştır (Aprotosoie et al., 2008; Acimovic et al., 2015; Ghasemian et al., 2020).

3.2.3.2 RUY'un fenolik bileşiklerinin tayini

RUY'un fenolik bileşiklerinin karakterizasyonu Quirantes-Piné et al. (2013) ve Ma et al. (2019) tarafından bildirilen metotların modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Polifenolik bileşiklerin tanımlanması için, QTOF LC/MS (Agilent 6550, ABD) ile donatılmış Agilent 1260 Binary LC cihazı kullanılmıştır. Her bir bileşiğin ayrılması, 250 mm x 4.6 mm'lik bir iç çapa ve 4 µm'lik partikül boyutuna sahip Synergi Hydro-RP 80A LC ters fazlı kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Phenomenex, Lane Cove, NSW, Avustralya). Kolon, 4.0 × 2.0 mm iç çapa sahip Phenomenex C18 ODS muhafaza kolonu ile korunmuştur. Hareketli faz A, asetik asit/su çözeltisi (2:98 v/v) ve hareketli faz B, asetonitril/su/asetik asit (100:1:99, v/v/v). Toplamda 6 µL RUY enjekte edilmiş ve ayırma, 85 dakikalık bir çalışma için 0.8 mL/dk akış hızına sahip bir gradyan programını izlemiştir. Burada mobil faz B oranı 20 dk'da % 10'dan % 25'e; 10 dk'da

% 25'ten % 35'e; 10 dk'da % 35'ten % 40'a; 30 dk'da % 40'tan % 55'e; 5 dk'da % 55'ten % 80'e; ve 2 dk'da % 80'den % 100'e değişmiştir ve ardından 2 dk muhafaza edilmiştir. Mobil faz B'nin oranı, tüm ayırma işleminden sonra 3 dakikada % 100'den % 10'a ayarlanmış ve 3 dk izokratik tutulmuştur.

Örnekler ve kolon sırasıyla 10 °C ve oda sıcaklığında tutulmuştur. Nitrojen gazı durumunun basıncı, 5 L/dk'lık bir akış hızıyla 300 °C'de 45 psi'ye ayarlanırken, şet (kılıf, sheath) gazı parametresi, 250 °C'de 11 L/dk'lık bir akış hızıyla ayarlanmıştır. Kapiler ve nozul voltajı sırasıyla 3.5 kV ve 500 V olarak ayarlanmıştır. Tam kütle taraması m/z 20-100000 aralığındadır. Her bir bileşik kolondan ayrıştırılırken, elektron iyonizasyon (kütle spektroskopisi, MS) dedektörüne girer ve burada parçacıklara ayrılmalarına neden olan bir elektron akışı bombardımanına tabi tutulurlar. Elde edilen parçacıklar aslında belirli bir kütle ile yüklü iyonlardır (Imad et al., 2015). Saptanan kütle/yük (m/z) oranı oluşturulan grafikten kalibre edilmiştir ki bu grafik bir molekülün parmak izi olan kütle spektrum grafiği olarak adlandırılmaktadır. Pozitif (A) ve negatif (B) iyonizasyon modlarındaki RUY'dan elde edilen MS toplam iyon kromatogramları Ek-2'de verilmiştir. Sürecin kontrolü, veri toplama ve fenolik bileşiklerin tanımlanması işlemleri Mass Hunter workstation yazılımı (Nitel Analiz, sürüm B.03.01, Agilent) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.3 RUY'un yağ asidi kompozisyonlarının tayini

RUY'un FAME kompozisyonu, Synowiec et al. (2017) ve Diao et al. (2014) tarafından bildirilen metodların modifiye edilmesiyle analiz edilmiştir. Bu amaçla alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve DB-5 kapiler kolon (30 m x 0.25 mm i.d; film kalınlığı, 0.25 0.25 µm) ile donatılmış, Agilent 7890 GC/FID cihazı kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı başlangıçta 90 °C'de 5 dk tutulduktan sonra, 10 °C/dk'lık hızla 240 °C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 20 dk izotermal olarak tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak 60 ml/dk akış hızındaki helyum gazı kullanılmıştır. Ayrılma oranı ise 50:1 ve enjeksiyon miktarı 1 µl'dir. FAME'lerin tanımlanması, yağ asitlerinin alıkonma süreleri (RT) temelinde Wiley kütüphanesindeki referans spektrumlar ile karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. FAME analizine ait kromatogram Ek-3'de verilmiştir.

3.2.4 RUY'un antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

RUY'un antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi Ege Üniversitesi Mikrobiyolojik Analiz Laboratuvar'ında (EGE-MİKAL) gerçekleştirilmiş olup, 80 °C'de stoklanan standart suşlardan sırası ile *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Esheria coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) gibi beş bakteri ve *Candida albicans* (ATCC 10231) gibi bir fungus türü kullanılmıştır. RUY'un antimikrobiyal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemine göre saptanmıştır. Bunun için RUY'un Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK), Minimum Bakterisidal ve Fungisidal Konsantrasyonları (MBK ve MFK) modifiye edilen CLSI-M07-A9 yöntemine göre belirlenmiştir. Yönteme ait bilgiler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

3.2.4.1 Mikrodilüsyon yöntemi

Mikrodilüsyon yönteminin esası, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan RUY'un belirli konsantrasyondaki mikroorganizmaya karşı gösterdiği bakteristatik veya bakterisidal etkilerin ölçülmesidir. Üremenin engellendiği en düşük konsantrasyondaki antimikrobiyal madde ile MİK değeri saptanmaktadır. Üremenin inhibe edildiği etkin konsantrasyondan belirli bir miktar, agara inoküle edildikten sonra üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon ise MBK ve MFK değerleri olarak tanımlanmaktadır (Burt, 2004). Bu amaçla, 96 kuyucuklu mikropakanın her bir kuyucuğuna, bakteriler için Mueller Hinton Broth, funguslar için Sabouraud Dextrose Broth besiyerlerinden 80 µl aktarılmıştır. Daha sonra bu kuyucuklara 1:1 oranında % 6'lık Dimetil Sülfoksit (DMSO) ile süspansiyon haline getirilmiş 5000 ile 19.5 ppm konsantrasyon aralığındaki RUY'dan 80 µl aktarılmıştır. Üzerlerine son konsantrasyon 10^6 düzeyinde olacak şekilde mikroorganizma süspansiyonlarından 20 µl inoküle edilmiş ve steril bir öze yardımıyla karıştırılmıştır.

Her bir mikroorganizma için 2 paralel çalışılmış ve her biri için bir pozitif ve bir de negatif kontrol grupları oluşturulmuştur. Negatif kontrol amacıyla kuyucuklara besiyeri ve kültür ilavesi yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak besiyeri ve

kültür karışımına bakteriler için Gentamisin (10 µg/ml), maya içinse Cycloheximide (10 µg/ml) ilave edilmiştir. Bu şekilde ekim yapılan plakalar kapakları kapatıldıktan sonra bakteriler 37 °C’de 24 saat, maya ise 30 °C’de 48 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonunda üremenin belirlenmesi amacıyla her bir kuyucuğa % 0.5’lik 2,3,5-trifeniltetrazolyum klorid eklenmiştir. İnkübasyon süresi (30 dk) sonrasında renk değişimi olan kuyucuklar pozitif olarak değerlendirilmiş, renk değişimi olmayan en düşük konsantrasyon ise MİK değeri olarak belirlenmiştir.

MİK analizi sonrasında üremenin inhibe edildiği, diğer bir deyişle bulanıklık/renklenme gözlenmeyen kuyucuklardan Mueller Hinton veya Sabouraud Dextrose agarlarına 10’ar µl ekim yapılmıştır. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrası petrilerdeki üreme durumu değerlendirilerek RUY’un MBK ve MFK değerleri tespit edilmiştir.

3.2.5 Performans parametrelerinin ölçülmesi

In vivo denemenin başlangıcı ve denemenin 7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde haftada bir olmak üzere, aynı gün ve saatte hayvanlar, bireysel olarak ilk 2 hafta ± 0.01 g hassasiyetindeki teraziyle, daha sonraki haftalarda ise ± 1 g’a duyarlı teraziyle tartılarak canlı ağırlıklar (CA) saptanmıştır. Haftalık ve dönemsel (0-21., 22-42. ve 0-42. günler arası) canlı ağırlık kazancı’nın (CAK) hesaplanmasında, iki tartım günü arasındaki farktan yararlanılmış ve ortalama CAK değerleri tekerrür bazında hesaplanmıştır.

Yem tüketimi’nin (YT) belirlenmesi için yine haftalık tartım günlerinde yemliklerde kalan yem miktarı, o hafta içerisinde her tekerrüre verilen toplam yem miktarından çıkartılarak her alt grubun bir hafta içerisinde tükettiği yem miktarı bulunmuştur. Yemden yararlanma oranı (YYO) ise her alt gruba ait 0-7, 7-14, 14-21, 21-28, 28-35 ve 35-42. günler ile 0-21., 22-42. ve 0-42. dönemleri arasında saptanan yem tüketimi değerlerinin yine bu dönemler arasında kazanılan canlı ağırlıklara bölünmesi ile belirlenmiştir. Haftalık ve dönemsel yem tüketimi ile yemden yararlanma oranı hesaplanırken, ölen hayvanların bölmede kaldıkları süre ile tükettikleri yem miktarları dikkate alınmıştır. İlgili hesaplamalarda gerekli

düzeltilmeler yapılmıştır. Çalışmada ölüm oranı, *in vivo* deneme süresince ölen hayvan sayısının başlangıçtaki hayvan sayısına oranlanmasıyla, grup bazında belirlenmiştir. Araştırmanın sonunda her alt gruba ait Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (European Production Efficiency Factor, EPEF) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Majdeddin et al., 2019)

[Yaşama gücü, % (0-42. günler) x canlı ağırlık, kg (42. gün) x 100] / [yaş (gün) x Yemden yararlanma oranı (0-42. günler)].

3.2.6 Karkas özellikleri ve organ ağırlıklarının belirlenmesi

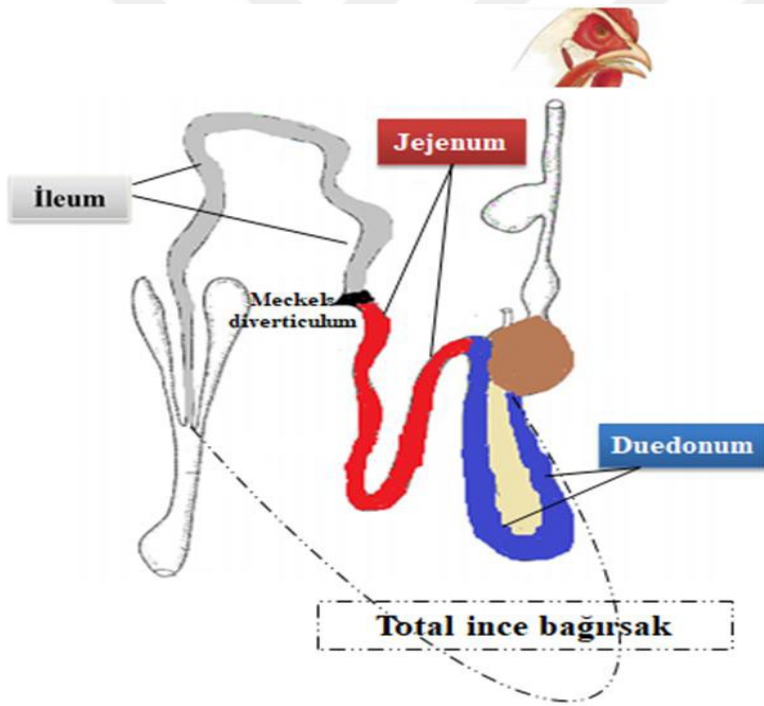
Denemenin sonunda her muamele grubundan rastgele 10 hayvan seçilerek, hayvanlara ayak numarası takılmıştır. Ardından ± 0.1 g hassasiyetli terazide bireysel olarak tartılan hayvanların kesim öncesi canlı ağırlıkları kaydedilmiştir. Daha sonra ise hayvanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek, tüyleri yolunmuş, baş ve ayakları ayrılmıştır. İç organlar çıkarılarak sıcak karkas ağırlıkları alınmıştır. Karkaslar sırasıyla *Art. Sternocostalisten* ve *Art. coxea*'larından ayrılarak göğüs ile but etleri çıkartılmıştır. Elde edilen karkas parçaları derili olarak tartılmıştır. Kloaka ve taşlık çevresini, bağırsak etrafını ve alt kısmını saran yağ dokuyu kapsayan abdominal yağ da çıkarılarak tartılmıştır. Ayrıca karkas özelliklerine ait bu veriler hayvanların kesim öncesi canlı ağırlıklarına oranlanmasıyla, relatif organ ağırlıkları hesaplanmıştır. Sıcak karkas randımanı ise sıcak karkas ağırlığının, kesim öncesi canlı ağırlığa oranlanmasıyla bulunmuştur.

İç organ gelişiminin gözlenebilmesi için karaciğer, kalp, dalak, pankreas, bursa fabricius, bezel mide, taşlık, total ince ve kalın bağırsak ile segmetlerine ait ağırlıklar ± 0.01 g hassasiyetindeki terazi ile tartılmıştır. Ayrıca elde edilen organ ağırlıklarının kesim öncesi canlı ağırlıklara oranlanmasıyla relatif organ ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.2.7 İnce bağırsak morfolojisinin belirlenmesi

Denemenin sonunda uygun yöntemlerle kesilen her gruptan 10, toplamda 50 hayvanın ince bağırsak dokuları karkastan hızlıca ayrılmıştır. Alınan ince bağırsak

örneklerinin segmentlere (duodenum, jejunum ve ileum) ayrılmasında Şekil 3.4 referans olarak kullanılmıştır (Larbier and Leclercq, 1994; Kutlu, 2015). Her bir hayvandan alınacak 1 cm boyutundaki doku kesitlerinde, tek bir örnekliliğin sağlanması için bağırsak segmentlerinin belli kısımlarından örnekleme yapılmıştır. Bu amaçla duodenum kesitleri ince bağırsağın başlangıç noktasının 8-10 cm distalinden, jejunum kesitleri Meckel divertikulumun 8-10 cm proksimalinden ve ileum kesitleri ise ileosekal bağlantının 8-10 cm proksimalinden alınmıştır. Her bir bağırsak segmenti için alınan kesitlerin bağırsak içeriği dikkatli şekilde boşaltılmış ve % 10'luk tamponlu formaldehit çözeltisi ile yıkanmıştır. Kesit hacminin en az 10 katı oranında tespit solüsyonu (% 10'luk formalin) içeren tüplere alınan örnekler, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM) Laboratuvarına getirilmiştir.



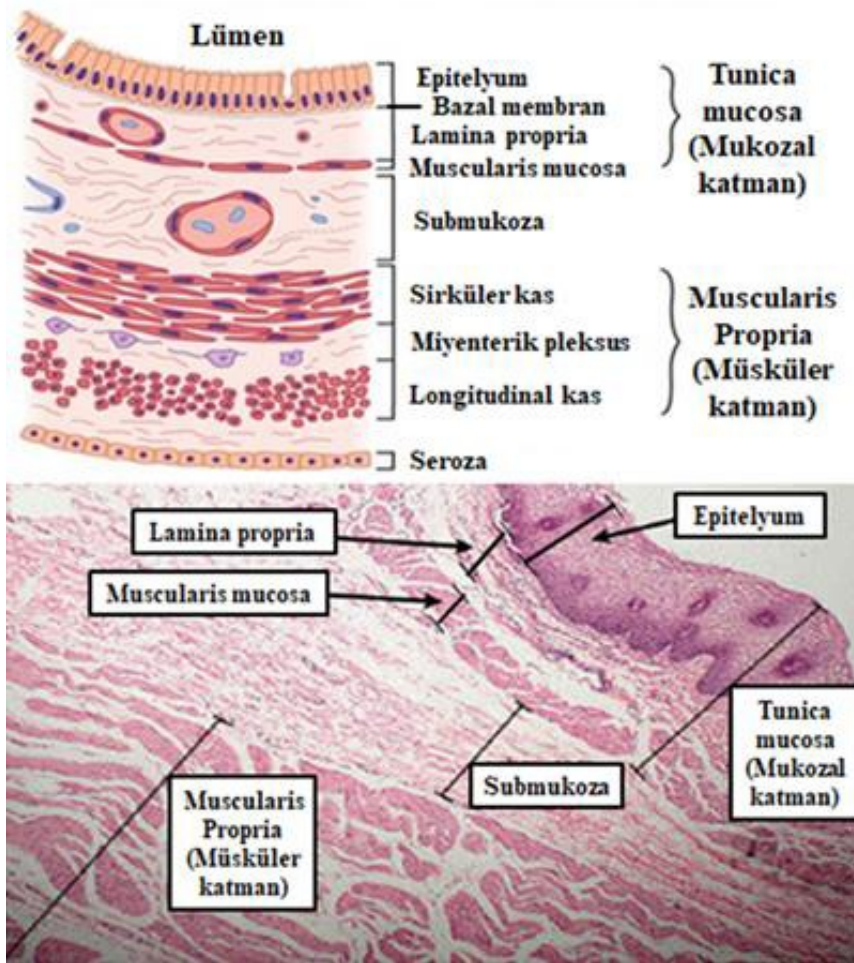
Şekil 3.4. Kanatlı hayvanlarda ince bağırsak bölümleri (Larbier and Leclercq, 1994; Kutlu, 2015'dan uyarlanmıştır).

Histomorfolojik analizlerin yürütülmesinde izlenen işlem basamakları aşağıdaki gibidir.

1. Tespit (Fiksasyon) ve yıkama: Alınan kesitlerin yaşamın durduğu andaki yapısal ve kimyasal durumunun sabitlenmesi (canlılığın korunması) için % 10'luk formalin fiksatif ile min. 24 saat süre ile tespit edilmiştir. Tespit sonrası fiksatifin dokudan uzaklaştırılması için kesitler, 1 gece boyunca akarsu altında su ile yıkanmıştır.
2. Suyu giderme (Dehidratasyon): Yıkama sonrası dokular, fazla miktarda su içermektedir. Dolayısıyla erimiş parafinin doku kesitleri boşluklarına girebilmesi için bu suyun dokulardan uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla kesitler, düşük dereceden başlayarak artan konsantrasyonlardaki [% 35 (20dk) > 50 (20dk) > 70 (20dk) > 90 (20dk) > 96 (20dk) > 100 (10dk) > 100 (10dk)] etil alkole daldırılarak dehidratasyon işlemi yapılmıştır.
3. Saydamlaştırma/Şeffaflaştırma: Dehidratasyon sonrası alkolün dokulardan uzaklaştırılması amacıyla kesitler, ksilen içerisine (~1-2 dk) kontrollü daldırılmıştır. Böylece ksilen, yağların erimesini ve aynı zamanda ışık geçirgenliğinin artmasını sağlayarak dokuları saydamlaştırmıştır. Bu işlem kesitleri alkol ve sudan yoksun hale getirerek, parafinin nüfus etmesine elverişli bir ortam hazırlamıştır.
4. Parafinizasyon/Parafin infiltrasyonu: Şeffaflaştırıcı ajanın (ksilen) uzaklaştırılması amacıyla kesitler, 58-60 °C sıcaklıktaki parafin banyoları içerisine 1'er saat arayla 3 kez aktarılmış ve son parafin kabında 1 gece bekletilmiştir. Böylece dokulardaki ksilen yerine parafin geçerek, dokular kesilebilecek sertliğe ve saydamlığa ulaşmıştır.
5. Gömme/Bloklama: Parafinizasyon işleminden sonra sertleşen dokuların kesilecek yüzleri alt tarafa gelecek şekilde metal kalıplar içerisindeki parafine gömülerek bloklar hazırlanmıştır.
6. Parafin bloklarından kesit alma: Donmuş parafin bloklar trimlendikten sonra rotary mikrotom cihazı (Leica, ABD) kullanılarak 4-5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.
7. Boyama: Lam üzerine alınan kesitlerin boyanabilmesi için parafinin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla öncelikle kesitler 2 saat ksilende tutulmuş ve ardından absolu alkolden başlayarak alkol serilerinden geçirilmiştir. Mikroskopik incelemesinin yapılabilmesi için

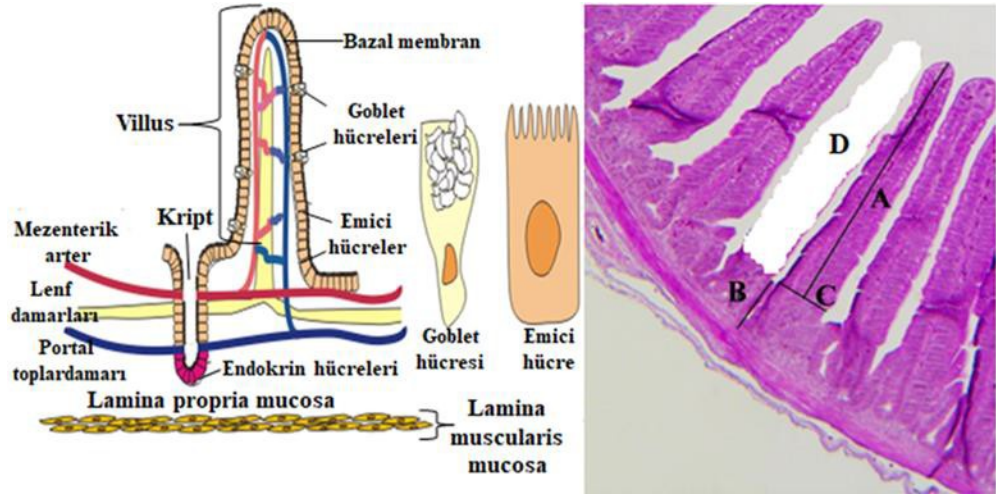
ksilen ile parafinden kurtarılan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır (Gurr, 1972; Sakamoto et al., 2000).

Boyanan kesitler, ışık mikroskobu (ZEISS Axio Görüntüleyici A2, ABD) altında incelenmiş ve kesitlerin fotoğrafları, ışık mikroskobuna entegre kamera (ZEISS Axicom 208 color) ile çekilerek ölçümler yapılmıştır. Daha sonra görüntü işleme ve analiz programı kullanılarak (ZEN 3.0 lite fotoğrafı yazılımı, Zeiss Mikroskopi, ABD) Şekil 3.5'te görüldüğü gibi mukus (*Tunica mucosa* ve *muscularis mucosa*) kalınlığı ölçülmüştür.



Şekil 3.5. İnce bağırsak segmetlerinde mukoza kalınlığının ölçümü (Barrett et al. (2013)'ten uyarlanmıştır).

Villus yüksekliği (VY, villus tepe noktasından kript ağzına kadar), kript derinliği (KD, kriptin bazalinden kript ağzına kadar) ve villus genişliği (VG, villus bazalinden) ise Şekil 3.6'teki gibi ölçülmüştür (Murugesan et al., 2015).



Şekil 3.6. İnce bağırsak segmetlerine ait histomorfolojik ölçümler; A) Villus yüksekliği, B) Kript derinliği, C) Villus genişliği, D) Villus alanı, 100 μm (Boumphrey (2009)'dan uyarlanmıştır).

Muamele grubu başına her bir parametre için 20 adet ölçüm değeri dikkate alınmıştır. Ölçüm işlemleri sonucu elde edilen değerlerden yararlanılarak, villüs yüksekliği/kript derinliği oranı (VY:KD) ile Sakamoto et al. (2000) tarafından bildirilen $[(2\pi \times VY \times (VG \div 2))]$ geometrik model kullanılarak villus alanı (mm^2) hesaplanmıştır.

3.2.8 İnce bağırsak mikroflorasının belirlenmesi

Mikrobiyolojik analizler için deneme sonunda uygun şartlarda kesilen toplam 50 hayvanın jejunum ve ileum ince bağırsak içerikleri hızla çıkarılarak $+4\text{ }^\circ\text{C}$ koşullarının sağlandığı buz çantasında laboratuvara getirilmiştir. *E. coli* O-157:H7, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* spp. mikroorganizmalarının Real-time PCR ile deteksiyonu için aşağıdaki işlem basamakları uygulanmıştır.

3.2.8.1 Bağırsak içeriklerinden DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için Qiagen, QIAamp DNA Stool Mini Kiti kullanılmıştır. Bunun için her bir örneğe ait hem jejunum hem de ileum bağırsak içeriklerinden 200 mg alınarak 2 ml'lik ependorf tüplere konulur. Üzerlerine 1.4 ml ASL lizis buffer eklenerek homojenizasyon için 1 dk vortex yapılır. Ardından lizis

aşaması için örnekler 5 dk 70-95 °C sıcaklık aralığında bekletilir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra ise, örnekler 14.000 rpm'de santrifüj edilir ve 1.2 ml süpernatant yeni bir ependorf tüpe aktarılır. Üzerlerine 1 adet InhibitEX Tablet eklenerek örnekler oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrasında 3 dk 14.000 rpm'de santrifüj edilen örneklerdeki tüm süpernatant yeni bir ependorf tüpe aktarılır ve tekrardan 3 dk 14.000 rpm'de santrifüj edilir. Yeni ependorf tüplere 15 µl proteinaz K konulduktan sonra üzerlerine santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlardan 200 µl eklenir. Hazırlanan bu karışım üzerine 200 µl AL buffer eklendikten sonra 70 °C' de örnekler 10 dk inkübasyona bırakılır. İnkübasyonun ardından tüplere 200 µl % 100 etanol eklenerek vortex yapılır.

Her bir karışım, 2 ml collection tüp içerisine yerleştirilen QIAamp spin kolonlara aktarılır ve 1 dk 14.000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında collection tüpe toplanan karışım atılarak kolonlar tekrardan collection tüplere yerleştirilir. Kolonlara 500 µl AW1 buffer eklenir ve 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında kolonlar yeni collection tüplere yerleştirilerek üzerlerine 500 µl AW2 buffer eklenir ve 14.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında kolonlar yeni collection tüplere yerleştirilir ve 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında kolonlar yeni 1.5 ml ependorf tüplere yerleştirilir ve üzerine 200 µl AE buffer eklenerek 1 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır. İnkübasyonun ardından 14.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir ve santrifüj sonrasında DNA'lar 1.5 ml ependorf tüplere toplanır. İzolasyon sonrası ise elde edilen DNA'ların konsantrasyonları ve saflıkları Nanodrop (Thermo-2000C) cihazı ile ölçülerek belirlenmiştir. A260/A280 absorbans oranları kontrol edildikten sonra DNA'lar bir sonraki basamak için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.8.2 Mikroorganizmalara ait ileri ve geri primerlerin dizaynı

Mikroorganizmalara ait ileri (Forward, F) ve geri (Reverse, R) primerler NCBI (National Center for Biotechnology Information) ve ENSEMBL gen bankaları kullanılarak dizayn edilmiştir. Elde edilen primerlerin spesifikliği, BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programı ile kontrol edilmiştir. Mikroorganizmalara ait ileri ve geri primerler Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Mikroorganizmalara ait ileri ve geri primerler

Organizma	Erişim No	Primer Adı	Primer Dizisi (5'-3')	Primer pozisyonu	Ürün uzunluğu (bp)	Referans
<i>Clostridium perfringens</i>	JQ071556.1	F	ATGATTGGGATTATGCAGCAA	644-664	212	Fu et al., 2006
		R	TCCATCCTTTGTTTTGATTCCA	855-834		
<i>E.coli O-157:H7</i>	CP038425.1	F	GTCACAGTAACAAACCGTAACA	1543710-1543689	95	Jothikumar and Griffiths., 2002
		R	TCGTTGACTACTTCTTATCTGGA	1543616-1543638		
<i>Salmonella</i> spp.	CP051218.1	F	CTCACCAGGAGATTACAACAT	2718115-2718135	95	Bozkurt, 2018
		R	AGCTCAGACCAAAAGTGACCA	2718209-2718189		
<i>Staphylococcus aureus</i>	CP050690.1	F	AATTAACGAAATGGGCAGAAACA	1663950-1663972	94	Chowdhury et al., 2019
		R	TGCGCAACACCCTGAACTT	1664043-1664025		
<i>Lactobacillus</i> spp.	MG827407.2	F	GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC	363-384	126	Murri et al., 2013
		R	GGCCAGTTACTACCTCTATCCTTCTTC	488-462		

3.2.8.3 Real-Time PCR analizi

DNA'lar, Roche LightCycler 480 II cihazında yukarıda belirtilen mikroorganizmalar için dizayn edilen primerler ile LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanılarak çalışılmıştır. Tek örnek için reaksiyon karışımı Çizelge 3.5'te bildirilen şekilde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.

Bileşenler	Hacim
Su, PCR-grade	1.9 µl
İleri Primer(F) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Geri Primer(R) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Enzim Karışımı (LightCycler® 480 SYBR Green I Master)	5 µl
	+
DNA	2.5 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	10 µl

Her bir reaksiyon için 96'lık plate kuyucuklarına son reaksiyon hacmi 10 µl olacak şekilde 7.5 µl total reaksiyon karışımından ve 2.5 µl DNA örneğinden transfer edilmiştir. Daha sonra hazırlanan platelerin üzeri kapatılarak Çizelge 3.6'da belirtilen cihaz protokolü uygulanmıştır.

Çizelge 3.6. Real-Time PCR protokolü.

Program Adı	Pre-inkübasyon	Amplifikasyon				Melting Curve			Soğutma
Analiz Modu	Yok	Kuantifikasyon Modu				Erime Eğrisi Modu			Yok
Döngü Sayısı	1	45				1			1
Hedef Sıcaklık [°C]	95	95	55	72	95	60	97	40	
Süre	5 dk	10 sn	15sn	10 sn	5 sn	1 dk	-	30 sn	
Sıcaklık Artış Hızı [°C/s]	4.8	4.8	2.5	4.8	4.8	2.5	0.11	2.5	
Okuma Modu	-	-	-	tek	-	-	devam	-	

3.2.8.4 Veri analizi

LightCycler® 480 II yazılımında, mikroorganizma var-yok tespiti ve kantifikasyon için; Amplification Curves kullanılarak Ct değerleri ile standart eğri yardımıyla (plasmid kopya sayısı bilinen örnekler ile oluşturulmuş olan) pozitif örnekler saptanmıştır. Sonuçların doğruluğu, Tm (Erime eğrisi analizi) ile kontrol edilerek dataların analizi yapılmıştır.

3.2.9 Total ince bağırsak transkriptom profillemesi analizi

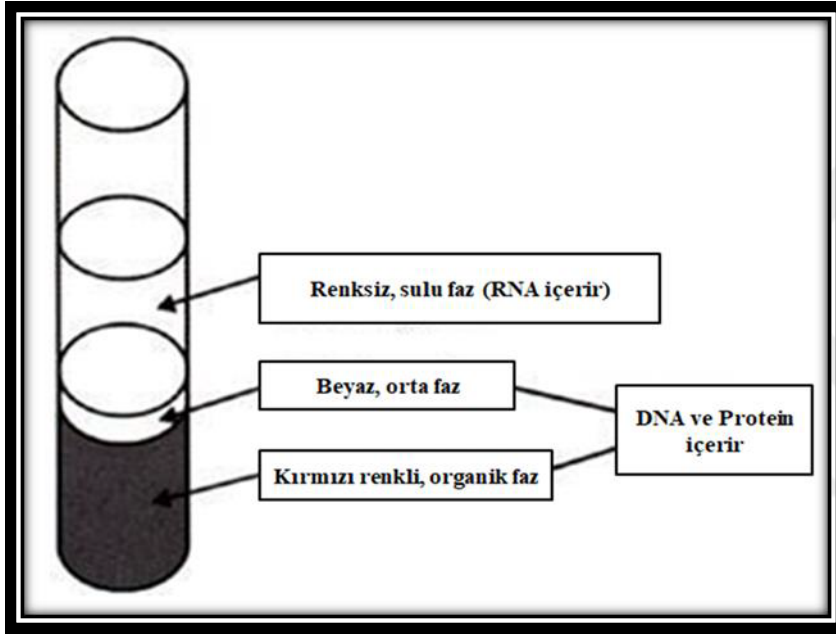
Bağırsak transkriptomik analizleri için deneme sonunda uygun şartlarda kesilen her muamele grubundan 10 ve toplamda 50 hayvanın total ince bağırsakları ayrılmıştır. Alınan ince bağırsak örnekleri segmentlere (duodenum, jejunum ve ileum) ayrılarak (Bkz. Şekil 3.4) her bir hayvana ait doku parçalarından havuz oluşturulmuştur. Oluşturulan doku havuzları, 15 ml'lik steril falkon tüplerine ayrı ayrı konulup, etiketlenmiştir. Her bir hayvandan alınacak 2-3 cm boyutundaki doku kesitlerinde, tek bir örnekliliğin sağlanması için duodenum kesitleri ince bağırsağın başlangıç noktasının 5 cm distalinden, jejunum kesitleri Meckel divertikulumun 5 cm proksimalinden ve ileum kesitleri ise ileosekal bağlantının 5 cm proksimalinden alınmıştır. Örnekler yaklaşık -80 °C'lik kuru buz içerisine gömülerek DÜBTAM laboratuvarlarına getirilmiştir.

3.2.9.1 RNA izolasyonu

Bağırsak örneklerinden RNA izolasyonu, TriPure Isolation Reagent ile aşağıda belirtilen şekilde yapılmıştır.

1. Doku örnekleri homojenizatör yardımıyla parçalanıp ependorf tüplere aktarılır. Ardından tüplerin üzerlerine 1 ml tripure izolasyon solüsyonu eklenerek, yaklaşık 45 sn kadar vortekslenir.
2. Vorteksten sonra tüpler buza alınarak 2 dk, sonrasında ise oda sıcaklığında 5 dk bekletilir.
3. Süre sonunda tüplerin üzerlerine 200 µl kloroform eklenerek, 5 dk daha bekletilir.

4. Süre bitiminde örnekler, 12.000 rpm ve 4 °C'de 20 dk santrifüj edilir.
5. Santrifüj sonunda Şekil 3.7'de gösterildiği gibi 3 faz oluşur ve RNA'nın bulunduğu renksiz faz, yeni bir tüpe aktarılarak üzerine 500 µl izopropanol eklenir. Daha sonra oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilir.
6. Ardından örnekler, 12.000 rpm ve 4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek, süpernatant atılır.
7. Tüplerin üzerine 1 ml % 75 EtOH eklenir. Ardından tüpler, 7.500 xg ve 4 °C'de 5 dk santrifüj edilir ve süpernatant atılır.



Şekil 3.7. Santrifüj işlemi ardından oluşan fazlar (İpçak, 2019).

8. Ardından 57 °C'de EtOH uçurulur. Tüplerin üzerine 50-100 µl RNase free su eklenerek pipetaj yapılır.
9. Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları için 260/280 ve 260/230 nm dalga boylarındaki absorbanları, nanofotometre (Implen, ABD) ile ölçülür. Çizelge 3.7'de de bu değerlere ait bilgiler verilmiştir.

Daha sonra Affymetrix mikroarray analizleri için örnekler -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.7. Chicken Array örneklerinin ölçülen konsantrasyon ve saflık değerleri.

Örnek Adı	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280	A260/230
RUY0/Kontrol	1618	1.9	2.1
RUY50	925	1.9	2.0
RUY100	570	1.9	2.1
RUY200	840	1.9	2.1
RUY400	853	1.9	2.2

3.2.9.2 Mikroarray analizi

Mikroarray analizi, binlerce gene ait ekspresyon seviyesini aynı anda ortaya çıkarmak ve yüksek oranda korunmuş genetik yolları tanımlamak için kullanılan önemli bir teknolojidir (Li et al., 2008). Karma yemlere RUY ilavesinin etlik piliçler üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırmak amacıyla kontrol grubuna kıyasla 4 farklı düzeydeki (50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilaveli grupların ince bağırsak örnekleri kullanılarak mikroarray analizi gerçekleştirilmiştir. Bunun için tüm deneme gruplarına ait örneklerden izole edilen, saflık ve miktar ölçümleri yapılan RNA örnekleri Ay-Ka Limited Şirketi'ne gönderilmiştir. Firmanın mikroarray analizi için uygulamış olduğu deney protokolü ve işlem basamakları aşağıda özetlenmiştir (Şekil 3.8).

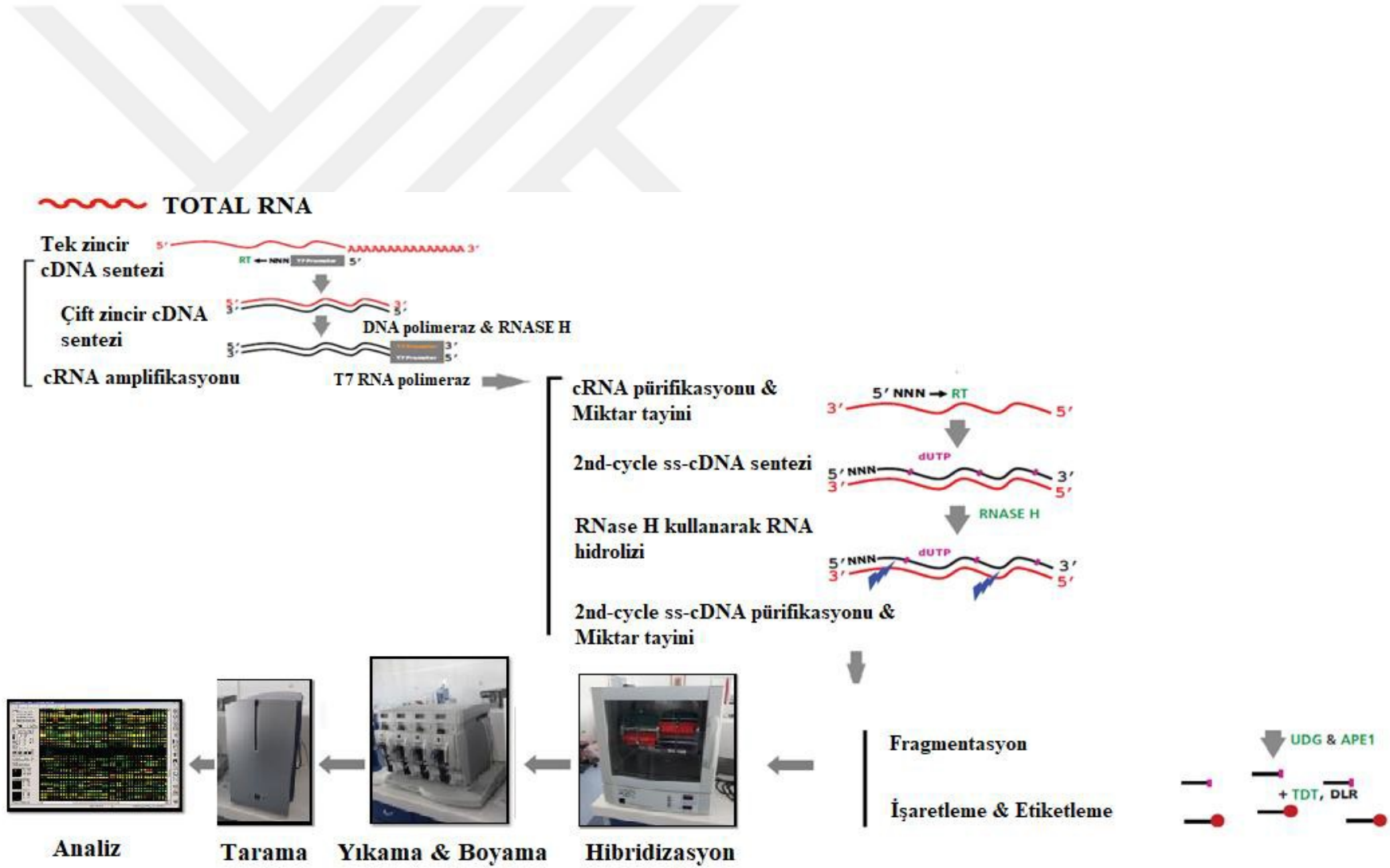
- A. Poly-A RNA Kontrolleri Hazırlama
- B. Tek Zincir cDNA Sentezi
- C. Çift Zincir cDNA Sentezi
- D. In Vitro Transkripsiyon ile cRNA Sentezi
- E. cRNA Pürifikasyonu
- F. Pure aRNA Miktar Tayini
- G. 2nd-cycle ss-cDNA Sentezi
- H. RNase H Kullanarak RNA Hidrolizi
- İ. 2nd-cycle ss-cDNA Pürifikasyonu
- J. Pure ss-cDNA Miktar Tayini
- K. Fragmentasyon ve Etiketleme
- L. Hibridizasyon
- M. Yıkama - Boyama – Tarama

Analiz için *Gallus gallus* (chicken) organizmasına ait 25 baz uzunluğunda 37.703 adet prob seti içeren gen çipi (Affymetrix GeneChip® Chicken Genome Array) kullanılmıştır. Bu gen çipi ile 32.773 adet tavuk ve 684 adet 17 farklı tavuk viral patojenine ait transkript için gen ekspresyonu analizi çalışılabilmektedir.

Örneklerin hazırlanması: Tüm transkriptom ifade analizinin gerçekleştirilebilmesi için GeneChip™ WT PLUS Reagent Kit (Thermofisher) kullanılmıştır. Bu kit tüm transkriptom ekspresyon analizleri için RNA örneklerinin hazırlanmasını sağlamaktadır. Kit, mRNA için bir ön seçim veya zenginleştirme adımına gerek kalmadan total RNA'dan amplifiye ve biyotinlenmiş sens iplikli (mRNA'nın tam nükleotid dizisine karşılık gelen iplik) DNA hedefleri oluşturur. Bu süreçte eksiksiz bir transkriptom analizi için hem poli (A) hem de poli (A) olmayan mRNA dahil olmak üzere tüm RNA'yı kullanan bir ters transkripsiyon yöntemi kullanır.

Arraylerin hibridizasyon yoğunluklarını denetleyebilmek için pozitif kontrol olarak Poly-A RNA kontrolleri hazırlanır. Ardından izole edilen RNA'lardan ters transkripsiyon metodu ile 5' ucunda T7 promotör sekansı içeren tek iplikli cDNA sentezlenmektedir. Elde edilen tek iplikli cDNA, *in vitro* transkripsiyonda kullanılabilen üzere çift iplikli cDNA'ya dönüştürülür. Antisens RNA (tamamlayıcı RNA veya cRNA) sentezi için T7 RNA polimeraz enzimi yardımıyla çift iplikli cDNA şablon olarak kullanılarak *in vitro* transkripsiyon (IVT) gerçekleştirilir. Elde edilen cRNA'lara pürifikasyon işlemi uygulanarak enzimler, tuzlar ve inorganik fosfatlar uzaklaştırılır.

2. Döngü Primerleri kullanılarak cRNA'nın ters transkripsiyonu ile sens iplikli cDNA sentezlenmektedir. Sentez sonrasında ortamda kalan RNA'ları uzaklaştırmak için RNase H enzimi kullanılmaktadır. Bu enzim cRNA şablonlarını hidroliz ederek yalnızca tek sarmallı cDNA'ların elde edilmesini sağlar. cDNA'yı fragmentasyon ve etiketlemeye hazırlamak için pürifikasyon işlemi uygulanmaktadır. Saflaştırılmış cDNA'lar urasil-DNA glikozilaz (UDG) ve apürinik/apirimidinik endonükleaz 1 (APE1) tarafından parçalanmaktadır. Parçalanmış cDNA'lar, biyotine kovalent olarak bağlanan terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) ile etiketlenmektedir.



Şekil 3.8. Affymetrix Mikroarray analiz aşamaları (Firma protokol'ünden uyarlanmıştır).

Hibridizasyon ve Tarama: Hibridizasyon aşamasında etiketlenen örneklerden kit protokolüne uygun olarak hibridizasyon kokteyi (45°C) hazırlandıktan sonra Affymetrix GeneChip® Chicken Genome Array'lerin içerisine enjekte edilmektedir. Hazırlanan arrayler 45°C 60 rpm'deki fırına 16 saatlik hibridizasyon için GeneChip Hybridization Oven 645, ABD cihazına yerleştirilir. Hibridizasyon sonrası array boşaltılarak yıkama solüsyonu yüklenir. Yıkama için GeneChip Fluidics Station 450, ABD cihazı kullanılmıştır. Son olarak array mikroarray tarayıcısına (GeneChip Scanner 3000 7G, ABD) yüklenerek tarama sağlanmaktadır.

Elde edilen mikroarray verilerinin değerlendirilmesi: Affymetrix Transcriptome Analysis Console (TAC) 4.0 yazılım paketi kullanılarak analiz sonucunda .CEL formatında ham veri dosyaları elde edilmiştir. Mikroarray analizi sonunda deneme grupları arasında gen ekspresyon değerleri incelendiğinde farklı seviyede eksprese olan birçok gen elde edilmiştir. RUY50, RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarına ait gen ekspresyon değerlerinin log₂ dönüşümü yapıldıktan sonra kat (fold) değişimlerini gösteren gen listeleri oluşturuldu. Daha sonra deney grupları arasında gözlenen farklılıklar için temel bileşenler analizi (Principle Component Analysis, PCA) yapılarak çok değişkenli istatistiksel analiz uygulanmıştır. Temel bileşenler analizi, veri seti bileşenlerini yüksek benzerlik doğrultusunda grafik üzerinde birbirine yakın bir şekilde kümeleyerek gruplar arası ayrımı görsel olarak ifade edebilen çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemlerinden birisidir. Ayrıca genlerin işlevleri hakkında kapsamlı bilgi edinebilmek amacıyla PANTHER Version 15.0 kullanılarak "*Gallus gallus*" referans genomu ile karşılaştırmalı analiz gerçekleştirilmiştir. RUY (50, 100, 200 ve 400 mg/kg) ilaveli gruplara ait farklı şekilde eksprese edilen gen listeleri PANTHER sınıflandırma sistemine yüklendikten sonra Fisher's exact istatistiksel test yöntemi kullanılarak moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıfı gruplandırılması yapılmıştır.

PANTHER (Protein Analysis Through Evolutionary Relationships, <http://pantherdb.org>) sınıflandırma sistemi, içerisinde bulunan farklı yazılım araçları sayesinde büyük ölçekli genomik deneylerden elde edilen gen listelerini analiz etmeye veya proteinlerin sınıflandırılmasına olanak sağlayan bir kaynaktır (Mi et al., 2017). PANTHER, genlerin fonksiyonel sınıflandırması için Gene

Ontolojisini (GO) ve biyolojik yolları kullanır (Mi et al., 2019). Sistem aynı zamanda genom çapında elde edilen deneysel verilerin görselleştirilmesine, analiz edilmesine ve yorumlanmasına olanak tanıyan biyoinformatik bir modüle de yer verdiği için, genom çapında veri analizi için en popüler çevrimiçi kaynaklardan biri haline gelmiştir (Mi et al., 2013).

Genlerin protein-protein etkileşimleri ortaya çıkarılması için de STRING Version 11.0 kullanılmıştır. STRING (<https://string-db.org/>), protein-protein etkileşimlerinin analiz edilmesi için sıkça kullanılan bir veritabanıdır. Etkileşimler, doğrudan (fiziksel) ve dolaylı (işlevsel) ilişkileri içermektedir. Proteinler arasındaki bu etkileşimler, onları kodlayan genler arasındaki genomik ilişkilerden elde edilebilmektedir. STRING veritabanıyla ortaya çıkarılan, ağırlıklı protein etkileşim ağının grafiksel gösterimi, biyolojik süreç analizini kolaylaştırarak, fonksiyonel bağlantıların yüksek seviyeli bir görünümünü sağlamaktadır (Mering et al., 2003). Veritabanının güncel versiyonu 5090 organizmaya ait 24.584.628 adet protein bilgisi içererek 3.123.056.667 adet etkileşime ait bilgiyi kullanıcılarına sunmaktadır.

3.2.10 mRNA transkriptlerinin Real Time PCR ile kontrolü

Mikroarray analiz bulgularının validasyonu için her muamele grubundan 10 ve toplamda 50 hayvanın ince bağırsaklarından izole edilen ve -80 °C' de depolanan total RNA örnekleri kullanılmıştır. Mikroarray bulgularındaki upregüle genler arasından araştırma hipotezine uygun olarak seçilen interleukin 10 (IL-10), mucin 2 (MUC2), claudin 5 (CLDN5), BCL2 antagonist/killer 1 (BAK1) ve caspase 3 (CASP3) genlerinin mRNA ekspresyon seviyelerinin Real-time PCR ile doğrulanması yapılmıştır. Uygulanan işlem basamakları aşağıda sırasıyla verilmiştir.

3.2.10.1 cDNA sentez aşamaları

cDNA (Complementary DNA) sentezi için BIORAD iScript™ cDNA Synthesis Kit kullanılarak, sırasıyla Çizelge 3.8 ve 3.9'de belirtilen tek örneklik reaksiyon karışımı ile cihaz protokolü uygulanmıştır.

Çizelge 3.8. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.

Bileşenler	Hacim
H ₂ O	10 µl
5x iScript Reaction Mix	4 µl
iScript Reverse Transcriptase	1 µl
RNA örneği	5 µl
Toplam reaksiyon hacmi	20 µl

Her bir örnek için toplam reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde 0.2 µl'lik PCR tüpleri hazırlanmıştır. Ardından tüpler, Thermal Cycler (Bio-Rad) cihazına yerleştirilerek aşağıdaki protokol uygulanmıştır.

Çizelge 3.9. Thermal Cycler protokolü.

Program adı	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
Priming	25	5
Reverse Transcription	46	20
RT Inactivation	95	1
Optional Step	4	Bekleme

Elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR analizine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.10.2 Genlere ait ileri ve geri primerlerin dizaynı

IL-10, MUC2, CLDN5, BAK1 ve CASP3 hedef gen ve ACTB (Beta-aktin) referans gen bölgelerine ait primeler NCBI ve ENSEMBL gen bankaları kullanılarak dizayn edilmiş (Çizelge 3.10) ve elde edilen primerlerin spesifikliği, BLAST programı ile kontrol edilmiştir.

3.2.10.3 Real-Time PCR analizi

Sentezlenen cDNA'lar, LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanılarak Roche LightCycler 480 II cihazı ile çalışılmıştır. Tek örneklik reaksiyon karışımı Çizelge 3.11'da verilmiştir.

Çizelge 3.10. Genlere ait ileri ve geri primerler.

Gen	Erişim No	Primer Adı	Primer Dizisi (5'-3')*	Primer pozisyonu	Ürün uzunluğu (bp)
IL-10	NM_001004414.2	F	AGCTGAGGGTGAAGTTTGAG	116-135	97
		R	AACTCATCCAGCAGTTCAGAG	212-192	
MUC2	JX284122.1	F	CAGCACCAACTTCTCAGTTCC	3474-3494	102
		R	TCTGCAGCCACACATTCTTT	3575-3556	
CLDN5	NM_204201.1	F	GAGGGACCATCTACATCCTCT	458-478	86
		R	GTCGTAGAAGTCGCTGATGAC	543-523	
BAK1	NM_001030920.1	F	CGCTACGTCACCGAATTCAT	671-690	117
		R	CACCACCAGCATGTACTTCA	787-768	
CASP3	NM_204725.1	F	ACAATGATCTGTCAAGCAGAGATA	457-480	99
		R	GGCTTAGCAACACACAAACAA	555-535	
ACTB	NM_205518.1	F	TGGGCCAGAAAGACAGCTAC	208-227	82
		R	CCGTGTTCAATGGGGTACTT	289-270	

*Tüm primerler dizayn edilmiştir.

Çizelge 3.11. Tek örneklik reaksiyon karışım bileşenleri ve hacimleri.

Bileşenler	Hacim
Su, PCR-grade	1.9 µl
İleri Primer(F) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Geri Primer(R) (ara stok 10 µM)	0.3 µl
Enzim Karışımı (LightCycler® 480 SYBR Green I Master)	5 µl
	+
cDNA	2.5 µl
Toplam Reaksiyon Hacmi	10 µl

Tüm bileşenlerin her birinden (cDNA hariç) reaksiyon tüpüne eklenmiş ve reaksiyon sayısının bir fazlası ile çarpılarak total reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Daha sonra her bir 96'lık plate kuyucuğuna 7.5 µl total reaksiyon karışımından ve 2.5 µl DNA örneğinden, son hacim 10 µl olacak şekilde ilave yapılmıştır. Platelerin üzeri kapatılarak santrifüj edilmiş ve ardından aşağıdaki cihaz protokolü (Çizelge 3.12) uygulanmıştır.

Çizelge 3.12. Real-time PCR protokolü.

Program Adı	Pre-inkübasyon	Amplifikasyon				Melting Curve			Soğutma
Analiz Modu	Yok	Kuantifikasyon Modu				Erime Eğrisi Modu			Yok
Döngü Sayısı	1	45				1			1
Hedef Sıcaklık [°C]	95	95	56	72	95	61	97	40	
Süre	5 dk	10 sn	15sn	10 sn	5 sn	1 dk	-	30 sn	
Sıcaklık Artış Hızı [°C/s]	4.8	4.8	2.5	4.8	4.8	2.5	0.11	2.5	
Okuma Modu	-	-	-	tek	-	-	devam	-	

3.2.10.4 Veri analizi

Elde edilen veriler Absolute Quantification ve Advanced Relative Quantification yöntemleri ile analiz edilmiş ve sonuçlarda kat değişim (Fold change) metodu kullanılmıştır (Lee et al., 2006). Bu metod ile hedef gen Ct değerleri referans (housekeeping) Ct değerleri ile normalize edilmiş ve normalize değerler, kontrol grupları ile oranlanarak kat değişim (Fold change) değerleri bulunmuştur.

3.2.11 İstatistik analizler

Yeterli büyüklükteki örneklem genişliğini (hayvan sayısı), tahmin etmek için G*power analizi yapılmıştır. Buna göre etki büyüklüğü orta (0.25) ve % 95 güç istendiğinde, güç analizine göre kullanılması gereken hayvan sayısı 400 adet olarak belirlenmiştir.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 22.0 (SPSS, 2013) programında gerçekleştirilmiştir. Önemlilik testlerine geçilmeden önce, parametrik test varsayımlarından ilki olan normallik varsayımı için elde edilen CA verileri Kolmogorov-Smirnov testi ile, diğer tüm veriler ise Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. İkinci olarak varyansların homojenliği varsayımı için de Levene testi uygulanmıştır. Normal dağılış göstermeyen verilerin ise logaritmik dönüşümü yapılarak veriler, normal dağılıma uygun hale getirilmiştir. Daha sonra, gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın tespiti için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farkın önemlilik kontrolü için de post-hoc testlerinden Duncan testi kullanılmış ve önem seviyeleri $P < 0.05$ veya $P < 0.01$ düzeylerine göre saptanmıştır. Bağırsak mikroflorası verilerinde ise ortalamalar arasındaki farklılığın kontrolü için parametrik olmayan Kruskal–Wallis Test ve post-hoc testi olarak Mann-Whitney U Testi, $P < 0.05$ kullanılmıştır. Ayrıca gruplar arasında ölüm oranı bakımından farklılığın kontrolü Ki-kare testiyle belirlenmiştir.

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmış ve deneme planının matematik modeli ise aşağıda verilmiştir:

$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$ şeklindedir. Burada;

Y_{ij} = i'inci muameleye ait j'inci tekerrürünün \bar{x} 'inci gözlem değerini,

μ = Beklenen populasyon ortalamasını,

α_i = i'inci muamelenin (RUY0, RUY50, RUY100, RUY200 ve RUY400)

etkisini,

e_{ij} = Y_{ij} 'nin şansa bağlı tesadüfi hatasını,

ifade etmektedir.



4. BULGULAR

Bu bölümde rezene tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağı'nın (RUY) uçucu, fenolik ve diğer bileşenleri, yağ asidi kompozisyonu, antibakteriyal aktivitesi [(Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) ve Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyonları (MBK/MFK)] gibi *in vitro* analiz sonuçları ile etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde RUY ilavesi etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla yürütülen *in vivo* çalışmadan elde edilen, performans [(canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık kazancı (CAK), yem tüketimi (YT), yemden yararlanma oranı (YYO)] verileri, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF), ölüm oranı, karkas randımanı, karkas parametreleri ve organ ağırlıkları ile kesim öncesi canlı ağırlıklara oranları, deneme sonunda alınan bağırsak içeriği örneklerinde *E.coli* O-157:H7, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus* spp.'nin kantitatif değerleri, proksimal ve distal ince bağırsak örneklerinde histomorfolojik ölçüm sonuçları, total ince bağırsak transkriptom profili ve IL-10, MUC2, CLDN5, BAK1 ve CASP3 genlerinin mRNA (messenger RNA) transkripsiyon seviyelerinin Real-time PCR ile ölçülmesine ait bulgular ve bunların istatistiksel yorumları aşağıda sunulmuştur.

4.1 Rezene Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimleri

4.1.1 Rezene uçucu yağının uçucu bileşenleri

RUY'un tüm uçucu bileşenleri, her bir bileşenin RT¹ (Retention time, alıkonma zamanı, dk) değeri ve moleküler yapısı Çizelge 4.1'de verilmiştir. Buna göre, RUY'un uçucu bileşenleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile analiz edilmiş ve 33 uçucu bileşeni tespit edilmiştir. RUY'un ana etkilil bileşeni trans-anethol (% 75.38) olarak bulunmuştur. Diğer başlıca bileşenleri ise; limonene (% 9.52), anisole (% 3.28), carvone (% 3.13) ve p-anisaldehyde (% 2.95) olarak saptanmıştır. GC/MS kromatogramında (Bkz. Ek-1) trans-anethole 34.333'üncü dk'da en yüksek, diğerleri ise sırasıyla 14.582, 29.709, 31.635 ve 39.402 dk'larda pik vermiştir. RUY içeriğinde, α -thujone, benzen, 4-

¹ Alıkonma zamanı: numunenin enjeksiyonu ile dedektörde pik maksimumunun elde edilişi arasında geçen zamandır (Retansiyon Zamanı).

methoxyphenylacetone, phenol, α -pinene, dillapiole, dihydrocarvone, β -ocimene, bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, cyclohexanone, methyleugenol, ν -terpinene ve cuminaldehyde % 1'den daha az, diğer bileşenlerinin ise eser düzeyde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.1. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağının uçucu bileşenleri.

Uçucu bileşen	RT* (dk)	Miktar (%)	Moleküler formül
α -Pinene	9.275	0.39	C ₁₀ H ₁₆
Camphene	10.454	0.01	C ₁₀ H ₁₆
β -Pinene	11.642	0.03	C ₁₀ H ₁₆
β -Phellandrene	12.016	0.03	C ₁₀ H ₁₆
β -Myrcene	13.262	0.06	C ₁₀ H ₁₆
α -Phellandrene	13.401	0.06	C ₁₀ H ₁₆
α -Terpinene	13.872	0.03	C ₁₀ H ₁₆
Limonene	14.582	9.52	C₁₀H₁₆
Sabinene	14.845	0.09	C ₁₀ H ₁₆
P-mentha-1,3,8-triene	15.079	0.02	C ₁₀ H ₁₄
β -Ocimene	15.586	0.18	C ₁₀ H ₁₆
γ -Terpinene	16.043	0.10	C ₁₀ H ₁₆
Benzen	16.919	0.41	C ₆ H ₆
α -Terpinolene	17.305	0.01	C ₁₀ H ₁₆
α -Thujone	21.233	0.52	C ₁₀ H ₁₆ O
α -Fenchyl acetate	23.463	0.02	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	24.251	0.18	C ₇ H ₁₂ O
Linalool	25.615	0.05	C ₁₀ H ₁₈ O
Dihydrocarvone	27.922	0.23	C ₁₀ H ₁₆ O
Cyclohexanone	28.507	0.16	C ₆ H ₁₀ O
Anisole	29.709	3.28	C₇H₈O
Carvone	31.635	3.13	C₁₀H₁₄O
Cuminaldehyde	32.967	0.10	C ₁₀ H ₁₂ O
Trans-Anethole	34.333	75.38	C₁₀H₁₂O
Neophytadiene	36.350	0.03	C ₂₀ H ₃₈
Methyleugenol	38.766	0.12	C ₁₁ H ₁₄ O ₂
P-Anisaldehyde	39.402	2.95	C₈H₈O₂
2-Pentadecanone	41.382	0.03	C ₁₅ H ₃₀ O
4-Methoxyphenylacetone	42.445	0.40	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
Phenol	43.628	0.40	C ₆ H ₆ O
Cyclohexane	44.932	0.06	C ₁₀ H ₁₈
Dillapiole	46.574	0.37	C ₁₂ H ₁₄ O ₄
Propanedioic asit	46.750	0.05	C ₁₈ H ₂₉ N ₂ O ₁₀ ⁻

*RT: Retention time/alıkonma zamanı.

4.1.2 Rezene uçucu yağının fenolik ve diğer bileşenleri

RUY'un Sıvı Kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (LC/Q-TOF/MS) taramasına göre fenolik ve diğer bileşenleri, her bir bileşenin alıkonma zamanı (RT), kütle/yük oranı (m/z^2), ve benzerlik oranı (score³) değerleri ile iyon yükü ve moleküler yapısı Çizelge 4.2'de verilmiştir. LC/Q-TOF/MS sonucunda RUY içeriğinde benzen, fenolik bileşik, pirazin, prostaglandin, steroid, terpenoid ve yağ asidi amid gibi çeşitli sekoder metabolit sınıflarının yer aldığı bulunmuştur. Ayrıca *benzen*; embelin, *fenolik bileşikler*; fenilpropanoid (anethole), fenoller (m-Creyl acetate), furokumarinler (psoralen, bergapten, trioxsalen), flavon (apigenin), flavonoid (nobiletin), hidrosikumarin (umbelliferone), lignan (nordihidroguaiaretik asit), metoksifenol (sinapyl alcohol), *pirazin*; tetramethylpyrazine, *prostaglandinler*; 5-trans prostaglandin D2, PGD3, ent-prostaglandin E2, PGJ2, *steroidler*; estradiol valerate, triptophenolide, androsterone sulfate, *terpenoidler*; carvone ile α -farnesene ve *yağ asidi amid* de stearamide bileşenlerinden oluştuğu saptanmıştır.

RUY'un ana aktif komponenti ve bir fenilpropanoid olan pozitif yüklü anethole'ün RT, m/z ve score değerleri sırasıyla 12.89 dk, 149.10 ve 97.13 olarak saptanmıştır. Bir benzen olan embelin ve bir yağ asidi amidi olan stearamide bu değerler sırasıyla 26.67 ile 28.90 dk, 293.18 ile 284.29 ve 87.34 ve 89.50 olarak bulunmuştur. Tetramethylpyrazine de ise RT değeri 5.34 dk, m/z değeri 137.11 ve score değeri ise 86.78 olarak saptanmıştır. Fenolik bileşiklerin RT değerlerinin 12.89 ile 24.15 dk, m/z değerlerinin 149.06 ile 403.14 ve score değerlerinin ise 81.41 ile 99.72 aralığında değiştiği görülmüştür. Prostaglandinler, steroidler ve terpenoidler'de ise RT değerleri sırasıyla 15.74 ile 22.90 dk, 26.35 ile 28.54 dk ve 14.77 ile 25.57 dk, m/z değerleri sırasıyla 357.20 ile 375.21, 311.17 ile 369.17 ve 151.11 ile 205.20, score değerleri de sırasıyla 90.73 ile 100.00, 81.06 ile 100.00 ve 83.10 ile 94.87 aralığında değişmiştir.

² İyonların belirli kütle/yük oranları: moleküler kütleli ölçmek yerine, atom veya molekülleri gaz fazında iyonlara (+, -) dönüştürülerek iyonların bağıl miktarlarının (kütle/yük) oranına ayrıştırılması ve ölçülmesidir.

³ Tanımlanan bileşenin kütle spektrumunun, kütüphanedeki spektruma benzerlik oranıdır.

Çizelge 4.2. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağının LC/Q-TOF/MS taraması.

Sınıf	Bileşen	RT ¹ (dk)	m/z ²	Score ³	İyon yükü	Moleküler formül
Benzen						
	Embelin	26.67	293.18	87.34	-	C ₁₇ H ₂₆ O ₄
Fenolik bileşikler						
Fenilpropanoid	Anethole	12.89	149.10	97.13	+	C ₁₀ H ₁₂ O
Fenol	m-Cresyl acetate	20.86	149.06	88.47	-	C ₉ H ₁₀ O ₂
Furokumarin	Psoralen	16.69	187.04	99.72	+	C ₁₁ H ₆ O ₃
Furokumarin	Bergapten	20.23	217.05	99.47	+	C ₁₂ H ₈ O ₄
Furokumarin	Trioxsalen	22.89	229.09	86.91	+	C ₁₄ H ₁₂ O ₃
Flavon	Apigenin	20.37	269.05	97.92	-	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
Flavonoid	Nobiletin	23.40	403.14	99.26	+	C ₂₁ H ₂₂ O ₈
Hidroksi- kumarin	Umbelliferone	24.15	161.02	97.79	-	C ₉ H ₆ O ₃
Lignan	Nordihidro- guaiaretik asit	23.35	301.15	87.47	-	C ₁₈ H ₂₂ O ₄
Metoksifenol	Sinapyl alcohol	13.52	209.08	81.41	-	C ₁₁ H ₁₄ O ₄
Pirazin						
	Tetramethyl- pyrazine	5.34	137.11	86.78	+	C ₈ H ₁₂ N ₂
Prostaglandinler						
	5-trans Prostaglandin D2	15.74	375.21	90.75	+	C ₂₀ H ₃₂ O ₅
	PGD3	19.13	373.20	100.00	+	C ₂₀ H ₃₀ O ₅
	ent- Prostaglandin E2	19.96	375.21	100.00	+	C ₂₀ H ₃₂ O ₅
	PGJ2	22.90	357.20	90.73	+	C ₂₀ H ₃₀ O ₄
Steroidler						
	Estradiol valerate	26.35	355.23	81.06	-	C ₂₃ H ₃₂ O ₃
	Triptopheno- lide	26.79	311.17	100.00	-	C ₂₀ H ₂₄ O ₃
	Androsterone sulfate	28.54	369.17	100.00	-	C ₁₉ H ₃₀ O ₅ S
Terpenoidler						
Monoterpenoid	Carvone	14.77	151.11	83.10	+	C ₁₀ H ₁₄ O
Seskiterpenoid	α-Farnesene	25.57	205.20	94.87	+	C ₁₅ H ₂₄
Yağ asidi amid						
	Stearamide	28.90	284.29	89.50	+	C ₁₈ H ₃₇ NO

¹RT: Retention time/alıkonma zamanı.

²m/z değeri: kütle/yük oranı.

³Score: benzerlik oranı.

4.1.3 Rezene uçucu yağının yağ asitleri kompozisyonu

RUY'un yağ asidi metil ester (Fatty Acid Methyl Esters, FAME) içerikleri ve alıkonma zamanları (RT) Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre, RUY'un FAME tayini Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşmalı Dedektör (GC/FID) ile analiz edilmiş ve 26 yağ asidi metil esteri tespit edilmiştir. Linoleik asit (% 54.09) ve oleik asidin (% 33.44) RUY'un yağ asitleri kompozisyonunun önemli bir kısmını oluşturduğu ve GC kromatogramında en yüksek iki tepe noktasına (Bkz. EK-3) sahip oldukları görülmüştür. Linoleik asit ve oleik asit için RT değerleri sırasıyla 20.39 ve 18.51 dk olarak saptanmıştır.

RUY içeriğindeki yağ asitlerinin yaklaşık % 88'nin doymamış yağ asitlerinden meydana geldiği bulunmuştur. RUY içeriğindeki diğer başlıca yağ asitlerinin de doymuş yağlardan palmitik asit (% 6.29), stearik asit (% 2.35) ve miristik asit (% 1.48) olduğu saptanmıştır. RT değerlerinin ise sırasıyla 12.94, 17.18 ve 9.89 dk olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, % 1'den daha az behenik asit, lignoserik asit, araşidik asit, kaproik asit, cis-11-eikosenoik asit, heneikosanoik asit ve heptadekanoik asit ile eser miktarda diğer doymuş ve doymamış yağ asitlerini içerdiği tespit edilmiştir.

4.2 Rezene Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi

4.2.1 Rezene uçucu yağının minimum inhibisyon konsantrasyonu

RUY'un minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Üremenin engellediği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanan MİK değerleri gram pozitif bakterileri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 için sırasıyla 2500 ve 1250 ppm olarak bulunmuştur. Gram negatif bakterileri *Esherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 MİK değerler ise sırasıyla 78.1, 2500 ve 156.3 ppm olarak tespit edilmiştir. *Candida albicans* ATCC 10231 MİK değeri de 39.1 ppm olarak saptanmıştır. Genel olarak min. ve max. MİK aralığı bakteriler için 78.1-2500 ppm, fungus için 39.1 ppm, tüm mikroorganizmalar için ise, 39.1-2500 ppm olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) yağ asitleri kompozisyonu.

Yağ asidi	RT* (dk)	Miktar (%)
Bütirik asit (C4:0)	4.78	0.02
Kaproik asit (C6:0)	5.08	0.18
Kaprilik asit (C8:0)	5.88	0.01
Kaprik asit (C10:0)	6.82	0.02
Undekanoik asit (C11:0)	8.01	0.07
Tridekanik asit (C13:0)	9.74	0.01
Miristik asit (C14:0)	9.89	1.48
Miristoleik asit (C14:1)	10.22	0.08
Pentadekanoik asit (C15:0)	11.42	0.02
Palmitik asit (C16:0)	12.94	6.29
Palmitoleik asit (C16:1)	13.80	0.03
Heptadekanoik asit (C17:0)	13.99	0.11
Cis-10-heptadekanoik asit (C17:1)	14.67	0.03
Stearik asit (C18:0)	17.18	2.35
Oleik asit (C18:1 cis)	18.51	33.44
Linoleik asit (C18:2 cis)	20.39	54.09
Araşidik asit (C20:0)	21.27	0.27
Linolenik asit (C18:3 n3)	22.01	0.10
Cis-11-Eikosenoik asit (C20:1)	22.30	0.16
Heneikosanoik asit (C21:0)	23.21	0.06
Cis-11, 14-Eikodadienoik (C20:2)	23.35	0.01
Behenik asit (C22:0)	24.86	0.73
Araşidonik asit (C20:4)	25.89	0.01
Trikosanoik asit (C23:0)	26.73	0.03
Lignoserik asit (C24:0)	28.89	0.28
Nervonik asit (C24:1)	30.07	0.01

*RT: Retention time/alıkonma zamanı.

Çizelge 4.4. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağının minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri.

Mikroorganizmalar		RUY Konsantrasyonları (ppm)											
		5000	2500	1250	625	312.5	156.3	78.1	39.1	19.5	Poz. ¹	Neg. ²	
Rezene (<i>Foeniculum Vulgare</i> Mill.) uçucu yağı	Gram pozitif bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
		<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	Gram negatif bakteriler	<i>Esherichia coli</i> ATCC 10536	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
	Fungus	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

¹Poz: Pozitif kontrol (Mueller Hinton Broth+organizma+ Gentamisin/Cycloheximide)

²Neg: Negatif kontrol (Mueller Hinton Broth+organizma)

(+): Üreme Var, (-): Üreme Yok

4.2.2 Rezene uçucu yağının minimum mikrobisidal konsantrasyonu

RUY'un minimum bakterisidal ve fungisidal konsantrasyon (MBK ve MFK) değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bakterilerin tamamen öldüğü en düşük konsantrasyon olarak tanımlanan MBK değeri gram pozitif bakterileri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ve *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 için sırasıyla 2500 ve 1250 ppm olarak bulunmuştur. Gram negatif bakterileri *Esherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 MİK değerler ise sırasıyla 78.1, 2500 ve 312.5 ppm olarak tespit edilmiştir. Fungusların tamamen öldüğü en düşük konsantrasyon olarak tanımlanan MFK değeri de *Candida albicans* ATCC 10231 için 78.1 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağının minimum bakterisidal/fungisidal konsantrasyon (MBK/MFK) değerleri.

		Mikroorganizmalar	Minimum Mikrobisidal konsantrasyon (ppm)
Rezene (<i>Foeniculum Vulgare</i> Mill.) uçucu yağı	Gram pozitif bakteriler	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2500
		<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	1250
	Gram negatif bakteriler	<i>Esherichia coli</i> ATCC 10536	78.1
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	2500
		<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	312.5
	Fungus	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	78.1

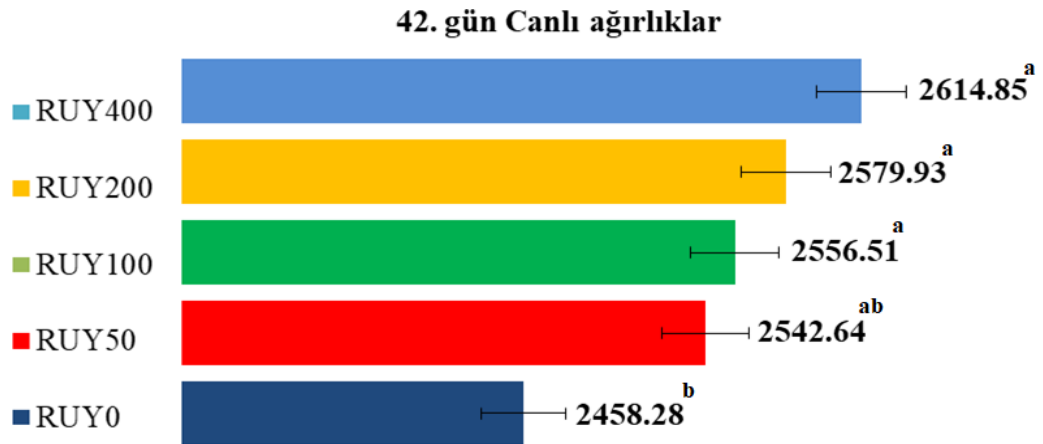
4.3 Performans

4.3.1 Canlı ağırlık

Etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin canlı ağırlıklar (CA) üzerine etkisi Çizelge 4.6'da verilmiştir. Tüm gruplara ait ortalama CA'ların 0., 7. ve 14. günlerde benzerlik gösterdiği ve

sırasıyla 39.13-39.38 g, 133.26-137.69 g ile 306.63-320.76 g aralığında değiştiği saptanmıştır ($P>0.05$). Diğer yandan, 7. ve 14. günlerde kontrol grubuna kıyasla, RUY ilaveli gruplarda CA'lar artmış fakat bu artış istatistiksel açıdan önemsiz olmuştur ($P>0.05$). Başlatma döneminin sonunda (21. gün) CA değerleri tüm RUY ilaveli gruplarda benzer ancak kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).

Bitirme döneminin başında (28. gün) ise en yüksek CA RUY400 (1312.56 g), en düşük ise kontrol (1175.96 g) grubunda gözlenmiştir ($P<0.01$). RUY50, RUY100 ve RUY200 gruplarının 28. gündeki CA değerlerinin (sırasıyla 1258.84, 1251.30, 1252.80 g) benzer olduğu bulunmuştur. Denemenin 35. gününde ise en yüksek CA RUY400 (2002.71 g) grubunda saptanmış, bunu sırasıyla RUY200 (1947.12 g), RUY100 (1944.61 g), RUY50 (1940.72 g) ve en düşük kontrol (1824.88 g) grupları izlemiştir ($P<0.01$). Denemenin sonunda (42.gün), RUY düzey artışına paralel olarak CA değerleri artmış ve en yüksek RUY400 (2614.85 g), en düşük kontrol (2458.28 g) grubunda gözlenmiştir ($P<0.01$). Diğer grupların CA değerleri arasındaki farklılık benzer bulunmuştur (şekil 4.1). Bununla birlikte, etlik piliç karma yemlerine artan düzeyde RUY ilavesinin CA'lar üzerine 21., 28., 35. ve 42. günlerdeki lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu grlmştir ($P<0.01$). Elde edilen bulgulara göre, karma yeme 50, 100, 200 veya 400 mg/kg düzeyde RUY ilavesinin etlik piliçlerin canlı ağırlıkları üzerine doğrusal ve olumlu etki yaptığı saptanmıştır.



şekil 4.1. Deneme sonu gruplara ait canlı ağırlıklar (42. gün).

Çizelge 4.6. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin canlı ağırlıklar (CA) üzerine etkisi (g).

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
0. gün	39.38	39.32	39.25	39.13	39.30	0.166	0.993	0.774	0.771
7. gün	133.26	136.81	137.69	135.65	134.40	0.940	0.580	0.222	0.113
14. gün	306.63	316.33	314.21	317.58	320.76	2.660	0.569	0.132	0.738
21. gün	594.80 ^b	655.50 ^a	648.60 ^a	656.30 ^a	678.46 ^a	5.086	<0.001**	<0.001**	0.128
28. gün	1175.96 ^c	1258.84 ^b	1251.30 ^b	1252.80 ^b	1312.56 ^a	8.730	<0.001**	<0.001**	0.601
35. gün	1824.88 ^b	1940.72 ^a	1944.61 ^a	1947.12 ^a	2002.71 ^a	11.447	<0.001**	<0.001**	0.193
42. gün	2458.28 ^b	2542.64 ^{ab}	2556.51 ^a	2579.93 ^a	2614.85 ^a	13.941	0.007**	0.002**	0.442

Aynı satırda farklı harf (a-c) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.3.2 Canlı ağırlık kazancı

Etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin canlı ağırlık kazancı (CAK) üzerine etkisi Çizelge 4.7’de verilmiştir. Başlatma döneminin 0-7. ve 7-14. günlerinde gruplara ait ortalama CAK’ın 93.89-98.44 g ve 162.21-186.36 g arasında değişim gösterdiği fakat bu farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ($P>0.05$). Başlatma döneminin 14-21. günlerinde ise kontrol grubuna göre RUY ilaveli gruplarda CAK’ın önemli düzeyde arttığı ($P<0.05$) ve bu artışın lineer ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$). En düşük ve en yüksek CAK sırasıyla 299.33 g ile kontrol, 357.70 g ile RUY400 grubunda saptanmıştır. Bitirme döneminin, 21-28. günlerinde de en yüksek CAK RUY400 (604.12 g) grubunda saptanmış, bunu sırasıyla RUY100 (608.18 g), RUY200 (604.12 g), RUY50 (603.85 g) ve kontrol (583.00 g) grupları takip etmiştir. Ancak ortamala CAK değerleri arasındaki farklılık önemsiz bulunmasına ($P>0.05$) rağmen, RUY düzey artışı ile CAK arasındaki lineer ilişki anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Bununla birlikte, 28-35. ve 35-42. günler CAK sırasıyla 603.50-653.99 g ve 646.48-688.04 g aralığında değişim göstermiş olup, ortalamalar arası farklar önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Gruplar arasındaki CAK periyodik olarak incelendiğinde, 0-21. günlerde gruplar arasındaki ortalama CAK’lardaki farklılığın önemli olmadığı görülmüştür ($P<0.05$). Fakat bu dönemde karma yemdeki RUY düzey artışının CAK üzerindeki lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Bitirme döneminde (22-42. günler) kontrol ile RUY ilaveli gruplara ait ortalama CAK’lar 1864.68-1935.72 g aralığında değiştiği ve farklılığın önemsiz olduğu bulunmuştur ($P>0.05$). Tüm üretim döneminde (0-42. günler) ise karma yemelere artan düzeyde RUY ilavesiyle CAK iyileşmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (lineer etki, $P<0.01$).

Elde edilen bulgulara göre, RUY ilavesinin etlik piliçlerde canlı ağırlık kazancını periyodik olarak artırdığı ve bu ilişkinin lineer olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.7. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin canlı ağırlık kazancı (CAK) üzerine etkisi (g).

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
0-7. gün	93.89	97.61	98.44	96.25	95.10	1.067	0.676	0.275	0.161
7-14. gün	162.21	176.59	176.53	181.93	186.36	4.344	0.473	0.097	0.692
14-21. gün	299.33 ^b	333.87 ^{ab}	329.26 ^{ab}	331.10 ^{ab}	357.70 ^a	5.592	0.019*	0.003**	0.831
21-28. gün	583.00 ^b	603.85 ^{ab}	608.18 ^{ab}	604.12 ^{ab}	634.10 ^a	7.178	0.274	0.045*	0.869
28-35. gün	646.48	680.00	676.71	686.21	688.04	8.184	0.509	0.082	0.464
35-42. gün	635.19	603.50	618.54	653.99	613.58	9.655	0.504	0.599	0.971
0-21. günler	555.43 ^b	616.30 ^a	604.23 ^{ab}	609.28 ^{ab}	639.16 ^a	9.110	0.054	0.006**	0.544
22-42. günler	1864.68	1887.36	1898.71	1931.83	1935.72	14.465	0.478	0.070	0.897
0-42. günler	2420.10 ^b	2503.66 ^{ab}	2507.66 ^{ab}	2541.11 ^{ab}	2574.88 ^a	18.885	0.110	0.010**	0.651

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 16 tekrerrün ortalamasıdır.

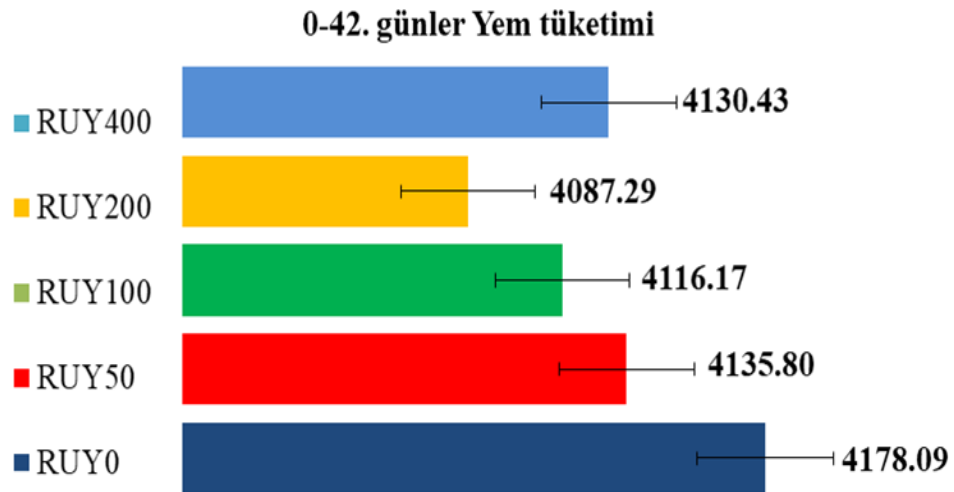
Aynı satırda farklı harf (a-b) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.3.3 Yem tüketimi

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin yem tüketimi (YT) üzerine etkisi Çizelge 4.8’de verilmiştir. Tüm 0-7., 7-14., 14-21., 21-28., 28-35. ve 35-42. günlerdeki gruplara ait ortalama YT’lerin sırasıyla 120.43-126.91 g, 270.60-283.39 g, 451.46-476.14 g, 884.21-928.40 g, 1078.36-1104.47 g ve 1237.86-1296.50 g aralığında değiştiği görülmüştür. Buna göre, kontrol ve RUY ilaveli gruplara ait YT’ler arasındaki farkın önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Bununla birlikte kontrol grubuna göre, RUY ilaveli karma yem tüketen gruplarda YT’nin sayısal olarak azaldığı fakat bu etkinin istatistiksel açıdan fark oluşturmadığı gözlenmiştir. Gruplar arasındaki YT periyodik olarak incelendiğinde, başlatma (0-21. günler) ve bitirme (22-42.günler) dönemlerindeki ortalama YT’lerin 848.73-883.00 g ve 3228.31-3329.36 g aralığında değiştiği ve gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Tüm üretim döneminde (0-42.günler) ise en yüksek YT kontrol (4178.09 g) grubunda gözlenmiş ve bunu sırasıyla RUY50 (4135.80 g), RUY400 (4130.43 g), RUY100 (4116.17 g) ve RUY200 (4087.29 g) grupları izlemiştir (Şekil 4.2). Genel olarak kontrol grubuna kıyasla RUY ilaveli gruplarda YT azalmış fakat bu farklılık sadece sayısal olarak görülmüştür ($P>0.05$).



Şekil 4.2. Deneme sonu gruplara ait yem tüketimleri (42. gün).

Çizelge 4.8. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin yem tüketimi (YT) üzerine etkisi (g).

	Kontrol	RUY ¹ (mg/kg)				SEM ²	Önemlilik düzeyi		
		50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
0-7. gün	126.66	126.91	122.48	120.43	123.89	1.346	0.504	0.341	0.438
7-14. gün	270.60	274.71	283.39	281.11	278.16	0.301	0.678	0.205	0.321
14-21. gün	451.46	476.14	463.40	457.24	458.29	4.047	0.369	0.223	0.236
21-28. gün	928.40	917.36	917.80	884.91	924.03	6.877	0.288	0.310	0.246
28-35. gün	1104.47	1096.82	1097.50	1078.36	1095.21	8.070	0.892	0.545	0.673
35-42. gün	1296.50	1238.62	1237.86	1265.04	1256.42	14.379	0.702	0.200	0.302
0-21. günler	848.73	883.00	869.26	858.78	867.95	6.266	0.514	0.186	0.375
22-42. günler	3329.36	3252.80	3258.29	3228.31	3262.48	20.927	0.627	0.136	0.300
0-42. günler	4178.09	4135.80	4116.17	4087.29	4130.43	22.790	0.802	0.297	0.406

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 16 tekerrürün ortalamasıdır.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.3.4 Yemden yararlanma oranları

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine etkisi Çizelge 4.9'da verilmiştir. Başlatma döneminin 0-7. günlerinde ortalama YYO'nun 1.25-1.36 aralığında değiştiği görülmüştür. Aynı zamanda RUY ilaveli gruplara ait YYO'ların kontrol grubuna kıyasla iyileştiği ($P<0.05$) ve bu iyileşmenin lineer ($P<0.05$) ve kuadratik ($P<0.01$) ilişkili olduğu görülmüştür. Başlatma döneminin 7-14. günlerinde ise, kontrol grubuna kıyasla RUY seviyesindeki artışla birlikte YYO'nun iyileştiği, fakat bunun rakamsal düzeyde olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). En iyi ve en kötü YYO'lar ise sırasıyla 1.46 ile RUY400, 1.77 ile de kontrol gruplarında görülmüştür. Diğer yandan, 14-21. günlere ait YYO'lar 1.28-1.55 arasında değişmiş ve gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca karma yeme artan düzeyde RUY ilavesinin YYO üzerine lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bitirme döneminin başında (21-28. günler) ise, RUY ilaveli yemlerle beslenen etlik piliçlere ait YYO'ların benzer olduğu, kontrol grubuna kıyasla iyileştiği ve gruplar arasındaki bu farklılığın önemli olduğu saptanmıştır (lineer etki, $P<0.05$). Bununla birlikte, 28-35. ve 35-42. günlere ait ortalama YYO'ların 1.60-1.73 ile 1.91-1.99 aralığında değiştiği ve gruplar arasındaki farklılığın önemsiz olduğu görülmüştür ($P>0.05$).

Gruplar arasındaki YYO periyodik olarak incelendiğinde, başlatma döneminde (0-21. günler) RUY düzey artışına bağlı olarak YYO'nun iyileştiği, RUY ilaveli gruplar arasındaki farklılığın rakamsal düzeyde ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Ayrıca RUY düzey artışının YYO üzerindeki lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Bitirme döneminde (22-42. günler) ise en iyi YYO 1.67 ile RUY200, en kötü 1.80 ile kontrol grubunda gözlenmiş olup, gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (lineer etki, $P<0.05$). Bütün üretim döneminde (0-42. günler) ise tüm RUY ilaveli gruplarla beslenen etlik piliçlerin YYO'larının, kontrol grubuna kıyasla önemli derecede iyileştiği ve bu etkinin lineer ilişkili olduğu (Bkz. Şekil 4.3) görülmüştür ($P<0.05$). Dolayısı ile karma yeme düzey bağımsız RUY ilavesinin etlik piliçlerin YYO'larını iyileştirdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin yemden yararlanma oranları (YYO) üzerine etkisi (g yem tüketimi/g canlı ağırlık artışı).

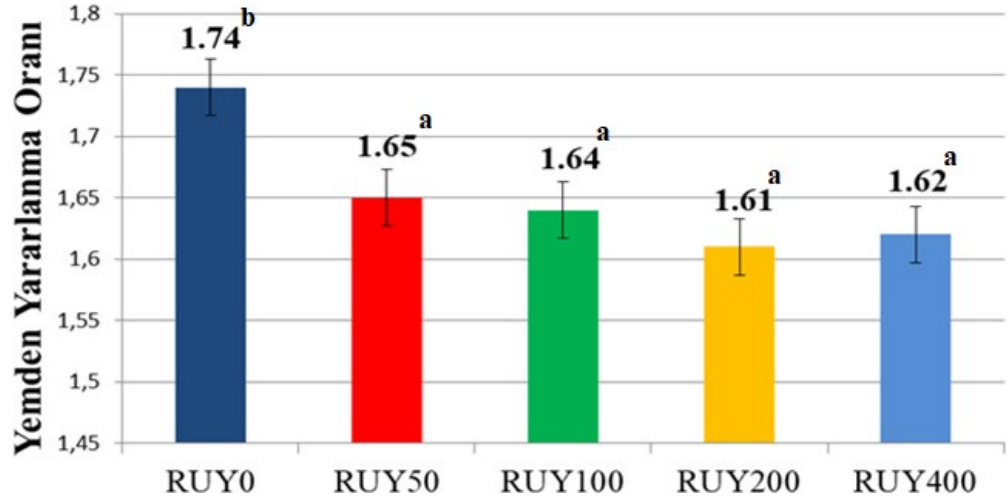
	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
0-7. gün	1.36 ^b	1.31 ^{ab}	1.25 ^a	1.25 ^a	1.31 ^{ab}	0.013	0.041*	0.043*	0.009**
7-14. gün	1.77	1.59	1.69	1.68	1.46	0.041	0.143	0.099	0.533
14-21. gün	1.55 ^b	1.42 ^{ab}	1.40 ^{ab}	1.39 ^{ab}	1.28 ^a	0.026	0.029*	0.035*	0.874
21-28. gün	1.60 ^b	1.54 ^{ab}	1.53 ^{ab}	1.46 ^a	1.47 ^a	0.016	0.066	0.025*	0.588
28-35. gün	1.73	1.62	1.61	1.60	1.62	0.019	0.195	0.076	0.114
35-42. gün	1.95	1.96	1.91	1.92	1.99	0.025	0.837	0.907	0.353
0-21. günler	1.56 ^b	1.45 ^{ab}	1.41 ^a	1.40 ^a	1.37 ^a	0.021	0.026*	0.002**	0.197
22-42. günler	1.80 ^b	1.72 ^{ab}	1.74 ^{ab}	1.67 ^a	1.71 ^{ab}	0.016	0.177	0.034*	0.314
0-42. günler	1.74 ^b	1.65 ^a	1.64 ^a	1.61 ^a	1.62 ^a	0.014	0.026*	0.002**	0.111

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 16 tekerrürün ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-b) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.



Şekil 4.3. Gruplardaki ortalama yemden yararlanma oranları (42. gün).

4.4 Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Ölüm Oranları

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin Avrupa üretim etkinlik faktörü (EPEF) ve ölüm oranı üzerine etkisi Çizelge 4.10'da verilmiştir. EPEF değerinin kontrol grubuna kıyasla, RUY ilaveli gruplarda önemli düzeyde arttığı ($P < 0.05$) ve bu artışın lineer ilişkili olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$). Tüm üretim dönemi (0-42.günler) sonunda gruplar arasındaki EPEF değerleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Buna göre, en düşük ve en yüksek EPEF değerleri sırasıyla 333.74 ile kontrol ve 378.38 ile RUY200 gruplarında gözlenmiştir. Diğer yandan, RUY ilavesinin EPEF üzerine gösterdiği etkinin 200 mg/kg düzeyden sonra düşme eğilimi gösterdiği fakat bu düşüşün sayısal olarak kaldığı görülmüştür ($P > 0.05$). RUY ilaveli gruplar karşılaştırıldıklarında ise en düşük EPEF değeri 363.57 ile RUY50 gurunda gözlenmiş olup, diğer RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarının EPEF değerlerinin (sırasıyla 371.09, 378.38 ve 375.98) benzer olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Tüm üretim dönemi (0-42.günler) sonunda deneme grupları arasındaki ölüm oranı bakımından oluşan farklılığın istatistiki olarak önemsiz olduğu saptanmıştır ($P > 0.05$). En düşük ölüm oranı % 1.25 ile RUY50 ve RUY200 gruplarında gözlenmiş olup, kontrol grubunda % 2.5, RUY100 ve RUY400 gruplarında ise % 3.75 olarak belirlenmiştir.

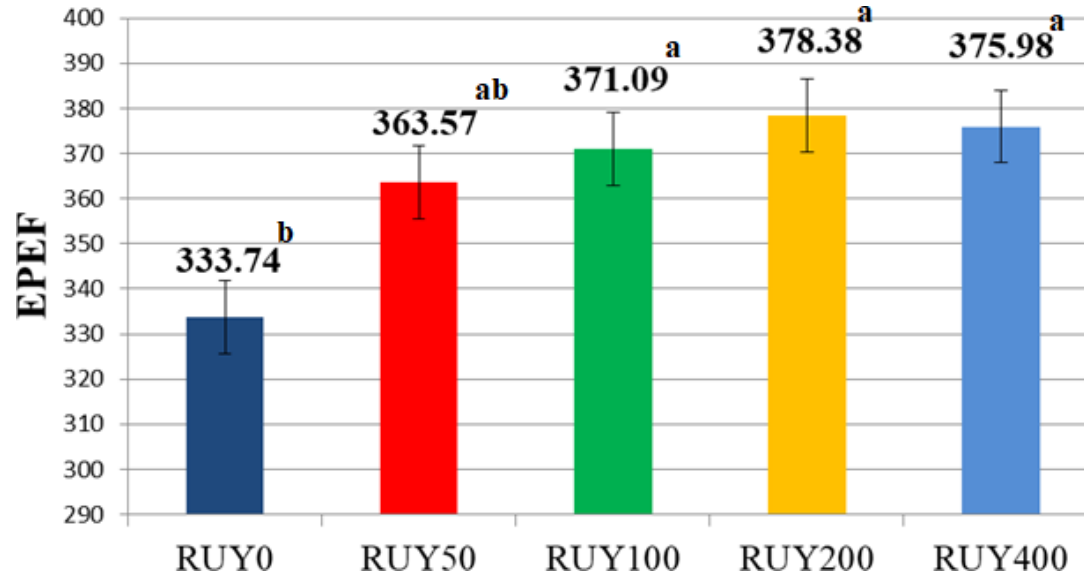
Çizelge 4.10. Etlik piliçlerde yeme rezene uçucu yağı ilavesinin Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) ve ölüm oranı üzerine etkisi.

0-42. günler	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
EPEF ³	333.74 ^b	363.57 ^{ab}	371.09 ^a	378.38 ^a	375.98 ^a	5.08	0.023*	0.028*	0.112
Ölen hayvan sayısı (adet)	2	1	3	1	3				
Ölüm oranı ⁴ , %	2.5	1.25	3.75	1.25	3.75		0.726		

Aynı satırda farklı harf (a-b) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata. ³Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (European Production Efficiency Factor, EPEF): [Yaşama gücü, % (0-42. günler) x canlı ağırlık, kg (42. gün) x 100] / [yaş (gün) x Yemden yararlanma oranı (0-42. günler)]. ⁴Parametrik olmayan Ki-kare testi kullanıldı.



Şekil 4.4. Gruplardaki ortalama EPEF değerleri (42. gün).

4.5 Karkas Randımanı ve Karkas Parametreleri

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin karkas randımanı, karkas ve karkas parça ağırlıkları ile bunların kesim öncesi CA yüzdesine olan (% CA) oranlarına ilişkin bulgular Çizelge 4.11’de verilmiştir. Grupların kesim öncesi ortalama CA’larının tüm RUY ilaveli gruplarda benzer, ancak kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ($P<0.05$) ve RUY’un düzey artışına paralel lineer etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Diğer yandan, ortalama sıcak karkas ağırlığı kontrol grubuna kıyasla, diğer tüm RUY ilaveli gruplarda daha yüksek bulunmuş ve bu etkinin lineer ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Fakat RUY ilaveli gruplar arasındaki sayısal artışın önemsiz olduğu bulunmuştur. Sıcak karkas randımanı ise en düşük kontrol (% 70.14) grubunda gözlenmiş olup, daha sonra RUY50, RUY100 ve RUY200 (sırasıyla % 71.15, 71.28 ve 71.41) gruplarında benzer, en yüksek de RUY400 (% 72.05) grubunda saptanmıştır ($P<0.05$). Bununla birlikte, karma yeme artan düzeyde RUY ilavesinin sıcak karkas randımanı üzerindeki lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($P<0.01$).

Gruplar ortalama göğüs kası ağırlığı bakımından karşılaştırıldıklarında ise RUY’un düzey artışına paralel olarak artığının ve kontrol grubuna kıyasla tüm RUY ilaveli gruplardaki artışın istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Ayrıca RUY’un göğüs kası ağırlığı üzerine lineer etkisinin anlamlı olduğu bulunmuştur ($P<0.01$). Diğer yandan, tüm RUY ilaveli grupların relatif göğüs kası ağırlıklarının benzer ancak kontrol grubuna kıyasla daha yüksek oldukları belirlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca bu artışın lineer ilişkili olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Grupların ortalama but ve relatif but ağırlıkları 502.24-527.50 g ile % 19.91-20.46 aralığında önemsiz düzeyde değiştiği saptanmıştır ($P>0.05$). Bununla beraber abdominal yağ ağırlığının 50 mg/kg sonraki diğer düzeylerde arttığı ve bu artışın RUY50 ve kontrol gruplarına kıyasla önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Relatif abdominal ağırlıkları ise RUY50, RUY100 ve RUY200 gruplarında (sırasıyla % 1.27, 1.26 ve 1.28) benzer, % 0.96 ile en düşük RUY50 grubunda ve daha sonrasında % 1.09 ile kontrol grubunda gözlenmiş olup, gruplar arasındaki bu farklılıklar önemli bulunmuştur (lineer etki, $P<0.05$).

Çizelge 4.11. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif karkas parametrelerine etkisi.

	Kontrol	RUY ¹ (mg/kg)				SEM ²	Önemlilik düzeyi		
		50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
Kesim öncesi CA, g	2455.50 ^b	2540.78 ^{ab}	2592.30 ^a	2608.00 ^a	2642.20 ^a	18.934	0.011*	0.002**	0.333
Sıcak karkas ağırlığı, g	1723.09 ^b	1824.28 ^a	1850.39 ^a	1887.76 ^a	1904.09 ^a	14.850	<0.001**	<0.001**	0.120
Sıcak karkas randımanı, %	70.14 ^b	71.15 ^{ab}	71.28 ^{ab}	71.41 ^{ab}	72.05 ^a	0.204	0.048*	0.008**	0.652
Göğüs kası ağırlığı, g	578.05 ^c	626.74 ^b	651.03 ^{ab}	665.06 ^{ab}	679.19 ^a	8.738	0.001**	<0.001**	0.202
Göğüs kası (% CA)	23.49 ^b	24.46 ^{ab}	25.12 ^{ab}	25.15 ^{ab}	25.68 ^a	0.241	0.035*	0.006**	0.428
But ağırlığı, g	502.24	508.34	511.34	521.82	527.50	3.848	0.223	0.116	0.833
But (% CA)	20.46	20.06	19.92	19.98	19.91	0.114	0.484	0.165	0.394
Abdominal yağ ağırlığı, g	27.59 ^{ab}	24.77 ^a	32.87 ^b	33.35 ^b	33.53 ^b	1.161	0.038*	0.208	0.859
Abdominal Yağ (% CA)	1.09 ^{ab}	0.96 ^a	1.27 ^b	1.26 ^b	1.28 ^b	0.043	0.073	0.027*	0.952

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-c) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.6 Organ Ağırlıkları

4.6.1 İç organ ağırlıkları ve relatif değerleri

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin iç organ ağırlıkları ve bunların kesim öncesi CA yüzdesine olan (% CA) oranlarına ilişkin bulgular Çizelge 4.12’de verilmiştir. Tüm RUY ilaveli grupların karaciğer ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ve bu farklılığın istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.05$) Diğer yandan RUY ilaveli gruplar arasında artan RUY düzeyine bağlı olarak gözlemlenen karaciğer ağırlığındaki sayısal artış, önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Ancak RUY artış düzeyinin, karaciğer ağırlığı üzerine lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Relatif karaciğer ağırlığı ise kontrol grubuna kıyasla, RUY düzeyartışıyla birlikte artmış ve gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (lineer etki, $P<0.05$). Gruplar, ortalama kalp ağırlığı bakımından karşılaştırıldığında kontrol, RUY50, RUY100 ve RUY200 (sırasıyla 14.58, 15.29, 15.89 ve 14.37 g) gruplarının benzer, 18.17 g ile RUY400 grubunun en yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Grupların mutlak kalp ağırlıklarına paralel olarak relatif kalp ağırlıklarının da diğer gruplara kıyasla en yüksek RUY400 grubunda olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$).

Gruplar dalak, bezel mide, taşlık ve pankreas ağırlıkları ile bunların relatif değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında, aralarındaki farklılığın önemsiz olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Bununla birlikte, bu iç organlara ait ortalama ağırlıklar ve relatif değerleri sırasıyla; 2.79-3.77 g ve % 0.11-0.14, 10.07-11.14 g ve % 0.39-0.43, 56.34-64.29 g ve % 2.25-2.47, 6.42-7.47 g ve % 0.25-0.29 aralığında değişim göstermiştir. Diğer yandan, karma yemlere artan düzeyde RUY ilavesinin bursa fabricus ağırlıklarını önemli düzeyde artırmış ($P<0.01$) ve bu artışın lineer ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Relatif bursa fabricus ağırlıklarının ise kontrol (% 0.16) ve RUY50 (% 0.17) gruplarında benzer ve diğer RUY100, RUY200 ve RUY400 (sırasıyla % 0.19, 0.23 ve 0.21) gruplarına kıyasla daha düşük oldukları saptanmıştır ($P<0.01$). Ayrıca RUY düzey artışı ile relatif bursa fabricus ağırlıkları arasındaki lineer ilişki anlamlı bulunmuştur ($P<0.01$).

Çizelge 4.12. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif iç organ ağırlıklarına etkisi.

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
Karaciğer ağırlığı, g	49.11 ^b	53.28 ^{ab}	55.13 ^a	58.30 ^a	57.49 ^a	0.950	0.012*	0.002**	0.238
Karaciğer (% CA)	2.00 ^b	2.08 ^{ab}	2.13 ^{ab}	2.32 ^a	2.17 ^{ab}	0.037	0.126	0.026*	0.288
Kalp ağırlığı, g	14.58 ^b	15.29 ^b	15.89 ^b	14.37 ^b	18.17 ^a	0.378	0.007**	0.119	0.157
Kalp (% CA)	0.59 ^b	0.60 ^b	0.62 ^{ab}	0.55 ^b	0.69 ^a	0.014	0.034*	0.542	0.105
Dalak ağırlığı, g	3.05	3.77	2.84	2.79	3.20	0.135	0.164	0.673	0.802
Dalak (% CA)	0.13	0.14	0.11	0.11	0.12	0.005	0.205	0.507	0.571
Bezel mide ağırlığı, g	10.09	10.07	11.14	10.99	11.05	0.212	0.277	0.174	0.547
Bezel mide (% CA)	0.41	0.39	0.43	0.42	0.42	0.007	0.492	0.781	0.753
Taşlık ağırlığı, g	56.34	57.71	59.77	64.29	61.78	1.165	0.204	0.118	0.581
Taşlık (% CA)	2.31	2.25	2.31	2.47	2.34	0.043	0.582	0.747	0.917
Pankreas ağırlığı, g	6.49	6.44	6.42	7.47	7.10	0.185	0.264	0.423	0.786
Pankreas (% CA)	0.27	0.25	0.25	0.29	0.27	0.008	0.501	0.887	0.570
Bursa Fabricius Ağırlığı (g)	3.87 ^c	4.23 ^{bc}	5.04 ^{ab}	5.92 ^a	5.65 ^a	0.188	<0.001**	0.001**	0.374
Bursa Fabricius (% CA)	0.16 ^b	0.17 ^b	0.19 ^{ab}	0.23 ^a	0.21 ^a	0.007	0.002**	0.004**	0.406

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-c) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.6.2 Bağırsak ağırlıkları ve relatif değerleri

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin bağırsak ve bağırsak segmet ağırlıkları ile bunların kesim öncesi CA yüzdesine olan (% CA) oranlarına ilişkin bulgular Çizelge 4.13'te verilmiştir. Karma yemlere artan düzeyde RUY ilavesinin grupların total ince bağırsak ağırlıklarını anlamlı düzeyde artırdığı, buna göre en düşük ve en yüksek değerler sırasıyla 70.89 g ile kontrol, 76.44 g ile RUY400 gruplarında olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Ayrıca artan düzeyde RUY ilavesinin total ince bağırsak ağırlıkları üzerine lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Grupların relatif total ince bağırsak değerleri ise % 2.86-2.90 aralığında değişmiş ve gruplar arasındaki bu farklılık rakamsal düzeyde olmuştur ($P>0.05$). Gruplara ait duodenum ağırlıkları karşılaştırıldığında ise, bu değerler kontrole göre RUY ilaveli gruplarda önemli derecede arttığı ($P<0.01$) ve bu artışın lineer ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Grupların ortalama duodenum ağırlıkları da 13.81-14.89 g aralığında değişmiş ve en düşük ile en yüksek değer sırasıyla kontrol ve RUY400 gruplarında saptanmıştır. Buna karşın, gruplar arasındaki relatif duodenum değerleri bakımından gözlemlenen farklılık önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Gruplar, jejunum ve ileum ağırlıkları bakımından karşılaştırıldıklarında ise karma yeme artan seviyede RUY ilavesine paralel olarak ağırlıkların anlamlı düzeyde arttığı ($P<0.01$) ve bu artışların lineer etkisinin önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.01$). Bununla birlikte, her iki parametre için en düşük ve en yüksek değerler sırasıyla kontrol ve RUY400 gruplarında görülmüştür. Gruplara ait ortalama jejunum ve ileum ağırlıkları ise sırasıyla 29.38-31.68 g ve 27.93-30.12 g aralığında değişmiştir. Buna karşın, relatif jejunum ve ileum değerleri de sırasıyla % 1.18-1.20 ile % 1.13-1.14 aralığında ve önemsiz olarak değiştiği görülmüştür ($P>0.05$). Grupların toplam kalın bağırsak ağırlıkları ve bunların relatif değerleri ise sırasıyla 17.95-19.97 g ve % 0.72-0.75 aralığında bulunmuş ve farklılığın önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$). Ayrıca gruplara ait sekum ve kolon ağırlıklarında rakamsal artış görülmesine rağmen bu artışların istatistiksel açıdan fark oluşturmadığı gözlenmiştir ($P>0.05$). Sekum ve kolon relatif değerlerinin ise sırasıyla % 0.48-0.52 ile 0.21-0.25 aralığında benzer olduğu görülmüştür ($P>0.05$).

Çizelge 4.13. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin mutlak ve relatif bağırsak ağırlıklarına etkisi.

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
Total ince bağırsak ağırlığı, g	70.89 ^c	73.87 ^b	74.50 ^{ab}	74.91 ^{ab}	76.44 ^a	0.417	<0.001**	<0.001**	0.276
Total ince bağırsak (% CA)	2.89	2.88	2.86	2.89	2.90	0.012	0.906	0.732	0.384
Duodenum ağırlığı, g	13.81 ^c	14.39 ^b	14.43 ^b	14.59 ^{ab}	14.89 ^a	0.081	<0.001**	<0.001**	0.422
Duodenum (% CA)	0.56	0.56	0.56	0.57	0.58	0.002	0.922	0.969	0.502
Jejunum ağırlığı, g	29.38 ^c	30.62 ^b	30.88 ^{ab}	31.05 ^{ab}	31.68 ^a	0.173	<0.001**	<0.001**	0.272
Jejunum (% CA)	1.20	1.19	1.18	1.20	1.20	0.011	0.907	0.806	0.404
İleum ağırlığı, g	27.93 ^c	29.10 ^b	29.35 ^{ab}	29.51 ^{ab}	30.12 ^a	0.165	<0.001**	<0.001**	0.277
İleum (% CA)	1.14	1.13	1.13	1.14	1.14	0.005	0.899	0.731	0.360
Total kalın bağırsak ağırlığı, g	17.95	18.45	18.80	19.37	19.97	0.563	0.826	0.409	0.932
Total kalın bağırsak (% CA)	0.73	0.72	0.72	0.74	0.75	0.017	0.977	0.882	0.724
Sekum ağırlığı, g	12.43	12.59	12.88	13.12	13.55	0.290	0.778	0.422	0.848
Sekum (% CA)	0.50	0.48	0.49	0.51	0.52	0.009	0.950	0.820	0.501
Kolon Ağırlığı (g)	5.51	5.86	6.13	6.25	6.73	0.338	0.855	0.393	0.969
Kolon (% CA)	0.21	0.22	0.23	0.24	0.25	0.011	0.947	0.555	0.983

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-c) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

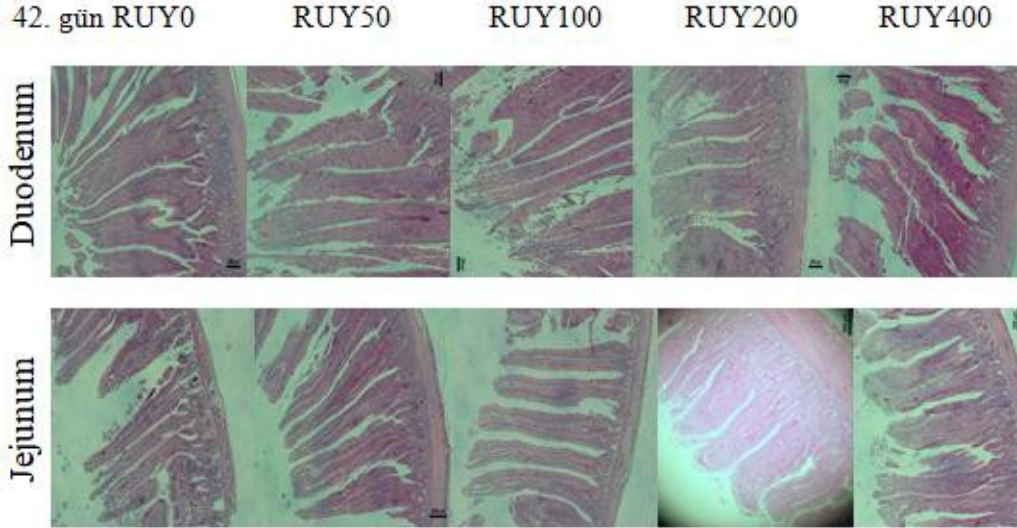
4.7 İnce Bağırsak Morfolojisi

4.7.1 Proksimal ince bağırsak morfolojisi

Etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin proksimal (duodenum ve jejunum) ince bağırsak morfolojisine etkileri Çizelge 4.14'te, ışık mikroskobu görüntüleri de Şekil 4.5'te verilmiştir. Duodenum villus yüksekliğinin (VY) kontrol, RUY50, RUY100 ve RUY200 (sırasıyla 1887.71, 1897.44, 1971.38 ve 1963.99 μm) grupları arasında benzer olduğu ancak RUY400 (2019.20 μm) grubuna kıyasla villus yüksekliklerinin daha az olduğu bulunmuştur ($P<0.01$). Diğer yandan, RUY düzey artışına paralel olarak villus yüksekliği üzerindeki lineer etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Grupların ortalama duodenum kript derinliği (KD) ise karma yeme artan düzeyde RUY ilavesine bağlı olarak azalmış ve gruplar arasındaki farklılıklar önemli oluşmuştur (lineer etki, $P<0.05$). Duodenum VY/KD oranı da RUY düzey artışına paralel olarak artmış ve en yüksek VY/KD oranı RUY400 grubunda gözlenmiştir ($P<0.01$). Bununla birlikte kontrol, RUY50, RUY100 ve RUY200 gruplarındaki bu oran benzer olmasına rağmen aralarındaki rakamsal artışın lineer ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$).

Gruplara ait duodenum villus genişliği 258.17-306.65 μm aralığında değişmiş ve ortalamalar arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Ancak, RUY düzey artışının villus genişliği üzerindeki lineer etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Duodenum villus alanı 2.02 mm^2 ile en yüksek RUY400 grubunda saptanmış olup, bunu sırasıyla 1.75 mm^2 ile RUY200, 1.67 mm^2 ile RUY100, 1.62 mm^2 ile RUY50 ve 1.54 mm^2 ile kontrol grupları takip etmiştir ($P<0.05$). Nitekim RUY düzey artışının artan villus alanı üzerine lineer etkisinin anlamlı olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Tüm RUY ilaveli gruplarda tunika mukoza kalınlığının ise kontrol grubuna kıyasla önemli derecede arttığı ($P<0.01$), bu artışın lineer ($P<0.05$) ve kuadratik ($P<0.01$) ilişkili olduğu görülmüştür. Diğer yandan, RUY ilaveli gruplar arasındaki sayısal artış önemsiz bulunmuştur. Muskularis mukoza kalınlığını ise RUY düzey artışıyla beraber sayısal olarak artmış ancak bu artışın önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$).

Gruplara ait jejunum villus yükseklikleri (VY) incelendiğinde ise RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarında (sırasıyla 1659.47, 1603.08 ve 1731.10 μm) benzer ve en yüksek olduğu, bunu sırasıyla RUY50 (1438.73 μm) ve kontrol (1228.50 μm) gruplarının takip ettiği görülmüştür ($P<0.01$). Ayrıca, etlik piliç karma yemlerine artan düzeyde RUY ilavesinin jejunum villus yükseklikleri üzerine lineer ($P<0.01$) ve kuadratik ($P<0.05$) etkisinin önemli olduğu bulunmuştur. Grupların ortalama jejunum kript derinliklerinin (KD) de 243.77-279.57 μm aralığında değiştiği fakat bu farklılığın rakamsal düzeyde olduğu görülmüştür ($P>0.05$). Jejunum VY/KD oranı ise RUY düzey artışına paralel olarak artmış ancak bu artışın önemsiz olduğu bulunmuştur ($P>0.05$). Gruplar jejunum villus genişliği ve villus alanı bakımından karşılaştırıldıklarında, tüm RUY ilaveli gruplarda kontrol grubuna kıyasla her iki parametrenin de önemli derecede arttığı, bu artışların lineer ve kuadratik ilişkili olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Diğer yandan, RUY ilavesinin tunika mukoza kalınlığını artırdığını ancak bu farklılığın anlamlı olmadığı görülmüştür ($P>0.05$). Bununla birlikte, en yüksek muskularis mukoza kalınlığı 38.59 μm ile RUY200, en düşük 21.92 μm ile kontrol gruplarında gözlenmiştir ($P<0.01$). RUY düzey artışının muskularis mukoza kalınlığı üzerine lineer ve kuadratik etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).



Şekil 4.5. Işık mikroskobu altında çekilen gruplara ait proksimal ince bağırsak görüntüleri.

Çizelge 4.14. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin proksimal ince bağırsak morfolojisine etkisi.

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi		
	Kontrol	50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
Duodenum									
Villus Yüksekliği (VY), µm	1887.71 ^b	1897.44 ^b	1971.38 ^b	1963.99 ^b	2091.20 ^a	19.27	0.001**	0.002**	0.292
Kript Derinliği (KD), µm	306.05 ^b	291.85 ^{ab}	281.85 ^{ab}	269.20 ^{ab}	235.59 ^a	9.854	0.180	0.018*	0.608
VY/KD, µm	6.37 ^b	7.08 ^b	7.45 ^b	7.92 ^{ab}	9.22 ^a	0.256	0.003**	0.010**	0.505
Villus Genişliği, µm	258.17 ^b	264.92 ^{ab}	270.73 ^{ab}	280.68 ^{ab}	306.65 ^a	6.684	0.141	0.016*	0.436
Villus Alanı, mm ²	1.54 ^b	1.62 ^b	1.67 ^{ab}	1.75 ^{ab}	2.02 ^a	0.056	0.044*	0.034*	0.359
Tunika mukoza kalınlığı, µm	426.48 ^b	487.84 ^a	537.93 ^a	542.54 ^a	505.67 ^a	10.381	0.002**	0.001**	0.003**
Muskularis mukoza kalınlığı, µm	34.53	37.35	37.78	37.83	36.88	0.687	0.562	0.065	0.175
Jejunum									
Villus Yüksekliği (VY), µm	1228.50 ^c	1438.73 ^b	1659.47 ^a	1603.08 ^a	1731.10 ^a	33.360	<0.001**	<0.001**	0.034*
Kript Derinliği (KD), µm	279.57	243.77	268.93	272.03	263.81	9.855	0.837	0.684	0.696
VY/KD, µm	5.95	5.94	6.11	6.05	6.63	0.182	0.757	0.794	0.556
Villus Genişliği, µm	201.22 ^b	284.04 ^a	286.35 ^a	310.23 ^a	283.68 ^a	7.944	<0.001**	0.001**	0.001**
Villus Alanı, mm ²	0.79 ^b	1.29 ^a	1.48 ^a	1.58 ^a	1.56 ^a	0.061	<0.001**	<0.001**	0.008**
Tunika mukoza kalınlığı, µm	398.53	388.43	395.01	495.93	422.88	21.552	0.474	0.721	0.865
Muskularis mukoza kalınlığı, µm	21.92 ^d	31.97 ^c	33.04 ^{cb}	38.59 ^a	37.46 ^{ab}	1.091	<0.001**	<0.001**	0.007**

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

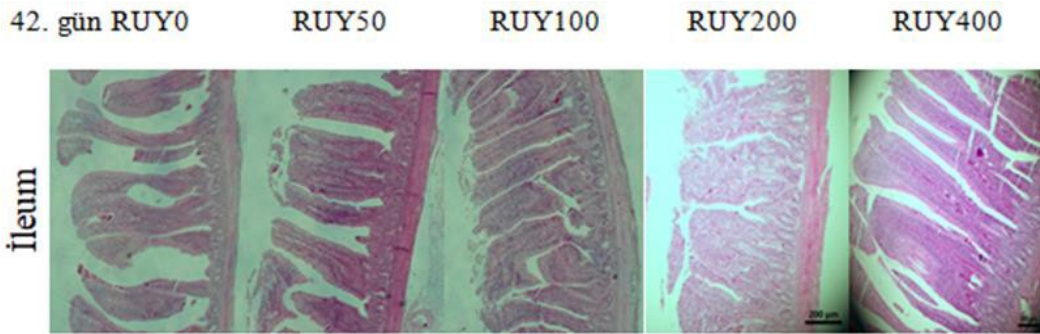
Aynı satırda farklı harf (a-d) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.7.2 Distal ince bağırsak morfolojisi

Etlik piliç karma yemlerine farklı dozlarda (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin distal (ileum) ince bağırsak morfolojisine etkileri Çizelge 4.15'te, ışık mikroskobu görüntüleri de Şekil 4.6'te verilmiştir. Gruplar ileum villus yüksekliği (VY) bakımından karşılaştırıldıklarında en yüksek 1175.09 μm ile RUY400 grubunda, daha sonra RUY200 ile RUY100 gruplarında (sırasıyla 1103.96 ve 1065.79 μm) benzer ve en düşük RUY50 ile kontrol gruplarında (sırasıyla 1057.10 ve 1049.73 μm) gözlenmiştir ($P<0.01$). Ayrıca, RUY düzeyi artışıyla birlikte ileum villus yüksekliğinde görülen lineer ve kuadratik etkinin önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.01$). Gruplara ait ileum kript derinlikleri (KD) ise 233.75-287.41 μm aralığında değişmiş ve bu farklılıklar istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). VY/KD oranı da artan RUY düzeyine paralel olarak sayısal olarak artmış ancak bu artışın önemli olmadığı görülmüştür ($P<0.05$). Villus genişliği ise 193.65-230.70 μm aralığında değişmiş ve grup ortalamalarına ait değerler benzer olmuştur ($P>0.05$). Diğer yandan, kontrol grubuna kıyasla tüm RUY ilaveli gruplarda villus alanının önemli düzeyde arttığı, bu artışın lineer ve kuadratik ilişkili olduğu görülmüştür ($P<0.01$). Grupların tunika mukoza ve muskularis mukoza kalınlıkları sırasıyla 332.93-396.18 μm ve 28.35-36.38 μm arasında olmuştur. Buna göre her iki parametreye ait değerlerin RUY ilavesiyle birlikte arttığı gözlenmiştir. Ancak ortalamalar arasındaki farklılık tunika mukoza kalınlığı için önemsiz ($P>0.05$), muskularis mukoza kalınlığı için ise önemli bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 4.6. Işık mikroskobu altında çekilen gruplara ait distal ince bağırsak görüntüleri.

Çizelge 4.15. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin distal ince bağırsak morfolojisine etkisi.

	Kontrol	RUY ¹ (mg/kg)				SEM ²	Önemlilik düzeyi		
		50	100	200	400		RUY	Lineer	Kuadratik
İleum									
Villus Yüksekliği (VY), µm	1049.73 ^c	1057.10 ^c	1065.79 ^{bc}	1103.96 ^b	1175.09 ^a	8.433	<0.001**	0.001**	0.004**
Kript Derinliği (KD), µm	287.41	246.10	236.51	235.75	233.75	8.472	0.233	0.056	0.218
VY/KD, µm	4.35	4.53	4.92	5.25	5.22	0.177	0.434	0.217	0.752
Villus Genişliği, µm	193.65	197.79	194.64	230.70	222.17	6.509	0.223	0.362	0.802
Villus Alanı, mm ²	0.28 ^d	0.66 ^c	0.67 ^{bc}	0.80 ^{ab}	0.83 ^a	0.033	<0.001**	<0.001**	0.001**
Tunika mukoza kalınlığı, µm	332.93	341.37	376.95	387.22	396.18	15.726	0.641	0.289	0.853
Muskularis mukoza kalınlığı, µm	28.35 ^b	29.84 ^b	30.22 ^b	32.09 ^{ab}	36.38 ^a	0.906	0.049*	0.121	0.332

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-c) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar *P<0.05 ve/veya **P<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata.

4.8 Bağırsak Mikroflorası

Etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin jejunum ve ileum ince bağırsak mikroflora kompozisyonuna etkileri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Jejunumdaki gram negatif bakterileri sınıfında yer alan *E. coli* O-157:H7 ve *Salmonella* spp. bakımından deneme grupları arasında fark görülmemiştir ($P>0.05$). Diğer yandan RUY ilaveli gruplarda artan düzeye paralel olarak *E. coli* O-157:H7 sayısı azalmış ve RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarında tespit edilmemiştir. Deneme grupları gram pozitif bakterileri sınıfından *Clostridium perfringens* ile karşılaştırıldığında $0.68 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile kontrol grubunda en yüksek, $0.34 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile RUY50, RUY100 ve RUY200 grupları arasında benzer olduğu, RUY400 grubunda ise saptanamadığı ve bu azalışın önemli olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$). Benzer şekilde diğer bir, gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* RUY200 ve RUY400 gruplarında tespit edilmemiş ve deneme grupları arasındaki fark önemsiz olmuştur ($P>0.05$). *Lactobacillus* spp. ise en yüksek RUY400 ($6.21 \log_{10}$ kopya sayısı/g) grubunda saptanmış, bunu sırasıyla RUY100 ($5.84 \log_{10}$ kopya sayısı/g), RUY200 ($5.59 \log_{10}$ kopya sayısı/g), RUY50 ($5.40 \log_{10}$ kopya sayısı/g) ve kontrol ($4.98 \log_{10}$ kopya sayısı/g) grupları takip etmiş olup gruplar arasındaki bu farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

Deneme grupları ileumdaki *E. coli* O-157:H7, *Salmonella* spp. ve *Clostridium perfringens* bakımından karşılaştırıldığında, aralarındaki farklılığın önemli olmadığı saptanmıştır ($P>0.05$). *Staphylococcus aureus* $0.62 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile kontrol grubunda en yüksek olup, bunu $0.16 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile RUY50 grubu izlemiş ve RUY100, RUY200 ve RUY400 gruplarında ise tespit edilmemiştir. Nitekim gruplar arasındaki bu farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). *Lactobacillus* spp. ise $6.72 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile en yüksek RUY400 grubunda, RUY50, RUY100 ve RUY200 gruplarında benzer (sırasıyla 5.78 , 6.17 ve $6.20 \log_{10}$ kopya sayısı/g) ve $5.26 \log_{10}$ kopya sayısı/g ile en düşük kontrol gruplarında saptanması istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Sonuç olarak RUY düzey artışının ince bağırsağın hem proksimalinde hem de distalinde yararlı bakterileri aktive ettiği görülmüştür.

Çizelge 4.16. Karma yeme rezene uçucu yağı ilavesinin etlik piliçlerin bağırsak mikroflora kompozisyonuna etkisi (log₁₀ kopya sayısı/g).

	RUY ¹ (mg/kg)					SEM ²	Önemlilik düzeyi
	Kontrol	50	100	200	400		
Jejunum							
* <i>E. coli O-157:H7</i>	0.16	0.16	ND ³	ND	ND	0.045	0.570
* <i>Salmonella</i> spp.	0.73	0.71	0.34	0.85	0.34	0.173	0.805
* <i>Clostridium perfringens</i>	0.68	0.34	0.34	0.34	ND	0.139	0.663
* <i>Staphylococcus aureus</i>	0.16	0.16	0.31	ND	ND	0.024	0.663
<i>Lactobacillus</i> spp.	4.98 ^b	5.40 ^{ab}	5.84 ^{ab}	5.59 ^{ab}	6.21 ^a	0.138	0.047
İleum							
* <i>E. coli O-157:H7</i>	ND	0.16	ND	ND	ND	0.031	0.406
* <i>Salmonella</i> spp.	1.08	0.38	0.76	ND	0.85	0.179	0.368
* <i>Clostridium perfringens</i>	1.03	1.03	1.03	0.34	0.43	0.178	0.474
* <i>Staphylococcus aureus</i>	0.62 ^b	0.16 ^{ab}	ND ^a	ND ^a	ND ^a	0.066	0.008
<i>Lactobacillus</i> spp.	5.26 ^b	5.78 ^{ab}	6.17 ^{ab}	6.20 ^{ab}	6.72 ^a	0.159	0.046

Veriler, ana faktör'ün (RUY) her bir dozu başına 10 hayvanın ortalamasıdır.

Aynı satırda farklı harf (a-b) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir.

¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır.

²Havuzlanmış (pooled) standart hata. ³ND= Tespit edilmedi (Not Detected).

*Parametrik olmayan Kruskal-Wallis Test kullanıldı. Farklı harfler (a-b), aynı satır içindeki önemli farklılıkları gösterir (Mann-Whitney U Testi, P<0.05).

4.9 İnce Bağırsak Transkriptom Profili

4.9.1 Veri işleme ve gen ekspresyon verilerinin deney kalitesinin değerlendirilmesi

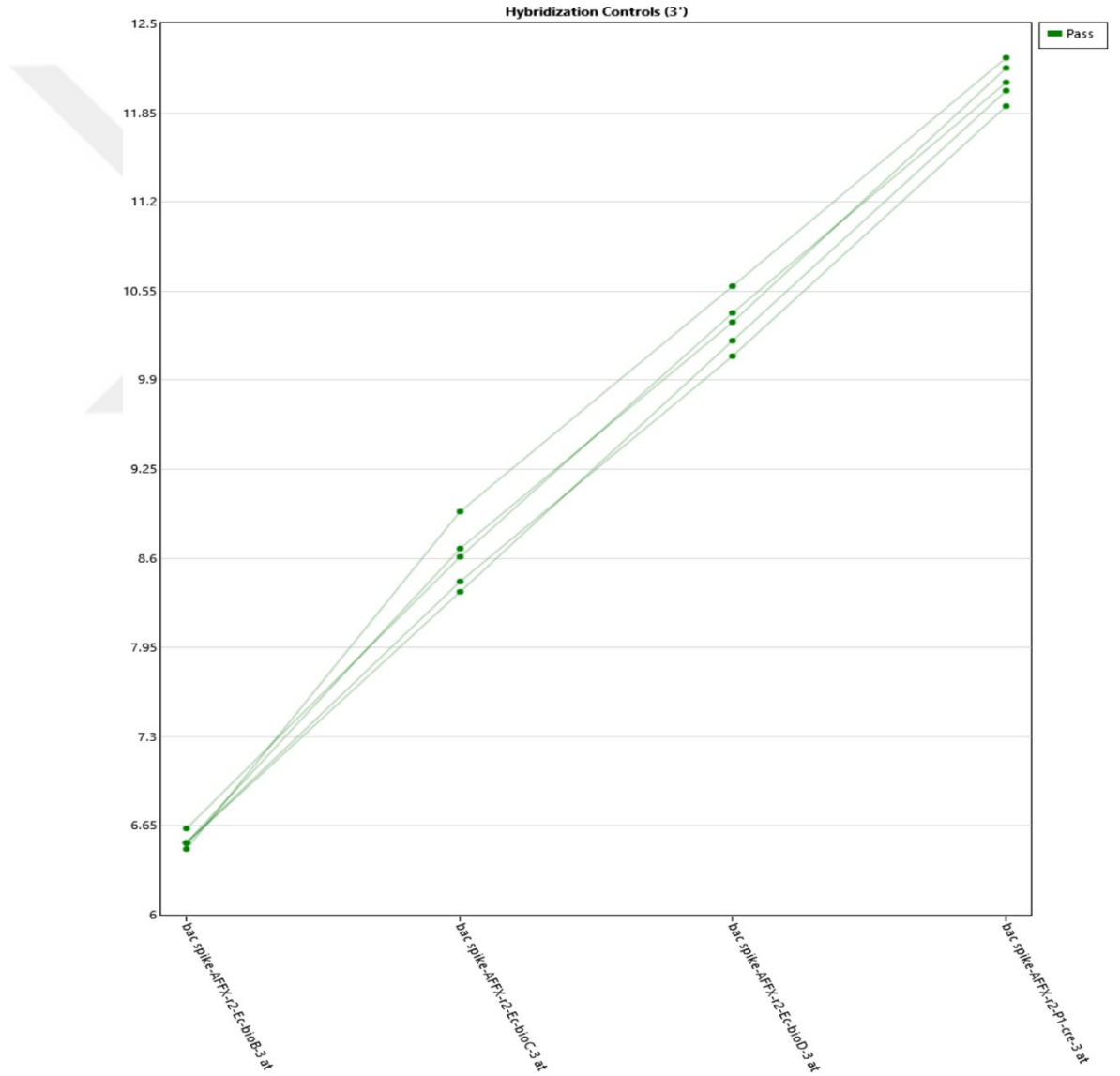
Mikroarray analizinde gen ekspresyon verilerinin deney kalitesi kontrolü, hibridizasyon kontrolleri, internal kontrol genleri, çeşitli kalite ölçütleriyle değerlendirilmektedir. Bu ölçüt değerlerinin değerlendirilmesi için, TAC yazılımında, ölçümleri görüntülemek ve grafiklendirmek için birçok araç sağlanmıştır. Bunlardan biri olan Robust Multichip Analysis (RMA) algoritması, problemlere özgü afinite farklılıklarının etkisini en aza indirmek için muamele ve kontrol grupları arasındaki küçük değişikliklere duyarlılığı artıran güçlü bir lineer model sağlar. Analiz edilen örneklerde kontrol ölçütlerine (Pm_Mean, Pos_vs_neg_auc, Bgrd_mean) ait değerler Çizelge 4.17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.17. Mikroarray analizi örneklerine ait kalite kontrol ölçüt değerleri.

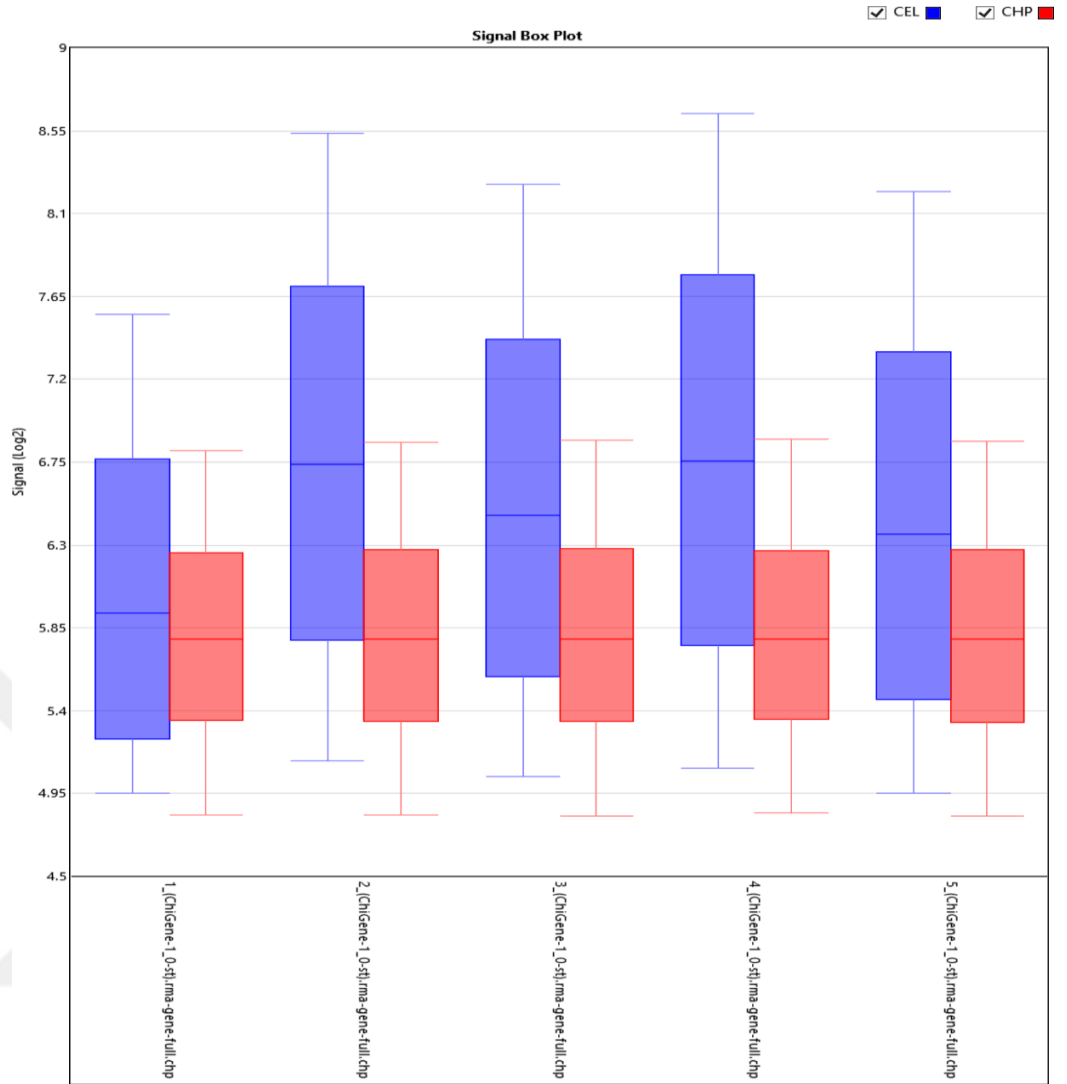
Deneme grupları	Pm_Mean	Pos_vs_neg_auc	Bgrd_mean
Kontrol	130.45	0.67	57.72
RUY50	241.89	0.62	79.26
RUY100	205.83	0.64	70.48
RUY200	256.40	0.63	92.43
RUY400	199.49	0.63	75.57

Pm_Mean, normalizasyon öncesinde çip üzerinde yer alan tüm problemler (perfect match probes) için elde edilen ortalama yoğunluk sinyalidir ve alınan sinyalin olağandışı şekilde sönük veya parlak olup olmadığını belirlemek için kullanılır. Bgrd_mean, arka plandan alınan sinyalleri hesaplamak için kullanılan problemlerin ortalama sinyal değerleridir. Pm_mean ve Bgrd_Mean genellikle ilişkili ölçütlerdir; bu nedenle, yüksek bir Bgrd_mean değerine sahip düşük bir Pm_mean değeri, analiz için zayıf verilerin göstergesi olmaktadır. Pos_vs_neg_auc değeri, pozitif kontrollere ait sinyal değerlerini negatif kontrollerle karşılaştıran ve doğru pozitiflerin yanlış pozitiflere olan oranını gösteren bir alıcı işletim karakteristik eğrisi (ROC-Receiver Operator Curve) için eğrinin altında kalan alandır (AUC- The Area Under the Curve). ROC eğrisi, negatif kontrollerin yanlış pozitiflerin bir

ölçüsü olduğu ve pozitif kontrollerin gerçek pozitiflerin bir ölçüsü olduğu varsayımıyla prob seti sinyallerinin pozitif kontrolleri negatif kontrollerden ne kadar iyi ayırdığının değerlendirilmesiyle oluşturulur. AUC değeri 1'e ne kadar yakınsa ayırım o kadar iyi yapılmış demektir. TAC 4.0 yazılımı, çip üzerinde yer alan prob hibridizasyon kontrol değerlerini otomatik olarak okuyarak sonucu tüm örnekler için "Başarılı (Pass)" veya "Başarısız (Out)" olarak göstermektedir. Çalışmada, mikroarray analizindeki tüm örnekler, 3' ve 5' hibridizasyon kontrollerinden gelen sinyal verileri doğrultusunda "başarılı" olarak bulunmuştur (Şekil 4.7 ve 4.8).



Şekil 4.7. Mikroarray analiz örneklerinde 3' hibridizasyon kontrolünden gelen sinyal verileri.

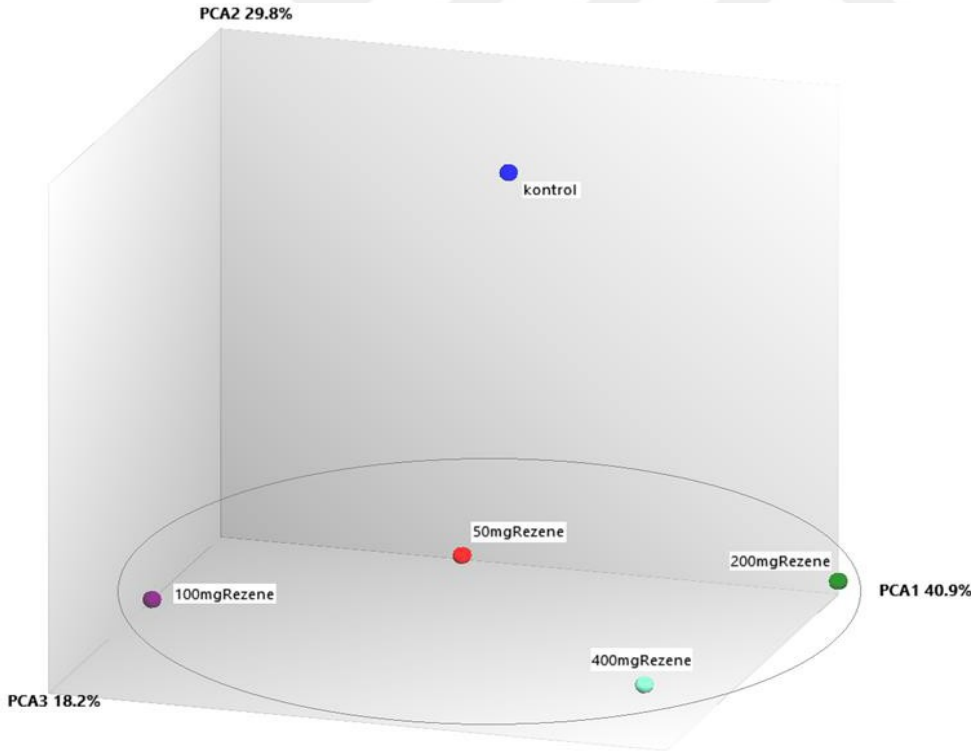


Şekil 4.9. Deneme gruplarına ait gen çip üzerindeki prob sinyal şiddetlerinin logaritmik dağılımı sırasıyla; 1) Kontrol, 2) RUY50, 3) RUY100 4) RUY200 ve 5) RUY400.

Normalleştirme adımından önce ve sonra kutu grafiklerinin çizilmesi, mikroarray analizinde gruplar arasındaki sinyal şiddeti farklarının ortadan kalktığını başarılı bir şekilde gösteren, normalleştirme adımının kontrol edilmesini sağlar. Şekil 4.9’da normalizasyondan önceki sinyal şiddetleri mavi; normalizasyondan sonraki sinyal şiddetleri kırmızı ile gösterilmiştir. Sinyal şiddeti değerleri incelendiğinde normalizasyon öncesine ait değerlerde gruplar arası farklılıklar mevcutken; normalizasyon sonrası bu farklılıkların ortadan kalktığı görülmektedir.

4.9.2 Verilerin karşılaştırılmalı analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Mikroarray analizi sonucunda kontrol ve RUY ilaveli gruplara ait veriler elde edilmiştir. Her bir deneme grubu tek tek normalize edildikten sonra kontrol ve RUY ilaveli gruplar arasında farklı oranda eksprese edilen gen ekspresyonu profilleri içeren gen listeleri oluşturulmuştur. Nitekim ≥ 1.2 fold üzerindeki genler up-regüle ≤ -1.2 fold genler ise down regüle olarak değerlendirilmiştir. Buna göre kontrol grubuna kıyasla, RUY50 grubunda 261 genin (206 up-regüle, 55 down-regüle), RUY100 grubunda 302 genin (218 up-regüle 84 down-regüle), RUY200 grubunda 292 genin (231 up-regüle, 61 down-regüle) ve RUY400 grubunda 348 genin (268 up-regüle, 80 down-regüle) mRNA ekspresyon seviyelerinin değiştiği saptanmıştır. Temel bileşenler analizi sonucunda ise farklı düzeylerde (50, 100, 200 ve 400 mg/kg) RUY ilavesi yapılan gruplara ait gen ekspresyon profillerinin belirgin bir şekilde kontrol grubundan ayrıldığı Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Üçlü temel bileşenler analizi (Principle Component Analysis).

4.9.3 PANTHER sınıflandırma sistemi sonuçlarının değerlendirilmesi

RUY (50, 100, 200 ve 400 mg/kg) ilaveli gruplara ait yukarı (up) veya aşağı (down) regüle olan gen listelerinin PANTHER sınıflandırma sistemine yüklenilmesi sonucunda genlerin dahil olduğu moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıfı gruplandırılmasına ait bulgular aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

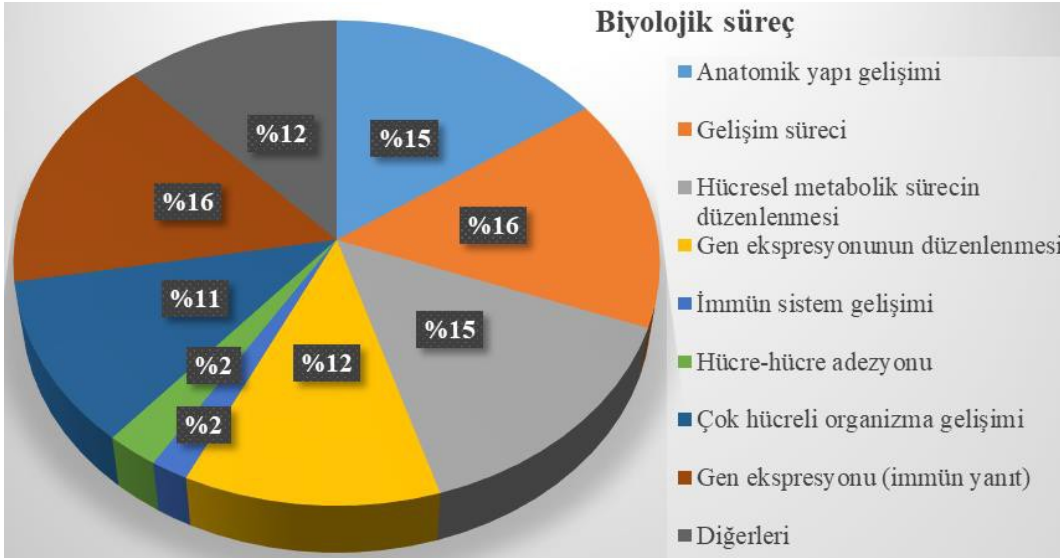
4.9.3.1 RUY50 grubunun kontrol grubuna göre PANTHER sınıflandırma sistemi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

RUY50 gruplarına ait mikroarray analizi sonucunda elde edilen gen listesindeki hem up hem de down regüle olan genler için moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıflandırması analizleri gerçekleştirilmiştir. RUY50 grubundaki upregüle genlerde yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde genlerin, katalitik aktivite (% 25), organik halkalı bileşik bağlayıcı (% 16), nükleik asit bağlayıcı (% 13), transkripsiyon regülatör aktivitesi (% 10), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi (% 9), RNA polimeraz II'ye özgü DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi (% 8), iyon bağlayıcı (% 8), sitoskeletal protein bağlama (% 5) ve yapısal molekül aktivitesi (% 4) olarak sınıflandığı görülmektedir (Şekil 4. 11).



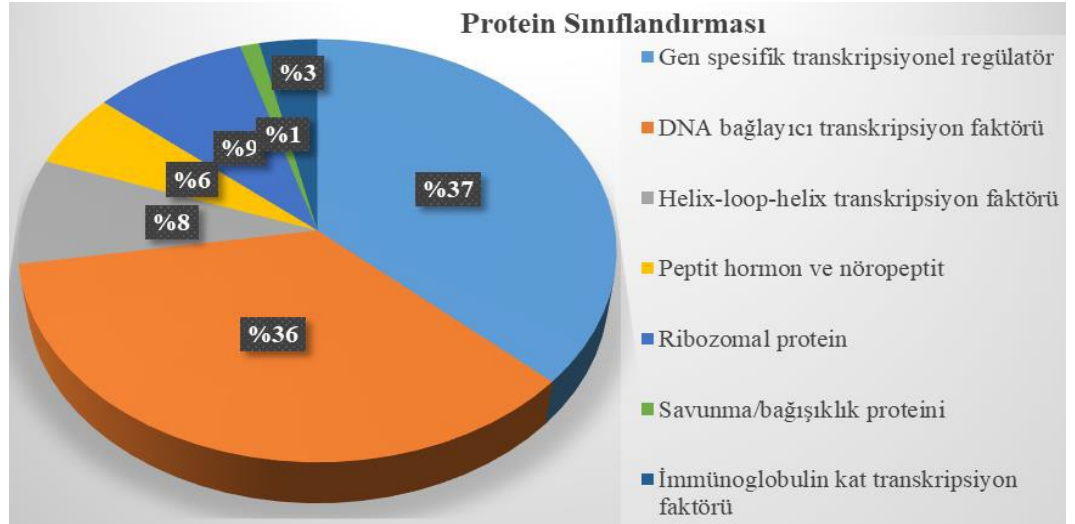
Şekil 4.11. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile moleküler fonksiyon analizi.

RUY50 grubundaki upregüle genlerde yapılan biyolojik süreç analizi incelendiğinde genlerin, gelişim süreci (% 16), gen ekspresyonu (immün yanıt) (% 16), anatomik yapı gelişimi (% 15), hücrel metabolik sürecin düzenlenmesi (% 15), gen ekspresyonunun düzenlenmesi (% 12), çok hücreli organizma gelişimi (% 11), immün sistem gelişimi (%2), hücre-hücre adezyonu (%2) ve diğerleri (% 3) sınıflarında yer almaktadır (Şekil 4.12).



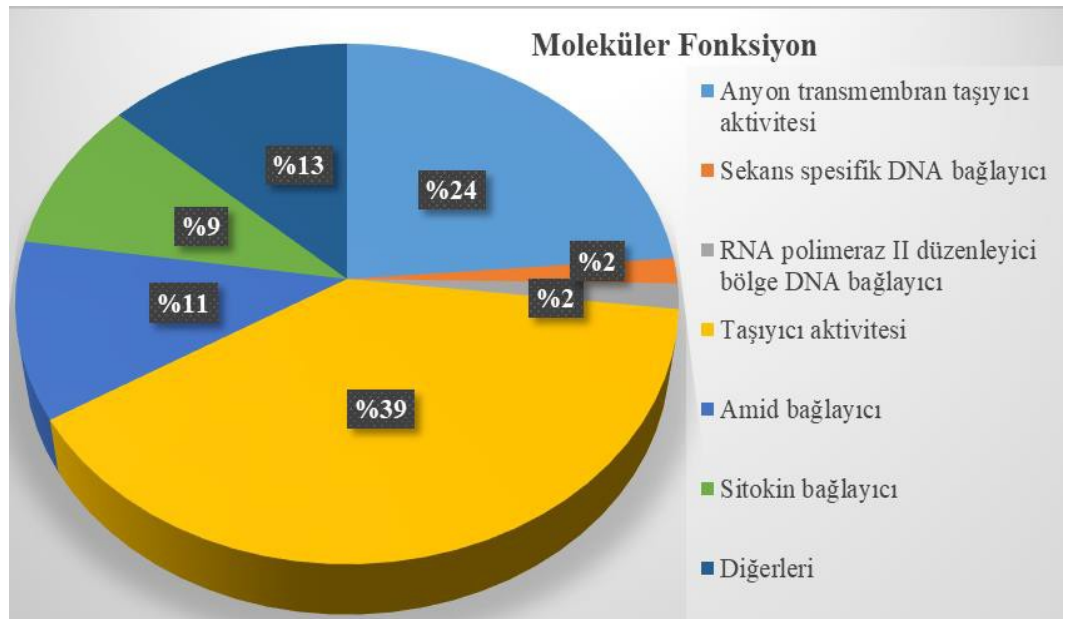
Şekil 4.12. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile biyolojik süreç analizi.

RUY50 grubundaki upregüle genlerin protein sınıflandırması analizinde, genlerin genel olarak gen spesifik transkripsiyonel regülatör (% 37), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü (% 36), ribozomal protein (% 9), Helix-loop-helix transkripsiyon faktörü (% 8), peptid hormon ve nöropeptid (% 6), ve immüoglobulin kat transkripsiyon faktörü (% 3) ve savunma/bağışıklık proteini (% 1) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.13)



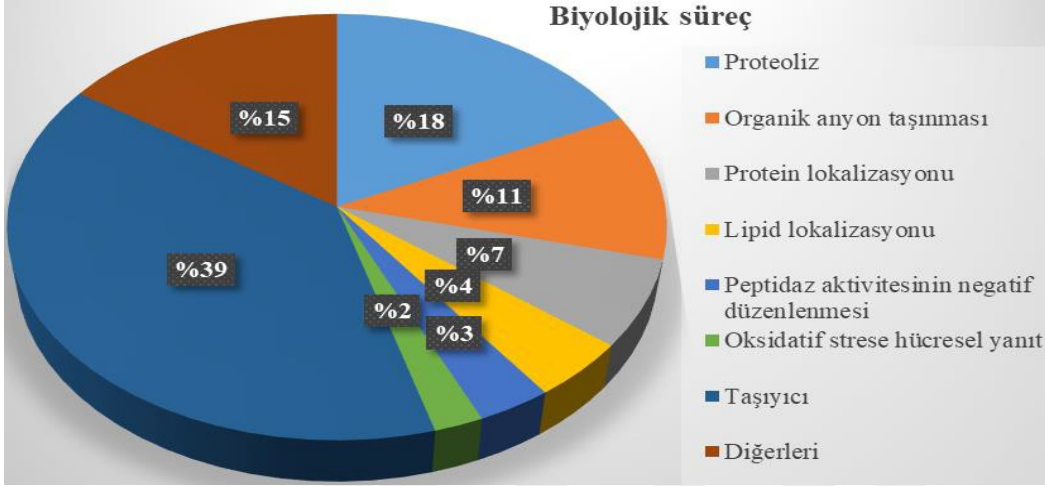
Şekil 4.13. RUY50 grubundaki upregüle genlerin PANTHER ile protein sınıflandırılması analizi.

RUY50 grubundaki downregüle ifade edilen genlerle yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde genlerin, taşıyıcı aktivitesi (% 39), anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 24), amid bağlayıcı (% 11), sitokin bağlayıcı (% 9), RNA polimeraz II düzenleyici bölge DNA bağlayıcı (% 2), sekans spesifik DNA bağlayıcı (% 2) ve diğerleri (% 13) olarak gruplandırıldığı görülmektedir (Şekil 4.14).



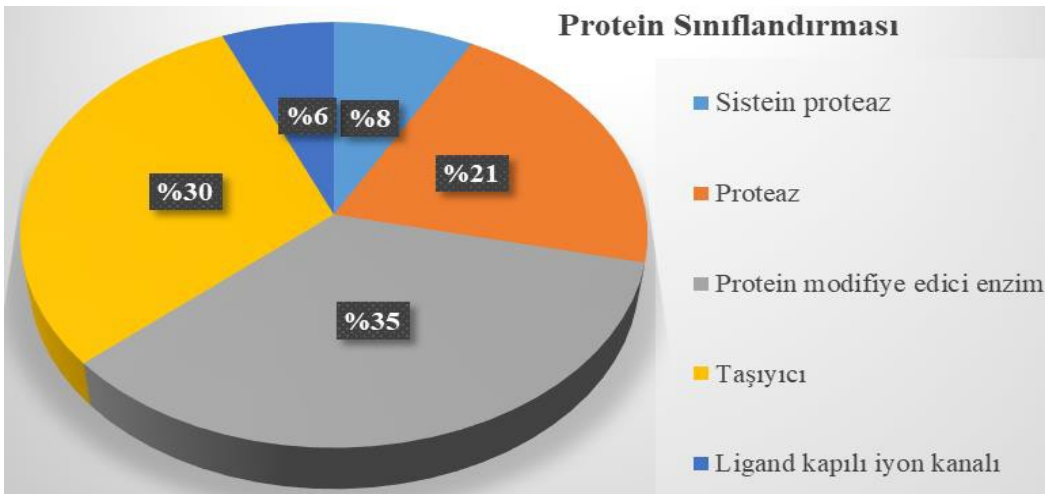
Şekil 4.14. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile moleküler fonksiyon analizi.

Şekil 4.15'te yer alan RUY50 grubundaki downregüle genlerde yapılan biyolojik süreç analizi incelendiğinde genlerin, taşıyıcı (% 39), proteoliz (% 18), organik anyon taşınması (% 11), protein lokalizasyonu (% 7), lipid lokalizasyonu (% 4), peptidaz aktivitesinin negatif düzenlenmesi (% 3), oksidatif strese hücre sel yanıt (% 2) ve diğerleri (% 15) sınıflarında yer aldığı görülmektedir.



Şekil 4.15. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile biyolojik süreç analizi.

Protein sınıflandırması analizinde, RUY50 grubundaki downregüle genler protein modifiye edici enzim (% 35), taşıyıcı (% 30), proteaz (% 21), sistein proteaz (% 8) ve ligand kapılı iyon kanalı (% 6) sınıflarında yer almıştır (Şekil 4.16).

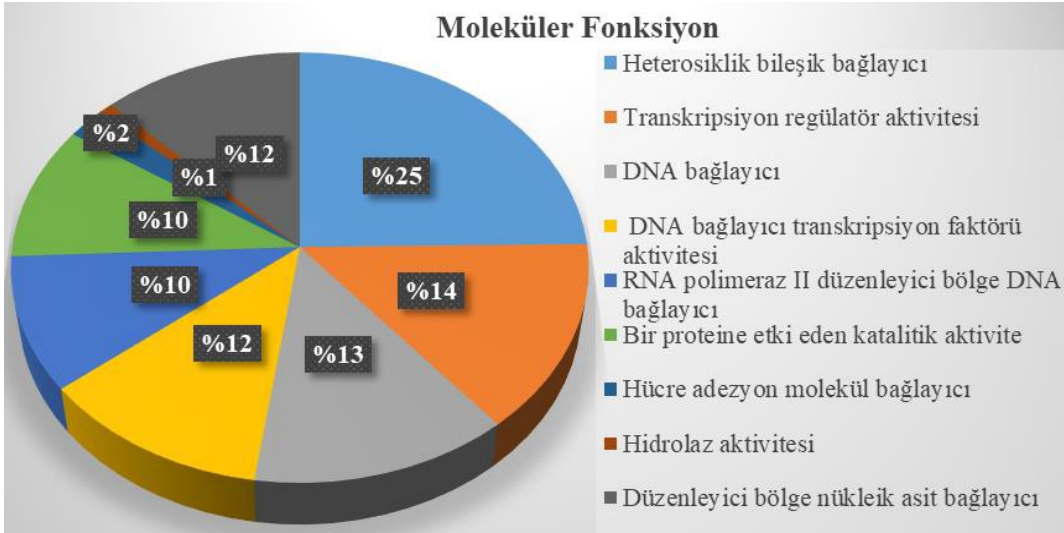


Şekil 4.16. RUY50 grubundaki downregüle genlerin PANTHER ile protein sınıflandırması analizi.

Mikroarray analiz sonucunda genel olarak, karma yeme 50 mg/kg düzeyinde RUY ilavesi yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla katalitik aktivite, organik halkalı bileşik ve nükleik asit bağlayıcı ile transkripsiyon regülatör aktivitesi gibi moleküler fonksiyon; anatomik yapı ve çok hücreli organizma gelişimi, gelişim süreci, çok hücreli organizma gelişimi ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi gibi biyolojik süreç; gen spesifik transkripsiyonel regülatör ve DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü gibi protein sınıflarındaki genlerin upregüle olduğu saptanmıştır. Diğer yandan anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi/taşıyıcı aktivitesi gibi moleküler fonksiyon; proteoliz ve taşıyıcı gibi biyolojik süreç; proteaz, protein modifiye edici enzim ve taşıyıcı gibi protein sınıflarında yer alan genlerin ise down regüle olduğu tespit edilmiştir.

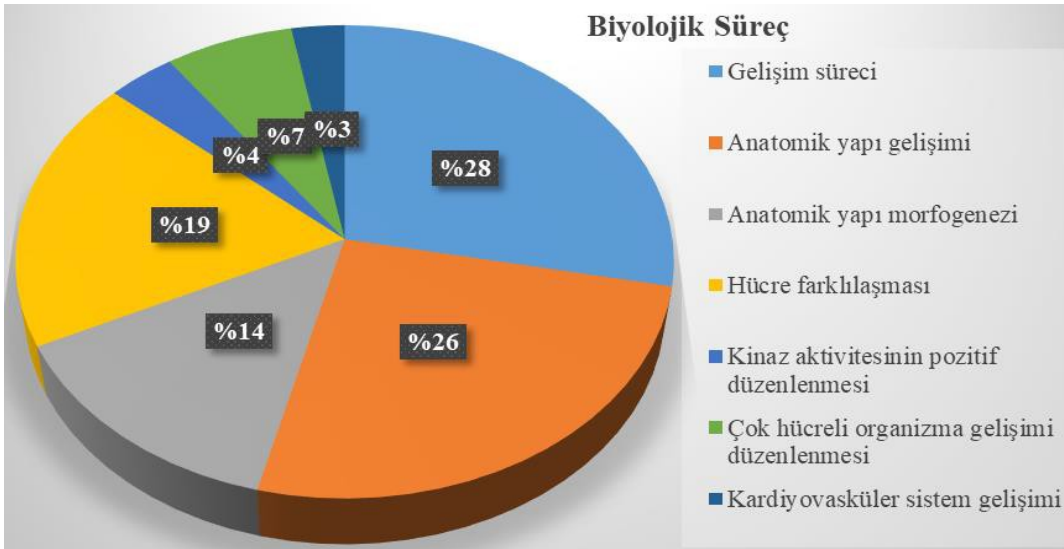
4.9.3.2 RUY100 grubunun kontrol grubuna göre PANTHER sınıflandırma sistemi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Etlik piliç karma yemlerine 100 mg/kg RUY ilavesi yapılan gruplara ait mikroarray analizi sonucunda elde edilen gen listesindeki hem up hem de down regüle genler için moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıflandırması analizleri gerçekleştirilmiştir. RUY100 grubundaki upregüle ifade edilen genlerle yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde genlerin, heterosiklik bileşik bağlayıcı (% 25), transkripsiyon regülatör aktivitesi (% 14), DNA bağlayıcı (% 13), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi (% 12), düzenleyici bölge nükleik asit bağlayıcı (% 12), RNA polimeraz II düzenleyici bölge DNA bağlayıcı (% 10) ve bir proteine etki eden katalitik aktivite (%10) olarak gruplandığı görülmektedir (Şekil 4.17). Bununla birlikte hücre adezyon molekül bağlayıcı (% 2) ve hidroliz aktivitesi (% 1) gibi önemli sinyal iletim yollarına ait genlerinde yer aldığı belirlenmiştir.



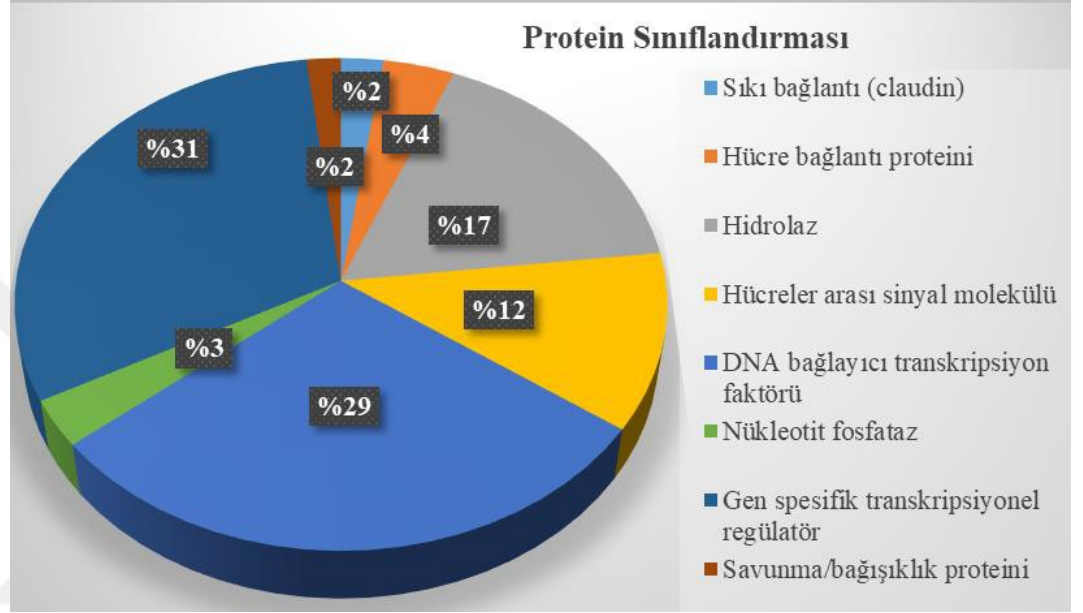
Şekil 4.17. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY100 grubundaki upregüle genlerde yapılan biyolojik süreç analizi incelendiğinde genlerin, gelişim süreci (% 28), anatomik yapı gelişimi (% 26), hücre farklılaşması (% 19), anatomik yapı morfogenezi (% 14), çok hücreli organizma gelişimi düzenlenmesi (% 7), kinaz aktivitesinin pozitif düzenlenmesi (% 4) ve kardiyovasküler sistem gelişimi (% 3) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.18).



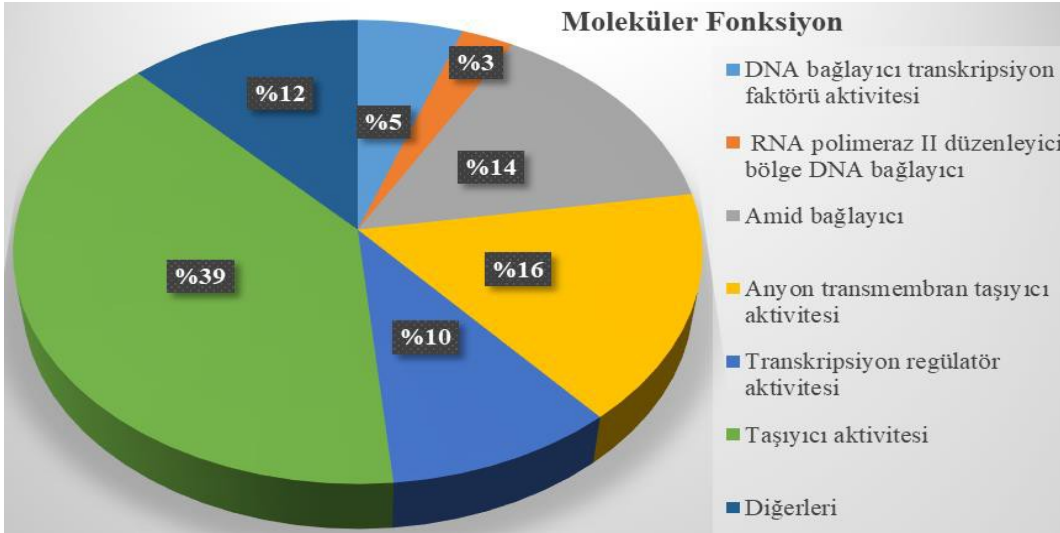
Şekil 4.18. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

RUY100 grubundaki upregüle genlerin protein sınıflandırması analizinde ise, genlerin genel olarak gen spesifik transkripsiyonel regülatör (% 31), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü (% 29), hidrolaz (% 17) ve hücreler arası sinyal molekülü (% 12) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.19). Analiz sonucunda ayıca hücre bağlantı proteini (% 4), nükleik asit fosfotaz (% 3), sıkı bağlantı (claudin) (% 2) ve savunma/bağışıklık proteini (% 2) gibi protein sınıfları da gözlenmiştir.



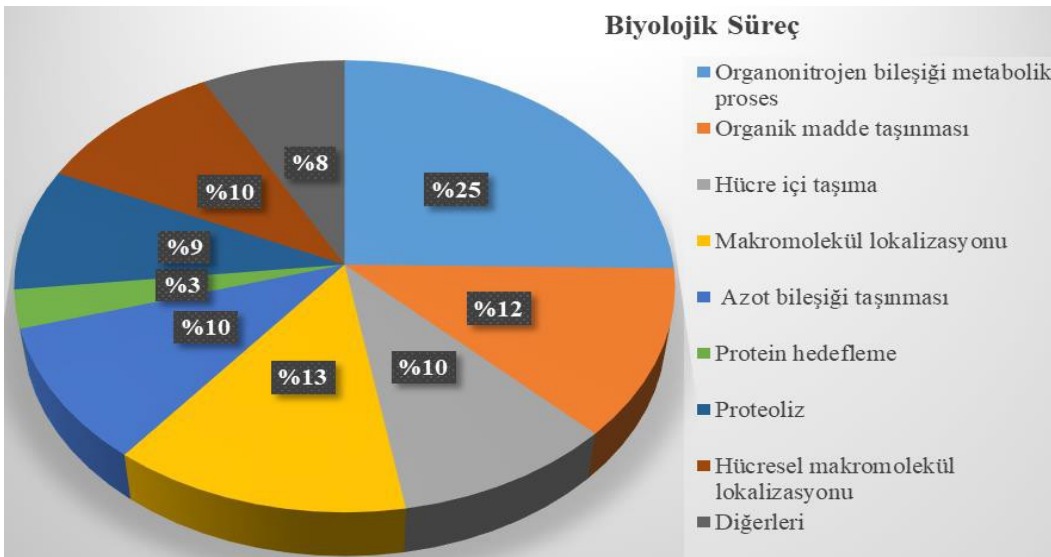
Şekil 4.19. RUY100 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.

RUY100 grubundaki downregüle olan genlerde yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde de genlerin, taşıyıcı aktivitesi (% 39), anyon transmembran taşıyıcı (% 16), amid bağlayıcı (% 14), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi (% 4), RNA polimeraz II düzenleyici bölge DNA bağlayıcı (% 3) ve diğerleri (% 12) olarak gruplandığı görülmektedir (Şekil 4.20).



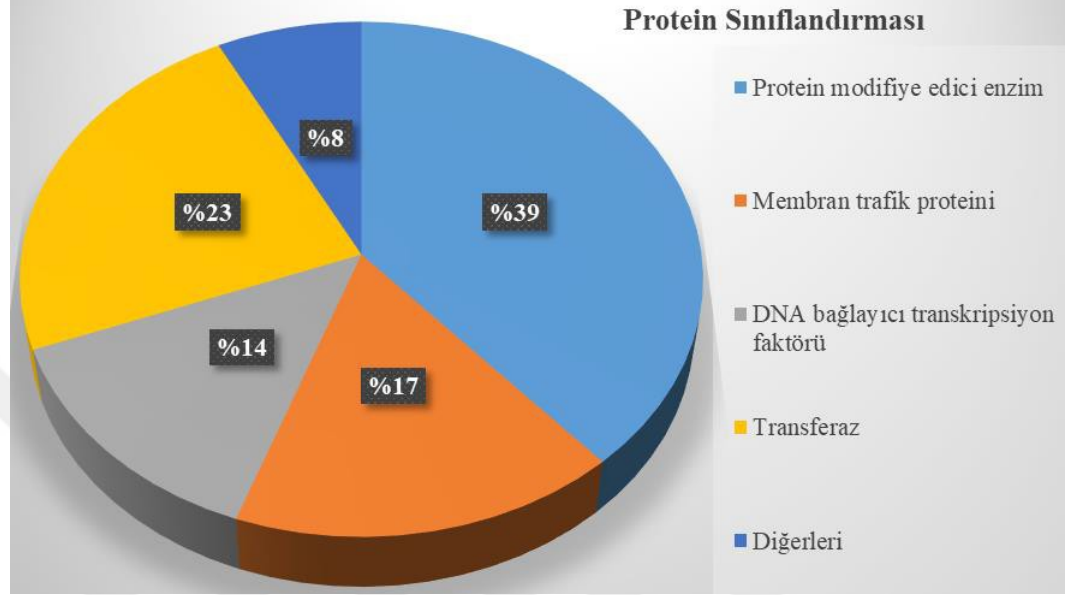
Şekil 4.20. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY100 grubundaki downregüle genlerde yapılan biyolojik süreç analizi incelendiğinde genlerin organonitrojen bileşiği metabolik proses (% 25), makromolekül lokalizasyonu (% 13), organik madde taşınması (% 12), hücre içi taşıma (% 10), azot bileşiği taşınması (% 10), hücrel makromolekül lokalizasyonu (% 10), proteoliz (% 9), protein hedefleme (% 3) ve diğerleri (% 8) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

Protein sınıflandırması analizinde ise, RUY100 grubundaki downregüle genlerin genel olarak protein modifiye edici enzim (% 39), transferaz (% 23), membran trafik proteini (% 17), DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi (% 14) ve diğerleri (% 8) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.22).

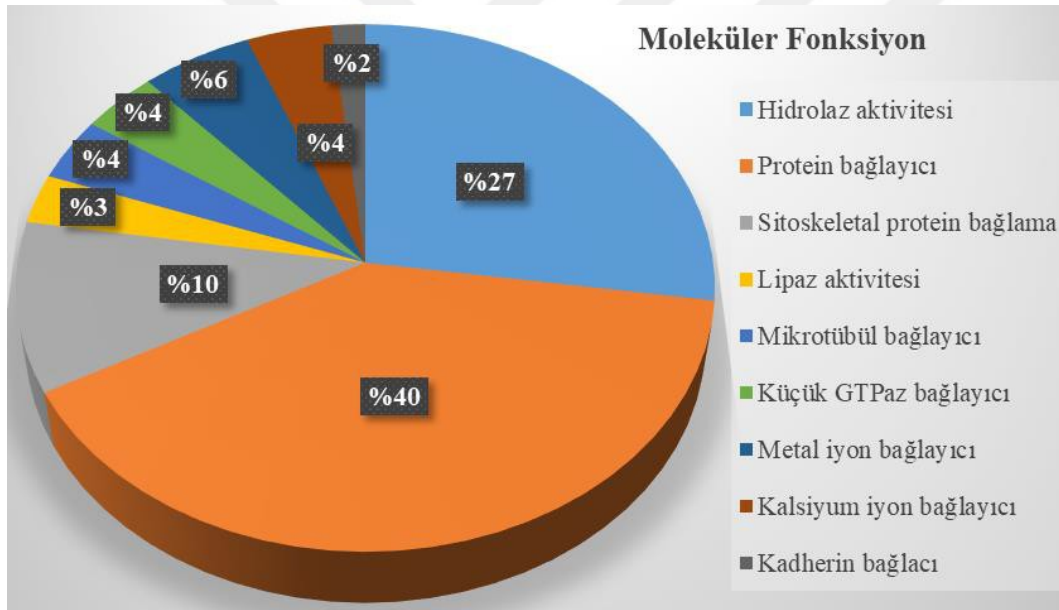


Şekil 4.22. RUY100 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.

Mikroarray analiz sonucunda genel olarak, karma yeme 100 mg/kg düzeyinde RUY ilavesi yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla heteosiklik bileşik bağlayıcı, DNA bağlayıcı, DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü gibi moleküler fonksiyon; gelişim süreci, anatomik yapı gelişimi ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreç; DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü, gen spesifik transkripsiyonel regülatör ve hidrolaz gibi protein sınıflarındaki genlerin upregüle olduğu saptanmıştır. Diğer yandan taşıyıcı aktivitesi ve anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi gibi moleküler fonksiyon; organonitrojen bileşiği metabolik proses ve makromolekül lokalizasyonu gibi biyolojik süreç; protein modifiye edici enzim ve transferaz gibi protein sınıflarında yer alan genlerin ise down regüle olduğu tespit edilmiştir.

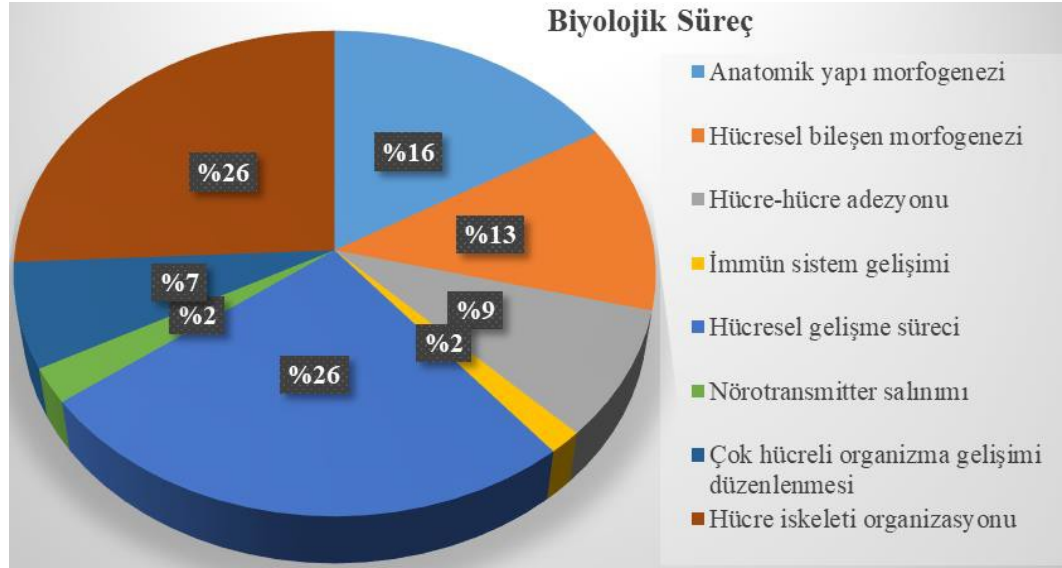
4.9.3.3 RUY200 grubunun kontrol grubuna göre PANTHER sınıflandırma sistemi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Etlik piliç karma yemlerine 200 mg/kg RUY ilavesi yapılan gruplara ait mikroarray analizi sonucunda elde edilen gen listesindeki hem up ve down regüle genler için moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıflandırması analizleri gerçekleştirilmiştir. RUY200 grubundaki upregüle ifade edilen genlerle yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde genlerin, protein bağlayıcı (% 40), hidrolaz aktivitesi (% 27), sitoskeletal protein bağlama (% 10), metal iyon bağlayıcı (% 6), mikrotübül bağlayıcı (% 4), küçük GTPaz bağlayıcı (% 4), kalsiyum iyon bağlayıcı (% 4), lipaz aktivitesi (% 3) ve kadherin bağlayıcı (% 2) olarak gruplandırıldığı görülmektedir (Şekil 4.23).



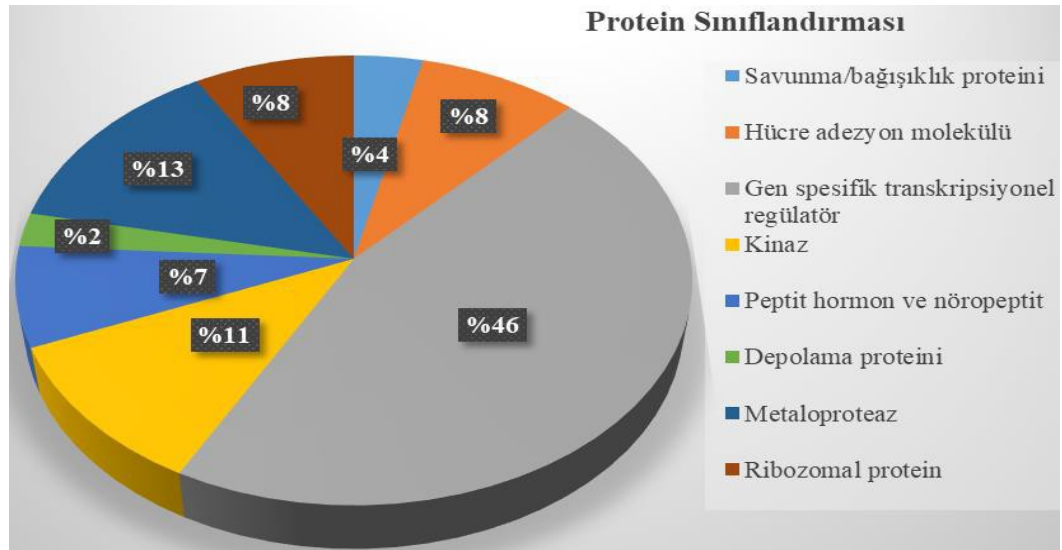
Şekil 4.23. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY200 grubundaki upregüle genlerde gerçekleştirilen biyolojik süreç analizi incelendiğinde ise genlerin, hüresel gelişme süreci (% 26), hücre iskeleti organizasyonu (% 26), anatomik yapı morfogenezi (% 16), hüresel bileşen morfogenezi (% 13), hücre-hücre adezyonu (% 9), çok hücreli oraganizma gelişimi düzenlenmesi (% 7), nörotransmitter salınımı (% 2) ve immün sistem gelişimi (% 2) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.24).



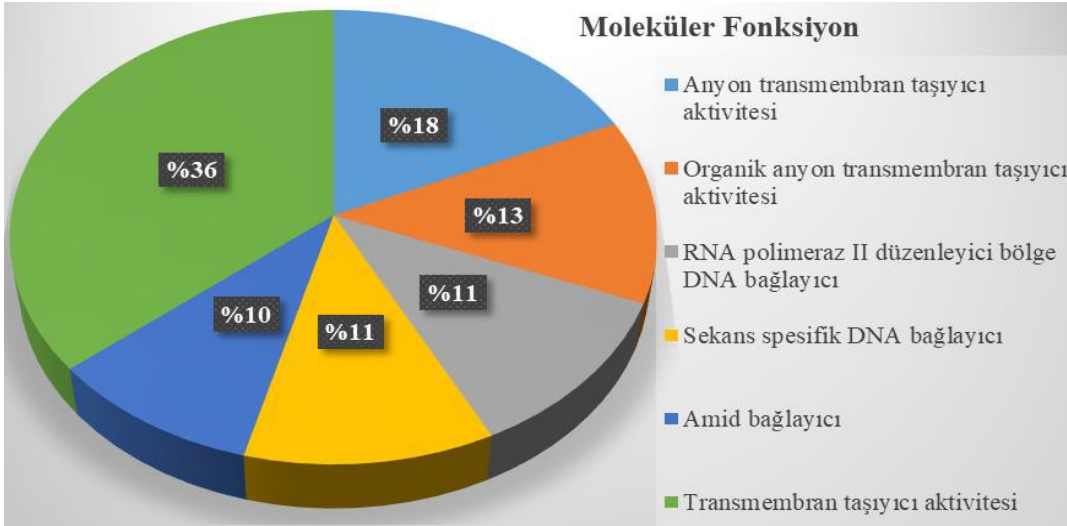
Şekil 4.24. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

Protein sınıflandırması analizinde, RUY200 grubundaki upregüle genlerin, gen spesifik transkripsiyonel regülatör (% 46), metaloproteaz (% 13), kinaz (% 11), hücre adezyon molekülü (% 8), ribozomal protein (% 8), peptit hormon ve nöropeptit (% 7), savunma/bağışıklık proteini (% 4) ve depolama proteini (% 2) kodlayan gen sınıflarının yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.25).



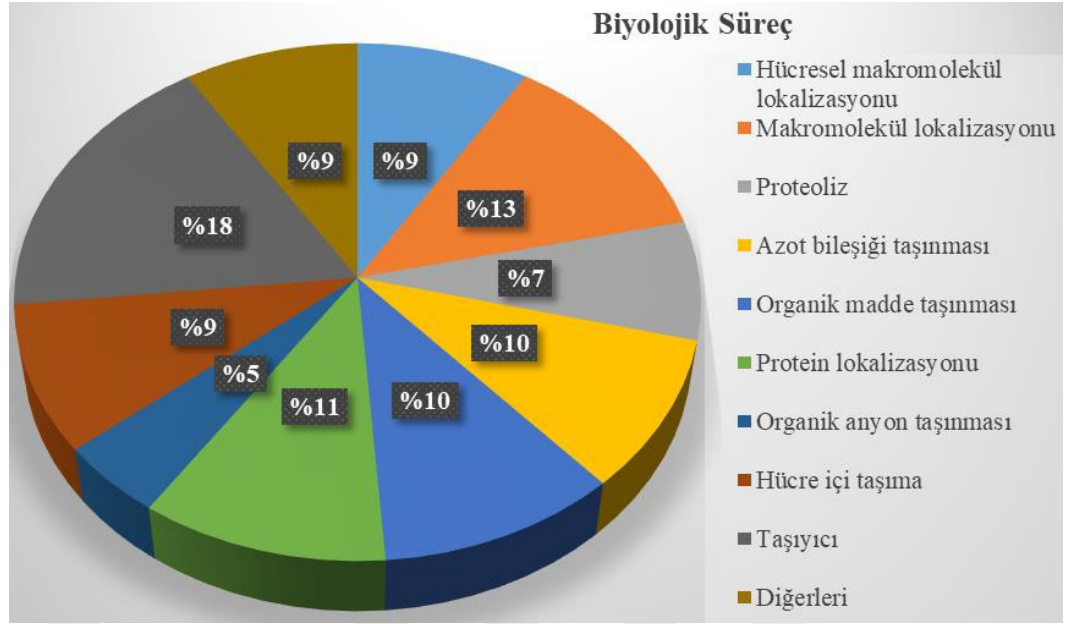
Şekil 4.25. RUY200 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.

RUY200 grubundaki downregüle olan genlerde yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde de genlerin transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 36), iyon tansmembran taşıyıcı aktivitesi (% 18), organik anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 13), RNA polimeraz II düzenleyici bölge DNA bağlayıcı (% 11), sekans spesifik DNA bağlayıcı (% 11) ve amid bağlayıcı (% 10) olarak gruplandırıldığı Şekil 4.26'da görülmektedir.



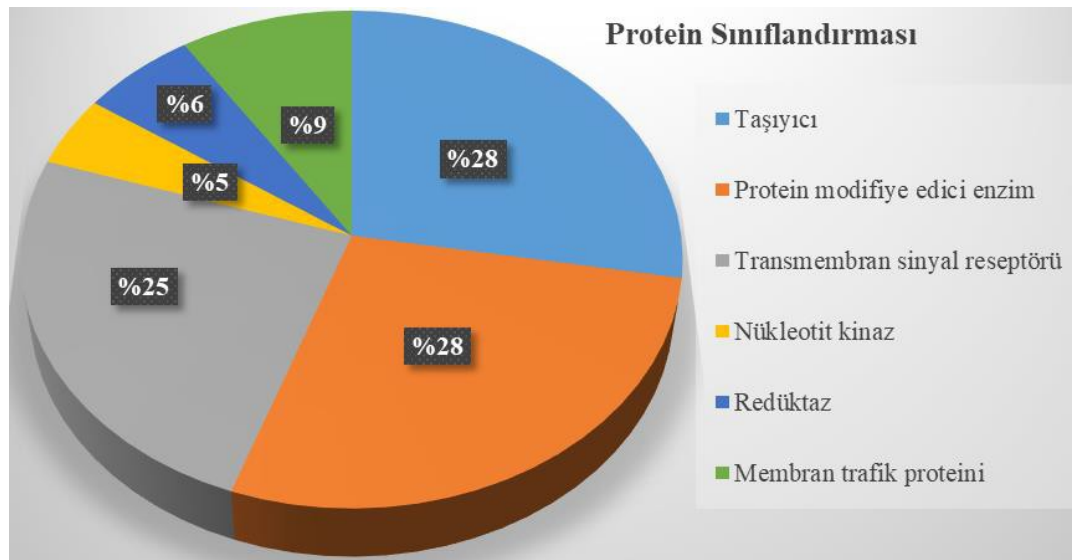
Şekil 4.26. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY200 grubundaki downregüle genlerde gerçekleştirilen biyolojik süreç analizi incelendiğinde ise genlerin, taşıyıcı (% 18), makromolekül lokalizasyonu (% 13) protein lokalizasyonu (% 11), azot bileşiği taşınması (% 10), organik madde taşınması (% 10), hücre makromolekül lokalizasyonu (% 9), hücre içi taşıma (% 9), proteoliz (% 7), organik anyon taşınması (% 5) ve diğerleri (% 9) sınıflarında yer aldığı görülmektedir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

Protein sınıflandırması analizinde, RUY200 grubundaki downregüle olarak ifade edilen genlerin protein modifiye edici enzim (% 28), taşıyıcı (% 28), transmembran sinyal reseptörü (% 25), membran trafik proteini (% 9), redüktaz (% 6) ve nükleotit kinaz (% 5) sınıflarında yer aldığı Şekil 4.28’de görülmektedir.

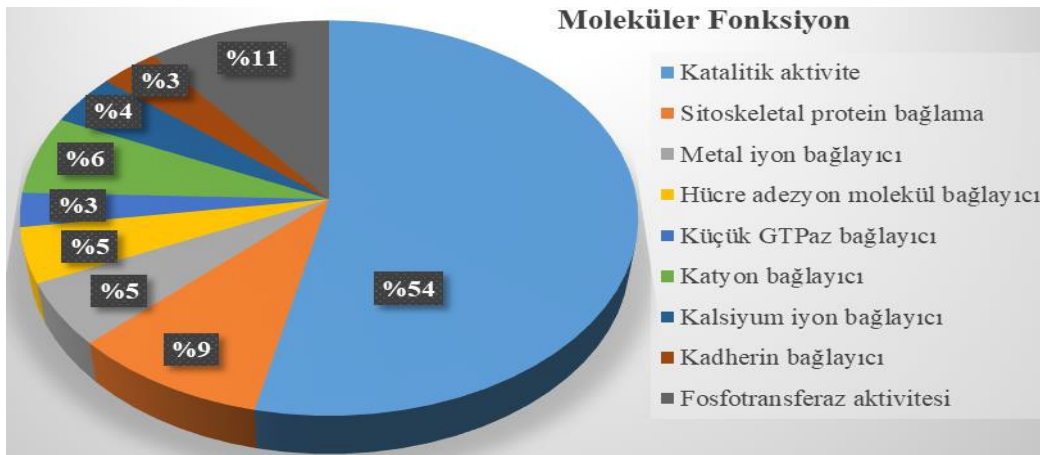


Şekil 4.28. RUY200 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.

Mikroarray analiz sonucunda genel olarak, karma yeme 200 mg/kg düzeyinde RUY ilavesi yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla protein bağlayıcı ve hidrolaz aktivitesi gibi moleküler fonksiyon; hücre gelişim süreci ve hücre iskeleti organizasyonu gibi biyolojik süreç; gen spesifik transkripsiyonel regülatör gibi protein sınıflarındaki genlerin upregüle olduğu saptanmıştır. Diğer yandan transmembran taşıyıcı aktivitesi ve anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi gibi moleküler fonksiyon; taşıyıcı ve makromolekül lokalizasyonu gibi biyolojik süreç; protein modifiye edici enzim taşıyıcı ve transmembran sinyal reseptörü gibi protein sınıflarında yer alan genlerin ise down regüle olduğu tespit edilmiştir.

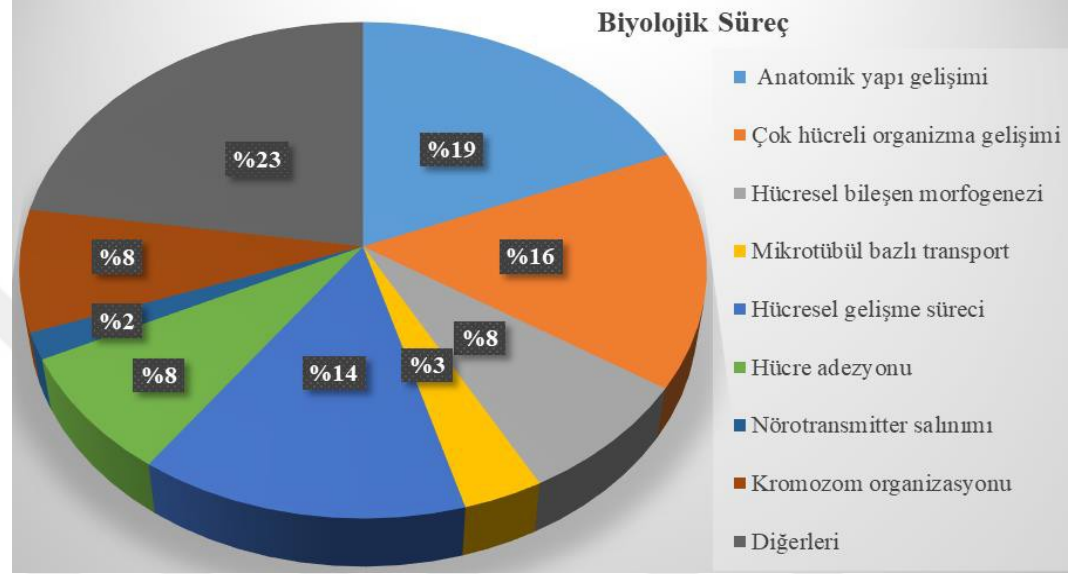
4.9.3.4 RUY400 grubunun kontrol grubuna göre PANTHER sınıflandırma sistemi analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

Etlik piliç karma yemlerine 400 mg/kg RUY ilavesi yapılan gruplara ait mikroarray analizi sonucunda elde edilen gen listesindeki hem up ve down regüle genler için moleküler fonksiyon, biyolojik süreç ve protein sınıflandırması analizleri gerçekleştirilmiştir. RUY400 grubundaki upregüle ifade edilen genlerle yapılan moleküler fonksiyon analizi incelendiğinde genlerin çoğunlukla katalitik aktivite (% 54), fosfotransferaz aktivitesi (% 11), sitoskeletal protein bağlanma (% 9) ve katyon bağlayıcı (% 6) Şekil 4.29’da görülmektedir. Ek olarak metal iyon bağlayıcı (% 5), hücre adezyon molekül bağlayıcı (% 5), kalsiyum iyon bağlayıcı (% 4), kadherin bağlayıcı (% 3) ve küçük GTPaz bağlayıcı (% 3) sınıfında yer aldığı belirlenmiştir.



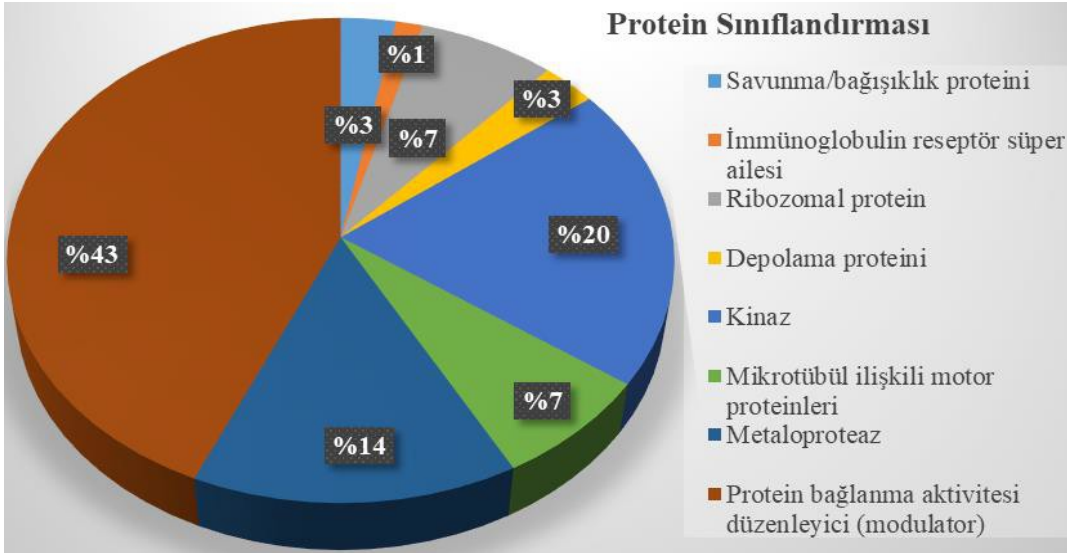
Şekil 4.29. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY400 grubundaki upregüle genlerde gerçekleştirilen biyolojik süreç analizi incelendiğinde ise genlerin, anatomik yapı gelişimi (% 19), çok hücreli organizma gelişimi (% 16), hücresel gelişme süreci (% 14), hücresel bileşen morfogenezi (% 8), kromozom organizasyonu (% 8), hücre adezyonu (% 8), mikrotübül bazlı transport (% 3) ve nörotransmitter salınımı (% 2) ve diğerleri (% 23) sınıflarında yer aldığı Şekil 4.30’da görülmektedir.



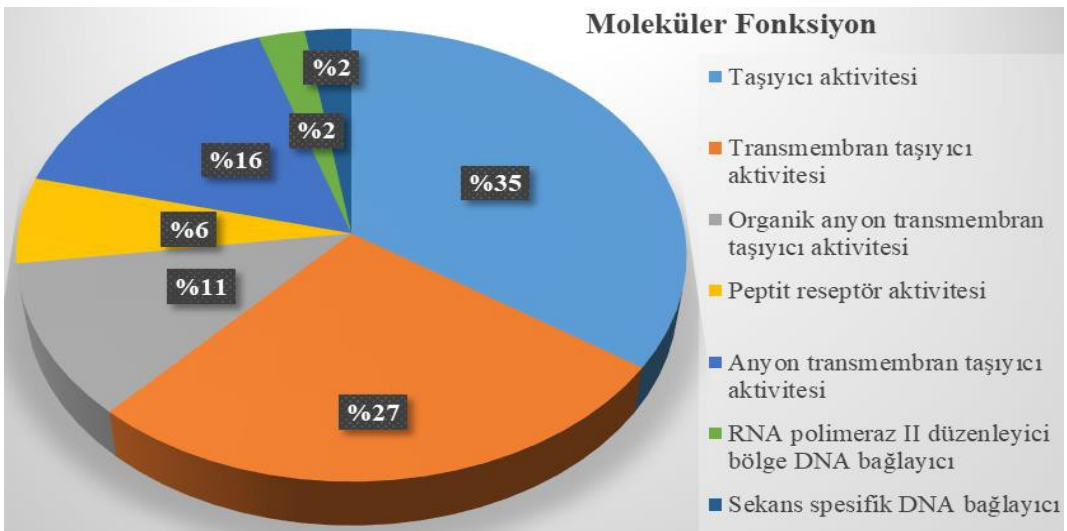
Şekil 4.30. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

Protein sınıflandırması analizinde, RUY400 grubundaki upregüle olarak ifade edilen genlerin, protein bağlama aktivitesi düzenleyici (modülatör) (% 43), kinaz (% 20), metaloproteaz (% 9), ribozomal protein (% 7), mikrotübül ilişkili motor proteinleri (% 7), savunma/bağışıklık proteini (% 3), depolama proteini (% 3) ve immüoglobulin reseptör süper ailesi (% 1) sınıflarında yer aldığı Şekil 4.31’de görülmektedir.



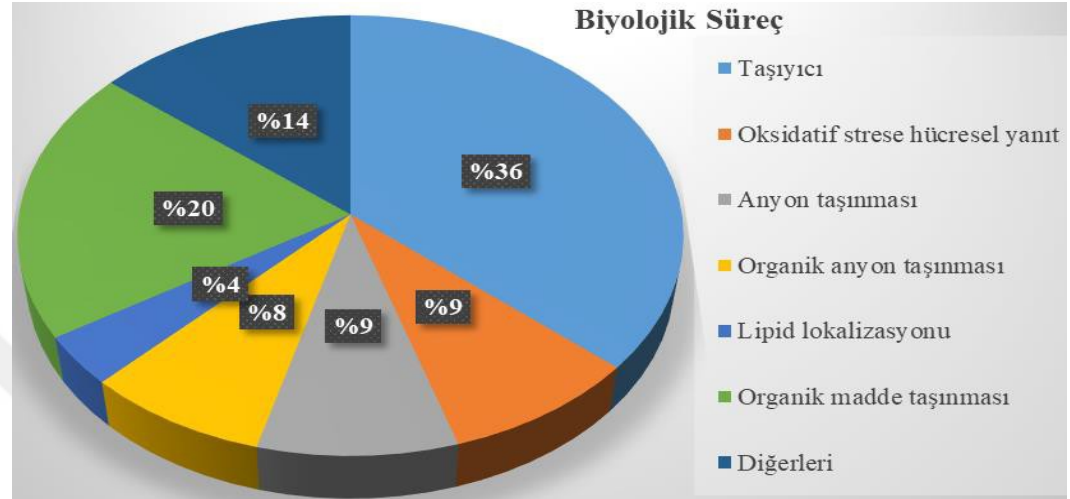
Şekil 4.31. RUY400 grubundaki upregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırma analizi.

RUY400 grubundaki downregüle ifade edilen genlerle yapılan moleküler fonksiyon analizinde ise genlerin, taşıyıcı aktivitesi (% 35), transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 27), anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 16), organik anyon transmembran taşıyıcı aktivitesi (% 11), peptit reseptör aktivitesi (% 6), RNA polimeraz II düzenleyici bölge DNA bağlayıcı (% 2) ve sekans spesifik DNA bağlayıcı (% 2) olarak gruplandırıldığı Şekil 4.32’de görülmektedir.



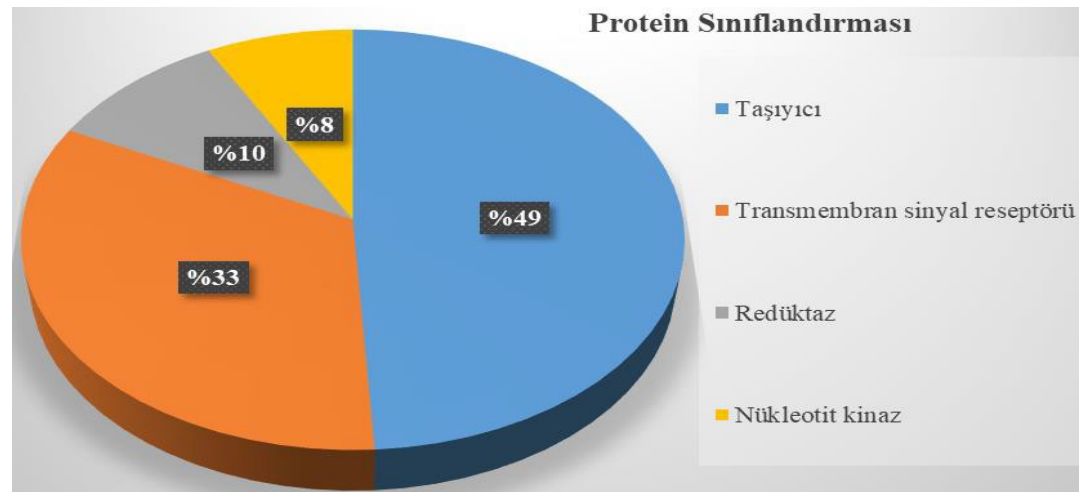
Şekil 4.32. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER moleküler fonksiyon analizi.

RUY400 grubundaki downregüle genlerde gerçekleştirilen biyolojik süreç analizi incelendiğinde de genlerin, taşıyıcı (% 36), organik madde taşınması (% 20), oksidatif strese hücrese yanıt (% 9), anyon taşınması (% 9), organik anyon taşınması (% 8), lipid lokalizasyonu (% 4) ve diğerleri (% 14) sınıflarında yer aldığı Şekil 4.33'te görülmektedir.

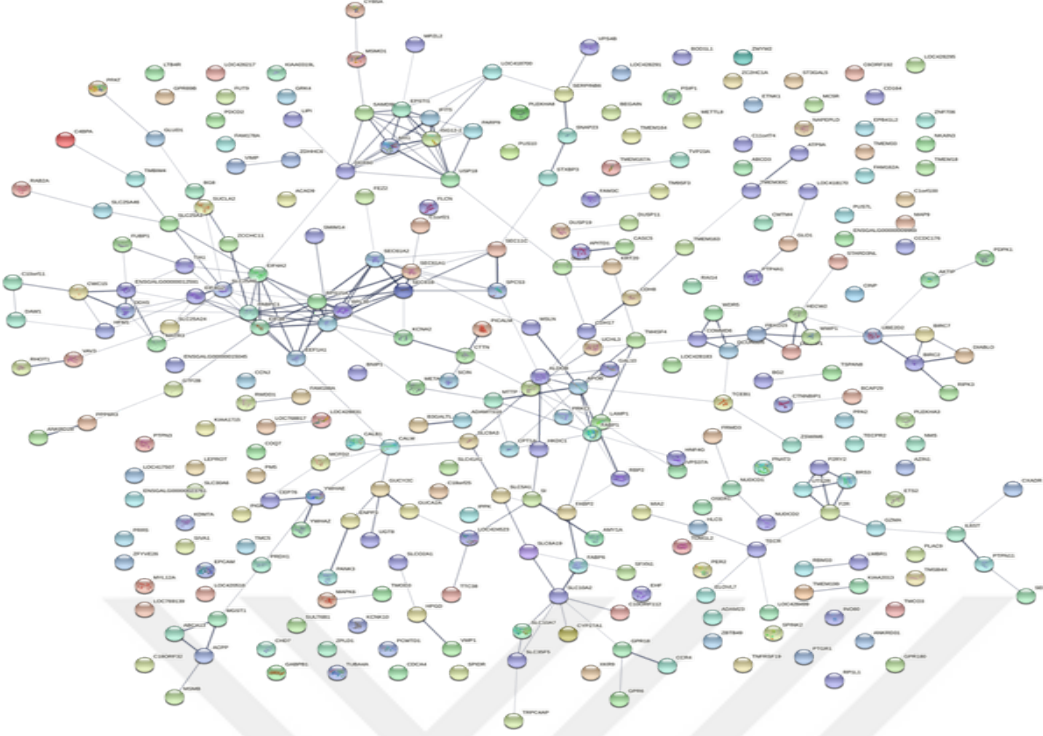


Şekil 4.33. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER biyolojik süreç analizi.

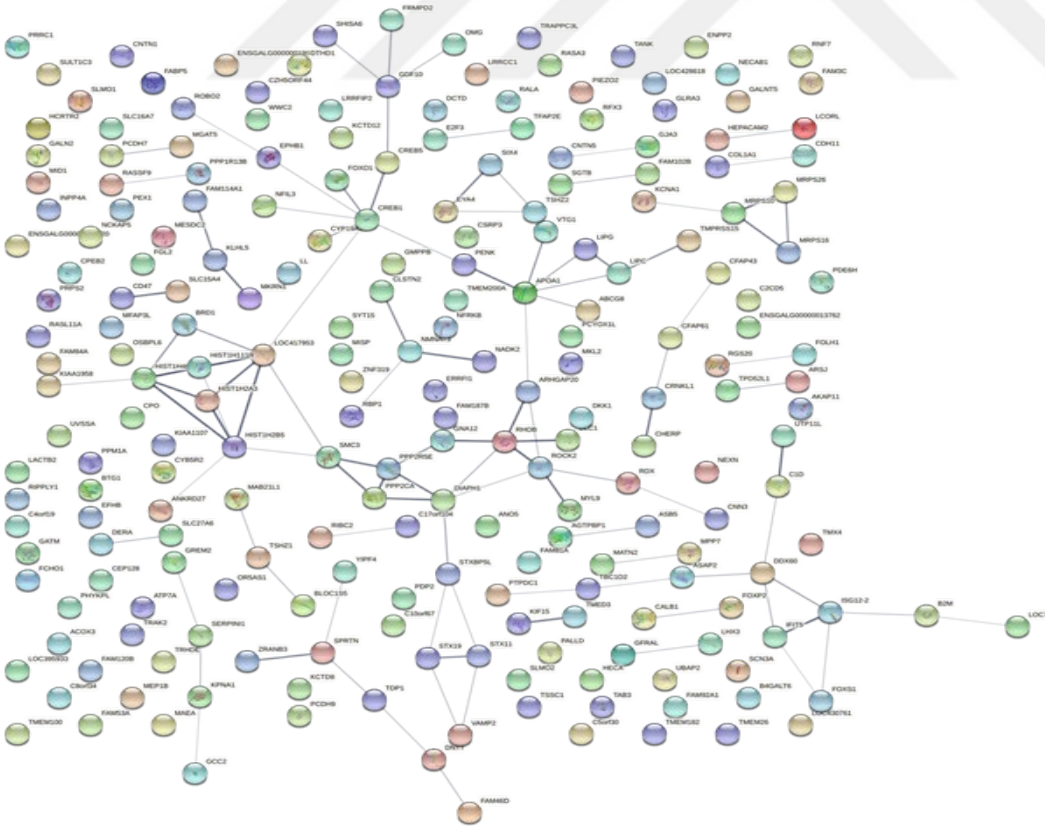
Protein sınıflandırması analizinde, RUY400 grubundaki dowregüle olarak ifade edilen genler, taşıyıcı (% 49), transmembran sinyal reseptörü (% 33), redüktaz (% 10) ve nükleotit kinaz (% 8) sınıflarında yer almıştır (Şekil 4.34)



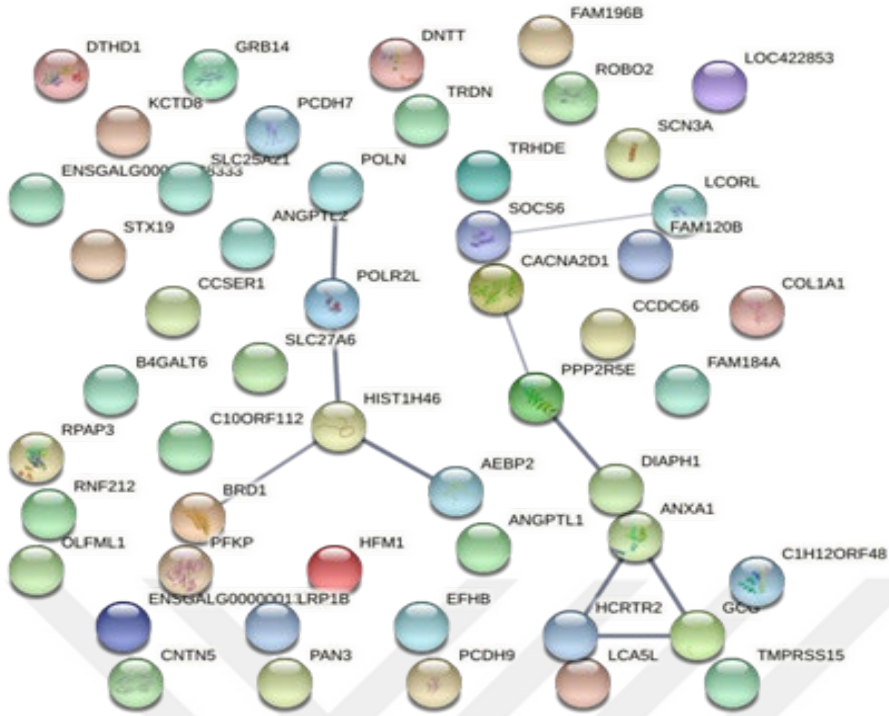
Şekil 4.34. RUY400 grubundaki downregüle genlerin PANTHER protein sınıflandırması analizi.



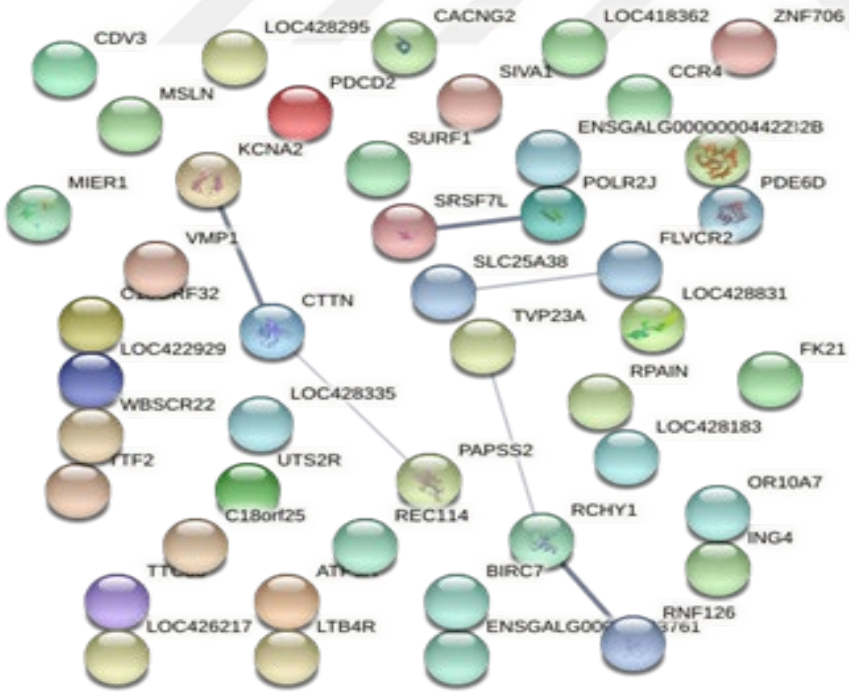
Şekil 4.38. RUY100 grubundaki downregüle genlerin STRING analizi.



Şekil 4.39. RUY200 grubundaki upregüle olan genlerin STRING analizi.



Şekil 4.41. RUY400 grubundaki upregüle genlerin STRING analizi.



Şekil 4.42. RUY400 grubundaki downregüle genlerin STRING analizi.

4.10 Validasyon için Seçilen Genlerin mRNA Ekspresyon Seviyeleri

Etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde (0, 50, 100, 200, 400 mg/kg) RUY ilavesinin interleukin 10 (IL10), mucin 2 (MUC2), claudin 5 (CLDN5), BCL2 antagonist/killer 1 (BAK1) ve caspase 3 (CASP3) genelerinin mRNA ekspresyon seviyelerine etkileri Çizelge 4.18’de verilmiştir. Otoimmün ve bağırsak sağlığı ile ilişkili tüm bu genler vücutta ideal düzeyde ve dengeli seviyelerde olması gerekmektedir. İlgili genlerin karmaşık etki şekillerinin yanı sıra artan veya azalan seviyelerine paralel olarak iyi veya kötü etkileri görülebilmektedir. Nitekim IL-10 anti-inflamatuar bir sitokin genidir ve IL-10 geni mRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna kıyasla RUY100 grubunda 4.41, RUY200’de 2.99, RUY50’de 2.56 ve RUY400’de 2.08 kat daha yüksek olduğu saptanmış ve bu farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Oligomerik mukus jel oluşturucu olarak da bilinen MUC2 geni mRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre, en yüksek kat değişimi RUY50 (2.82) grubunda gözlenmiş olup bunu sırasıyla RUY100 (2.57), RUY200 (1.72) ve RUY400 (1.64) izlemiştir. RUY düzey artışına karşın MUC2 mRNA ekspresyon seviyelerinde rakamsal azalış gözlenmiş ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Epitel hücreler arasında kuvvetli bağlantı sağlayarak bağırsak bütünlüğünü koruyan klauidin proteinini kodlayan CLDN5 geni mRNA ekspresyon seviyeleri ise kontrol grubuna göre, 50, 100, 200 ve 400 mg/kg RUY ilaveli gruplarda sırasıyla 2.13, 2.27, 2.02 ve 1.26 kat artmış olup gruplar arasındaki farklılık önemli olmamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde apoptozu inhibe eden Bcl-2 genini baskılayan BAK1 geni mRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna göre, RUY100 grubunda 1.23 kat azalmış, RUY50, RUY200 ve RUY400 gruplarında sırasıyla 1.11, 1.20 ve 1.66 kat artmış ve gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Diğer yandan bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde aktif rol oynayan apoptozu aktive eden CASP3 geni mRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna kıyasla RUY artan düzeyine paralel olarak 2.50, 2.11, 1.87 ve 1.62 kat artmıştır ($P>0.05$). Dolayısıyla gen ekspresyon yanıtlarına bakıldığında RUY’un antimikrobiyal etkisine bağlı olarak bağırsakta bağışıklık savunma aktivitesine daha az ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.18. Kontrol grubuna kıyasla rezene uçucu yağı ilaveli gruplardaki validasyon için seçilen genlerin kat değişimleri.

Genler	Kontrol	RUY ¹ (mg/kg)				SEM ²	Kat değişim Önemlilik düzeyi
		50	100	200	400		
İnterleukin 10 (IL10)	Hedef gen (IL10) ort. Ct ³	34.33	33.16	32.83	33.19	33.24	
	Referans gen (ACTB ⁴) ort. Ct	19.04	19.62	20.05	19.93	19.51	
	Hedef gen / Referans gen	4.07E-05	9.38E-05	1.86E-04	1.31E-04	8.52E-05	
	Kat değişimi	-	2.56^b	4.41^a	2.99^{ab}	2.08^b	0.302
Mucin 2 (MUC2)	Hedef gen (MUC2) ort. Ct	28.76	26.49	26.51	27.00	27.17	
	Referans gen (ACTB) ort. Ct	19.04	19.51	20.05	19.93	19.53	
	Hedef gen / Referans gen	6.45E-03	1.80E-02	1.35E-02	1.09E-02	1.05E-02	
	Kat değişimi	-	2.82	2.57	1.72	1.64	0.341
Claudin 5 (CLDN5)	Hedef gen (CLDN5) ort. Ct	19.68	19.48	19.39	19.61	19.74	
	Referans gen (ACTB) ort. Ct	19.01	19.62	20.05	19.93	19.51	
	Hedef gen / Referans gen	7.46E-01	1.59E-00	1.64E-00	1.33E-00	8.79E-01	
	Kat değişimi	-	2.13	2.27	2.02	1.26	0.161
BCL2 antagonist/killer 1 (BAK1)	Hedef gen (BAK1) ort. Ct	19.91	19.85	21.02	19.79	19.30	
	Referans gen (ACTB) ort. Ct	19.04	19.62	20.05	19.93	19.51	
	Hedef gen / Referans gen	5.83E-01	6.49E-01	4.59E-01	6.86E-01	9.74E-01	
	Kat değişimi	-	1.11^b	-1.23^b	1.20^b	1.66^a	0.088
Caspase 3 (CASP3)	Hedef gen (CASP3) ort. Ct	32.23	29.92	30.14	30.45	30.64	
	Referans gen (ACTB) ort. Ct	19.04	19.62	20.05	19.93	19.51	
	Hedef gen / Referans gen	9.40E-04	2.35E-03	1.93E-03	1.75E-03	1.51E-03	
	Kat değişimi	-	2.50	2.11	1.87	1.62	0.368

Aynı satırda farklı harf (a-b) taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar P<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemlidir. ¹Rezene Uçucu Yağı (RUY) ilavesiz (0 mg/kg) kontrol grubu, her kg için 50, 100, 200 ve 400 mg kapsüle edilmiş RUY ilaveli yemlerle beslenen muamele gruplarıdır. ² Havuzlanmış (pooled) standart hata. ³Ct= cycle threshold (eşik döngüsü). ⁴ACTB= beta (β)-actin (beta aktin) referans (housekeeping) geni.

5. TARTIŞMA

Yapılan literatür incelemelerinde hayvan beslemede kullanılan fitojenik yem katkı maddelerinin (FYK) performans üzerindeki olumlu etkilerinin bazı araştırmacılar tarafından bağırsak mikrobiyotasının olumlu yönde modülasyonundan veya FYK'lerin bağırsak hücreleriyle olan etkileşimlerinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Bu bölümde, hem RUY'un etlik piliçlerin performansı, bağırsak mikroflorası ve bağırsak morfolojisi üzerindeki saptanan olumlu etkileri hem de nutrigenomik teknolojiler kullanılarak belirlenen RUY aracılı besin-gen etkileşimleri, monogastrik hayvanların ve özellikle etlik piliçlerin beslemede yapılan sınırlı sayıda RUY veya diğer FYK çalışmaları üzerinden tartışılacaktır.

5.1 Performans

Bugüne kadar kanatlı kümes hayvanlarının beslenmesinde antibiyotik büyütme faktörlerine alternatif birçok FYK kullanılmıştır. Bunlar arasında kekik (oregano/thyme), rezene tarçın, nane, adaçayı, sarımsak, kimyon, yeşil çay, kırmızı acı biber, anason, üzüm çekirdeği, ağaç yaprakları, defne ile bunların ekstrakt, uçuyag ve ana biyoaktif bileşenleri vd. sıralanabilir. İncelenen literatürlerde etlik piliç diyetlerine katılan rezene tohumu (Mohammed and Abbas, 2009), nane (Al-Kassie, 2010), gül ağacı yağı (Aguilar et al., 2014), timol+karvakrol (Hashemipour 2013b, 2014), ana biyoaktif bileşen karışımı (Hafeez et al., 2016), kişniş uçucu yağı (Ghazanfari et al., 2015) bitkisel uçucu yağ karışımı (Attia et al., 2017) ve kapsikum oleoresin, sinnamealdehit ve karvakrol karışımının (İpçak and Alçiçek, 2019) canlı ağırlığı (CA) artırdığı; anason, zencefil, rezene baharatları (El-Deek et al., 2002), uçucu yağ karışımı (Çabuk et al., 2006), kekik (oregano) uçucu yağı (Malayoğlu et al., 2010; Alp et al., 2012) ve zencefil tozunun (Mohammed and Yusuf, 2011) CA'yı etkilemediği; kekik (oregano) ve sarımsak uçucu yağı ile karışımları (Kırkpınar et al., 2011), kokaiba uçucu yağı (Aguilar et al., 2013) ve üzüm çekirdeği ekstraktının (Chamorro et al., 2013) ise CA'yı azalttığı rapor edilmiştir. Nitekim elde edilen verilerine göre, farklı düzeylerdeki (50, 100, 200 ve 400 mg/kg) RUY'un ilk 2 hafta CA'yı etkilemediği ancak 3. haftadan itibaren RUY düzey artışına paralel olarak CA'yı önemli derecede artırdığı saptanmıştır (Çizelge 4.6).

EK olarak kontrol grubuna kıyasla RUY düzey artışıyla birlikte CA'lar sırasıyla % 3.43, 4.0, 4.95 ve 6.37 oranında artmıştır. Benzer şekilde Mohammed and Abbas (2009) rezene tohumunun (1, 2 veya 3 g/kg) 42. gündeki etlik piliç CA'larını artırdığını bildirmiştir.

Attia et al. (2017) ise etlik piliçlerde 200 veya 1000 mg/kg bitkisel ekstrakt karışımının (kekik+nane+yeşil çay ve meyan kökü), CA'yı anlamlı olarak artırdığını saptamıştır. Başka bir bitkisel kökenli yem katkısının araştırıldığı bir çalışmada 1 veya 2 g/kg anason tohumunun (*Illicum verum* Hook.f.) etlik piliç CA'larını artırdığı bildirilmiştir. Hafeez et al. (2016) ise 100 mg/kg karvakrol+timol+limonen uçucu bileşen karışımının 42. gündeki CA'yı önemli derecede artırdığını bildirmiştir. CA üzerindeki bu olumlu etkiler RUY'un antimikrobiyal etkinliğine dayalı potansiyel patojen mikroorganizmaları yok ederek, besin rekabetini azaltması ve böylece artan besin ve enerji kullanımının büyüme ve gelişim yönünde kullanılmasına dayandırılabilir. Nitekim Verstegen and Williams (2002) benzer bir teoriyi Vervaeke et al. (1979) tarafından yapılan çalışmaya dayandırarak domuz diyetindeki net enerjinin % 6'sının ince bağırsakta glikozun bakteriyel kullanımı nedeniyle kaybedilebileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca immünoregülatör olarak RUY, etlik piliçleri patojen veya patojen toksik metabolitler (amonyak, biyojen amin vb.) gibi bağışıklık savunma stresinden kurtararak, besinlerin emilimi için gerekli bağırsak kullanılabilirliğini artırabilir ve böylece hayvanların daha fazla büyümelerine yardımcı olabilir.

Etlik piliç karma yemlerine RUY ilavesinin canlı ağırlık kazancı'nı (CAK) ise başlatma döneminde (0-21.günler) ve tüm üretim dönemlerinde (0-42.günler) lineer olarak önemli derecede artırmıştır (Çizelge 4.7). Nitekim benzer şekilde Cengiz et al. (2016) etlik piliçlerde 100 mg/kg rezene uçucu yağının 0-21 ve 0-42. günler arası dönemlerde CAK'ı artırdığını bildirdiği çalışma ile uyumlu bulunmuştur. Mohammed and Abbas (2009), rezene tohumunun (1, 2 veya 3 g/kg) 22. günde CAK'ı değiştirmedeğini ancak 42. günde anlamlı olarak artırdığını bildirmiştir. Bulgulardan farklı olarak ise Safaei-Cherehh et al. (2018) rezene ekstraktının (100, 200, 300 ve 400 ppm) tüm dönemlerde CAK'ı düşürdüğünü tespit etmiştir. Etlik piliçlerin CAK'ı üzerine yaban mersini uçucu yağı etkinliğinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise 450 mg/kg düzeyinin tüm üretim

döneminde CAK'ı artırdığı bildirilmiştir (Salehifar et al., 2017). Geçmişte yapılan diğer çalışmalar uçucu yağ karışımı (kekik + defne + adaçayı + yabanmersini + rezene + narenciye) (Alçıçek et al. 2004), kekik (thyme) ve zencefil uçucu yağı (Saleh et al., 2014), bir başka bitkisel ekstrakt karışımı (kekik+nane+yeşil çay ve meyan kökü) (Attia et al., 2017), karvakrol+timol+limonen uçucu bileşen karışımının (Hafeez et al., 2016) CAK'ı artırdığı; kekik (oregano) uçucu yağının (Alp et al., 2012) ve rezene tohumunun (Al-Sagan et al., 2020) değiştirmedığı; kekik veya sarımsak uçucu yağı (Kırkpınar et al., 2011) ile rezene ekstraktının ise düşürdüğü bildirilmiştir. Elde edilen bulgular RUY'un CA üzerindeki bahsedilen etki mekanizmaları CAK içinde söylenebilir. Ayrıca RUY endojen enzimlerin salınımını uyararak, büyümenin artmasını sağlamış olabilir. Nitekim mikroarray analiz bulgularında elde edilen katalitik aktivite ve anatomik gelişimden sorumlu genlerdeki yukarı yönlü regülasyon bu kanıyı destekler niteliktedir.

RUY'un yem tüketimi'ni (YT) rakamsal olarak düşürdüğü ancak bunun önemli olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.8) Nitekim Safaei-Cherehh et al. (2018) araştırma bulgularına benzer olarak 0-21. ve 22-42. günlerde farklı düzeylerdeki (100, 200, 300 veya 400 ppm) rezene ekstraktının YT'yi düşürmediğini, ancak mevcut bulgulardan farklı olarak da 0-42. günler arasındaki tüm dönemde rezene ekstraktının tüm düzeylerinin kontrole kıyasla YT'yi düşürdüğünü bildirmiştir. Benzer şekilde çalışmada saptanan YT değerleri, Mohammed and Abbas (2009) ve Cengiz et al. (2016)'un sırasıyla bildirdikleri rezene tohumu (1, 2 veya 3 g/kg) ve rezene uçucu yağının (100 mg/kg) tüm dönemlerde YT'yi değiştirmedığı bulgularıyla uyumludur. Rezene baharatı (El-Deek et al., 2002) ve rezene tohumunun (Al-Sagan et al., 2020) kullanıldığı bir diğer etlik piliç çalışmalarında da yine YT değerlerinin değişmediği bildirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalar da nane (Al-Kassie, 2010), kekik uçucu yağı (Alp et al., 2012), yaban mersini uçucu yağının (Salehifar et al., 2017), YT'yi düşürdüğü; fesleğen, kimyon, defne, limon, oregano, adaçayı, çay ve thyme'den elde edilen uçucu yağ karışımını içeren ticari bir yem katkı maddesi olan Tecnaroma Herbal Mix PL (Khattack et al., 2014) ve biyoaktif bileşen karışımının (Hafeez et al., 2016) değiştirmedığı; uçucu yağ veya bitkisel ekstrakt karışımı (Alçıçek et al., 2004; Attia et al., 2017), gül ağacı yağı (Aguilar et al., 2014) ve kekik uçucu yağının (Saleh et al., 2014) ise artırdığı bildirilmiştir. Elde edilen bulgularda da YT'nin geri kalması araştırma

hipotezinin kabul edilebilirliği açısından önemli bir bulgudur. Diğer yandan YT'nin artması yem lezzetliliğine, hoş olmayan tat ve kokuların baskılanmasına veya tükürüğün, mide sıvılarının salgılanmasını uyaran iştah açıcı özelliklerinden kaynaklanabilir. Ancak RUY'un muhtemelen kapsüle edilerek hayvanlara sunulması ve etkinliğini direkt olarak incebağırsakta göstermesinden dolayı yem lezzetliliğini etkilememiş ve böylece YT'yi değiştirmemiş olabilir. Ayrıca etlik piliçler enerji gereksinimlerine göre yem tükettiklerinden, RUY ilavesiyle olası artan sindirim ve emilimin veya patojenlerin yok edilmesi aracılığıyla sağlanan enerji tasarrufu, daha fazla yem tüketme isteği duymamalarına sebep olmuş olabilir.

Etlik piliç karma yemlerine RUY ilavesinin yemden yararlanma oranı'nı (YYO) başlatma, bitirme ve tüm üretim dönemlerinde kontrole göre önemli derecede iyileştirdiği, ancak RUY düzeyleri arasında fark oluşturmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.9). Ayrıca kontrol grubuna kıyasla RUY düzey artışına paralel olarak YYO sırasıyla % 5.17, 5.74, 7.47 ve 6.90 oranında iyileşmiştir. Çalışma bulgularına benzer olarak Mohammed and Abbas (2009), 2 veya 3 g/kg rezene tohumunun 42. gündeki YYO'yu iyileştirdiğini tespit etmiştir. Ancak farklı olarak Cengiz et al. (2016) rezene uçucu yağının (100 mg/kg), Safaei-Cherehh et al. (2018) ise rezene ekstraktının (100, 200, 300 veya 400 ppm) tüm dönemlerde YYO'yu değiştirmedini bildirmişlerdir. Diğer yandan Salehifar et al. (2017), yaban mersini uçucu yağı ile yaptığı bir çalışmada 150, 300 veya 450 mg/kg tüm düzeylerinin 0-42. günler arasındaki dönemde YYO'yu iyileştirdiğini saptamıştır.

Khatack et al. (2014) fesleğen, kimyon, defne, limon, oregano, adaçayı, çay ve thyme'den oluşan ticari (Tecnaroma Herbal Mix PL) bir uçucu yağ karışımının (300g/t) YYO'yu önemli derecede iyileştirdiğini tespit etmiştir. Çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) tohum tozu ile yapılan bir başka çalışmada etlik piliç diyetlerine % 1, 2 ve 3 düzeylerinde ilavesinin YYO'yu anlamlı olarak iyileştirdiği bildirilmiştir (Mamoun et al., 2014). İncelenen diğer çalışmalarda uçucu yağ karışımı (Alçiçek et al., 2004), nane (Al-Kassie, 2010), kekik uçucu yağı (Alp et al., 2012), gül ağacı yağı (Aguilar et al., 2014), zencefil uçucu yağı (Saleh et al., 2014), bitkisel ekstrakt karışımı (Attia et al., 2017) YYO'yu iyileştirmiş; sarımsak uçucu yağı (Kırkpınar et al., 2011) ve rezene tohumu (Al-Sagan et al., 2020) değiştirmemiş; kekik uçucu yağı (Kırkpınar et al., 2011; Saleh et al., 2014)

ise geriletmiştir. RUY'un YYO üzerindeki olumlu etkinliği de muhtemelen bağırsak mikrobiotasını yararlı bakteriler lehine dönüştürmesi ve bağırsak morfolojisini değiştirerek daha fazla emilim yüzey alanı oluşturmasında kaynaklandığı söylenebilir. Genel olarak hayvan beslemede FYK'lerin kullanılmasında elde edilen sonuçlardaki varyasyonlar, kullanılan katkının türü, kökeni, aksamı, hasat zamanı, ekstraksiyon yöntemi ve özellikle fitokimyasal bileşenlerin kompozisyonu ile hayvanlara veriliş şekli, çalışmalara dahil edilme düzeyi, hayvan türü, çevresel koşullardaki farklılıklara bağlanabilir.

5.2 Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Ölüm Oranları

Çalışmada RUY ilavesinin 100 mg/kg ve sonraki düzeylerde Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) değerini artırdığı ve ölüm oranı üzerine de önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.10). Bilindiği gibi EPEF, yaşama gücü, canlı ağırlık, yaş ve yemden yararlanma oranı ile hesaplanan bir performans kriteridir (Majdeddin et al., 2019). Buna göre çalışmada EPEF değerinin artması, RUY ilavesinin canlı ağırlığı artırması ve yemden yararlanma oranını iyileştirmesiyle ilişkilendirilebilir. Abd El-Ghany and Ismail (2014), içme suyuna kekik yağı ilavesinin EPEF değerini negatif kontrole göre düşürdüğünü, pozitif kontrole (*E.coli* enfekte edilmiş) göre ise artırdığını bildirmişlerdir. Aydın (2017), kekik veya çörek otu ekstraktlarının veya bunların karışımlarının, Gümüş (2017), ise üzüm çekirdeği ekstraktı veya yeşil çay ekstraktının EPEF değerini değiştirmediğini saptamıştır. Petričević et al. (2018) da biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*) karma yeme % 0.2 düzeyinde ilavesinin EPEF değerini değiştirmediğini, % 0.4 veya % 0.6 düzeyinde ilavesinin ise artırdığını bildirmişlerdir. Diğer yandan, fitojenik katkıların ölüm oranı üzerine etkisi ile ilgili; Alççek et al. (2004) ve Küçükyılmaz vd. (2012) aralarında rezenenin de olduğu esansiyel yağ karışımının, Tunçer (2012) mersin yaprağı yağının ve İpçak and Alççek (2019) kapsikum oleoresin, sinnamaldehit, karvakrol veya bunların karışımının ölüm oranını etkilemediğini bildirmişlerdir. Ragab et al. (2013) ise % 1 veya 2 oranında rezene tohumunun ölüm oranını düşürdüğünü tespit etmiştir. Sonuç olarak, ticari koşullarda yetiştirilen ve hızlı büyüyen etlik piliçlerin sınırlı alanlarda birbiriyle temas etmesi, yaygın bulaşıcı ve metabolik hastalıklara karşı duyarlı olmaları ölüm oranlarının artmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla RUY

antimikrobiyel etkinliği aracılığıyla patojen mikroorganizmaları yok ederek ve bağışıklığın güçlenmesini destekleyerek ölüm oranının artmasını engellemiş, yemden yararlanma oranını ve canlı ağırlığı iyileştirerek de EPEF değerini artırmıştır.

5.3 Karkas Randımanı, Karkas Parametreleri ve Organ Gelişimi

Çalışmada karma yeme farklı düzeylerde RUY ilavesinin, kesim öncesi CA, sıcak karkas ağırlığı ve randımanı, göğüs kası ağırlığı ve bunun relatif değerini artırdığı saptanmıştır. Ayrıca bu etkinin lineer olduğu bulunmuştur. Genel olarak söz konusu parametrelere ait en yüksek artışlar RUY400 grubunda gözlenmiştir. Diğer yandan, RUY ilavesi but ağırlığını değiştirmemiş ancak abdominal yağ ağırlığını artırdığı görülmüştür. Bununla beraber, RUY'un relatif abdominal yağ ağırlığı üzerine etkisi lineer olmuştur (Çizelge 4.11). Fitojenik katkıların etlik piliçlerde karkas parametreleri üzerine etkisiyle ilgili; El-Deek et al. (2002), rezenenin zencefil veya anason ile kombinasyonunun karkas ve abdominal yağ ağırlıkları üzerinde etkili olmadığını, Alçiçek et al. (2004) aralarında rezenenin de olduğu esansiyel karışımının karkas oranını artırdığını fakat abdominal yağ oranını değiştirmedeğini, Al-Sagan et al. (2020) da rezene tohumunun karkas, abdominal yağ ağırlıklarını değiştirmedeğini ancak göğüs kası oransal ağırlıklarını artırdığını bildirmişlerdir. Tunçer (2012) ise, mersin uçucu yağının karkas randımanını artırdığını, Babaoğlan ve Kutlu (2008), kapsüle edilmiş sentetik timol:karvakrol, kekik ekstraktı veya yağının karkas ağırlığını değiştirmedeğini, Kahattack et al. (2014) esansiyel yağ karışımının kesim sonu CA ve karkas ağırlığını değiştirmedeği fakat göğüs ağırlığını artırdığını, Attia et al. (2017) bitkisel ekstrakt karışımının karkas ağırlığı ve abdominal yağ oranını değiştirmedeğini ve Criste et al. (2017), kuşburnunun karkas ağırlığını düşürdüğünü bildirmişlerdir. Çakmak et al. (2017) ise, yeme sumak ilavesinin abdominal yağ oranı üzerine etkisiz olduğunu bununla birlikte, bu parametre bakımından yerleşim sıklığı sumak ilavesi interaksiyonunun önemli derecede etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Meimandipour et al. (2017) da kapsüle edilmiş ya da edilmemiş ısırgan kökü, dereotu veya aloevera ekstraktlarının karkas ağırlıkları üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Buna göre, çalışmadan elde edilen bulguların önceki çalışmalarla kısmen uyumlu olduğu görülmüş ve fitojenik katkıların etkinliğinin verildiği form, düzey, karma yem (diyet), çevresel koşullar gibi

faktörlere bağlı değişkenlik gösterebildiği sonucuna varılmıştır. Nitekim alışmada, RUY'un kapsüle formda verilmesinin, yeme daha homojen karışması, uçucu özelliğinin baskılanması ve hedef bölgeye daha fazla ulaşması ile etkinliğinin arttığı düşünülmektedir.

Çalışmada farklı düzeylerde RUY ilavesinin iç organ ağırlıkları üzerine etkili olduğu görülmüştür. Buna göre, karaciğer, kalp ve bursa fabricius ağırlıklarını artırdığı; ayrıca karaciğer ve bursa fabricius ağırlıklarındaki artışın lineer olduğu saptanmıştır. Ancak dalak, bezel mide, taşlık ve pankreas ağırlıkları üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. (izelge 4.12). Rezene ile ilgili; El-Deek et al. (2002), zencefil ya da anason ile farklı kombinasyonlarının kalp, karaciğer, dalak ve pankreas, Mohammed and Abbas (2009), kalp, dalak, bursa fabricius, taşlık ve karaciğer, Al-Sagan et al. (2020) taşlık ve karaciğer ağırlıklarının üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Fitojenik katkıların iç organ ağırlıkları üzerine etkisi ile ilgili; Babaoğlan ve Kutlu (2008), kaplanmış sentetik timol:karvakrol, kekik ekstraktı veya yağının abdominal yağ, bezel mide, taşlık, Soltan et al. (2008), anason tohumunun kalp, taşlık, karaciğer ve akmak et al. (2017), sumağın karaciğer, dalak ve bezel mide üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Buna göre, çalışmadan elde edilen bulgulardan karaciğer, kalp ve bursa fabricius ağırlıklarının önceki çalışmalarla uyumsuz olduğu görülmüştür. alışmalar arasındaki bu fark, araştırmada kullanılan RUY'un kapsüle edilmiş formu ile etkinliğinin artmasına bağlanmıştır. Balasubramanian et al. (2016), fitojenik veya organik asit gibi katkıların, hedeflenen bölgede (incebağırsak) salınımının arttırılması amacıyla yapılan enkapsülasyon işleminin hayvanlarda performansı arttırabileceğini bildirilmişlerdir. Çalışmada da kapsüle edilmiş RUY'un etkinliği artarak, bazı enzimlerin salınımını stimüle ettiği ve karaciğer artışını desteklediği düşünülmektedir. Benzer şekilde, bursa fabricius ağırlığındaki artış ise RUY'un immünoregülatör etkisiyle ilişkilendirilebilir.

Çalışmada RUY ilavesinin total ince bağırsak, duodenum, jejunum ile ileum ağırlıklarını artırdığı ve bu artışın lineer olduğu görülmüştür. Total kalın bağırsak, sekum ve kolon ağırlıklarını ise sadece rakamsal düzeyde artırdığı saptanmıştır. Diğer yandan, bağırsak oransal ağırlıkları zerine RUY'un herhangi bir etkisi olmamıştır (izelge 4.13). Alçiçek et al. (2004), aralarında rezenenin de olduğu esansiyel yağ karışımının ince bağırsak oransal ağırlığını düşürdüğünü, Babaoğlan

ve Kutlu (2008), kekik yağının duodenum ağırlığını artırdığını ancak bunun istatistiksel olarak önemli olmadığını, Küçükyılmaz vd. (2012), aralarında rezenenin de olduğu esansiyel yağ karışımının ince, kalın ve kör bağırsak ağırlıklarını değiştirmediğini ve Criste et al. (2017) da kekiğin ince bağırsak ağırlığını artırdığını bildirmişlerdir. İpçak and Alçiçek (2019) ise, Kapsikum oleoresin (CAP) ve kapsikum oleoresin+karvakrol+sinnamaldehit'in (CAP+CAR+CIN) toplam ince bağırsak, CAP ve CAP+CAR+CIN, karvakrol (CAR) ve sinnamaldehit'in (CIN) duodenum, CAP ve CAR'ın ileum, CAP+CAR+CIN'in de jejunum ve kalın bağırsak ağırlıklarını düşürdüğünü bildirmişlerdir. Sonuç olarak RUY ilavesiyle artan ince bağırsak ağırlıklarının besinlerin sindirim sisteminde daha uzun kalarak daha çok değerlendirilmelerine olanak sağlayabileceği ve bağırsak ağırlık artışının canlı ağırlık artışı ile ilişkili olabileceği söylenebilir.

5.4 İnce Bağırsak Morfolojisi

Bağırsak sağlığı altında esasen konakçının bağışıklık sistemi, bağırsak mukozal bariyeri, mikrobiyal popülasyon ve beslenme gibi çeşitli bileşenler bulunmaktadır (Ducatelle et al., 2018). Bu bileşenlerin herhangi birindeki dengesizlik etkili sindirim ve besin madde emilimini ve dolayısıyla hayvansal üretim verim ve sağlığını önemli derecede etkileyebilir. Bu nedenle beslenme ile her bir bileşenler arasındaki etkileşimin aydınlatılması gerekmektedir. Bu bağlamda etlik piliç karma yemlerine farklı düzeylerde RUY ilavesinin (0, 50, 100, 200 ve 400 mg/kg) proksimal (Duodenum ve Jejunum) ince bağırsak üzerindeki etkilerine atı bulgular Çizelge 4.14'de verilmiştir. Özellikle 400 mg/kg RUY (RUY400) ilavesinin duodenum villus yüksekliğini (VY), kript derinliğini (KD), VY/KD oranını, villus genişliğini (VG) ve villus alanını (VA) önemli derecede artırmıştır. Nitekim mevcut literatürler incelendiğinde, birçok FYK'nin etlik piliçlerin bağırsak histomorfolojisi üzerinde farklı sonuçlara yol açtığı görülmüştür. Etlik piliç yemlerine ilave edilen sarımsak tozunun VY ve KD'yi artırdığı, KD/VY oranını ise azalttığı (Abidmoradi et al., 2006), kurutulmuş ve fermente edilmiş zencefilin VY ve VA'yı değiştirmedeği (Incharoen et al., 2010), 200 veya 400 mg/kg nane (*Mentha piperita*) uçucu yağının VY'yi değiştirmedeği, 400 ppm dozda KD'yi artırdığı ve VY/KD oranını ise azalttığı (Emami et al., 2012), fitojenik yem katkı maddesi karışımının, *Boswellia serrata* reçinesinin ve bir başka çalışmadaki farklı bir fitojenik karışımının VY, KD ve VY/KD

oranlarını değiştirmediği (Tsirtsikos et al., 2012; Kiczorowska et al., 2016), 7.5 g/kg *Euphorbia hirta*'nın VY, VY/KD ve VA'yı artırdiği, KD'yi ise azaltiği (Hashemi et al., 2014) ve bir başka fitojenik yem karışımın VY ve KD'yi değiştirmediği bildirilmiştir. Ancak bu farklı sonuçlara nazaran antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilcek bir FYK'nin VY, VY/KD oranını ve VA'yı artırması, KD'yi ise azaltması beklenir. Çünkü Paiva et al. (2014) bağırsak villuslarının kısa olmasının daha zayıf emilim ve sindirime neden olduğunu, bunun emilim alanının azlığına ve daha az olgun eritrositlerin varlığına bağlamıştır. Daha derin kript derinliği ise, daha hızlı hücre kaybını belirtmektedir. VY'nin artması, KD'nin azalması önemli ölçüde artan VY/KD oranı ile sonuçlanır ki, bu da olgun eritrosit varlığını ve besin madde emiliminin etkinliğini ifade eder (Paiva et al., 2014; Zeng et al., 2015b). Diğer yandan besinler villuslar aracılığıyla emilir. VA'nın artması emilim yüzeyinin genişlemesini sağlamakta ve daha fazla besin maddesinin kemosensörler tarafından tutuklanma olasılığını artırmaktadır. Bu kanıya dayanarak özellikle yeme 400 mg/kg RUY takviyesinin bağırsak morfolojisini olumlu yönde etkilediği söylenebilir. Ek olarak RUY'un villus uzunluğunu artırması mikroarray analizi sonucunda saptanan anatomik gelişim üzerine etkili genlerin ekspresyonunu artırmasına dayandırılabilir.

RUY'un duodenum tunika mukoza kalınlığını (mukozal tabaka, TMK) artırdiği, Muskularis mukoza kalınlığını (musküler tabaka, MMK) ise etkilemediği saptanmıştır (izelge 4.14). Benzer şekilde Hashemi et al. (2014) *Euphorbia hirta*'nın (7.5 g/kg) MMK'yi etkilemediğini bildirmiştir. Akbarian et al. (2013) 25-28. günler arasında etlik piliçlere günlük 5 saat sıcaklık stresi uyguladığı çalışma sonucunda 200 veya 400 mg/kg limon kabuğu, portakal kabuğu ekstraktı veya *Curcuma xanthorrhiza* uçucu yağının TMK'yi değiştirmediğini saptamıştır. Murugesan et al. (2015) ise 30'un üzerinde uçucu yağ ve fitojenik bileşen içeren bir yem katkı maddesinin mukoza kalınlığını düşürdüğünü bildirmiştir. Mukozal tabakanın patojen mikroorganizmaların yapışmasını azalttığı ve böylece bağırsaklardaki mikrobiyal öbiyozisi stabilize ettiği ileri srlmştir (Jamroz et al., 2006). Diğer yandan bağırsak epitel hücrelerin çevresini sararak hem yüzey alanının genişlemesini sağlarlar hem de olası patojen metabolit veya kimyasalların iritasyonuna karşı koruyucu görevi taşırlar. Bu nedenle etlik piliç yemlerine RUY ilavesinin bağırsak mukus sekresyonunu uyararak olumlu etki gösterdiği

söylenbilir. Nitekim mukus tabakası kalınlığının artması, mukozanın ana bileşenini oluşturan müsini kodlayan genlerden biri olan müsün 2 (MUC2) geninin ekspresyonunun artmasıyla ilişkilendirilebilir.

Etlik piliç karma yemlerine RUY ilavesinin jejunum VY, VG ve VA'sını önemli derecede artırdığı, düzey artışına paralel VY/KD oranını sayısal olarak artırmasına rağmen anlamlı etkilemediği ve TMK'yi değiştirmedeği ancak MMK'yi artırdığı görülmüştür (Çizelge 4.14). Benzer şekilde Hashemipour et al. (2013a) etlik piliç diyetlerine 100 veya 200 mg/kg timol+karvakrol (1:1) ilavesinin VY, VY/KD, VA ve musküler kalınlığı artırdığı, VG, KD ve mukoza kalınlığını ise değiştirmedeğini saptamıştır. Ayrıca FYK'lerin jejunum morfolojisi üzerine etkinliğinin incelendiği diğer çalışmalarda ise sarımsak tozunun VY, KD ve KD/VY oranını artırdığı (Abidmoradi et al., 2006), uçucu yağ karışımının VY ve KD'yi azalttığı, hidroalkolik ekstrakt karışımının ise etkilemediği (García et al., 2007), kurutulmuş ve fermente edilmiş zencefilin VY ve VA'yı değiştirmedeği (Incharoen et al., 2010), nane (*Mentha piperita*) uçucu yağının VY, KD ve VY/KD oranını değiştirmedeği (Emami et al., 2012), ve fitojenik yem katkı madde karışımının VY ve KD'yi değiştirmedeği bildirilmiştir. Kiczorowska et al. (2016) ise *Boswellia serrata* reçinesinin (% 1.5, 2 ve 2.5), VY ve mukoza kalınlığını değiştirmedeği, KD'yi azalttığı ve VY/KD oranını ise artırdığını saptamıştır. Nitekim besin madde emiliminin büyük çoğunluğunun jejunumda gerçekleşmesinden dolayı RUY'un VY, VG ve VA'yı artırması daha fazla besin emiliminin sağlanmasına ve böylece büyümenin artmasına destek sağlamış olabilir. Ayrıca kalın bir muskularis mukoza tabakası villusların hareketliliğini sağlayarak bir yandan besin maddelerinin ilerleyişini artırarak diğer yandan ise sindirim içeriğini (digesta) altüst ederek, daha fazla besin madde emilimini sağlayabilir. Bu nedenle RUY'un MMK'yi artırması, pozitif etki olarak değerlendirilmiştir.

Etlik piliç karma yemlerine RUY ilavesinin distal (İleum) ince bağırsak morfolojisine etkileri değerlendirildiğinde ise VY, VA ve MMK'yi artırdığı, KD, VY/KD, VG, VA ve TMK'yi etkilemediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Benzer şekilde 100 veya 200 mg/kg timol + karvakrol (1:1) karışımının VY, VY/KD ve musküler kalınlığı artırdığı, VG, VA, KD ve mukoza kalınlığını ise değiştirmedeği saptanmıştır (Hashemipour et al., 2013a). Mevcut çalışmalarda ileum morfolojik

ölçümlerine ait diğer bulgular ise sarımsak tozunun VY, KD ve KD/VY oranını artırdığı (Abidmoradi et al., 2006), kurutulmuş ve fermente edilmiş zencefilin VY ve VA'yı etkilemediği (Incharoen et al., 2010), fitojenik yem katkı madde karışımının, VY'yi artırdığı, KD, VY/KD oranı ve mukus tabakasını değiştirmedeği (Tsirtsikos et al., 2012) ve bir başka fitojenik karışımın ise VY, KD ve VY/KD oranlarını değiştirmedeği (Fascina et al., 2017) bildirilmiştir. Nitekim mikrobiyal popülasyonun büyük çoğunluğu ileal ve sekal bölgede bulunmaktadır. Dolayısıyla mikrobiyal kompozisyon ileum morfolojisini etkileyebilir. Bu bağlamda, RUY'un antimikrobiyal etkinliğine bağlı olarak patojen mikroorganizmaların azlığı ileum morfolojisini iyileştirmiş olabilir.

5.5 İnce Bağırsak Mikroflorası

Etlik piliçlerin normal bağırsak mikrobiyotası bağırsak sağlığı, bağışıklık gelişimi, metabolizma ve fizyolojik faaliyetlerin regülasyonu üzerinde etkileri nedeniyle hayvan beslenmede önemli bir rol oynar (Gong et al., 2014). Bu nedenle bağırsak mikrobiyotasının herhangi bir modülasyonu hayvan performansını etkileyebilir. Özellikle de *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *E. coli*, ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteriyel kökenli hastalıklar kanatlı kümes hayvanı üretiminde hala ciddi bir sorun teşkil etmektedir (Adaszyńska-Skwirzyńska and Szczerbińska, 2017). Bu bağlamda RUY'un jejunum mikroflora kompozisyonu üzerine etkinliğine ait bulgular Çizelge 4.16'da verilmiştir. Buna göre jejunumda özellikle 100, 200 ve 400 ppm RUY düzeyinde *E. coli* O-157:H7 ve 200 ve 400 ppm RUY düzeyinde ise *Staphylococcus aureus* tespit edilmediği, diğer gruplarda ise her iki bakteri türü de iz miktarda önemsiz olarak görüldüğü saptanmıştır. Diğer yandan *Salmonella* spp. tüm gruplarda iz miktarda; *Clostridium perfringens* ise 400 ppm RUY düzeyinde tespit edilememiş diğer tüm gruplarda her iki bakteri de iz miktarda anlamsız düzeyde tespit edilmiştir. *Lactobacillus* spp. sayısı ise RUY düzey artışına paralel olarak artmış ve en yüksek 400 ppm RUY (RUY400) ilaveli grupta saptanmıştır. Bu durumda RUY'un patojen gelişimini baskıladığı, yararlı bakterilerin gelişimini ise uyardığı söylenebilir. Erhan et al. (2012) ise % 0.25 veya 0.50 pennyroyal'ın (*Menta pulegium* L.) etlik piliçlerin jejunumundaki *E. coli* sayısını düzey artışına paralel azalttığı, laktik asit bakterileri sayısını da düzey artışına paralel önemli derecede artırdığını bildirmiştir. Jejunum mikrobiyal

kompozisyonu üzerinde kekik (oregano) uçucu yağı, atapulgit, benzoik asit'in ve bunların karışımlarının etkisinin incelendiği bir başka çalışmada ise tüm grupların total bakteri, *Lactobacillus* spp. ve *Clostridium perfringens* sayılarını etkilemediğini, karışım grubunun ise Enterobakter sayısını artırdığını tespit etmiştir. Nitekim Burt (2004) birçok FYK'nin antimikrobiyal etki tarzının, bu fenolik bileşenlerin hidrofobikliğine ve bileşenlerin hücre zarını parçalanmasına, iyonların sızmasına ve bunun sonunda hücre ölümüne yol açan bakteriyel hücre zarına girebilmelerine dayandırmıştır. Di Pasqua et al. (2006) ise antimikrobiyal etkiyi bakteriyel hücre zarlarının yağ asidi bileşimindeki değişiklikler ile ilişkilendirmiştir. Yağ asidi bileşimindeki değişiklikler mikroorganizmaların hayatta kalma kabiliyetini etkileyebilir. Dolayısıyla RUY patojen mikroorganizmaların yağ asidi bileşimini değiştirerek, yararlı bakterilerin artışı sağlanmış olabilir.

Mikrobiyal popülasyonun yoğun olduğu ileumda RUY'un etkinliği incelendiğinde ise elde edilen sonuçlarda *E. coli* O-157:H7, *Salmonella* spp. ve *Clostridium perfringens* sayıları bakımından gruplar arası fark olmadığı, ancak RUY ilavesinin *Staphylococcus aureus* sayısını önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. *Lactobacillus* spp. sayısı ise düzey artışına paralel artmış ve en yüksek RUY400 ilaveli gruplarda saptanmıştır (Çizelge 4.16). Nitekim mevcut literatürler incelendiğinde, birçok FYK'nin etlik piliçlerin ileum mikroorganizma sayıları üzerinde farklılıklar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Safaei-Cherehh et al. (2018) mevcut araştırma bulgularından farklı olarak rezene ekstraktının (100, 200, 300 veya 400 ppm) *E. coli* sayısını azalttığı, *Lactobacillus* spp. sayısını ise etkilemediğini bildirmiştir. Bir başka çalışmada, Çakmak et al. (2017) farklı yerleşim sıklıklarında barındırılan etlik piliçlerde 0.75 ve 1.5 g/kg sumak (*Rhus Coriaria* L.) tozunun *E. coli* sayısını düşürdüğü, laktik asit bakterileri sayısını ise artırdığını saptamıştır. İpçak and Alçiçek, (2019)'in yaptıkları çalışmada ise 150 mg/kg kapsikum oleoresin, sinnamaldehit, karvakrol veya bunların karışımlarının (1:1:1) *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens* sayılarını değiştirmediği, tüm gruplarda *Salmonella* spp. tespit edilmediği, *Lactobacillus* spp. sayısını ise önemli derecede artırdığı bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan bir başka çalışmada da % 0.1, 0.2 ve 0.4 kişniş tohum tozu ilavesinin total bakteri, *E.coli* ve *Clostridium perfringens* sayılarını düzey artışına paralel azaltmıştır (Taha et al., 2019). İleum

mikrobiyal kompozisyonunun tespiti üzerine yapılan diğer çalışmalar da ise 300 mg/kg kekik (oregano), sarımsak uçucu yağı ve karışımlarının *Clostridium* spp. sayısını azalttığı (Kırkpınar, et. al., 2011), 100 mg/kg *Forsythia suspensa* ekstratı, berberin veya karışımlarının *E.coli*, *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobakter* sayılarını değiştirmediği (Zhang et al., 2013) ve 200 mg/kg timol+karvakrol karışımının *Laktobacillus* spp. ve *Bifidobakter* sayılarını artırdığı, *E.coli* sayısını ise düşürmediğini (Hashemipour et al., 2013a) bildirmişlerdir. Çalışmalar arasında elde edilen bu farklılıkların, kullanılan bitkinin türüne, aksamına, uygulanan düzeye ve içerdiği fitokimyasal bileşene bağlı olmakla birlikte mikroorganizma tür ve şuşlarının duyarlılığına da dayandırılabilir. RUY'un ise muhtemelen, patojen mikroorganizmaların dış zarlarının parçalanmasına ve hücre içeriğinin sızıntısına yol açarak, bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösterdiği söylenebilir. Bu da bağırsak mikroflorasında yararlı olan laktik asit üreten bakterilerin sayısındaki artışı sağlamıştır. *Lactobacillus* şuşları da pH'yı düşürerek, hem uçucu yağ etkinliğini hem de enzim aktivitesinin artışı ve patojen gelişiminin engellemesini sağlayarak büyümeyi desteklemiş olabilir. Genel olarak ise RUY'un bağırsak mikrobiyata ekosistemini olumlu yönde etkilediği söylenebilir.

5.6 İnce Bağırsak Transkriptom Profili

Etlik piliçlerdeki tüm biyolojik süreçler, santral dogmadaki genetik bilgi akışına (DNA-RNA-Protein) bağlıdır. Bu bilgi akışı genetik yapı tarafından kontrol edilse de, diyetdeki besinler gen ekspresyonunu (transkripsiyon) regüle edebilmektedir. Dolayısıyla genlerin yukarı (up) veya aşağı (down) regülasyonu yaşam için birincil öneme sahip, hücrede yapısal, mekanik, biyokimyasal, hücre sinyal iletimi ve depolama gibi çeşitli fizyolojik işlevleri olan proteinlerin yapı, aktivite ve miktarlarını değiştirebilmektedirler (Siddique et al., 2009; Sales et al., 2014). Nitekim, RUY ile beslenen etlik piliçlerden alınan ince bağırsak dokularında global gen ekspresyon profillerinin analizi sonucunda (Bkz. Bölüm 4.9) kontrol grubuna kıyasla, RUY50 gruplarında 261 genin [206 up-regüle (≥ 1.2 fold), 55 down-regüle (≤ -1.2 fold)], RUY100 gruplarında 302 genin [218 up-regüle (≥ 1.2 fold), 84 down-regüle (≤ -1.2 fold)], RUY200 gruplarında 292 genin [231 up-regüle (≥ 1.2 fold), 61 down-regüle (≤ -1.2 fold)] ve RUY400

gruplarında 348 genin [268 up-regüle (≥ 1.2 fold), 80 down-regüle (≤ -1.2 fold)] mRNA ekspresyon seviyelerinin değiştiği saptanmıştır.

Upregüle genleri büyük çoğunluğunun moleküler fonksiyon analizleri sonucunda RUY50 grubunda katalitik aktivite ve organik halkalı bileşik bağlayıcı, RUY100 grubunda heterosiklik bileşik bağlayıcı ve transkripsiyon regülatör aktivitesi, RUY200 grubunda protein bağlayıcı ve hidrolaz aktivite, RUY400 grubunda ise katalitik aktivite olarak sınıflanmıştır. Ayrıca upregüle genlerin çoğu RUY50 için anatomik yapı gelişimi, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve gelişim süreci, RUY100 için gelişim süreci, anatomik yapı gelişimi ve hücre farklılaşması, RUY200 için hücrenel gelişme süreci ve hücre iskeleti organizasyonu, RUY400 için ise anatomik yapı gelişimi ve çok hücreli organizma gelişimi gibi biyolojik süreçlere dahil olmuştur. Upregüle genlerin çoğunluğunun kodladığı protein sınıfları ise RUY50 ve RUY100 gruplarında gen spesifik transkripsiyonel regülatör ve DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü, RUY200 grubunda gen spesifik transkripsiyonel regülatör, metaloproteaz ve kinaz, RUY400 grubunda ise protein bağlanma aktivitesi düzenleyici (modülatör), kinaz ve metaloproteaz olarak belirlenmiştir. Downregüle genlerin çoğunluğunun ise tüm RUY ilaveli gruplarda moleküler fonksiyon analizlerinde taşıyıcı aktivitesi ve anyon transmembran taşıyıcı, biyolojik süreç analizlerinde taşıyıcı, organonitrojen bileşiği metabolik proses veya makromolekül lokalizasyonu ve protein sınıflandırılması analizlerinde ise protein modifiye edici enzim veya taşıyıcı proteinleri olarak gruplandığı belirlenmiştir. Bu bulgular RUY'un, hayvansal üretim verimliliği artırmada farklı yollardan, etlik piliçlerin bağırsak transkriptom profilini modüle edebildiğini göstermiştir. Nitekim Ghasemian et al. (2020) RUY'un hücrelerdeki moleküler hedeflere müdahale eden anason aldehit bakımından zengin olduğunu bildirmiştir.

Transkriptom veri analizleri, genomun fonksiyonel unsurlarını yorumlamak ve hücrelerin veya dokuların moleküler bileşenlerini anlamak için gerekmektedir (Duran et al., 2016). Önceki çalışmalarda yapılan transkriptomik profillemeye analizleri sonucunda, transkribe edilen birçoğ genin farklı moleküler fonksiyonlara, protein sınıflarına ve biyolojik süreçlere dahil sınıflarda yer aldıkları görülmüştür. Bir çalışmada, 5 mg/kg karvakrol, 3 mg/kg sinnamaldehit ve 2 mg/kg kapsikum oleoresinin ile beslenen etlik piliçlerde, yüksek verimli mikroarray analizi

kullanılarak bağırsak intraepitelyal lenfositlerin transkriptomu incelenmiştir (Kim et al., 2010). Kontrol grubuna kıyasla karvakrol ile beslenen gruplarda 74 genin (26 up, 48 down), sinnamaldehit ile beslenen gruplarda 62 genin (31 up, 31 down), en fazla ise kapsikum oleoresin ile beslenen gruplarda 254 genin (98 up, 156 down) mRNA ekspresyonunun değiştiği bildirilmiştir. Kat değişimi (fold change) >2 olan genlerin çoğunun metabolik yollarla ilişkili olduğu, kapsikum oleoresin ilaveli gruplarda değişen gen ekspresyonlarının çoğunun lipid metabolizması, küçük molekül biyokimyası ve kanser ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. *Eimeria acervulina* ile oral yoldan 1 günlük etlik civcivleri enfekte ederek oluşturdukları koksidiyoz hastalık modelinde aynı deneme desenini ve aynı fitokimyasalları kullandıkları bir başka çalışmada ise en çok transkriptin kapsikum oleoresin grubunda gözlemlendiği ve bu genlerin çoğunun metabolizma ve bağışıklıkla ilişkili olduğu saptanmıştır. Sinnamaldehit ile indüklenen genlerin ise daha çok antijen sunumu, humoral immün yanıt ve inflamatuvar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lillehoj et al., 2011).

Eimeria spp.'nin neden olduğu koksidiyoza karşı etkili olabilecek doğal bitki kaynaklı katkıların araştırıldığı bir başka çalışmada RUY ana biyoaktif komponenti olan anethole'ün (15 mg/kg), *Eimeria acervulina* ile enfekte edilmiş etlik piliçler üzerindeki etkileri mikroarray hibridizasyon analizi ile araştırılmıştır (Kim et al., 2013a). Anethole ile beslenmiş etlik piliçlerin bağırsak intraepitelyal lenfositlerinde pozitif ve negatif kontrol gruplarına kıyasla 1810 transkript (677 up, 1133 down) ölçülmüştür. Transkribe edilen genlerin çoğunun biyolojik fonksiyonu ise inflamatuvar yanıtla ilgili olduğu bildirilmiştir. Sütten kesilmiş domuzlarda fitojenikler aracılı gen etkileşimlerinin araştırıldığı bir başka çalışmada da kapsikum oleoresin, sarımsak ve zerdeçal oleoresinin her birinin 10 mg/kg düzeyde diyetlere ilavesinin ileal mukoza transkriptomik profillemesi üzerine etkileri incelemiştir (Liu et al., 2014b). Mikroarray analizi sonucunda, kapsikum oleresin ile beslenen gruplarda 490 genin (280 up, 210 down), sarımsak ile beslenen gruplarda 64 genin (33 up, 31 down) ve zerdeçal ile beslenen gruplarda 327 genin (232 up, 95 down) mRNA ekspresyonunun değiştiği saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla kapsikum oleoresin ve zerdeçal oleoresin beslemesinin tight junction (sıkı bağlantı) ve membran bütünlüğü ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak bağırsak mukoza sağlığını iyileştirdiği ancak hücre döngüsü yolaklarını kodlayan genlerin ekspresyonunu ise azalttığı bildirilmiştir.

RNA-Seq teknolojisi kullanılarak son yıllarda yapılan bir çalışmada, sulu kekik (*Origanum vulgare* L.) ekstraktının karma yeme ilavesinin etlik piliçlerin karaciğer transkriptom profili üzerine etkileri araştırılmıştır (Sabino et al., 2018a). Kekik ilaveli gruplarda 129 genin farklı eksprese edildiği ve bu genlerin büyük kısmının down regüle olduğu ve bunların yağ asidi metabolizması ile insülin sinyal yollarına dahil olan genlerden oluştuğu ortaya konulmuştur. Aynı araştırma grubuna ait bir başka çalışmada ise yemle alınan zeytin değirmeni atık suları'nın (OMWW) etlik piliçlerin bağırsak fonksiyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Sabino et al., 2018b). Jejunum epitel hücrelerinde yaptıkları RNA-Seq analizi sonucunda, OMWW ile beslenen etlik piliçlerde 280 genin farklı şekilde eksprese edildiği bulunmuştur. Upregüle olan genlerinin çoğunun viral süreçlerin düzenlenmesinde, downregüle genlerin ise çoğunlukla peroksizom proliferatör aktivatör reseptörü (PPAR, yağ asidi bağlayıcı) sinyal yolu, lipid metabolizması, kolesterol ve steroid biyosentezi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, bağırsak intraepitelyal lenfositlerinde sarımsak sekonder metabolitleri, propil tiyosülfinit ve propil tiyosülfinit oksit içeren bir bileşiğin (Kim et al., 2013b) ve karaciğer dokusunda inülin'nin (Sevane et al., 2014) gen ekspresyon profilini değiştirdiği bildirilmiştir.

Genel olarak, besinlerin transkriptomik profillenmesi üzerine etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışmada 2 temel amaç göze çarpmaktadır. Bunlardan ilki, direkt besin-gen etkileşim mekanizmalarının incelediği ve iyileşen performans, bağırsak sağlığı ile güçlenen bağışıklık gibi üretim verimliliğinin artmasındaki önemli parametrelerin altında yatan genetik ve moleküler mekanizmaların incelenmesidir. Bir diğeri ise *Eimeria* cinsi bakterilerin neden olduğu çok yaygın bir hastalık olan koksidiyoza karşı koruyabilecek doğal bileşenlerin arayışı ve bu bileşenlerin spesifik özelliklerinden sorumlu olduğu genetik ve moleküler mekanizmaların tanımlanmasıdır. Dolayısıyla *Eimeria* spp. gibi bir stres faktörü kullanılarak oluşturulan denemelerde elde edilen transkriptom verilerindeki önemli derecede upregüle olan genlerin, immun ve inflamatuvar yanıt ile ilgili olduğu saptanmıştır. Bu durumda doğal bileşen aracılığıyla artan proinflamatuvar sitokin interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, interferon-gamma (IFN- γ), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), ve kemokin genleri, bağışıklık yanıtını ve hastalık direncini artıran metabolik değişikliklere aracılık eder ve performansın

korunmasını veya iyileşmesini sağlar. Ancak ilave edilen doğal bileşenin yetersizliği veya yokluğu durumunda hücreler daha fazla inflamatuvar sitokin ve kemokin salgılayarak diğer hücreleri lokal bölgelere toplamak zorundadır (Hung and Lee, 2018). Bu organizmanın enfeksiyonla savaşması ve dokuyu onarması için gerekli bir işlem olup, uzun süreli bir inflamasyon enerji tüketimini ve vücut sıcaklığını artırabilir ve böylece performans düşüklüğüne neden olabilmektedir (Korver, 2012; Hung and Lee, 2018). Diğer yandan sitokinlerin fazla salınımı iştah kaybına ve kas doku katabolizmasına da yol açabileceği bildirilmiştir (Niewold, 2007; Huyghebaert et al., 2011).

Bu çalışmada ise insan ve veteriner tıbbında antimikrobiyal ve antibakteriyel etkileriyle iyi bilinen RUY'un bu özelliklerinden sorumlu hücresel moleküler mekanizmaları incelediğinde, upregüle olan genlerin çoğunlukla katalitik aktivite, bağlayıcı/binding, transkripsiyon regülatör ve transkripsiyon faktör, anatomik yapı ve hücresel gelişim ile protein bağlanma aktivitesi düzenleyicisiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebi RUY'un antimikrobiyal etkinliğine bağlı olarak, organizmanın patojen bakterilere veya toksik metabolitlerine daha az maruz kalması bağırsakta bağışıklık savunma aktivitesine daha az ihtiyaç duyulmasını sağlamakta ve böylece protein üretiminin, bağışıklık modülatörleriyle inflamatuvar yanıt aksine büyüme veya hücresel gelişim gibi farklı biyolojik fonksiyonlara tahsis edilmesine dayandırılabilir (Steiner, 2006; Zeng et al., 2015a). Özellikle düşük dozlardaki (50 veya 100 mg/kg) RUY ilaveli gruplarda upregüle olan genlerin büyük çoğunluğunun gen spesifik transkripsiyonel regülatör veya DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü (TF) protein sınıfına ait olduğu saptanmıştır. Gen ekspresyonunun regülasyonu TF'ler tarafından yönetilir (Duran et al., 2016). Başka bir deyişle TF'ler gen ekspresyonunun kontrolörüdürler. TF'ler hücrenin nasıl çalışacağını ve karaciğer, bağırsak ve yağ dokusu gibi metabolik olarak aktif organlarda besin değişikliğine nasıl yanıt vereceklerini belirler (Siddique et al., 2009). Dolayısıyla TF'ler özellikle büyüme ve gelişme ile bağırsak sağlığından sorumlu diziye özgü genlere bağlanarak büyümeyi teşvik etmiş olabilirler. Diğer yandan yüksek düzeylerdeki (200 veya 400 mg/kg) RUY ilaveli gruplarda ise upregüle olan genlerin büyük çoğunluğu enzim aktivitesi moleküler fonksiyon sınıfına aittir. Dolayısıyla RUY ilaveli gruplardaki yemden yararlanma oranının iyileşmesi, katalitik/enzim aktivitesinden sorumlu genlerde görülen artış ile açıklanabilir.

Mikroarray analizinin validasyonu için seçilen 5 genin kantitatif gerçek zamanlı PCR (Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) analizi sonucunda kontrol grubuna kıyasla RUY ilaveli gruplarda interlökin-10 (2.08-4.41 fold), Müsin 2 (1.64-2.82 fold), klaudin 5 (1.26-2.27), BCL2 antagonisti/öldürücü 1 (-1.23-1.66 fold) ve Kaspaz 3 (1.62-2.50 fold) genlerinin ekspresyonu değişmiştir. İnterlökin-10 (IL-10), immün yanıtları modüle eden nükleer faktör kappa B (NFκB, Nuclear Factor kappa B) ile diğer proinflamatuvar sitokinlerin (IFN γ , IL-2, TNF) aşırı ekspresyonunu ve nötrofiller, makrofajlar ile doğal öldürücü hücreler gibi çeşitli bağışıklık hücrelerinin abartılı çoğalmalarını inhibe ederek immün sistemin hayati hücrelere zarar vermesini engelleyen ve homeostazı sağlayan bir anti-inflamatuvar sitokindir. Ayrıca bu sitokin sınıfı herhangi bir patojen bakteri, parazit veya viral saldırı durumunda organizmanın sadece bağışıklık sisteminin bu etkenler ile savaşmasını baskılayarak, antibiyotik veya RUY gibi antibiyotik benzeri katkıların spesifik etkinliklerinden organizmanın daha fazla yararlanmasını sağlayabilirler. Aksi durumda sitokin salınım fırtınası oluşabilmekte ve bu da sağlıklı doku ve organlarda hasar oluşmasına neden olabilmektedir. Diğer yandan herhangi bir stres faktörü olmayan koşullarda RUY aracılı IL-10 geninin ekspresyonundaki artış, pro-inflamatuvar genlerini inhibe ederek hücrenin enerji tasarrufu sağlamış olurlar. Bu da organizmadaki büyüme ve gelişmenin artışı ile sonuçlanabilmektedir. Dolayısıyla çalışmada elde edilen canlı ağırlık kazancının, artan bu enerjinin büyümede kullanımıyla ilişkilendirilebilir. Nitekim çalışma bulgularına paralel olarak etlik piliç diyetlerine probiyotik (*Bacillus subtilis*) (Lee et al., 2010), anethole (Kim et al., 2013a) ilavesinin kontrol grubuna kıyasla IL-10 geninin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir.

In vitro yapılan bir çalışmada ise hem *Cinnamomum cassia* uçucu yağı hem de sinamaldehitin, lipopolisakkarit (LPS) ile aktive edilen J774A1 hücrelerinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α dahil proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunu inhibe ettiği ve anti-inflamatuvar sitokin IL-10 üretimini arttırdığı saptanmıştır (Pannee et al., 2014). Mevcut bulgulara benzer besin-gen etki mekanizmasının gözlemlendiği bir başka çalışmada % 81.92 düzeyinde karvakrol içeren kekik uçucu yağının sütten kesilmiş domuzlarda anti-inflamatuvar etkilerini kanıtlayan, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve NF- κ B immün yanıtı modüle eden yolların, proinflamatuvar sitokinler IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α ile monosit

kemotaktik protein-1'in (MCP-1) ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Zou et al., 2016). Ayrıca, Fiesel et al. (2014) üzüm çekirdeği ve üzüm posası ekstraktı veya şerbetçiotu ile beslenen domuzlarda duodenum, ileum ve kolondaki pro-inflamatuar genlerin ekspresyonunun kontrole göre daha düşük olduğunu bildirmiştir.

Bağırsak mukozası, epitelyum yüzeyini mekanik etiklerden, mide asiditesi, lümen içi proteolitik enzimlerden, bakteri ve patojenlerden koruma gibi çeşitli fonksiyonları vardır (Neutra and Forstner 1987; Kim and Khan, 2013). Esasen bu işlevleri, bileşiminde bulunan glikoprotein ve mukoprotein karışımından oluşan ve goblet hücreleri tarafından sentezlenen müsin (MUC2) adı verilen proteinler aracılığı ile sağlanır (Neutra and Forstner 1987; Kim and Khan, 2013). Kayganlaştırıcı işleve sahip müsinler patojen mikroorganizmaları yakalayıp, doku içine nüfus etmelerini ve sindirim sistemindeki kolonizasyonu önleyip dışarı atılmalarında etkilidirler (Forstner and Forstner, 1994; Faure et al., 2013). Nitekim elde edilen bulgularda RUY aracılı MUC2 genin ekspresyon artışı, bağırsak mikroforasında saptanmayan patojen mikroorganizmalar ile ve artan bağırsak mukozanın kalınlığı bulgularıyla ilişkilendirilebilir. Çalışma bulgularına benzer olarak sütten kesilmiş domuzlarda kapsikum oleoresin (10 mg/kg) yeme ilavesinin MUC2 (1.33) gen ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Son zamanlarda Amiri et al. (2020) tarafından yapılan bir başka çalışmada 200 mg/kg nanokapsüle edilmiş kimyon uçucu yağının MUC2 (1.87) gen ekspresyonunu önemli derecede artırdığı sonucu, mevcut bulgu ile uyumlu bulunmuştur.

Bağırsak mukozal bağışıklık sisteminin bir bileşeni olan birbirine sıkı sıkıya bağlı bağırsak epitel hücreleri zonula okludens (Tight junction, sıkı bağlantı), sürekli bir lümen yüzeyinin oluşturulmasına ve dış ortamdan apikal yüzeye yakın hücre içi boşluğun kapatılmasına yardımcı olurlar (Kogut et al., 2016). Epitel hücreleri arasındaki bu sıkı bağlantı okludin ve klaudin adı verilen sıkı bağlantı proteinleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu proteinleri kodlayan genlerin olası düşük ekspresyonları, hücre geçirgenliğini artırmakta ve patojen gibi büyük moleküllerin hücre içine girişi kolaylaşarak bağışıklık sistemi zayıflayabilmektedir. Ancak elde edilen RUY aracılı klaudin 5 (CLDN5) geni ekspresyonundaki artış ile hücre bariyer bütünlüğü korunabilmekte ve patojen ile toksik metabolilerinin hücre içine girişi engellenebilmektedir. Böylece güçlü bir bağışıklık sistemine bağlı olarak

performans iyileşebilir. Nitekim Liu et al. (2014b), süttten kesilmiş domuzlarda 10 mg/kg kapsikum oleoresin veya zerdeçal oleoresin ilavesinin tight junction (sırasıyla CLDN3 1.80 veya 1.77 kat) ve membran bütünlüğü ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak bağırsak mukoza sağlığını iyileştirdiğini bildirmiştir. Elde edilen bulguya paralel olarak süttten kesilmiş domuzlarda yapılan bir başka çalışmada ise 25 mg/kg kekik uçucu yağının tight junction genlerinin ekspresyonunu artırarak, bağırsak bütünlüğünü desteklediği saptanmıştır (Zou et al., 2016).

Bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde aktif rol oynayan bir diğer biyolojik fonksiyon ise apoptozis'dir. Canlılığın devamlılığı için bir takım hücreler ölür (apoptoz, programlı hücre ölümü) bir takım hücreler ise mitoz ile yeniden üretilir böylece bir homeostaz sağlanır. Nitekim Öktem vd. (2001), bazı hücrelerin yıllarca bazılarının ise birkaç saat yaşadığını, deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi dokularda devamlılığın apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlı olduğunu bildirmiştir. Elde edilen bulgularda da pro-apoptotik BCL2 antagonisti/öldürücü (BAK1) gen ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla RUY100 grubunda azalmış diğer tüm RUY gruplarında artmıştır. Bir diğer pro-apoptotik gen kaspaz 3'ün (CASP3) ekspresyonu ise tüm RUY ilaveli gruplarda artmıştır. Ayrıca elde edilen bu bulgular, kript derinliğindeki sayısal azalış ile ilişkilendirilebilir. Çünkü Paiva et al. (2014) daha derin kript derinliğini olası epitel hücre yıkımı, inflamasyon ve aşınmaya neden olabilecek daha hızlı hücre kaybı ile ilişkilendirmiştir. Bu bulgulara destek olarak kekik, anason ve turunçgil kabuklarından elde edilen uçucu yağ karışımının domuz yavrularında CASP3 genin ekspresyonunu artırdığı ve bunun kolonik kript derinliğindeki azalış ile bağlantılı olabileceğini bildirmiştir (Kroismayr et al., 2008). Sonuç olarak, uçucu yağ karışımının antimikrobiyal etkisine bağlı olarak bağırsaktaki bağışıklık savunma aktivitesi ihtiyacını azalttığı ve böylece besin maddelerinin bağışıklık savunmasından ziyade büyümeye doğru tahsis edildiği bildirilmiştir.

6. SONUÇ

ABF yerine kullanılacak alternatiflerin düşük maliyetli, kolay bulunabilir, direnç geliştirmeyen ve sürdürülebilir olmalarının yanı sıra, bunların hayvanlar üzerindeki etkinlikleri tüm yönüyle ve moleküler olarak da incelenmesi gerekmektedir. Diğer yandan, sınırlı doğal kaynaklar (arazi alanı ve temiz su rezervleri, yem hammadde kaynağı), hayvansal üretimin ölçeğini ve verimliliğini olumsuz yönde etkileyerek, hayvansal üretim verimliliği iyileştirmek için moleküler tabanlı hayvan besleme gibi yeni besleme stratejileri geliştirmeye acil bir ihtiyaç doğurmaktadır. Bu bağlamda kontrol grubuna kıyasla, kapsüle edilmiş rezene (*Foeniculum vulgare* mill.) tohumu uçucu yağının etlik piliç karma yemelerine ilavesinin; 1) patojen mikroorganizmaları baskılayarak, canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışlarını önemli derecede iyileştirdiği; 2) yem tüketimini etkilemediği; 3) daha fazla bağırsak emilim yüzey alanı oluşturarak yemden yararlanma oranını iyileştirdiği; 4) önemli bir performans kriteri olan EPEF değerini artırdığı ve ölüm oranını rakamsal olarak azalttığı; 5) yem değerlendirme etkinliğine paralel karkas randımanını artırdığı; 6) karaciğer, bursa fabricius ve ince bağırsak gibi bağışıklık ve metabolik fonksiyonlarla ilişkili organların kullanılabilirliğini iyileştirdiği; 7) antimikrobiyal özelliğine bağlı olarak bağırsak morfolojik yapısının iyileşmesini ve bağırsak bariyerinin güçlenmesini sağladığı; ve 8) bağırsak mikroflorasını yararlı bakteriler lehine dönüştürerek mikrobiyal öbiyozisi stabile ettiği sonucuna varılmıştır.

Tüm bu olumlu etkilerinin altında yatan genetik ve moleküler mekanizmaların DNA mikroarray teknolojisi kullanılarak, elde edilen bağırsak transkriptom profillemesi üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. Genel olarak upregüle genlerin katalitik aktivite, binding/bağlayıcı, transkripsiyon regülatör, transkripsiyon faktör, anatomik yapı ve hücresel gelişim ile protein bağlanma aktivite düzenleyicisiyle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, antimikrobiyal özelliğine dayanılarak RUY'un, etlik piliçlerin beslenmesinde alternatif büyütme faktörü olarak kullanılması konusunda önemli veriler sağlamaktadır.

7. ÖNERİLER

Elde edilen veriler sonucunda özellikle 100, 200 veya en çok 400 mg/kg dozdaki RUY ilavesinin olumlu etkileri gözlenmiş ancak yem katkı maddelerinin kanatlı endüstrisi tarafından kabulü büyük ölçüde yem girdi maliyetlerine bağlı olduğundan, maliyet etkinliği açısından 100 mg/kg RUY ilavesi önerilmektedir. Diğer yandan yapılan literatür incelemelerinde, etlik piliçlerde RUY aracılı besin-gen etkileşimlerinin anlaşılması için uygulanan mikroarray temelli bir gen ekspresyon profillemeye çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle hayvan besleme uzmanları bu transkriptomik verileri, etlik piliçlerin büyümesini, sağlığını ve üretimini teşvik etmek için genotipe özgü yemler veya yem katkı maddeleri geliştirmek amacıyla yeni bir bakış açısı oluşturmak için kullanabilir. Ayrıca elde edilen bu veri setleri ekonomik öneme sahip özellikler ile ilgili gen belirteçlerinin keşfine ve gelecekte rasyon formülasyon sistemlerine dahil edilmesiyle hayvancılık üretim verimliliğinin artırılmasına katkı sağlayabilir. Ancak çiftlik hayvanlarının beslenmesinde uygulanan nutrigenomik teknolojiler çok daha yenidir. Bu nedenle hem elde edilen muazzam büyük veri setlerinin karmaşıklığı, hem deneysel ve hesaplama yönündeki zorlukların giderilmesi için araştırmacıların teknik bilgilerini geliştirmesine ve daha fazla çalışmanın yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pillai, S.,** 2007, Cellular and Molecular Immunity. 6th ed. Elsevier, Philadelphia, PA., 32-34pp.
- Abd El-Ghany, W. A. and Ismail, M.,** 2014, Tackling Experimental Colisepticaemia İn Broiler Chickens Using Phytobiotic Essential Oils and Antibiotic Alone or in Combination, IJVR, 15 (2): 110-115pp.
- Abd El-Hack, M.E., Abdelnour, S.A., Taha A.E., Khafaga, A.F., Arif, M., Ayaşan, T., Swelum, A.A., Abukhalil, M.H., Alkahtani, S., Aleya, L. and Abdel-Daim, M.M.,** 2020, Herbs as Thermoregulatory Agents in Poultry: An Overview. Science of the Total Environment 703 (2020) 134399.
- Adibmoradi, M., Navidshad, B., Seifdavati, J. and Royan, M.,** 2006, Effect of Dietary Garlic Meal On Histological Structure Of Small İntestine İn Broiler Chickens, The Journal of Poultry Science, (43): 378-383pp.
- Acimovic, M., Tesevic, V., Todosijevic, M., Djisalov, J. and Oljaca, S.,** 2015, Compositional Characteristics of The Essential Oil of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* Grown in Serbia, Botanica Serbica, 39(1):09-14pp.
- Acimovic, M., Tesevic, V., Todosijevic, M., Djisalov, J. and Oljaca, S.,** 2015, Compositional Characteristics of The Essential Oil of *Pimpinella Anisum* and *Foeniculum Vulgare* Grown in Serbia, Botanica Serbica, 39(1):09-14pp.
- Adaszyńska-Skwirzyńska, M. and Szczerbińska, D.,** 2017, Use of Essential Oils in Broiler Chicken Production –A Review. Ann. Anim. Sci., Vol. 17, No. 2 (2017) 317–335pp.
- Aguilar, C.A.L., Lima, K.RDS., Manno, M.C., Maia, J.G.S., Fernandes Neto, D.L., and Tavares, F.B.,** 2014, Rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) Oil in Broiler Chickens Diet. Revista Brasileira de Saude e Producao Animal, 15p.
- Aguilar, C. A. L., K. R. de Souza Lima, M. C. Manno, F. Barbosa Tavares, V. P. de Souza, and D.L. Fernandes Neto.,** 2013, Effect of copaiba essential oil on broiler chickens. Acta Scientiarum, Maring´a (35): 145–151pp.
- Aji, S.B., Ignatuius, K., Ado, A.Y., Nuhu, J.B. and Abdulkarim, A.,** 2011, Effect of Feeding Onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*) on Some Performance Characteristics of Broiler. Chickens. Res. J. Poult. Sci., (4): 22–27pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Akira, S., Uematsu, S. and Takeuchi, O.,** 2006, Pathogen Recognition and Innate Immunity. Cell 2006;1249:783-801pp.
- Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A.R., De Smet, S. and Michiels, J.,** 2013, Growth Performance And Gut Health Parameters Of Finishing Broilers Supplemented With Plant Extracts And Exposed To Daily Increased Temperature. Spanish Journal of Agricultural Research 2013 11(1), 109-119pp.
- Aksu, T. ve Bozkurt, A.S.** 2009, Effect of Dietary Essential Oils and/or Humic Acids on Broiler Performance, Microbial Population of Intestinal Content and Antibody Titres in The Summer Season, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15 (2):185-190pp.
- Akyıldız, S., Denli, M., Yeşilmen Alp, S. ve Cardozo, P.W.,** 2016, Etlik Piliç Karma Yemlerine Bitkisel Ekstrakt İlavesinin Besi Performansı, Serum Biyokimyası ve Bağırsak Mikroflorasına Etkileri, 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi, 28 Eylül-01 Ekim 2016, Antalya/Türkiye.
- Albert-Puleo, M.,** 1980, Fennel and Anise as Estrogenic Agents, Journal Of Ethnopharmacology, Vol: 2, No; 4, 337–344pp.
- Alçıçek, A., Bozkurt, M. and Çabuk, M.** 2004, The Effect of a Mixture of Herbal Essential Oils, an Organic Acid or A Probiotic on Broiler Performance, South African J of Animal Science, 34 (4):217-222pp.
- Alçıçek, A., Bozkurt, M. and Çabuk, M.,** 2004, The Effect of A Mixture of Herbal Essential Oils, an Organic Acid or A Probiotic on Broiler Performance, South African J of Animal Science, 34 (4): 217-222pp.
- Alhajj, M.S., Alhobaishi, M., Ger El Nabi, A.R. and Al-Mufarrej, S.I.,** 2015, Immune Responsiveness and Performance of Broiler Chickens Fed a Diet Supplemented with High Levels of Chinese Star Anise Fruit (*Illicium verum* Hook.f), J. Anim. Vet. Adv., 14 (2):36-42pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Alp, M., Midilli, M., Kocabağlı, N., Yılmaz, H., Turan, N., Gargılı, A. and Acar, N.,** 2012, The Effects of Dietary Oregano Essential Oil on Live Performance, Carcass Yield, Serum İmmunoglobulin G Level, and Oocyst Count in Broilers, *J.Appl. Poult. Res.*, (21):630–636pp.
- Al-Sagan, A.A., Khalil, S., Hussein, E.O.S. and Attia, Y.A.,** 2020, Effects of Fennel Seed Powder Supplementation on Growth Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, and Economic Efficiency of Broilers Under Thermoneutral and Chronic Heat Stress Conditions, *Animals*, (10): 206p.
- Al-Zuhairi, Z.A.J., Abdullah, W.S. and Majal, R.K.,** 2018, Effect The Dietary Supplementation of Cariander (*Coriandrum sativum* L.) and Fennel (*Foeniculum vulgares*) Seed Powder and Their Mixture in Productional and Physiological Performance of Broiler, *Journal of Veterinary Medicine Sciences* 17(2):143-148pp.
- Amiri, N., Afsharmanesha, M., Salarminia, M., Meimandipourb, A., Hosseini, S.A. and Ebrahimnejad, H.,** 2020, Effects of Nanoencapsulated Cumin Essential Oil as an Alternative to The Antibiotic Growth Promoter in Broiler Diets. *J. Appl. Poult. Res.*, 1-11pp.
- Anal, A. K. and Singh, H.,** 2007, Recent Advances in Microencapsulation of Probiotics for Industrial Applications and Targeted Delivery. *Trends Food Sci Technol* (18): 240-251pp.
- Anderson, D.B., McCracken, V.J., Aminov, R.T., Simpson, J.M., Mackie, R.J., Verstegen, M.W.A., Gaskins, H.R.,** 1999. Gut Microbiology and The Mechanism of Action of Growth Promoting Antibiotics in Swine. *Pigs News and Information* 1999, (20):115–119pp.
- Anderson, M. and Fritsche, K.L.,** 2002, (n–3) Fatty Acids and Infectious Disease Resistance. *J. Nutr.* ,(132):3566–3576pp.
- Anka, Z.M., GIMBA, S.N., Ananda, A. and Salisu, L.,** 2020, Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Foeniculum Vulgare*. Volume 10, Issue 1 Series. I (January 2020), 01-10pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Anonim**, 2018, Antimicrobial Resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> Accessed: 14.04.2015.
- Anonymous**, 2018, Ross Broiler Management Handbook, Newbridge, Midlothian, EH28 8SZ, Aviagen Inc., Scotland, UK.
- Anonymous**, 2020, Gene Expression - Nutrient Regulation. <https://www.encyclopedia.com/food/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/gene-expression-nutrient-regulation>. Erişim tarihi: 5.11.2020.
- AOAC**, 2000, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17th Ed., AOAC International, Maryland, USA.
- Aprotosoiaie, A.C., Hăncianu, M., Poiată, A., Tuchiluş, C., Spac, A., Cioană, O., Gille, E. and Stănescu, U.**, 2008, *In Vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition Of The Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2008 Jul-Sep;112(3):832-836pp.
- Asmare, B. and Negewo, T.**, 2019, The Potential of Nutrigenomics from Viewpoint of Animal Nutrition: A Mini Review, International Journal of Veterinary Sciences, 2 (1):5-81pp.
- Attia, G., Hassanein, E., El-Eraky, W., El-Gamal, M., Farahat M. and Hernandez-Santana, A.**, 2017, Effect of Dietary Supplementation with a Plant Extract Blend on The Growth Performance, Lipid Profile, Immune Response and Carcass Traits Of Broiler Chickens, Int. J. Poult. Sci., (16): 248-256pp.
- Aviagen**, 2014, Ross 308 broiler nutrition specification. Newbridge, Midlothian, EH28 8SZ, Aviagen Inc., Scotland, UK.
- Aydın, Ö.**, 2017. Kekik Ve Çörek Otu Yağının Broyler Beslemede Kullanımının Besi Performansı, Histomorfolojik Parametreler Ve Sekum Uçucu Yağ Asitleri Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 2017, Doktora Tezi, 118s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Babaoğlan, M. ve Kutlu, H.R.**, 2008, Etlik Piliçlerin Beslenmesinde Büyüme Uyarıcı Olarak Kullanımı Önerilen Farklı Timol ve Karvakrol Kaynaklarının Biyoetkinliklerinin Karşılaştırılması, Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, 18 (3): 140-151pp.
- Badgujar, S.B., Pate, V.V. and Bandivdekar, A.H.**, 2014, *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. BioMed Research International, 01-32pp.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar., M.** 2008, Biological Effects of Essential Oils: A Review. Food Chem. Toxicol. (46):446–475pp.
- Balasubramanian, B., Park, J.W. and Kim, I.H.**, 2016, Evaluation of The Effectiveness Of Supplementing Micro-Encapsulated Organic Acids and Essential Oils in Diets For Sows and Suckling Piglets, Italian Journal of Animal Science, 15, (4):626-633pp.
- Barrett, K.E., Barman, S.M., Boitano, S. and Brooks, H.L.**, 2013, Ganong's Review of Medical Physiology, 23rd Edition. 430p.
- Barton, M. D.**, 2000, Antibiotic Use in Animal Feed and Its Impact on Human Health. Nutr. Res. Rev. (13): 279-300pp.
- Boumphrey, F.**, 2009, Medical Physiology/Gastrointestinal Physiology/Anatomy. M.D., Wikipedia, (Erişim tarihi: 13.07.2020), https://en.wikibooks.org/wiki/Medical_Physiology/Gastrointestinal_Physiology/Anatomy.
- Bozkurt, B.**, 2018, Çiğ ve Yarı-Pişmiş Bazı Et Ürünlerinde *Salmonella* Spp. ve *Staphylococcus Aureus*'un Belirlenmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi. 90s.
- Brenes, A., E. Roura**, 2010. Essential Oils in Poultry Nutrition: Main Effects and Modes of Action. Anim Feed Sci Technol 158, 1-14.
- Bulgurlu, Ş. ve Ergül, M.**, 1978, Yemlerin Fiziksel, Kimyasal Ve Biyolojik Analiz Metodları, Ege Üniv Zir Fak Yayınları, No: 127, İzmir, 58-76ss.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burt, S.**, 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods-A Review. *International Journal of Food Microbiology*, (94):223-253pp.
- Butaye, P., Devriese, L. A. and Haesebrouck, F.**, 2003, Antimicrobial Growth Promoters Used in Animal Feed: Effects of Less Well Known Antibiotics on Gram-Positive Bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* (16):175-188pp.
- Cantore, P.L., Iacobelli, N.S., Marco, A.D., Capasso, F. and Senatore, F.**, 2004, Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. vulgare (Miller). *Essential oils. J. Agric.Food Chem.* (52) 7862–7866pp.
- Carlberg, C. and Molnár, F.**, 2016, Mechanisms of Gene Regulation e-book, Second Edition, Springer, ISBN 978-94-017-7741-4 (eBook), 3-16pp.
- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin, P. and Phillips, I.**, 2003, The European Ban on Growth-Promoting Antibiotics and Emerging Consequences for Human and Animal Health. *J. Antimicrob. Chemother.*, (52):159–161pp.
- Cengiz, S.S., Yesilbağ, D., Eren, M., Cetin, I., Meral, Y. and Biricik, H.**, 2016, Effects of Volatile Oil Additives on Growth, Carcass Performances, and Calcium and Phosphorus Concentrations in Serum and Bone of Broilers, *Revue Méd. Vét.*, 167, (7-8):230-239pp.
- Cervantes, H.M.**, 2015, Antibiotic-Free Poultry Production: Is It Sustainable? 2015 *J. Appl. Poult. Res.* 24:91–97pp.
- Cetin, E., Yibar, A., Yesilbag, D., Cetin, I. and Cengiz, S.S.**, 2016, The Effect Ofvolatile Oil Mixtures on The Performance and İlio-Caecal Microflora of Broiler Chickens, *British Poultry Science*, 1466-1799pp.
- Chamorro, S., A. Viveros, C. Centeno, C. Romero, I. Arija, and A. Brenes**, 2013, Effects of dietary grape seed extract on growth performance, amino acid digestibility and plasma lipids and mineral content in broiler chicks. *Anim.* 7:555–561pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Choct, M.**, 2001, Alternatives to in-Feed Antibiotics in Monogastric Animal Industry. American Soybean Association Technical Bulletin 830):1–6pp.
- Chowdhury, G., Stine, O. C., Rajendran, K., Mukhopadhyay, A. K., Okamoto, K., and Ramamurthy, T.**, 2019, Detection of Uncommon Enteric Bacterial Pathogens from Acute Diarrheal Specimens using SYBR-Green Real Time PCR. Japanese journal of infectious diseases, 72(2): 88-93pp.
- Chrubasik, S., Pittler, M.H. and Roufogalis, B.D.**, 2005, *Zingiberis rhizoma*: A Comprehensive Review on The Ginger Effect and Efficacy Profiles. Phytomedicine, (12):684–701pp.
- Clewell, D. B.**, 2014. Antibiotic Resistance Plasmids in Bacteria. In Wiley Online Library. Retrieved from <http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0001491.html>. Accessed: 17.04.2015.
- CLSI**, 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. M07-A9, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standart-Ninth Edition. 29, (2).
- Cox, L.M., Yamanishi, S., Sohn, J., Alekseyenko, A.V., Leung, J.M., Cho, I, Kim, S.G., Li, H., Gao, Z., Mahana, D., Rodriguez, J.G.Z., Rogers, A.B., Robine, N., Loke, P. and Blaser, J.M.**, 2014. Altering The Intestinal Microbiota During a Critical Developmental Window Has Lasting Metabolic Consequences. Cell 158: 705–721pp.
- Cristani, M., d'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A. and Trombetta, D.**, 2007, Interaction of Four Monoterpenes Contained in Essential Oils with Model Membranes: Implications for Their Antibacterial Activity. Agric. Food Chem. 2007, (55):6300–6308pp.
- Criste, R.D., Panaite, T.D., Tabuc, C., Sărăcilă, M., Șoica, M. and Olteanu, M.**, 2017, Effect of Oregano And Rosehip Supplementson Broiler (14-35 Days) Performance, Carcass And Internal Organs Development and Gut Health, AgroLife Scientific J, 6 (1):75-83p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Çabuk, M., Bozkurt, M., Alçiçek, A., Akba K. and Küçükylmaz., Y.,** 2006, Effect of an Herbal Essential Oil Mixture on Growth and Internal Organ Weight of Broilers from Young and Old Breeder Flocks. *S. Afr. J. Anim. Sci.* (36): 135–141pp.
- Çakmak, M., Ozcan, N. ve Denli, M.,** 2017, Effects of Sumac Powder (*Rhus coriaria* l.) on Growth Performance, Serum Biochemistry and Intestinal Microbioata in Broilers at Different Stocking Densities, *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 70-74pp.
- Dahiya, J.P., Wilkie, D.C., Van Kessel, A.G. and Drew, M.D.,** 2006, Potential Strategies for Controlling Necrotic Enteritis in Broiler Chickens in Post-Antibiotic Era. *Animal Feed Science and Technology* 129:60–88.
- Dalloul, R.A. and Lillehoj, H.S.,** 2005, Recent Advances in İmmunomodulation and Vaccination Strategies Against Coccidiosis. *Avian Dis.* (49):1–8pp.
- Dalmiel, L., Vargas, T. and Molina, A. R.,** 2012, Nutritional Genomics for The Characterization of The Effect of Bioactive Molecules in Lipid metabolism and Related Pathways, *Electrophoresis Journal*, vol. 33, (15):2266–2289pp.
- De Caterinaa, R. and Madonna, R.,** 2004, Nutrients and Gene Expression, *World Rev. Nutr. Diet. Basel, Karger*, vol 93, 99–133pp.
- Dhama, K., Shyma, K., Latheef Saminathan, M., Abdul Samad, H., Karthik, K., Tiwari, R., Khan, R.U., Alagawany, M., Farag, M.R., Alam, G.M., Laudadio, V., Tufarelli, V.,** 2015, Multiple beneficial applications and modes of action of herbs in poultry health and production-A review. *Int. J. Pharmacol.* (11): 152-176pp.
- Diao, W., Hu, Q., Zhang, H. and Xu, J.G.,** 2014, Chemical Composition, Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Essential Oil From Seeds of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) *Food Control.*, 35:109–116pp.
- Diaz-Sanchez S., D'Souza, D., Biswas, D. and Hanning, I.,** 2015, Botanical Alternatives to Antibiotics for Use in Organic Poultry Production. *Poult Sci.* 94:1419–1430pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Di Pasqua, R., Hoskins, N., Betts, G. And Mauriello, G.,** 2006, Changes in Membrane Fatty Acids Composition Of Microbial Cells Induced By Addition Of Thymol, Carvacrol, Limonene, Cinnamaldehyde, And Eugenol In The Growing Media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 2745–2749.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G.,** 2000, Antimicrobial Agents From Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308–316.
- Drăgan, L., Györke, A., Ferreira. J.F., Pop, I.A., Dunca, I., Drăgan, M., Mircean, V., Dan, I. and Cozma, V.,** 2014, Effects of *Artemisia annua* and *Foeniculum vulgare* on Chickens Highly Infected With *Eimeria tenella* (*Phylum apicomplexa*). *Acta Vet. Scand.*, (56):22–29pp.
- Ducatelle, R., Goossens, E., De Meyer, F., Eeckhaut, V., Antonissen, G., Haesebrouck, F. and Filip Van Immerseel, F.,** 2018, Biomarkers For Monitoring Intestinal Health in Poultry: Present Status And Future Perspectives, *Vet. Res.*, 49: 43.
- Duran, R.C.D., Menon, S. and Wu, J.,** 2016, Transcriptomics and Gene Regulation e-book, Chapter: The Analyses of Global Gene Expression and Transcription Factor Regulation, ISBN 978-94-017-7450-5 (eBook), 1-36pp.
- Eckel, B., Roth, F. X., Kirchgessner, M. and Eidelsburger, U.,** 1992, Zum Einfluß von Ameisensäure auf die Konzentration an Ammoniak und biogenen Aminen im Gastrointestinaltrakt. 4. Mitteilung: Untersuchungen zur nutritiven Wirksamkeit von organischen Säuren in der Ferkelaufzucht. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 67:198–205pp.
- El-Deek, A.A., Attia, Y.A. and Hannfy, M.M.** 2002, Effect of Anise (*Pimpinella anisum*), Ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and Fennel (*Foeniculum vulgare*) and Their Mixture on Performance of Broilers, *Arch. Geflügelk.*, 67 (2):92–96pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Emami, N.K., Samiea, A., Rahmani, H.R. and Ruiz-Feria, C.A.** 2012, The effect of Peppermint Essential Oil And Fructooligosaccharides, as Alternatives to Virginiamycin, on Growth Performance, Digestibility, Gut Morphology and Immune Response of Male Broilers, *Animal Feed Science and Technology*, (175): 57–64pp.
- Erhan, M.K., Bölükbaşı, S.C. and Ürüsan, H.,** 2012, Biological activities of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) in broilers. *Livestock Sci.*, (146): 189–192pp.
- Falagas, M. E. and Vardakas, K. Z.,** 2010, Polymyxins. In *Antimicrobe*. Retrieved February 10, 2015, from <http://www.antimicrobe.org/d05.asp>. Erişim tarihi: 16.10.2020.
- FAO,** 2016, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Antimicrobial Resistance and Our Food Systems: Challenges and Solution. <http://www.fao.org/3/a-i6106e.pdf>. Accessed: 15.10.2020.
- Fascina, V.B., Pasquali, G.A.M., Carvalho, F.B., Muro, E.M., Vercese, F., Aoyagi, M.M., Pezzato, A.C., Gonzales, E. and Sartori, J.R.,** 2017, Effects of Phytogetic Additives and Organic Acids, Alone or in Combination, on The Performance, Intestinal Quality and Immune Responses of Broiler Chickens, *Brazilian J. of Poultry Science*, 19 (3):497-508pp.
- Fathalla, S. I, Shawky S. M, Gaafar K. M., Hussein M. K. and Zahran I.S.,** 2018, Effect of Herbal Extract (Moringa & Echinacea) and/or Essential Oil (Linseed & Fennel Oil) Supplementation to The Broiler Diet and Drinking Water on Growth Performance and Antioxidant Activity in Different Poultry Groups. *Proceedings of Academicsera 24th International Conference*, 5th-6th July 2018, Bangkok, Thailand.
- Faure, M., Moennoz, D., Montigon, F., Mettraux, C., Mercier, S., Schiffrin, E.J., Obled, C., Breuille, D. and Boza, J.,** 2003, Mucin Production and Composition is Altered in Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Rats. *Dig Dis Sci.* (48):1366–73pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fenech, M., El-Soheby, A., Cahill, L., Ferguson, L.R. French, T.-A.C., Tai, E.S., Milner, J., Koh, W.-P., Xie, L., Zucker, M., Buckley, M., Cosgrove, L., Lockett, T., Fung, K.Y.C. and Head, R., 2011, Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints On The Current Status And Applications In Nutrition Research And Practice, Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics, (4):69-89pp.**
- Fiesel, A., Fiesel, A., Gessner, D.K., Most, E. and Eder, K., 2014, Effects of Dietary Polyphenol-Rich Plant Products From Grape or Hop on Pro-Inflammatory Gene Expression in The Intestine, Nutrient Digestibility and Faecal Microbiota of Weaned Pigs. BMC Vet. Res., (10):196, 1-11pp.**
- Forstner, J.F. and Forstner, G.G., 1994, Physiology of the Gastrointestinal Tract. New York, Raven, 1255–1283pp.**
- Frankič, T., Voljg, M., Salobir, J. and Rezar, V., 2009, Use of Herbs and Spices And Their Extracts in Animal Nutrition. Acta Agric. Slov., (92): 95–102pp.**
- Fu, C. J., Carter, J. N., Li, Y., Porter, J. H., and Kerley, M. S., 2006, Comparison of Agar Plate And Real-Time PCR on Enumeration of *Lactobacillus*, *Clostridium Perfringens* And Total Anaerobic Bacteria in Dog Faeces. Letters in Applied Microbiology, 42(5):490-494pp.**
- Furness, J.B., Rivera, L.R., Cho, H.J., Bravo, D.M. and Callaghan, B., 2013, The Gut as a Sensory Organ. Nat. Rev. Gastro Hepat. 2013, 1010, 729–740pp.**
- Gadde, U., Kim, W.H., Oh, S.T. and Lillehoj, H.S., 2017, Alternatives to Antibiotics for Maximizing Growth Performance and Feed Efficiency in Poultry: A Review. Anim Health Res Rev (18):26–45pp.**
- Galdiero, S., Falanga, A., Cantisani, M., Tarallo, R., Pepa, M., D'Orlando, V., and Galdiero, M., 2012, Microbe-Host Interactions: Structure and Role of Gram-Negative Bacterial Porins. In US National Library of Medicine. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3706956/>. Accessed: 17.04.2015.**

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ganguly, S., Das, O., Patil, S.S. and Para, P.A.,** 2018, Nutrigenomics in poultry nutrition – An overview, Chapter 2, 16-30pp., (Erişim tarihi: 14.10.2020), <https://www.researchgate.net/publication/322163094>.
- García, V., Catalá-Gregori, P., Hernández, F., Megías, M.D. and Madrid, J.** 2007, Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers, *J. Appl. Poult. Res.*, (16):555–562pp.
- Gaskins, H.R., Collier, C.T. and Anderson, D.B.,** 2002. Antibiotics as Growth Promotants: Mode of Action. *Animal Biotechnology* (13): 29–42pp.
- Gharaghani, H., Shariatmadari, S. and Torshizi M.A.K.,** 2013, Comparison of Oxidative Quality of Meat wof Chickens Fed Corn or Wheat Based Diets with Fennel (*Foeniculum vulgare* Mil.), Antibiotic and Probiotic as Feed Additive, Under Different Storage Conditions, *Archiv fur Geflugelkunde*, 77 (3):199-205pp.
- Ghazanfari, S., Mohammadi, Z. and Moradi A.M.,** 2015, Effects of Coriander Essential Oil On The Performance, Blood Characteristics, İntestinal Microbiota And Histology Of Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* (17): 419–426pp.
- Ghasemian, A., Al-Marzoqi, A.H., Mostafavi, S.K.S., Alghanimi, Y.K. and Teimouri M.,** 2020, Chemical Composition and Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Foeniculum vulgare* Mill Essential Oils. *Journal of Gastrointestinal Cancer*. 2020 Mar;51(1):260-266pp.
- Go, V.L.W., Nguyen, C.T.H., Harris, D.M. and Lee, W.N.P.,** 2005, Nutrient-Gene Interaction: Metabolic Genotype-Phenotype Relationship. *J. Nutr.*, (135): 3016–3020pp.
- Gong, J., Yin, F., Hou, Y. and Yin, Y.,** 2014, Chinese Herbs as Alternatives to Antibiotics in Feed for Swine and Poultry Production: Potential and challenges in application. *Can. J. Anim. Sci.*, (94): 223–241pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gopi, M., Karthik, K., Manjunathachar, H.V., Tamilmahan, P., Kesavan, M., Dash-prakash, M., Balaraju, B.C. and Purushotman, M.R., 2014,** Essential Oils as A Feed Additive in Poultry Nutrition. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, (1):1–7pp.
- Gouin, S., 2004,** Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing Technologies And Trends, *Trends Food Sci. Tech.*, (15):330–347pp.
- Guban, J., Korver, D.R., Allison, G.E. and Tannock, G.W., 2006,** Relationship of Dietary Antimicrobial Drug Administration with Broiler Performance, Decreased Population Levels of *Lactobacillus Salivarius*, and Reduced Bile Salt Deconjugation in The Ileum of Broiler Chickens. *Poultry Science* (85):2186–2194pp.
- Gulfraz, M., Mehmood, S., Minhas, N., Jabeen, N., Kausar, R., Jabeen, K. and Arshad, G., 2008,** Composition and Antimicrobial Properties of Essential Oil of *Foeniculum vulgare*. *Afr. J. Biotechnol.* 7 (24):4364–4368pp.
- Gurr, E., 1972.,** Biological Staining Methods. Kent Printers. Tonbridge, 143p.
- Gümüş, E., 2017,** Etlik Piliç Rasyonlarına Üzüm Çekirdeği Ekstraktı, Yeşil Çay Ekstraktı Ve Kaplanmış Bütirik Asit İlavesinin Performans, Karkas Ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 2017, Doktora Tezi, 103s.
- Hafeez, A., Manner, K., Schieder, C. and Zentek, J., 2016,** Effect Of Supplementation of Phytogetic Feed Additives (Powdered Vs. Encapsulated) on Performance and Nutrient Digestibility in Broiler Chickens. *Poultry Sci.*, (95): 622–629pp.
- Hartel, H., Schneider, W., Seibold, R. and Lantzsch, H.J., 1977,** Interrelationships Between The N-Corrected Metabolizable Energy and Nutrients of Feed in Chicks. *Arch. Geflugelk.*, (41):152-181pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hasan, M.S., Feugang, J.M. and Liao, S.F.**, 2019, A Nutrigenomics Approach Using RNA Sequencing Technology to Study Nutrient–Gene Interactions in Agricultural Animal, *Current Developments in Nutrition* 1-12pp. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz082>.
- Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Zunita, Z. and Somchit, M.N.**, 2008a. The effect of Selected Sterilization Methods on Antibacterial Activity of Aqueous Extract of Herbal Plants. *J. Biol. Sci.*, (8): 1072–1076.
- Hashemi, S. R., Zulkifli, I., Hair-Bejo, M., Farida, A. and Somchit, M. N.**, 2008b, Acute Toxicity Study And Phytochemicalscreening Of Selected Herbal Aqueous Extract in Broiler Chickens. *Int. J. Pharmacol.* 352-360pp.
- Hashemi, S.R. and Davoodi, H.**, 2010. Phyto-genics as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (17): 2295-2304pp.
- Hashemi, S. R. and Davoodi, H.**, 2012, Herbal Plants as New Immuno-Stimulator in Poultry Industry: A Review. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* (7): 105-116pp.
- Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Hairbejo, M. and Loh, T.C.**, 2014. Intestinal Histomorphology Changes And Serum Biochemistry Responses Of Broiler Chickens Fed Herbal Plant (*Euphorbia hirta*) And Mix Of Acidifier. *Iranian J. Appl. Anim. Sci.*, (4): 95–103pp.
- Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., Raji, A. and Van Krimpen, M.M.**, 2013a, Effect of Thymol + Carvacrol By Next Enhance 150® on Intestinal Development of Broiler Chickens Fed CMC Containing Diet, *Iranian J of Applied Animal Science*, 3(3):567-576pp.
- Hashemipour H., Kermanshahi, H., Golion, A. and Veldkamp, T.**, 2013b. Effect of Thymol and Carvacrol Feed Supplementation on Performance, Antioxidant Enzyme Activities, Fatty Acid Composition, Digestive Enzyme Activities, and Immune Response İn Broiler Chickens. *Poultry Sci.*, (92):2059–2069pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hashemipour H, Kermanshahi H, Golian A and Khaksar V.**, 2014, Effects of carboxy methyl cellulose and thymol + carvacrol on performance, digesta viscosity and some blood metabolites of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (98): 672–679pp.
- Hernandez, F., Madrid, J., Garcia. V., Orengo, J. and Megias, M.D.**, 2004, Influence of Two Plant Extracts on Broiler Performance Digestibilities and Digestive Organ Size. *Poultry Science* (85): 1466-1471pp.
- Holcomb, H. G., Durbin, K. J., Cho, M., Choi, K. J., Darling, N. D., and Angerio, A.D.**, 2008, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* as A Threat to Public Health: A cellular approach. In Georgetown University *Journal of Health Sciences*. GUJHS. Dec; Vol: 5, No: 2.
- Huang, C.M. and Lee, T.T.**, 2018, Immunomodulatory Effects of Phytochemicals in Chickens and Pigs — A review. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 31, (5): 617-627pp.
- Hundal, H.S. and Taylor, P.M.**, 2009, Amino Acid Transporters: Gate Keepers of Nutrient Exchange and Regulators of Nutrient Signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;296(4):E603–E613.
- Huyghebaert, G, Ducatelle, R, and Van, Immerseel, F.** 2011, An Update on Alternatives to Antimicrobial Growth Promoters for Broilers. *The Veterinary Journal* (187): 182–188pp.
- Imad, H.H., Huda, J., Muhanned, A.K. and Ameera, O.H.**, 2015, Alkaloid Constitution Of Nerium Oleander by Using Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). *J. Med. Plants Res.* 9(9):326-334pp.
- Incharoen, T., Yamauchi, K. and Thongwittaya, N.**, 2010, Intestinal villus Histological Alterations In Broilers Fed Dietary Dried Fermented Ginger, *J of Animal Physiology and Animal Nutrition*, (94): 130–137pp.
- Inweregbu, K., Dave, J. and Pittard, A.** 2005, Nosocomial Infections. Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain, Volume 5, Issue 1, February 2005, Pages 14–17, <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mki006>.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Iranparast, F., Parsaei, S., Houshmand, M. and Naghiha, A.,** 2014, The Effect of Oral Consumption of Guggul (*Commiphora Mukul*) Resin on Performance and Humoral Immunity Response of Broilers. *Int. J. Adv. Biol. Biom. Res.*, (2): 802–810pp.
- İpçak, H.H.,** 2019, Bazı Yenilebilen Mantar Türlerinde Lakkaz Enzimi Lcc1 mRNA Ekspresyon Seviyeleri Ve Aktivitelerinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji A.B.D Y1 tezi, 99s.
- İpçak, H.H. and Alçiçek, A.,** 2019, Addition of Capsicum Oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and Their Mixtures to The Broiler Mixed Feed I. Effects On Growth Performance, Carcass Characteristics, Intestinal Microflora, Some Blood Parameters and IGF-1 Gene Expression Levels, *International Journal of Scientific and Technological Research*, 5-12pp.
- Jamroz, D., Orda, J., Kamel, C., Wilicziewicz, A., Wertelecki, T. and Skorupińska, J.,** 2003, The Influence of Phytogenic Extract on Performance, Nutrients Digestibility, Carcass Characteristic and Gut Microbial Status in Broiler Chickens. *Journal of Animal And Feed Science* (12): 583–596pp.
- Jamroz, D., T. Wertelecki, M. Houszka, and C. Kamel.,** 2006, Influence of Diet Type on The Inclusion of Plant Origin Active Substances on Morphological And Histochemical Characteristics of The Stomach And Jejunum Walls in Chicken. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* (90): 255–268pp.
- Jamshidi, E., Ghalavand, A., Sefidkon, F. and Goltaph, E.,** 2012, Effects of Different Nutrition Systems (Organic And Chemical) on Quantitative and Qualitative Characteristics of Fennel (*Foeniculum Valgare* Mill.) Under Water Deficit Stress. *Iran J Med Aromat Plants* 2012; 28(2): 309-23pp.
- Jazani, N., Zartoshti, M., Babazadeh, H., Ali-Daiee, N., Zarrin, S. and Hosseini, S.,** 2009, Antibacterial Effects of Iranian Fennel Essential Oil on Isolates of *Acinetobacter Baumannii*. *Pak J Biol Sci* 2009; 12(9):738p.
- Johnson, R.,** 2011, Potential Trade Implications of Restriction on Antimicrobial Use in Animal Production. CRS Report for Congress, Congressional Research Service. [Online] Available: <http://www.crs.gov>. Accessed: 16.10.2020.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Joshi N.P. and Herdt, T.H.**, 2006, Production Diseases in Farm Animals: 12th International Conference. Wageningen: Academic Pub.
- Jothikumar, N., and Griffiths, M. W.**, 2002, Rapid Detection of *Escherichia Coli* O157:H7 with Multiplex Real-Time PCR Assays. Applied and environmental microbiology, 68(6):3169-3171pp.
- Karásková, K., Suchý, P. and Straková, E.**, 2015, Current Use Of Phytogetic Feed Additives In Animal Nutrition: A Review. Czech J. Anim. Sci., 60, 2015 (12): 521–530pp.
- Kaur, G.J. and Arora, D.S.**, 2009, Antibacterial and Phytochemical Screening of Anethum Graveolens, Foeniculum Vulgare and Trachyspermum Ammi, BMC Complementary and Alternative Medicine, vol. 9, article 30, 2009.
- Kennedy, M.J.**, 2001, Coccidiosis in Chickens, (Alberta Agriculture, Food and Rural Development), 635—655pp.
- Khan, R.U., Nikousefat, Z., Tufarelli, V., Naz, S., Javdani, M. and Laudadio, V.**, 2012, Garlic (*Allium sativum*) Supplementation in Poultry Diets: Effect on Production and Physiology. World Poultry Sci. J. (68): 417-424pp.
- Khattack, F., Ronchi, A., Castelli, P. and Sparks N.**, 2014, Effects of Natural Blend Of Essential Oil On Growth Performance, Blood Biochemistry, Cecal Morphology, and Carcass Quality of Broiler Chickens, Poultry Science (93) :132–137pp.
- Khuram, I.**, 2013, Chapter: Regulation of Gene Expression, <https://www.researchgate.net/publication/309351427>, (Erişim tarihi: 14.09.2020).
- Kırkpınar F., Ünlü H.B. and Özdemir G.**, 2011, Effects of Oregano And Garlic Essential Oils On Performance, Carcase, Organ And Blood Characteristics And İntestinal Microfora Of Broilers. Livestock Sci., (137): 219–225pp.
- Kiczorowska B., Samolińska W., Al-Yasiry A.R.M., Kowalczyk-Pecka D.**, 2016, Effect of *Boswellia serrata* Dietary Supplementation On Growth Performance, Gastrointestinal Microflora, And Morphology Of Broilers, Annals of Animal Science, DOI: 10.1515/aoas-2016-0007.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kiczorowska, B., Samolińska, W., Al-Yasiry, A.R.M., Kiczorowski, P. and Winiarska-Mieczan, A.,** 2017, The Natural Feed Additives as Immunostimulants in Monogastric Animal Nutrition – A Review. *Ann. Anim. Sci.*, 17, (3): 605–625pp.
- Kim, J. and Khan, W.,** 2010, Goblet Cells and Mucins: Role in innate Defense in Enteric infections. *Pathogens*, (2): 55–70pp.
- Kim, D.K., Lillehoj, H.S., Lee, S.H., Jang, S.I. and Bravo, D.,** 2010, High-Throughput Gene Expression Analysis of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes After Oral Feeding of Carvacrol, Cinnamaldehyde, or Capsicum oleoresin. *Poult Sci* (89): 68–81pp.
- Kim, D.K., Lillehoj, H.S., Lee, S.H., Jang, S.I., Park, M.S., Min, W., Lillehoj, E.P. and Bravo, D.,** 2013a, Immune Effects Of Dietary Anethole on *Eimeria acervulina* Infection. *Poult. Sci.* (92): 2625–2634pp.
- Kim, D.K., Lillehoj, H.S., Lee, S.H., Lillehoj, E.P. and Bravo, D.,** 2013b, Improved Resistance to *Eimeria Acervulina* Infection in Chickens Due to Dietary Supplementation with Garlic Metabolites. *British Journal of Nutrition* (109): 76–88pp.
- Kim, S.J., Lee, K.W., Kang, C.W. and An, B.K.,** 2016, Growth Performance, Relative Meat and Organ Weights, Cecal Microflora, and Blood Characteristics in Broiler Chickens Fed Diets Containing Different Nutrient Density With or Without Essential Oils. *Asian Australasian Journal of Animal Science* (29): 549–554pp.
- Knarreborg, A., Lauridsen, C., Engberg, R.M. and Jensen, S.K.,** 2004, Dietary Antibiotic Growth Promoters Enhance The Bioavailability of Alpha-Tocopheryl Acetate in Broilers by Altering Lipid Absorption. *J. Nutr.* (134): 1487–1492pp.
- Kogut, M.H. and Klasing, K.,** 2009, An Immunologist’s Perspective on Nutrition, Immunity, and Infectious Diseases: Introduction and Overview. *J. Appl. Poult. Res.* (189): 103–110pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kogut, M.H., Genovese, K.J, He, H. and Arsenault, R.J.,** 2016, AMPK and mTOR: Sensors And Regulators Of Immunometabolic Changes During Salmonella Infection in The Chicken, *Poultry Sci.*, (95): 245–253pp.
- Kooti, W., Moradi, M., Ali Akbari, S., Sharafi-Ahvazi, N., Asadi-Samani, M. and Ashtary-Larky, D.,** 2015, Therapeutic and Pharmacological Potential Of Foeniculum Vulgare Mill: A Review. *J HerbMed Pharmacol* 2015; 4(1): 1-9pp.
- Korver, D.R.,** 2012, Implications of Changing Immune Function Through Nutrition In Poultry. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (173):54–64pp.
- Kroismayr, A., Sehm, J., Pfaffl, M.W., Schedle, K., Plitzner, C. And Windisch, W.,** 2008, Effects of Avilamycin and Essential Oils on mRNA Expression of Apoptotic and Inflammatory Markers and Gut Morphology of Piglets. *Czech J. Anim. Sci.*, (853): 377–387pp.
- Kubo, I., Fujita, K.I. and Nihei, K.I.,** 2008, Antimicrobial Activity of Anethole and Related Compounds from Aniseed. *J Sci FoodAgric.*, (88): 242–247pp.
- Kumar, M., Kumar V., Roy, D., Kuswaha, R. and Vaismani, S.,** 2014, Application of Herbal Feed Additives in Animal Nutrition – A Review. *Int. J. Livest. Res.*, (4): 1–8pp.
- Kutlu, H.R.,** 2015, Kanatlı Hayvan Besleme (Teorik Temel-Pratik Uygulama). Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notu, Adana, 8s.
- Küçükyılmaz, K., Çatlı, A.U. ve Çınar, M.,** 2012, Etlik Piliç Yemlerine Esansiyel Yağ Karışımı İlavesinin Büyüme Performansı, Karkas Randımanı ve Bazı İç Organ Ağırlıkları Üzerine Etkileri, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18 (2): 291-296pp.
- Lallès, J.P., Boudry, G., Favier, C., le Floch, N., Luron, I., Montagne, L., Oswald, I.P., Pié, S., Piel, C. and Sève, B.,** 2004, Gut Function and Dysfunction in Young Pigs: *Physiol. Anim. Res.* (53): 301–306pp.
- Larbier, M. and Leclercq, B.,** 1994, Nutrition and Feeding of Poultry. Translated and Edited by J. Wiseman, INRA, Nottingham University Press, UK.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, C., Kim, J., Shin, S. G., and Hwang, S.,** 2006, Absolute and Relative qPCR Quantification of Plasmid Copy Number in *Escherichia coli*. Journal of biotechnology, 123(3): 273-280pp.
- Lee, K.W., Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Li, G.X., Jang, S.I., Babu, U.S., Park, M.S., Kim, D.K., Lillehoj, E.P., Neumann, A.P., Rehberger, T.G. and Siragusa, G.R.,** 2010, Effects of Direct-Fed Microbials on Growth Performance, Gut Morphometry, and Immune Characteristics in Broiler Chickens. Poult. Sci. (89): 203–216pp.
- Lee, S.H., Lillehoj, H.S., Jang, S.I., Lee, K.W., Bravo, D. and Lillehoj, E.P.,** 2011, Effects of Dietary Supplementation with Phytonutrients on Vaccine-Stimulated Immunity Against Infection with *Eimeria tenella*. Vet. Parasitol., (181): 97–105pp.
- Li, X., Chiang, H. I., Zhu, J., Dowd, S. E. and Zhou, H.,** 2008, Characterization of A Newly Developed Chicken 44K Agilent Microarray. BMC genomics, 9(1): 60p.
- Li, D., Zang, S., Li, T., Qiao, Q., Thacker, P. A. and Kim, J. H.,** 2000, Effect of Feed Antibiotics on The Performance and Intestinal Microflora of Weanling Pigs in China. Asian-Australas. J. Anim. Sci. (13): 1554-1560pp.
- Lillehoj, H.S., Kim, D.K., Bravo, D.M. and Lee, S.H.,** 2011, Effects of Dietary Plant Derived Phytonutrients on The Genome-Wide Profiles and Coccidiosis Resistance in The Broiler Chickens. BMC Proc 5(Suppl 4): 34p.
- Lin, J.** 2014. Antibiotic Growth Promoters Enhance Animal Production by Targeting Intestinal Bile Salt Hydrolase and Its Producers. Frontiers in Microbiology (5): 33p.
- Liu, Y., Song, M., Che, T.M., Bravo, D., Maddox, C.W., and Pettigrew, J.E.,** 2014a, Effects Of *Capsicum* Oleoresin, Garlic Botanical, and *Turmeric* Oleoresin on Gene Expression Profile of Ileal Mucosa in Weaned Pigs. Journal of Animal Science, 92(8): 3426-3440pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Liu, Y., Song, M., Che, T.M., Lee, J.J., Bravo, D., Maddox, C.W. and Pettigrew, J.E.,** 2014b, Dietary Plant Extracts Modulate Gene Expression Profiles in İleal Mucosa of Weaned Pigs After an *Escherichia Coli* Infection. J. Anim. Sci., (92): 2050-2062p.
- Loor, J.J., Vailati-Riboni, M., McCann, J.C., Zhou, Z. and Bionaz, M.,** 2015, Triennial Lactation Symposium: Nutrigenomics in Livestock: Systems Biology Meets Nutrition. J. Anim. Sci. (93): 5554–5574pp.
- Ma, C., Dunshea, F.R. and Suleria, H.A.R.,** 2019, LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Phenolic Compounds in Palm Fruits (Jelly and Fishtail Palm) and Their Potential Antioxidant Activities. Antioxidants (Basel). 2019 Oct 14;8(10): 483p.
- Mahon, C. R., Lehman, D. C. and Manuselis, G.** 2011, Textbook of Diagnostic Microbiology Maryland Heights, MO: W.B. Saunders Company. Fourth ed., 260-274pp.
- Majdeddin, M, Golian, A., Kermanshahi, H., Michiels, J. and De Smet, S.,** 2019, Effects of Methionine and Guanidinoacetic Acid Supplementation on Performance and Energy Metabolites in Breast Muscle of Male Broiler Chickens Fed Corn-Soybean Diets. Br. Poult. Sci. 2019;60(5): 554-563pp.
- Malayoğlu, H.B., Baysal Ş, Misirlioğlu Z, Polat M, Yilmaz H and Turan N.,** 2010, Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. British Poultry Science (51): 67–80pp.
- Mamoun, T., Mukhtar, A. and Tabidi, M.H.,** 2014, Effect of Fenugreek Seed Powder on The Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Serum Attributes. Adv. Res. Agri. Vet. Sci., (1): 6–11pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mao, X. F., Piao, X. S., Lai, C. H., Li, D. F., Xing, J. J. And Shi, B. L., 2005,** Effects of β -Glucan Obtained from The Chinese Herb *Astragalus Membranaceus* and Lipopolysaccharide Challenge on Performance, Immunological, Adrenal, and Somatotropic Responses of Weanling Pigs. *J. Anim. Sci.* (83): 2775-2782pp.
- Mathew, A. G., Beckmann, M. A. and Saxton, A. M., 2001,** A Comparison of Antibiotic Resistance in Bacteria Isolated From Swine Herds in Which Antibiotics Were Used or Excluded. *J. Swine Health Prod.* (9): 125-129pp.
- Meimandipour, A., Emamzadeh, A.N. and Soleimani A., 2017,** Effects of Nanoencapsulated Aloe Vera, Dill And Nettle Root Extract as Feed Antibiotic Substitutes in Broiler Chickens. *Arch. Anim. Breed.*, (60): 1–7pp.
- Menke, K.H. and Huss, W., 1975,** Tierernährung und Futtermittelkunde, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Mering, C. V., Huynen, M., Jaeggi, D., Schmidt, S., Bork, P. and Snel, B., 2003,** STRING: A Database of Predicted Functional Associations Between Proteins. *Nucleic Acids Research*, 31(1): 258-261pp.
- Mi, H., Muruganujan, A., Casagrande, J. T. and Thomas, P. D., 2013,** Large-Scale Gene Function Analysis with The PANTHER Classification System. *Nature protocols*, 8(8): 1551-1566pp.
- Mi, H., Huang, X., Muruganujan, A., Tang, H., Mills, C., Kang, D. and Thomas, P. D., 2017,** PANTHER Version 11: Expanded Annotation Data From Gene Ontology and Reactome Pathways, and Data Analysis Tool Enhancements. *Nucleic acids research*, 45(D1): 183-189pp.
- Mi, H., Muruganujan, A., Ebert, D., Huang, X., and Thomas, P. D., 2019,** PANTHER version 14: more genomes, a new PANTHER GO-slim and improvements in enrichment analysis tools. *Nucleic acids research*, 47(D1): 419-426pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Miles, R., Butcher, G., Henry, P. R. and Littell, R. C.,** 2006, Effect of Antibiotic Growth Promoters on Broiler Performance, Intestinal Growth Parameters, and Quantitative Morphology. *Poult. Sci.* (85): 476-485pp.
- Mirzaei-Aghsaghali, A.,** 2012. Importance of Medical Herbs in Animal Feeding: A Review. *Ann. Biol. Res.*, (3): 918-923pp.
- Mohammed, A.A. and Abbas, R.J.,** 2009, The Effect of Using Fennel Seeds (*Foeniculum vulgare* L.) on Productive Performance of Broiler Chickens, *Int. J. Poult. Sci.*, (8): 642-644pp.
- Mohammed, A. A., and M. Yusuf.,** 2011, Evaluation of Ginger (*Zingiber officinale*) as a Feed Additive in Broiler Diets. *Liv. Res. Rural Develop.* 23p.
- Mohiti Asli, M., Khedmatgozar, M., Darmani kuhi, H. and Farzaneh, M.,** 2019, Efficacy of Different Blends of Essential Oils on Growth Performance, Blood Metabolites, Gut Microflora, and Meat Quality of Broilers, *Iran J Vet Med*, 13 (2): 199-215pp.
- Mohsenzadeh, M.,** 2007, Evaluation of Antibacterial Activity of Selected Iranian Essential Oils Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. *Pak. J. Biol. Sci.* (10): 3693–3697pp.
- Moody, D.E.,** 2001, Mechanism of Nutrigenomics. *Jour. of Anim. Sci.*(79): 128-135pp.
- Moore, P.R., Evenson, A., Luckey, T.D., McCoy, E., Elvehjem, C.A. and Hart E.B.,** 1946, Use of Sulfasuxidine, Streptothricin and Streptomycin in Nutritional Studies with The Chick. *Journal of Biological Chemistry* (165): 437–441pp.
- Moul, D.,** 2012, Molecular Nutrition, Nutrigenomics and Health Promotion: A Long Road Ahead. *J. Food. Nutr. Disord.* 1(1):101p.
- Murphy, K.G., Dhillon, W.S. and Bloom, S.R.,** 2006, Gut Peptides in The Regulation of Food Intake and Energy Homeostasis. *Endocr. Rev.* 2006, (27): 719–727pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Murphy, K.P., Travers, P. and Walport, M.,** 2007, Janeway's Immunobiology, 7th ed. Garland Science, New York, NY.
- Murri, M., Leiva, I., Gomez-Zumaquero, J. M., Tinahones, F. J., Cardona, F., Soriguer, F. and Queipo-Ortuño, M. I.,** 2013, Gut Microbiota in Children With Type 1 Diabetes Differs From That in Healthy Children: A Case-Control Study. *BMC medicine*, 11(1): 46p.
- Murugesan, G.R., Syed, B., Haldar, S. and Pender, C.,** 2015, Phytogetic Feed Additives as an Alternative to Antibiotic Growth Promoters in Broiler Chickens. *Front. Vet. Sci.* (2): 21p.
- Naji, T.A.A., Amadou, I., Zhao, R.Y., Tang, X., Shi, Y.H. and Le, G.W.,** 2014, Effects of Phytosterol in Feed on Growth and Related Gene Expression in Muscles of Broiler Chickens. *Trop. J. Pharm. Res.*, (13): 9-16pp.
- Naumann, C. and Bassler, R.,** 1993, Die Chemische Untersuchungen Von Futtermitteln, Methodenbuch", Band III, VDLUFA-Verlag, Frankfurt.
- Neutra, M.R. and Forstner, J.F.,** 1987, Gastrointestinal Mucus: Synthesis, Secretion, and Function. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Johnson, L.R., Ed.; Raven: New York, NY, USA.
- Niewold, T.A.,** 2007, The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, The Real Mode of Action? A Hypothesis. *Poultry Science* (86): 605–609pp.
- NRC,** 1994, National Research Council, Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition.
- NRC,** 2015, Natural Resources Defense Council, Going Mainstream: Meat and Poultry Raised Without Antibiotics. <https://www.ecocenter.org/>, (Erişim tarihi: 14.09.2015).
- Nunes, M.A., Rodrigues, F., Vinha, A.F., Alves, R.C. and Oliveria, P.P.,** 2018, Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications e-book, Chapter: Nutrigenomics and Polyphenols, 103-132pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- O'Neill, J.**, 2014, Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for The Health and Wealth of Nations, 1-14pp.
- Öktem, S., Özhan, M.H., and Özol, D.**, 2001, Apoptozisin Önemi. Toraks Dergisi, 2(1): 91-95pp.
- Paiva, D., Walk C. and McElroy, A.**, 2014, Dietary Calcium, Phosphorus, And Phytase Effects on Bird Performance, Intestinal Morphology, Mineral Digestibility, and Bone Ash During a Natural Necrotic Enteritis Episode, Poultry Sci., (93): 2752-2762pp.
- Panee, C., Chandhane, I. and Wacharee, L.**, 2014, Antiinflammatory Effects of Essential Oil from The Leaves of *Cinnamomum Cassia* and Cinnamaldehyde on Lipopolysaccharide-Stimulated J774A.1 Cells. J. Adv. Pharm. Technol. Res. (59): 164-170pp.
- Peric, L., Milosevic, N., Zikic, D., Bjedov, S., Dragoljub, C., Markov, S., Mohnl, M. and Steiner, T.**, 2010, Effects of Probiotics and Phytogenic Products on Performance, Gut Morphology and Cecal Microflora of Broiler Chickens. Archiv. Tierzucht. (53): 350–359pp.
- Petričević, V., Miloš Lukić, M., Škrbić, Z., Rakonjac, S., Dosković, V., Petričević, M. and Stanojković, A.** 2018, The Effect of Using Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in Broiler Nutrition on Production Parameters, Slaughter Characteristics, and Gut Microbiological Population, Turk J Vet Anim Sci, (42): 658-664pp.
- Pitman, R.S. and Blumberg, R.S.**, 2000, First Line of Defense: The Role of The Intestinal Epithelium as an Active Component of The Mucosal Immune System. J. Gastroenterol. (35): 805–814pp.
- Platel, K. and Srinivasan, K.**, 200., Digestive Stimulant Action of Spices: A Myth Or Reality? Indian J. Med. Res., (119): 167-179pp.
- Quirantes-Piné, R., Lozano-Sánchez, J., Herrero, M., Ibáñez, E., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A.**, 2013, HPLC-ESI-QTOF-MS as a Powerful Analytical Tool for Characterising Phenolic Compounds in Olive-Leaf Extracts. Phytochem Anal. 2013 May-Jun;24(3):213-23pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Raal, A, Orav, A. and Arak, E.,** 2012, Essential Oil Composition of *Foeniculum vulgare* Mill. Fruits From Pharmacies in Different Countries. Nat. Prod. Res. (26): 1173-1178pp.
- Rafeeq, M., Rashid, N., Tariq, M.M., Tareen, R.B., Bukhari, F., Sheikh, I.S. and Taj, K.,** 2016, The Effect of Aqueous Herbal Infusion in Drinking Water on Broiler Performance and Intestinal Microflora Status, ARPN J of Agricultural and Biological Science, 11 (12): 448-453pp.
- Ragab, M.S., Namra, M. M. M., Aly, M. M. M. and Fathi, M.A.,** 2013, Impact of Inclusion Fennel Seeds and Thyme Dried Leaves in Broiler Diets on Some Productive and Physiological Performance During Summer Season, Egypt. Poult. Sci., (33): 197-219pp.
- Rani, S. and Das, S.,** 2016, *Foeniculum Vulgare*: Phytochemical And Pharmacological Review. International Journal of Advanced Research (2016), Volume 4, Issue (7): 477-486pp.
- Rather, M. A., Dar, B. A., Sofi, S. N., Bhat, B. A. and Qurishi, M. A.,** 2012, *Foeniculum vulgare*: A Comprehensive Review of Its Traditional Use, Phytochemistry, Pharmacology, And Safety. Arabian Journal of Chemistry, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.04.011>.
- Reen, J.K., Yadav, A.K. and Singh J.,** 2015, Nutrigenomics: Concept, Advances And Applications, Asian J. Dairy & Food Res, 34(3): 205-212pp.
- Reineccius, G.A.,** 1991, Carbohydrates for Flavor Encapsulation, Food Technol-Chicago, (45): 144-147pp.
- Romero-Cortes, T., Lopez-Perez, P. A., Toledo, A. K. M., Perez-Espana, V. H., Aparicio-Burgos, J. E. and Cuervo-Parra, J. A.,** 2018, Nutrigenomics and Nutrigenetics in Functional Foods, International Journal of Bio-resource and Stress Management, 9(6): 661-672pp.
- Roth, F. X., and Kirchgessner, M.,** 1998, Organic Acids as Feed Additives for Young Pigs: Nutritional and Gastrointestinal Effects. J. Anim. Feed Sci. (8): 25–33pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ruberto, G., Baratta, M.T., Deans, S.G. and Dorman, H.J.**, 2000, Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Med.* (66): 687–693pp.
- Sabino, M., Capomaccio, S., Cappelli, K., Verini-Supplizi, A., Bomba, L., Ajmone-Marsan, P., Cobellis, G., Olivieri, O., Pieramati, C. and Trabalza-Marinucci, M.**, 2018a, Oregano Dietary Supplementation Modifies The Liver Transcriptome Profile in Broilers: RNASeq analysis. *Res. Vet. Sci.*, (117): 85–91pp.
- Sabino, M., Cappelli, K., Capomaccio, S., Pascucci, L., Biasato, I., Verini-Supplizi, A., Valiani, A. and Trabalza-Marinucci, M.**, 2018b, Dietary Supplementation With Olive Mill Wastewaters Induces Modifications on Chicken Jejunum Epithelial Cell Transcriptome and Modulates Jejunum Morphology. *BMC Genomics* (19): 576p.
- Safaei-Cherehh, A., Rasouli, B., Alaba., P.A., Seidavi, A., Hernández, S.R. and Salem, A.Z.M.**, 2018, Effect of Dietary *Foeniculum vulgare* Mill. Extract on Growth Performance, Blood Metabolites, Immunity And Ileal Microflora in Male Broilers, *Agroforest Syst*, 10p.
- Sageman, A.**, 2015, Antibiotic Resistance Mechanisms, Problems, And Solutions. Honors Projects. <http://scholarworks.gvsu.edu/honorsprojects/416>, 416p.
- Sakamoto, K., Hirose, H., Onizuka, A., Hayashi, M., Futamura, N., Kawamura, Y., and Ezaki, T.**, 2000, Quantitative Study of Changes in Intestinal Morphology and Mucus Gel on Total Parenteral Nutrition in Rats. *Journal of Surgical Research*, (94): 99-106pp.
- Saleh, N., Allam, T., El-Latif, A.A. and Ghazy, E.**, 2014, The effects of dietary supplementation of different levels of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils on performance, hematological, biochemical and immunological parameters of broiler chickens. *Global Vet.*, (6): 736–744pp.
- Salehifar, E. M. Abbasi, M. and Bahari-Kashani, R.**, 2017, Effects of Myrtle (*Myrtus communis*) Essential Oil on Growth Performance, Carcass Characteristics, Intestinal Morphology, Immune Response And Blood Parameters in Broiler Chickens, *J. Livestock Sci.*, (8): 63-71pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sales, N.M.R., Pelegrini, P.B. and Goersch, M.C.**, 2014, Nutrigenomics: Definitions and advances of this new science. *J. Nutr. Metab.*, 1-6pp.
- Scherer, R., Bogusz, S.J., de Albuquerque, R. and Godoy, H.T.**, 2014, Microencapsulated Eucalyptol and Eugenol as Growth Promoters in Broilers. *Braz. J. Food. Res.*, (5): 26–32pp.
- Sevane, N., F. Bialade, S. Velasco, A. Rebole, M. L. Rodriguez, L. T. Ortiz, J. Canon, and S. Dunner.**, 2014, Dietary Inulin Supplementation Modifies Significantly The Liver Transcriptomic Profile of Broiler Chickens. *PLoS One* 9:e98942. doi:10.1371/journal.pone.0098942.
- Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., Hendawy, S.F., Omer, E.A., Hammouda, F.M., Abdel-Rahman, F.H. and Saleh, M.A.**, 2011, Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel Cultivars. *Molecules* (16): 1366-1377pp.
- Siddique, R. A., Tandon, M., Ambwani, T., Rai, S. N. and Atreja, S. K.**, 2009, Nutrigenomics: Nutrient-Gene Interactions, *Food Reviews International*, 25,(4): 326-345pp.
- Soltan, M.A., Shewita, R.S. and El-Katcha, M.I.**, 2008, Effect of Dietary Anise Seeds Supplementation on Growth Performance, Immune Response, Carcass Traits and Some Blood Parameters Of Broiler Chickens. *International, J of Poultry Science*, 7(11): 1078-1088pp.
- Soycan Önenç, S., Açıkgöz, Z., Kırkpınar, F., Küme, T., Şeremet Tuğalay, Ç. ve Bayraktar, Ö.H.**, 2016, Chemical Compositions and Antioxidant Activities of The Essential Oils of Some Medicinal and Aromatic Plants, *Hayvansal Üretim*, 57(2): 7-14pp.
- SPSS**, 2013, PASW Statistics for Windows, v. 22.0, Statistical Package For The Social Sciences, Chicago, SPSS Inc.
- Steiner, T.**, 2006, *Managing Gut Health - Natural Growth Promoters as a Key to Animal Performance*. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Synowiec, A., Halecki, W., Wielgusz, K., Byczyńska, M. and Czaplicki, S.,** 2017, Effect of Fatty Acid Methyl Esters on The Herbicidal Effect of Essential Oils on Corn and Weeds. *Weed technology*, 31, (2): 301-309pp.
- Taha, A. E., Hassan, S.S., Shewita, R.S., El-seidy, A.A., Abd El-Hack, M.E., Hussein, E.O.S., Saadeldin, I.M., Swelum, A.A. and El-Edel, M.A.,**2019, Effects of Supplementing Broiler Diets With Coriander Seed Powder On Growth Performance, Blood Haematology, İleum Microflora And Economic Efficiency, *J Anim Physiol Anim Nutr.*, (103): 1474–1483pp.
- Thacker, P.A.,** 2013, Alternatives to Antibiotics as Growth Promoters for Use in Swine Production: A Review. *Journal of Animal Science and Biotechnology* (4): 35p.
- Tsirtsikos, P., Fegeros, K., Kominakis, A., Balaskas, C. and Mountzouris, K.C.,** 2012, Modulation of İntestinal Mucin Composition And Mucosal Morphology By Dietary Phytogenic Inclusion Level in Broilers. *Animal* 2012, (6): 1049–1057pp.
- TSE,** Türk Standardları Enstitüsü, 1997. Hayvan yemleri-Şeker tayini(Luff-Schoorl metodu). <https://intweb.tse.org.tr/standard/TS12232>. (Erişim tarihi: 27.06.2020).
- TSE,** Türk Standardları Enstitüsü. 2004, ISO 6493 TS No'lu Hayvan yemleri - Nişasta muhtevasının tayini - Polarimetrik metot, (Erişim tarihi: 27.06.2020), <https://intweb.tse.org.tr/standard/TSISO6493>.
- TUİK,** 2019, Türkiye İstatistik Kurumu, Rezene Üretim Miktarları, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2019-30685>, (Erişim tarihi: 02.01.2020).
- Tunçer, P.,** 2012, Mersin Bitkisinin (*Myrtus communis* l.) Broiler Rasyonlarında Kullanım İmkanlarının Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tez No: 2012-004, 88s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Upadhaya, S.D. and Kim, I.H.**, 2017, Efficacy of Phytogenic Feed Additive on Performance, Production and Health Status of Monogastric Animals–A Review. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 17, No. (4): 929–948pp.
- Verstegen, M.W.A. and Williams, B.A.**, 2002, Alternatives to The Use of Antibiotics as Growth Promoters for Monogastric Animals, *Animal Biotechnology*, 13, (1): 113-127pp.
- Vervaeke, T.J., Decuypere, J.A., Dierick, N. and Hendericks, H.K.**, 1979, Quantitative in vitro Evaluation of the Energy Metabolism Influence by Virginia Mycine and Spiramycin Used as Growth Promoters in Pig Nutrition. *J. Animal Sci.* 1979, (49): 486–496pp.
- Wallace, R.J., Oleszek, W., Franz, C., Hahn, I., Baser, K.H.C., Mathe, A. and Teichmann, K.**, 2010, Dietary Plant Bioactives for Poultry Health and Productivity. *Br. Poult. Sci.*, (51): 461-487pp.
- Wang, L., Piao, X.L., Kim, S.W., Piao, X.S., Shen, Y.B. and Lee, H.S.**, 2008, Effects of *Forsythia suspensa* Extract on Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Antioxidant Activities in Broiler Chickens Under High Ambient Temperature. *Poultry Science* (87): 1287–1294pp.
- Wati, T., Ghosh, T.K, Syed, B. and Haldar, S.**, 2015, Comparative Efficacy of A Phytogenic Feed Additive and an Antibiotic Growth Promoter on Production Performance, Caecal Microbial Population and Humoral Immune Response of Broiler Chickens Inoculated with Enteric Pathogens. *Anim. Nutr.*,(3): 213–219pp.
- Weintraut, M.L., Kim, S., Dalloul. R.A., and Wong, E.A.**, 2016, Expression of Small Intestinal Nutrient Transporters in Embryonic and Posthatch Turkeys. *Poult Sci* 95(1): 90–98pp.
- Wierup, M**, 2000, The Control of Microbial Diseases in Animals: Alternatives to The Use Of Antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents* (14): 315–319pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wierup, M.**, 2001, The Swedish Experience of The 1986 Ban of Antimicrobial Growth Promoters, with Special Reference to Animal Health, Disease Prevention, Productivity, and Usage of Antimicrobials. *Microbial Drug Resistance* (7): 183-190pp.
- Windisch, W., and A. Kroismayr.**, 2006, The Effects of Phytobiotics on Performance and Gut Function in Monogastrics. *World Poult. Nutr. Forum*.
- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr., A.**, 2008, Use of Phytogetic Products as Feed Additives for Swine and Poultry. *J. Anim. Sci.*, (86): 140–148pp.
- WHO**, 2012, World Health Organization, The Evolving Threat of Antimicrobial Resistance: Options for Action. [Available online at http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181_eng.pdf], (Erişim tarihi: 10.10.2020).
- Yang, S.H., Sharrocks, A.D. and Whitmarsh, A.J.**, 2003, Transcriptional Regulation by The MAP Kinase Signaling Cascades. *Review. Gene.*, (320): 3-21pp.
- Yang, C., Chowdhury, M.A., Huo, Y., and Gong, J.**, 2015, Phytogetic Compounds as Alternatives to In-Feed Antibiotics: Potentials and Challenges in Application. *Pathogens*, 4 (1): 137-156pp.
- Yitbarek, M.B.**, 2015, Phytogetics as Feed Additives in Poultry Production: A Review. *International J Ext Res.* (3): 49-60pp.
- Yoltaş, A., ve Karaboz, İ.**, 2010, DNA Mikroarray Teknolojisi ve Uygulama Alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, (8):1-19ss.
- Young, K. D.**, 2011, Peptidoglycan. In Wiley Online Library. Retrieved from <http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0000702.html>. Accessed: 16.10.2020.
- Yula, E.**, 2016, Sitokinler ve İmmünoregölasyon (Çeviri), <http://www.microbiologybook.org/Turkishimmunol/immunolchapter13turk.htm>. (Erişim tarihi: 19.10.2020).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zeng, Z., Zhang, S., Wang, H. and Piao, X.,** 2015a, Essential Oil and Aromatic Plants as Feed Additives in Non-Ruminant Nutrition: A Review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, (6): 1-10pp.
- Zeng, Z., Xu, X., Zhang, Q., Li, P., Zhao, P., Li, Q., Liu, J. and Piao, X.,** 2015b, Effects of Essential Oil Supplementation of A Low-Energy Diet on Performance, Intestinal Morphology and Microflora, Immune Properties and Antioxidant Activities in Weaned Pigs. *Anim Sci J.*, (86): 279–285pp.
- Zhang, H.Y., Piao, X.S., Zhang, Q., Li, P., Yi, J.Q., Liu, J.D., Li, Q.Y. and Wang, G.Q.,** 2013, The effects of *Forsythia suspensa* Extract and Berberine on Growth Performance, Immunity, Antioxidant Activities, and Intestinal Microbiota in Broilers Under High Stocking Density. *Poultry Science* (92): 1981–1988pp.
- Zhao, L., Dong, Y. H. and Wang, H.,** 2010, Residues of Veterinary Antibiotics in Manures From Feedlot Livestock in Eight Provinces of China. *Sci. Total Environ.* (408): 1069-1075pp.
- Zou, Y.; Xiang, Q., Wang, J., Peng, J. and Wei, H.,** 2016, Oregano Essential Oil Improves Intestinal Morphology and Expression of Tight Junction Proteins Associated with Modulation of Selected Intestinal Bacteria and Immune Status in A Pig Model. *Bio Med. Res. Int.*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimime başladığım dönemden bu zamana kadar geçen yaklaşık 9 yıllık süreçte bilimsel gelişimime katlarla bulunan, bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ALÇİÇEK' e, çalışmamın yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında her konuda desteklerini esirgemeyen, ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Muzaffer Denli'ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Doktora tez aşaması süresince değerli katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Zümrüt AÇIKGÖZ ve Sayın Prof. Dr. Metin ÇABUK'a ve tez savunma jürisinde bulunarak kıymetli katkılar sunan Sayın Prof. Dr. Güldehen BİLGİN'e ayrıca şükranlarımı sunarım. Benim için her şeye katlanan her zaman yanımda olan annem Fatma İPÇAK ve babam Mehmet İPÇAK'a bugünlere gelmemde büyük desteği olan manevi annem Eylül TURAN ile manevi babam İsmail TURAN'a, kardeşlerime minnet ve şükranlarımı sunarım. Laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı Dr. Zinar Pınar GÜMÜŞ, Öğr. Gör. Dr. ASLI ŞAHİNER, Arş. Gör. Dr. Pelin UĞURLU ve Arş. Gör. Fırat AŞIR'a, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen kıymetli arkadaşım Dr. Sema ÖZÜRETMEN' e ve emeği geçen tilin öğrenci ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmasının yürütülmesi için TÜBİTAK-1002 Hızlı Destek Programı kapsamında 1190982 No'lu araştırma projesinin desteklenmesini sağlayan ve TÜBİTAK 2211-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı kapsamında almış olduğum maddi desteklerden dolayı TÜBİTAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

18.12.2020

Hasan Hüseyin İPÇAK

ÖZGEÇMİŞ

Hasan Hüseyin İPÇAK, 1989 yılında Hayrabolu/Tekirdağ'da doğdu. İlköğrenimini Çerkezmüsellim ilköğretim okulunda, lise eğitimini ise Tekirdağ Namık Kemal Lisesi'nde (Y.D.A) tamamladı. 2007 yılında girdiği Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği Programı, Zootečni alt bölümünden, Fakülte ikincisi olarak 2011 yılında mezun oldu. Aynı yıl eylül ayı içerisinde ÖYP kapsamında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2011 Ekim-2012 Haziran dönemi içerisinde Marmara Üniversitesi'nde yabancı dil eğitimi aldıktan sonra, Eylül 2012'de 35. Madde ile görevlendirilerek, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni A.B.D'de (Yemler ve Hayvan Besleme) Yüksek Lisans eğitimine başladı. Eylül 2015'te yüksek lisans eğitimini tamamladıktan sonra aynı yıl hem Zootečni A.B.D'de Doktora programına hem de Biyoteknoloji A.B.D'de yüksek lisans eğitimine başladı. 2018 Şubat-Haziran döneminde (5ay) Belçika, Ghent Üniversitesinde bulundu. Aynı yılın eylül ayında ise kadrosunun bulunduğu Dicle Üniversitesi'ne geri döndü ve halen burada Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır. 2019 Eylül ayında da Biyoteknoloji Anabilim dalındaki yüksek lisans eğitimini tamamladı.

SCI, SSCI ve Ahcı İndekslerine Giren Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- **İpçak, H.H. and Alçıçek, A.**, 2018, Addition of Capsicum oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and their mixtures to the broiler diet II: Effects on meat quality. Journal of Animal Science and Technology (2018) 60:9.

Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- **İpçak, H.H. and Alçıçek, A.**, 2019, Addition of Capsicum oleoresin, Carvacrol, Cinnamaldehyde and Their Mixtures to The Broiler Diet I. Effects on Growth Performance, Carcass Characteristics, Intestinal Microflora, Some Blood Parameters and Igf-1 Gene Expression Levels DOI: 10.7176/JSTR/5-12-01, Vol.5, No.12, 2019.
- **Denli, M., Tutkun, M., İpçak, H.H. ve Demir, Ş.** 2019, Diyarbakır İli Hayvansal Üretim Yatırım Fizibilite Raporu (Konvansiyonel Ve Organik Manda Yetiştiriciliği Yatırım Fizibilitesi), 162s.
- **İpçak, H.H., Alçıçek A and Özüretmen S**, 2019, Evaluation of the effects of mycotoxin binders in animal nutrition. BSJ Agri, 2(4): 218-223.
- **İpçak, H.H., Özüretmen, S., Alçıçek, A. and Özelçam, H.**, 2018, Alternatif Protein Kaynaklarının Hayvan Beslemede Kullanım Olanakları, Hayvansal Üretim 59(1): 51-58, 2018.

- **Özelçam, H., İpçak, H.H. and Özüretmen, S.,** 2018, Bazı Fiğ Kuruotları ve Botanik Fraksiyonlarının Yem Değerlerinin Naylon Torba Tekniği ile Belirlenmesi. J. Anim. Prod., 2018, 59 (2):35-41.
- **Özelçam, H., Özüretmen, S., İpçak, H.H. and Dereboylu, A.,** 2017. The Effect of Clove Essential Oil Treatment on the Cell Wall Components of Wheat Straw. Journal of Agricultural Science and Technology A 7 (2017) 68-72.
- **Özelçam, H., İpçak, H.H. and Özüretmen, S.,** 2017, Feed Value of Sunflower Heads in Different Varieties. International Journal of Agriculture, Environment and Bioresearch, Vol. 2, No. 04; 2017, 58-63.
- **İpçak, H.H., Özüretmen, S., Özelçam, H. And Ünlü, H.B.,** 2017, Hayvan Beslemede Doğal Koruyucular ve Etki Mekanizmaları, Hayvansal Üretim 58(1): 63-71, 2017.

Hakemli Kongre / Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

- Kongre veya sempozyumlarda 8 sözlü, 17 poster bildirisi vardır.

Projeler

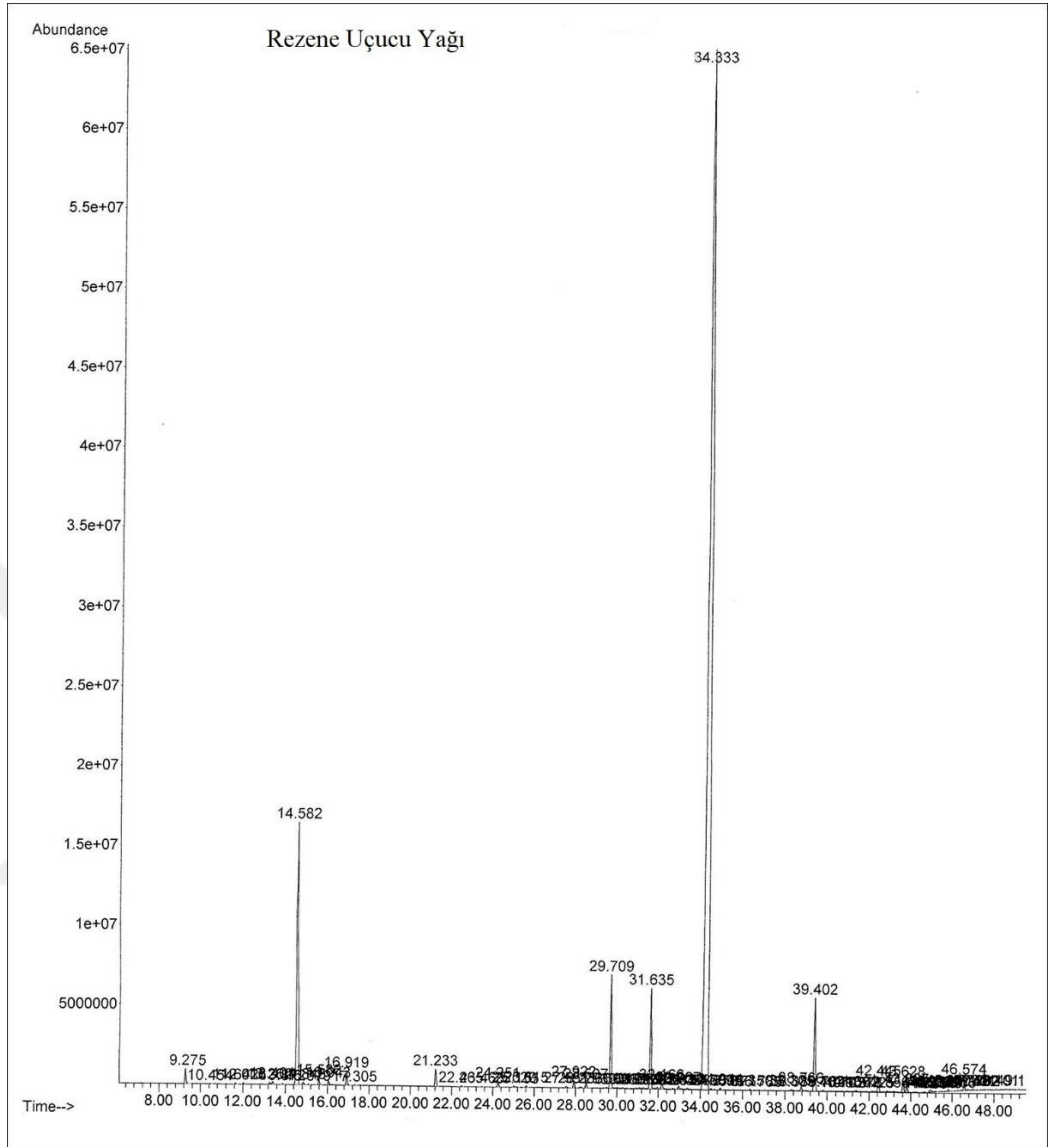
- **İpçak, H.H., Alçiçek, A. ve Denli, M.,** 2019 Etlik Piliç Yemlerine Kapsüle Edilmiş Rezene Tohumu (*Foeniculum vulgare* Mill.) Uçucu Yağı İlavesinin Performans ile Bağırsak Mikroflorası, Morfolojisi ve Transkriptomik Profillemesi Üzerine Etkileri (TUBİTAK 1002 devam ediyor... 40240 TL, **Yürütücü**).
- **Denli, M., Tutkun, M., İpçak, H.H. ve Demir, Ş.** 2019, Diyarbakır ili hayvansal üretim yatırım fizibilitesi. (Kakınma bakanlığı **Araştırmacı**).
- **Özelçam H., İPÇAK, H.H., Özüretmen, S., Dereboylu, A. ve Canpolat, Ö.,** 2018, Kurutulmuş ve Silolanmış Pavlonya (*Paulownia* sp.) Ağacı Yapraklarının Yem Değerinin İleri Düzeyde Tanımlanması ve *In vitro* Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi (TUBİTAK 1002, **Araştırmacı**).
- **İpçak, H.H., ve Alpagut Keskin, N.,** 2017. Bazı Yenilebilen Mantar Türlerinde Lakkaz Enzimi Lcc1 mRNA Ekspresyon Seviyeleri ve Aktivitelerinin Belirlenmesi (**Araştırmacı**).
- **Özelçam H., İPÇAK, H.H., ve Özüretmen, S.,** 2017, Yonca Haylajına Farklı Dozlarda Peynir Altı Suyu Tozu İlavesinin Silaj Fermantasyonu , İn Vivo Sindirilebilirliği İle Metabolik Enerji Değerine Etkisi (17-ZRF-033, **Araştırmacı**).
- **Özelçam H., Özüretmen, S., Cömert Acar, M. ve İPÇAK, H.H.,** 2017, Farklı Dozlarda Peynir Altı Suyu Tozunun Yonca Silajına İlavesinin Silaj Fermantasyonu, in vivo ve in vitro Sindirilebilirliği ile Metabolik Enerji Değeri Üzerine Etkisi (TUBİTAK 1002, **Bursiyer**).
- **Ünlü, H.B., Kandemir, Ç. ve İpçak, H.H.,** 2015, Kekik Ve Biber Uçucu Yağının Kuzu Gelişme Performansı, rumen Fermantasyonu, Karkas, Et Kalitesi Ve Bazı Kan Parametrelerine Etkileri (15-ZRF-033, **Araştırmacı**).
- **İpçak, H.H. and Alçiçek, A.,** 2015, Etlik Piliç Karma Yemlerine Carvacrol, Cinnamaldehyde Ve Capsicum Oleoresin İlavesinin Performans, Et Kalitesi, Kan Parametreleri Ve Gen Ekspresyonu Üzerine Etkileri (YL Tez Projesi ÖYP, **Araştırmacı**)

EKLER

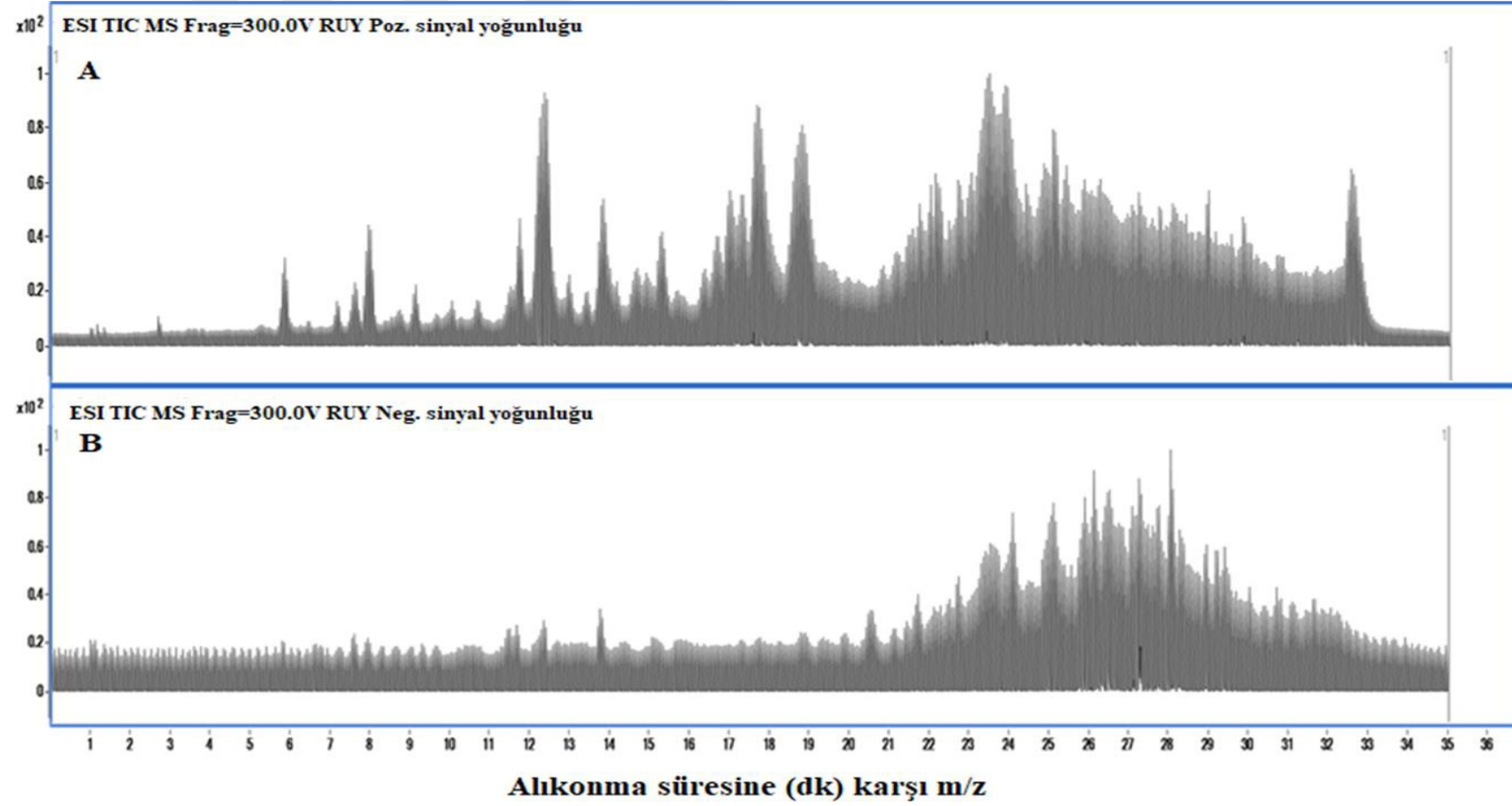
- Ek 1. RUY'un Uçucu Bileşen Analizlerine Ait Kromatogram
- Ek 2. Pozitif (A) ve Negatif (B) İyonizasyon Modlarındaki RUY'dan Elde Edilen MS Toplam İyon Kromatogramları
- Ek 3. RUY'un FAME Analizine Ait Kromatogram
- EK 4. Tubitak Proje Kabul Yazısı



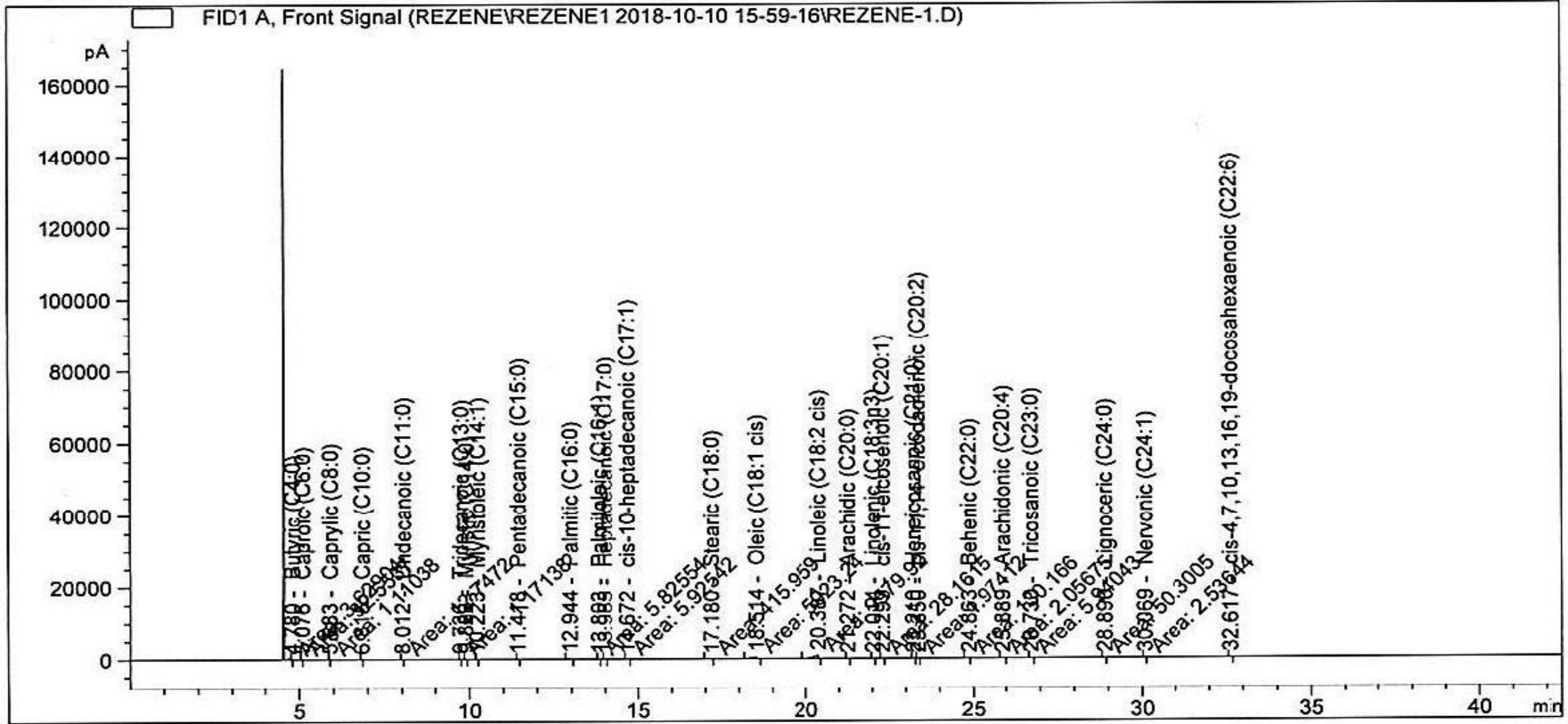
Ek 1. RUY'un Uçucu Bileşen Analizlerine Ait Kromatogram



Ek 2. Pozitif (A) ve Negatif (B) İyonizasyon Modlarındaki RUY'dan Elde Edilen MS Toplam İyon Kromatogramları



Ek 3. RUY'un FAME Analizine Ait Kromatogram



EK 4. Tubitak Proje Kabul Yazısı



T.C.
TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU BAŞKANLIĞI
Araştırma Destek Programları Başkanlığı

Sayı : B.14.2.TBT.0.06.03.06-161-220598

27/11/2019

Konu : 119O982 Numaralı Proje Karar Yazısı

Sayın Hasan Hüseyin İPÇAK

"1002-Hızlı Destek Programı" kapsamında Kurumumuza sunmuş olduğunuz 119O982 numaralı ve "Etlik Piliç Yemlerine Kapsüle Edilmiş Rezene Tohumu (Foeniculum Vulgare Mill.) Uçucu Yağı İlavetinin Performans İle Bağırsak Mikrobiyotası, Morfolojisi Ve Transkriptomik Profillemesi Üzerine Etkileri" başlıklı projenize ilişkin değerlendirme süreci tamamlanmıştır.

Desteklenmesine karar verilen proje önerinizin ilgili mevzuat çerçevesinde, mali ve benzeri konularda değerlendirme çalışmalarına başlanmıştır. Süreç tamamlandığında projelere ait sözleşme ve diğer belgeler imzalanmak üzere tarafınıza gönderilecektir.

Çalışmalarınızda başarılar diler, saygılar sunarım.

Dr. Naci SAĞLAM
TOVAG Grup Koordinatörü

PANEL PUAN SEVİYESİ: B

A: Çok İyi B: İyi C: Orta D: İyi Değil E: Yetersiz

Panel toplam puanı A ve B seviyesinde olan projeler desteklenmiştir.