

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI (VET) ANABİLİM DALI

OKSİDATİF STRESE MARUZ ETÇİ PİLİÇLERDE ANTIOKSİDAN  
ETKİLİ VİTAMİN C ve PROPOLİS KATKILI YEMLERİN  
PERFORMANS, SİNDİRİLEBİLİRLİK, KARKAS ÖZELLİKLERİ, KAN  
PARAMETRELERİ, LİPİT PEROKSİDASYONU ve BAZI  
ANTIOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ  
İsmail SEVEN

**Danışman**  
Doç. Dr. Taylan AKSU

**HATAY – 2008**

## TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Taylan AKSU'ya, ilk danışman hocam sayın Prof. Dr. Erol BAYTOK'a ve biyokimyasal analizlerin tayinindeki katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Seval YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca eşim Doç. Dr. Pınar TATLI SEVEN'e doktoram süresince göstermiş olduğu özveri ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde daima maddi ve manevi desteklerini gördüğüm babam, annem ve diğer aile bireylerime sonsuz desteklerinden dolayı minnettarım.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>Kabul ve Onay</b> .....	II
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	III
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	IV
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	VII
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	VIII
<b>ÖZET</b> .....	IX
<b>ABSTRACT</b> .....	X
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Kurşunun Toksik Etkileri.....	4
2.2. Oksidatif Stres Oluşumu ve Kurşun.....	4
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	5
2.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	5
2.3.2. Katalaz (CAT).....	6
2.3.3. Redükte Glutatyon (GSH).....	6
2.4. Etçi Piliçlerde Kurşun Toksisitesinin Performans, Kan Parametreleri ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkisi.....	7
2.4.1. Performans Üzerine Etkileri.....	7
2.4.2. Kan Parametreleri Üzerine Etkileri.....	8
2.4.3. Malondialdehid (MDA) ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri.....	9
2.5. Kurşunun Toksik Etkilerinin Giderilmesinde Besin Madde Katkıları.....	11
2.5.1. Propolis.....	11

2.5.1.1. Propolisteki Bazı Bileşiklerin Bilinen Farmakolojik Aktiviteleri.....	15
2.5.1.2. Propolisin Ekstraksiyon Yöntemleri.....	16
2.6. Oksidatif Stres ve Vitamin C.....	17
2.7. Oksidatif Stres ve Propolis.....	18
2.7.1. Propolisin Besi Performansı ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri.....	18
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>22</b>
3.1. Gereç.....	22
3.1.1. Hayvan.....	22
3.1.2. Yem.....	22
3.1.3. Propolis.....	23
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Deneme Düzeni.....	23
3.2.2. Işıklandırma.....	23
3.2.3. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranlarının Belirlenmesi.....	23
3.2.4. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışlarının Belirlenmesi.....	24
3.2.5. Ölüm Oranının Belirlenmesi.....	24
3.2.6. Besin Maddelerinin Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi..	24
3.2.7. Analitik İşlemler.....	24
3.2.7.1. Propolisin Etanolik Ekstraksiyonu (EEP).....	24
3.2.7.2. Etanolik Ekstraksiyonlu Propolisin Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi.....	25
3.2.7.3. Yem Örneklerinin Analizleri.....	26

3.2.7.4. Karkas Analizi.....	26
3.2.7.5. Kan ve Doku Analizleri.....	26
3.2.7.5.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması.....	26
3.2.7.5.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	27
3.2.7.6. Plazmada Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Analizi.....	27
3.2.7.6.1. Lipit Peroksidasyon (MDA) Düzeyinin Tayini.....	27
3.2.7.6.2. Hemolizatta SOD Aktivitesinin Tayini....	27
3.2.7.6.3. Hemolizat ve Dokuda CAT Aktivitesi Tayini.....	28
3.2.7.6.4. Kanda Redükte Glutasyon (GSH) Tayini.....	29
3.2.7.7. İstatistik Analizler.....	29
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>30</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>36</b>
5.1. Performans.....	36
5.2. Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri.....	39
5.3. Karkas Özellikleri.....	40
5.4. Kan Parametreleri.....	41
5.5. Araştırma Gruplarında MDA Düzeyleri.....	42
5.6. Araştırma Gruplarında Antioksidan Enzim Düzeyleri.....	44
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>47</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>48</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>57</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.1.Propolis örneklerinden belirlenen bileşik grupları.....	14
Çizelge 2.2.Propolisin yapısındaki madde ve miktarları .....	15
Çizelge 3.1.Kullanılan rasyonların % bileşimleri ve besin madde içerikleri.....	22
Çizelge 3.2.Deneme grupları .....	23
Çizelge 3.3.Etanolik ekstraksiyonlu propolisin kimyasal kompozisyonu .....	25
Çizelge 4.1.Araştırma gruplarının canlı ağırlık ortalamaları .....	30
Çizelge 4.2.Araştırma gruplarında canlı ağırlık artışları .....	31
Çizelge 4.3.Araştırma gruplarında yem tüketimi.....	31
Çizelge 4.4.Araştırma gruplarının yemden yararlanma oranları.....	32
Çizelge 4.5.Araştırma gruplarının ölüm sayıları ve oranları .....	32
Çizelge 4.6.Araştırma gruplarında besin madde sindirilme dereceleri .....	33
Çizelge 4.7.Araştırma gruplarının karkas özellikleri .....	33
Çizelge 4.8.Araştırma gruplarının SOD aktivitesi ve bazı biyokimyasal parametre değerleri .....	34
Çizelge 4.9.Araştırma gruplarının plazmada ve bazı dokularda MDA düzeyleri.....	34
Çizelge 4.10.Araştırma gruplarının hemolizat'ta ve bazı dokularda CAT aktiviteleri .....	35
Çizelge 4.11.Araştırma gruplarının kanda ve bazı dokularda GSH aktiviteleri ..	35

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ALA</b>	Deltaaminolevülinik Asidin
<b>ALAD</b>	Deltaaminolevülinik Asidin Dehidrataz
<b>CAPE</b>	Kafeik Asit Fenetil Ester
<b>CAT</b>	Katalaz
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DTNB</b>	5,5'-Ditiyobis (2-Nitrobenzoik Asit)
<b>EDTA</b>	Etilendiamintetraasetik Asit
<b>EEP</b>	Propolisin Etanolik Ekstraksiyonu
<b>GPx</b>	Glutatyon Peroksidaz
<b>GSH</b>	Redükte Glutatyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen Peroksit
<b>HPLC</b>	Yüksek Performanslı Sıvı kromatografisi
<b>MDA</b>	Malondialdehid
<b>MS-GC</b>	Kütle Spektrometesi ve Gaz Kromatografisi
<b>NAC</b>	N-Asetilsistein
<b>NADPH</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>PS</b>	Potasyum Sorbat
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>TBA</b>	Tiobarbitürik Asit
<b>SGOT (AST)</b>	Serum Glutamik Oksalasetik Transaminaz
<b>SGPT (ALT)</b>	Serum Glutamik Pirüvik Transaminaz
<b>HDL</b>	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>LDL</b>	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

## ÖZET

### **Oksidatif Strese Maruz Etçi Piliçlerde Antioksidan Etkili Vitamin C ve Propolis Katkılı Yemlerin Performans, Sindirilebilirlik, Karkas Özellikleri, Kan Parametreleri, Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzim Düzeyleri Üzerine Etkileri**

Bu araştırma, oksidatif strese maruz kalan etçi piliçlerde, vitamin C ve propolis katkılı yemlerin performans, sindirilebilirlik, karkas özellikleri, bazı kan parametreleri, lipit peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkilerini belirlemek amacı ile yapıldı. Araştırmada, 3 günlük yaşta, 360 adet etçi (Ross 308) civciv kullanıldı. Civcivler, her biri 6 tekerrürden oluşan kontrol ve deneme gruplarına her birinde 90'ar adet civciv olacak şekilde tesadüfi olarak dağıtıldı. Deneme grupları 3-42 günlük periyotta, katkısız temel rasyon (Kontrol-Grup I); temel rasyona 500 ppm vitamin C + 200 ppm kurşun (kurşun asetat olarak) (Grup II); 1 g/kg propolis + 200 ppm kurşun (kurşun asetat olarak) (Grup III) ve 200 ppm kurşun (kurşun asetat olarak) (Grup IV) ilavesi yapılarak dizayn edildi.

Araştırma sonunda, rasyonları ile sadece kurşun tüketen piliçlerin canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı düşerken; propolis ve vitamin C katkısının kurşunun bu olumsuz etkisini engelleyerek hayvansal performansı arttırdığı gözlemlendi ( $P<0.05$ ). Sadece kurşun tüketen piliçlerde ham besin maddelerinin sindirilme derecesinin genel olarak düştüğü ( $P<0.05$ ); özellikle propolis katkısının ham protein ve ham külün sindirilme derecelerini arttırdığı ( $P<0.05$ ); organik maddenin sindirilme derecesinin ise vitamin C ve propolis katkılı gruplarda rakamsal olarak arttığı belirlendi. Vitamin C ve propolis katkılarının, kurşunun sebep olduğu süperoksit dismutaz aktivitesindeki artışı önemli ölçüde düşürdüğü ( $P<0.05$ ); propolisin kan trigliserit düzeyini düşürmede önemli derecede ( $P<0.05$ ) etkili olduğu; vitamin C ilavesinin ise kan SGOT değerini rakamsal olarak düşürdüğü tespit edildi. Benzer şekilde, vitamin C ve propolis katkıları, kurşunun sebep olduğu plazma malondialdehit seviyesindeki artışı önemli derecede düşürmüştür ( $P<0.01$ ). Vitamin C ve propolis katkılarının, kurşunun plazma ve bazı dokularda sebep olduğu katalaz ve indirgenmiş glutatyon artışını ise rakamsal olarak azalttığı belirlendi.

Bu sonuçlara göre araştırmada kullanılan propolis ve vitamin C'nin benzer antioksidan etki gösterdikleri, kurşundan kaynaklanan oksidatif stresin olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığı söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Broyler, oksidatif stres, propolis, lipit peroksidasyon, performans.



## ABSTRACT

### **The Effects of Antioxidant Effective Vitamin C and Propolis Supplemented Feeds on Performance, Digestibility, Carcass Characteristics, Some Blood Parameters, Lipid Peroxidation and Some Antioxidant Enzyme Levels in Broilers Exposed to Oxidative Stress**

This study was planned to determine the effects of antioxidant vitamin C and propolis supplemented feeds on performance, digestibility, carcass characteristics, some blood parameters, lipid peroxidation and some antioxidant enzyme levels in broilers exposed to oxidative stress. In this study, Ross 308, three-day-old, 360 broiler chicks were used. The chicks were randomly divided into the control and treatment groups each containing 90 animals which were six replicate groups for each group. The experimental groups were designed as no supplementing to basal ration (control-Group I); supplementing of 500 ppm vitamin C and 200 ppm lead (as lead acetate) to basal ration (Group II); supplementing of 1 g/kg propolis and 200 ppm lead (as lead acetate) to basal ration (Group III) and supplementing of 200 ppm lead (as lead acetate) to basal ration (Group IV) for 3-42 days of period.

In the last of the study, it was observed that increased to performance preventing to the negative effects of lead of propolis and vitamin C supplementations while lowered the body weight gain, feed intake and feed conversion ratio of chicks fed alone lead to their rations ( $P<0.05$ ). It was determined that decreased generally of nutrient digestibility ( $P<0.05$ ); increased especially digestibilities of the crude protein and ash of propolis supplementation ( $P<0.05$ ); increased as numeral of the organic matter digestibility in groups supplemented vitamin C and propolis. It was found that decreased significantly rising in superoxide dismutase activities caused from lead supplementation ( $P<0.05$ ); significant lowered effectively of propolis to blood triglyceride level ( $P<0.01$ ); decreased as numeral of blood SGOT by vitamin C supplementation. Similarly, supplementations of vitamin C and propolis decreased significantly plasma malondialdehyde levels to rised by lead supplementation ( $P<0.01$ ). It was determined that supplementations of vitamin C and propolis decreased as numeral to rising of catalase and reduced glutathione caused from lead in plasma and some tissues.

According to these results, it could be said that propolis and vitamin C used in this study showed similar antioxidant effects and removed the detrimental effects of oxidative stress caused from lead.

**Key words:** Broiler, oxidative stress, propolis, lipid peroxidation, performance.

## 1. GİRİŞ

Endüstriyel gelişmelere bağlı olarak artan çevre kirliliği ve önemli çevre kirleticileri olmaları nedeniyle de ağır metal ve metal bileşiklerinin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri, son yıllarda giderek önem kazanan bir ilgi alanı oluşturmaktadır. Bu çevre kirleticileri arasında kurşun önemli bir yere sahiptir.

Metal iyonları; süperoksit radikali ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile birlikte biyolojik sistemlerde hidroksil serbest radikali ve metal-oksijen bileşikleri gibi çok reaktif ürünleri oluşturmak için reaksiyona girerler ve sonuçta oksidatif deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarı oluşur. Kimyasal karsinogenezde, metallerin aracılık ettiği oksidatif DNA hasarı önemli rol oynar. Kurşunun neden olduğu toksik etkiler, serbest radikal üretimi ve oksidatif stres yoluyla meydana gelmektedir (Erdoğan ve ark. 2005, Ahamed ve Siddiqui 2007). Lipit peroksidasyon, hücre membranında bulunan (fosfolipit, glikolipit, gliserit ve sterol yapısında yer alan) çoklu doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri ve etan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki alanlarından difüzyonla hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar (Yılmaz ve Bahçecioğlu 2000).

Vitamin C, E ve flavanoidler gibi antioksidanların kullanımı oksidatif stresin etkisini azaltmaktadır. Serbest radikal olarak adlandırılan oksidan moleküller hücrede normal matabolizma esnasında üretilir. Lipit membranlarının oksidasyonu, lipit peroksidasyonuna ve onların neden olduğu hasara yol açarlar. Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler savunma mekanizması sırasında sentezlenirler. Savunmada endojen antioksidan enzimlerin koruyucu etkilerine ilaveten rasyondaki antioksidanların tüketimi büyük önem taşır. Rasyondaki temel antioksidanlar vitamin E, vitamin C, karatenoid, flavanoid ve diğer polifenollerden oluşur. Oksidatif stresin zararlı etkisi hücresel savunma mekanizmasının büyüklüğü ile ilişkilidir. Özellikle savunma mekanizmasında hücresel antioksidan enzimlerin (SOD ve GPx gibi) önemi büyüktür ve bu enzimlerin yetersizliği veya enzim aktivitelerindeki

azalmalar hücre bileşenlerinde onarılmaz hasarlara yol açabilir (Mahmoud ve ark. 2004). Ancak yeme antioksidan katkıları yapıldığında hücresel savunma güçlenerek hasar en aza indirgenebilmektedir (Ohkawa ve ark. 1979). Türkiye arıcılığında atıl ürün olarak algılanan propolis, öncelikli olarak antioksidan olmak üzere antifungal, antimikrobiyal özelliklere sahip doğal bir üründür (Denli ve ark. 2005, Tatlı Seven 2008, Tatlı Seven ve ark. 2008a). Propolisin lipit peroksidasyonunu düşürdüğü ve serbest radikal oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Sun ve ark. 2000, Ichikawa ve ark. 2002).

Bu araştırmada, kurşundan kaynaklanması düşünülen oksidatif strese maruz bırakılacak etçi piliç rasyonlarına, lipit peroksidasyonunu ve serbest radikal oluşumunu azaltmak amacıyla katılan ve antioksidan etki göstermesi beklenen propolisin etçi piliçlerin performansı, karkas özellikleri, bazı kan parametreleri ile kan ve çeşitli dokularında antioksidan enzim düzeylerine etkilerinin vitamin C ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Kurşun, periyodik cetvelin 4A grubunun en metalik elementidir. Kurşun, doğada daha çok kurşun sülfür formunda veya demir, bakır, çinko, antimon ve gümüş metalleriyle birleşik olarak bulunur (Kitman 2000). Farklı yollarla alınan kurşun, kanda yeterli bir düzeye ulaştıktan sonra çeşitli organ ve dokularda birikmeye, daha sonrada atılmaya başlar. Kan dolaşımına katılan kurşunun % 85 ile % 90'ı eritrositlere bağlı halde, geri kalanı da kan plazmasındaki proteinlerle birleşmiş olarak bulunur. Doğada yaygın olarak bulunan ve endüstride de fazlaca kullanılan kurşun, insan ve hayvanlarda zehirlenme kaynağı oluşturan metallerin başında yer alır. Genellikle kolay çözünen kurşun bileşiklerinin toksisitesi daha yüksektir. Buna göre kurşun bileşiklerinin toksik etkileri çoktan aza doğru kurşun nitrat, kurşun klorür, kurşun asetat, kurşun oksit, kurşun sülfür ve kurşun fosfat şeklinde sıralanabilir (Özçelik ve ark. 2000).

Yoğunlukları nedeniyle “ağır metaller” diye tanımlanan kurşun, alüminyum, krom, kalay, kadminyum, titanyum, stronsiyum gibi metallere oluşan 70 kadar element, hava, su, toprak ve besinlerle vücuda alınırlar (Dündar ve Aslan 2005). Hava çevresel kurşun sirkülasyonunun en önemli yoludur (Yapıcı ve ark. 2002). Endüstriyel öğütme işlemleri sırasında oluşan tozlar ve kurşun içeren yakıt dumanları havadaki kurşunun önemli kaynaklarıdır. Havada yoğun olarak bulunmasına rağmen duyularımızla hissedemediğimiz bu materyal, insan ve hayvanlarca solunur. Çok küçük partiküler yapısı, burun ve solunum yollarındaki bariyerlere takılmadan alveoler ortama ulaşmasını sağlar. Alveoler yüzeyler, oksijene geçirgen olduğu kadar diğer kontaminantlara da geçirgen olması nedeniyle bir risk kapısıdır (Rooney ve ark. 1994).

Ayrıca, kurşunun eser miktarları bile sindirim sisteminden absorbe edilerek kanla dokulara iletilir (Aydın 1989). Kurşun, kalsiyum, fosfor, demir ve bakır gibi mineraller, ince barsak villuslarından hızla kana emilirler. Deriden emilim, daha çok organik kurşun bileşikleri için etkin bir yoldur (Işıklı ve ark. 1998). İnorganik kurşun bileşiklerinin deriden emilmediği ileri sürülmesine rağmen boyalara katılan kurşun oksit ve kurşun karbonat bileşiklerinin, işçilere temas yoluyla geçtiği bildirilmiştir (WHO 1992).

## 2.1. Kurşunun Toksik Etkileri

— Kalsiyumun yerine geçme ve kalsiyumla yarış: Divalent kurşun, kalsiyum gibi davranıp, kalsiyum ile yarışarak mitokondriyal fosforilasyon gibi önemli mekanizmalarda onun yerini alır. Kurşun, normalde kalsiyum tarafından düzenlenen hücre içi ileti sistemini bozar ve böylece endokrin ve nöronal fonksiyonlara zarar verir (Ahamed ve Siddiqui 2007, Yaldır ve Sokullu 2008).

- Kalsiyum homeostazının bozulması,
- Mitokondriden kalsiyum salınımının uyarılması,
- Mitokondrial geçiş gözeneklerinin açılması,
- Mitokondri ve mitokondrial membranlara direk hasar,
- Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi,
- Dokularda oksidan/antioksidan dengenin bozulması,
- Lipit metabolizmasında değişiklik,
- Çinkonun aracılık ettiği birçok işlevde çinkonun yerine geçme,
- Kurşunun kemik dokusuna etkisi (Ahamed ve Siddiqui 2007).
- Kurşun, sülfidril gruplarına yüksek afinite gösteren elektropozitif bir metaldir. Bu nedenle sülfidril içeren enzimleri inhibe eder,
- Kurşun, nükleik asidin bağlı olduğu proteinler ile etkileşerek DNA'nın genetik transkripsiyonunu bozabilmektedir (Yaldır ve Sokullu 2008).

## 2.2. Oksidatif Stres Oluşumu ve Kurşun

Subkronik kurşuna maruz kalmada oksidatif stres ile beyindeki histopatolojik değişimler arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada (Mercan 2004), kurşun asetatın ratların beyin hasarında önemli bir etkiye sahip olan oksidatif stresi oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Oksidatif stres, lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (Tatlı Seven ve ark. 2008b).

Lipit peroksidasyonu, biyolojik zararların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogenezinde önemli rol oynarlar (Yılmaz ve Bahçecioğlu 2000). Lipit peroksidasyonun oluşumu ile malondialdehid (MDA) meydana gelmektedir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitte ölçülebilen MDA meydana gelir. Lipit peroksit seviyelerinin belirlenmesinde MDA ölçümü sıklıkla

kullanılır. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.

### **2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri**

ROS'ların oluşumunu ve meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler.

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROS'ları toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı (doğal) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar (vitamin C, vitamin E ve redükte glutatyon (GSH)) şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısmında bulunabilirler (Freeman ve Crapo 1982, Cheeseman ve Slater 1993).

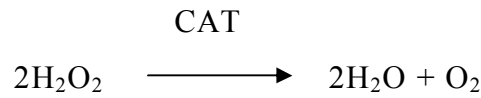
#### **2.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

Süperoksit radikallerinin canlılarda üretildiği uzun yıllar bilinmesine rağmen bu radikallerin temizlenmesi ile ilgili herhangi bir enzimatik etkinlik 1968 yılına kadar bilinmiyordu. 1968 yılında alyuvarlardan saflaştırılan fakat herhangi bir enzimatik aktivitesi saptanamayan, bakır içeren mavi bir proteinin (Erythrocyt) ksantin oksidaz deney sistemine eklendiğinde sitokrom C'nin indirgenmesini inhibe ettiği bulundu. Ksantin oksidaz tepkimesinde süperoksit radikali oluştuğu ve bu radikalın sitokrom C'yi indirgediği daha önce biliniyordu (Wilson 1984, Kılınç 1985). Başta alyuvarlar olmak üzere çeşitli dokulardan saflaştırılan, fonksiyonu bilinmeyen ve elde edildiği dokuya göre hemocyt, erythrocyt, cerebracyt, hematocyt (v.b.) diye adlandırılan proteinlerin birer enzim oldukları ve süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizledikleri gösterildi ve enzim SOD olarak adlandırıldı (Dormandy 1978, Kılınç 1985). Süperoksit radikalleri kendiliğinden dismutasyona uğrayabilirler. Buna göre O<sub>2</sub> radikalleri sulu ortamda fazla birikmezler ve bu nedenle SOD ile katalizlenen dismutasyon önemsiz gibi görülebilir. Oysa pH 7.4'de SOD ile katalizlenen O<sub>2</sub>

radikallerinin dismutasyon hızı, kendiliğinden dismutasyondan  $10^9$  kez daha hızlıdır. Bugün, aerobik canlıların her hücre ve organelinin sürekli olarak süperoksit radikali ürettiği ve bu radikaller ile meydana gelen toksik etkilere karşı tek enzimatik koruyucu mekanizmanın SOD olduğu bilinmektedir (McCord 1983, Kılınç 1985, 1986).

### 2.3.2. Katalaz (CAT)

Katalaz;  $H_2O_2$ 'i oksijen ve suya parçalayan 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak bu enzim bir molekül  $H_2O_2$  elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidant veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (Nakazawa ve ark. 1996).



Dokulardaki CAT aktivitesi çok büyük değişiklikler göstermektedir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye, beyin, kalp, akciğer ve bağ dokusunda ise daha düşük aktiviteye sahiptir (Aebi 1984). Dokularda başlıca mitokondri ve peroksizomlarda olmak üzere partiküllere bağlı şekilde bulunurken, eritrositlerde çözünebilir durumda bulunmaktadır. Asetaldehit, etanol gibi hidrojen veren substratların oksidasyonunda da rol almaktadır (peroksidatif etki). CAT'ın indirgeyici aktivitesi büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmezken,  $H_2O_2$  ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşı etkilidir. Birçok hastalıkta, örneğin kanser, Down sendromu ve anemide serum CAT aktivitesinin değiştiği bildirilmiştir (Lamoureux ve ark. 1987, Laurie ve Kaplowitz 1991).

### 2.3.3. Redükte Glutatyon (GSH)

İndirgenmiş glutatyon (GSH) içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, hücreyi oksidatif hasarlara karşı korur. GPx enziminin kofaktörlüğünü yaparak,  $H_2O_2$ 'i metabolize eder (Meister 1994).

## **2.4. Etçi Piliçlerde Kurşun Toksisitesinin Performans, Kan Parametreleri ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkisi**

### **2.4.1. Performans Üzerine Etkileri**

Kurşun oksidatif stres oluşturarak etçi piliçlerin performansını olumsuz etkilemektedir. Kurşun toksisitesiyle ilgili broylerler üzerinde yapılan bir çalışmada (Özçelik ve ark. 1999), broyler rasyonuna 300 ppm kurşun (kurşun asetat+3H<sub>2</sub>O olarak) katılmış, deneme sonu canlı ağırlığı ve yemden yararlanma oranının kontrol grubuna göre sırasıyla % 78.7 ve % 83.8 daha düşük olduğu bildirilmiştir. Etçi piliç rasyonlarına farklı toksik düzeylerde kurşun katılarak yapılan bir çok çalışmada (Stone ve Soares 1976, Leeming ve Donaldson 1985, Latta ve Donaldson 1986a, 1986b, Wittmann ve ark. 1994a, 1994b, Bakalli ve ark. 1995) yüksek düzeylerdeki kurşunun canlı ağırlık artışını durdurduğu ya da azalttığı belirtilmiştir. Kurşun toksisitesini gidermek ya da azaltmak amacıyla rasyona çeşitli katkıları yapılmaktadır. Kurşunun toksik düzeyinin rasyonun protein düzeyine bağlı olarak azaldığı ve yağ miktarına bağlı olarak arttığı bildirilmektedir. Rasyona demir bileşikleri, selenyum, askorbik asit ve Ca katkılarının kurşun toksisitesini azalttığı ve normal bir gelişmeyi sağladığı bildirilmektedir. (Donaldson ve Mc Gowan 1989, Bakalli ve ark. 1995). Kurşunun oksidatif stres oluşturup lipit peroksidasyona neden olmasından dolayı özellikle rasyona antioksidan katkıların yapılması bu olumsuz etkilerin giderilmesinde etkili olmaktadır. Nitekim etçi piliçlerde büyüme üzerine yapılan bir çalışmada (Cupo ve Donaldson 1988) kurşunun büyümeyi deprese ettiği ancak kurşun+niyasin kullanımı ile kurşunun meydana getirdiği bu olumsuzluğun şiddetinde azalma olduğu bildirilmiştir. Farklı bir çalışmada (Berg ve ark. 1980), rasyona 0 ile 2000 mg/kg kurşun verilen 2 haftalık etçi piliçlerde büyümenin linear olarak azaldığı bulunmuştur. Kurşun toksisitesini gidermek amacıyla askorbik asitin 100 mg/kg düzeyinde broyler rasyonuna katıldığı bir çalışmada rasyona kurşun katkısının canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışında belirgin bir düşüş yaptığı (P<0.05), yem tüketimi ve yemden yararlanma oranında ise kurşun ve askorbik asitin ayrı ayrı ve birlikte katılmasından etkilenmediği bildirilmiştir (Erdoğan ve ark. 2004). Etçi piliçlerde kurşun toksisitesini gidermek amacıyla rasyona metiyonin ve kolin katkısının yapıldığı bir çalışmada (Latta ve Donaldson



1986b) kurşunun büyümeyi deprese ettiği, yeterli metiyonin düzeyinin büyümeyi uyardığı ve kurşun kaynaklı büyüme depresyonunu azalttığı ( $P<0.05$ ), ancak kolin katkısının önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada bağırsaktaki kurşun absorpsiyonu incelenmiş, bu amaçla rasyona katılan metiyonin ve kurşun miktarları sırasıyla, metiyonin % 0 ve kurşun 0 ppm; metiyonin % 0.33 ve kurşun 0 ppm; metiyonin % 0 ve kurşun 1000 ppm ve metiyonin % 0.33 ve kurşun 1000 ppm şeklinde olup, grupların bağırsak kurşun absorpsiyonları sırasıyla % 5.6, 6.9, 7.6 ve 5.8 olarak gerçekleşmiş, gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmemiştir.

#### **2.4.2. Kan Parametreleri Üzerine Etkileri**

Erdoğan ve ark.(2004)'nın kurşun, vitamin C ve kurşun+vitamin C'nin broyler üzerinde etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, kontrol grubu ile kıyaslandığında katkılı grupların serum albumin ve total protein düzeyleri ile LDH, AST ve ALT aktiviteleri üzerine herhangi bir etki göstermediği bildirilmiştir. Ancak trigliserit düzeyinde sadece kurşun katkısı yapılan grupla diğer gruplar arasında önemli farklar ortaya çıkmıştır ( $P<0.01$ ). Yine etçi piliçlerde ayrı ayrı ve birlikte farklı toksik dozlarda monensin ve kurşun verilen bir çalışmada (Khan ve ark. 1994), kurşunun tek başına verilmesi hematolojik parametreleri deprese etmemiş, monensin ve kurşunun birlikte uygulanması kan parametrelerini şiddetli depresyona uğratmıştır. Yüksek dozda (547 ppm kurşun asetat) içme suyu ile kurşun verilen tavşanlarda serum lipit ve lipoprotein seviyeleri üzerine etkilerin incelendiği bir çalışmada (Hami ve ark. 2006), total, HDL ve LDL kolesterol kurşun verilen grupta önemli oranda yüksek bulunurken ( $P<0.001$ ), VLDL kolesterol ve trigliserit düzeyi önemli oranda azalmıştır ( $P<0.012$ ). Serum kurşun düzeyinin total, HDL ve LDL kolesterolle pozitif olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda serum total kolesterolünün yükseldiği (El-gazzar ve ark. 1989, Gatagonova 1994, Nomiya ve ark. 2002) bildirilirken bazı çalışmalarda ise yükselmediği bildirilmiştir (Cocco ve ark. 1991, 1995). Kurşun toksisitesinde kan parametre sonuçlarındaki bu farklılıkların kurşunun dozuyla ilgili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Hami ve ark. 2006).

### 2.4.3. Malondialdehid (MDA) ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri

Kurşun zehirlenmesi prooksidan/antioksidan dengesinin bozulmasından kaynaklanmakta ve bu durum kurşunun dokularda lipidler, proteinler ve DNA gibi kritik moleküller ile etkileşerek oksidatif hasar oluşturmasıyla meydana çıkmaktadır. Daha önceki çalışmalarda oksidatif hasarın, kurşunun dokularda indirekt olarak ROS artışına neden olması sonucu hücre membranları ile etkileşime girerek lipid peroksidasyonunu başlatması ve hücrelerdeki sülfidrilli antioksidan savunma sistemlerini tüketmesi, eritrositlerde hem sentezi ve hemoglobin sentezini inhibe etmesi ile gerçekleştirdiği belirtilmiştir (Hermes-Lima ve ark. 1991, Warren ve ark. 1998, Ahamed ve Siddiqui 2007, Çaylak ve Halifeoğlu 2007). İn vivo kurşunla uyarılan lipid peroksidasyonu MDA gibi aldehit yapıdaki son ürünlerin oluşumu ile sonuçlanmaktadır.

Lipid peroksidasyonunun artışı iki mekanizma ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. İlk olarak, kurşunun peroksidatif aktivitesi deltaaminolevülinik asidin (ALA) uyardığı ROS'ların etkisine bağlanmıştır. Kurşunun hem sentezinde yer alan delta-aminolevülinik asit dehidrataz (ALAD) enzimin aktivitesini önleyerek, peroksidatif aktiviteyi ve ROS üretimini arttırdığı yaygın olarak bilinmektedir (Ribarov ve Benov 1981, Çaylak ve Halifeoğlu 2007). İkinci olarak ise, indirekt aktivite ile kurşun hücre membranlarının komponentlerine bağlanarak, hücrelerin ROS duyarlılığını ya da antioksidan savunma sistemini değiştirebilmektedir (Lawton ve Donaldson 1991).

Kurşun toksisitesinin antioksidan savunma sistemleri üzerine etkilerini belirlemek ve bundan kaynaklanan negatif etkileri azaltmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Nitekim, Erdoğan ve ark.(2004) broylerler üzerinde yaptıkları çalışmada kurşun toksisitesini gidermek amacıyla askorbik asit kullanmışlardır. Kontrol, askorbik asit, kurşun ve kurşun + askorbik asit'ten oluşan bu çalışma gruplarında plazma MDA düzeyi sırasıyla 4.95, 5.79, 26.05 ve 8.81 IU/l olarak belirlenmiş, kurşunla verilen askorbik asitin plazma MDA düzeyini önemli oranda düşürdüğü bildirilmiştir (P<0.001). Patra ve ark.(2001), ratlara 4 hafta boyunca 1 mg/kg periton içi kurşun asetat verdiklerinde karaciğer ve beyin MDA seviyelerinde önemli; böbrekte ise hafif bir yükselmeye neden olduğunu tespit

etmişlerdir. Beşinci haftada ise hiçbir uygulama yapmadıkları ratlara verdikleri askorbik asit ve alfa tokoferole bağlı olarak karaciğer ve beyin dokularındaki MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli düşme; böbrek dokularında ise kurşun grubuna göre önemli düşme tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada verdikleri metiyonin ise karaciğer ve beyin MDA seviyelerinde önemli düşme; böbrek ve beyinde ise hafif derecede düşmeye neden olduğunu bildirmişlerdir.

Önemli antioksidan savunma sistemlerinden olan CAT ve GPx, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya dönüştürerek hücreleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in zararlı etkilerinden korumaktadırlar. Bu konuyla ilgili ratlarda yapılan bir çalışmada (Çaylak ve Halifeoğlu 2007) beş hafta boyunca tek başına kurşun verilen grubun böbrek ve beyindeki MDA düzeyleri kontrol grubu değerlerinden önemli oranda yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada glutasyon sentezini arttırıp, hücre içi ROS yakalanmasını sağlayarak ve kurşuna karşı şelatör özelliğe sahip N-asetilsistein (NAC) kullanılarak kurşuna bağlı oksidatif stresi önlemek amaçlanmıştır. Kurşunla birlikte NAC verilmesi karaciğer ve böbrek dokularına ait MDA seviyelerinin kurşun grubunun değerlerinden daha düşük çıkmasına neden olmuştur (P<0.05). Aynı çalışmada kontrol grubuna göre böbrek CAT aktivitesi kurşun grubunda önemli düzeyde yüksek (P<0.01); diğer dokularda ise yükseltme eğilimi göstermiştir. Diğer taraftan, kurşunla birlikte NAC verilen gruba ait böbrek CAT aktiviteleri ise kurşun grubuna göre önemli oranda düşük olarak tespit edilmiştir (P<0.05).

Patra ve ark.(2001) ise kurşun maruziyetine karşı antioksidan olarak vitamin C kullanmışlar ve vitamin C'nin karaciğer ve beyin dokularında CAT aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli oranda yükselme; böbrek dokularında ise kurşun grubuna göre önemli oranda yükselme tespit etmişlerdir. CAT aktivitelerinin yükselmesi hücrelerde kurşun tarafından üretilen ROS'lar nedeniyle, CAT aktivitelerinin düşmesi ise kurşunun bağırsaklardan demir emilimini azaltması veya hemosentezi önlemesi nedeniyle gerçekleştiği şeklinde açıklanmıştır (Patra ve ark. 2001, Çaylak ve Halifeoğlu 2007).

## **2.5. Kurşunun Toksik Etkilerinin Giderilmesinde Besin Madde Katkıları**

Beslenme, kurşunun metabolizma üzerine zararlı etkilerinin giderilmesinde en önemli etkenlerden biridir. Dengeli beslenme, kurşuna maruz kalmaktan kaynaklanan riskleri azaltmada anahtar rol oynayabilmektedir. Bu anlamda, ilave bazı besin maddeleri de kurşunun emilimini, taşınmasını, depolanmasını ve aktivasyonunu azaltarak zehirli etkilerini azaltmaktadırlar. Özellikle antioksidan özelliğe sahip katkıları, kurşun zehirlenmesinde meydana gelen ROS üretimini ve dolayısıyla lipid peroksidasyon oluşumunu önleyerek meydana gelen zararları önleyebilir ya da azaltabilirler. Hayvan denemelerinde kalsiyum, çinko, demir, selenyum, vitamin C ve diğer bazı vitaminlerin özellikle kurşunun toksik etkisini önlediği bildirilmiştir (Miller ve ark. 1990, Patra ve ark. 2001, Pande ve Flora 2002). Bu katkılardan özellikle vitamin C'nin, yüksek miktarlarda kullanımının kuvvetli bir antioksidan etki oluşturduğu (Dormandy 1978) ve kurşun zehirlenmesinde güçlü antioksidan özelliği ile etkili olduğu bildirilmektedir. Son zamanlarda yem katkı maddesi olarak kullanılan güçlü antioksidan özelliğe sahip bir başka ürün ise propolis'tir (Tatli Seven 2008).

### **2.5.1. Propolis**

Propolis çam, meşe, huş, okaliptüs, kavak ve kestane gibi ağaçlar ile bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından arılar tarafından toplanıp, mumla karıştırılarak kovan içerisinde bir çok amaca yönelik olarak kullanılan yapışkan, reçinemsiz kokulu ve koyu sarıdan kahverengiye kadar değişen renklerde bir balsamdır (Tutkun 2000, Valle 2000, Gençay ve Sorkun 2002a, Kumova ve ark. 2002, Orsolice ve ark. 2002). Arı bu balsamı, polen ve başı ile thoraksı arasında bulunan bezlerden salgılamış olduğu aktif enzimlerle karıştırmaktadır (Gençay ve Sorkun 2002a). Bal arılarının depoladığı propolis, bazı bitkilerin yapışkan salgıları olan zamk, sakız, lipofilik maddeler olabileceği gibi reçine, bitki ve ağaçların öz suyu olan sızıntılar da olabilmektedir (Crane 1991). Geleneksel hekimlikte yaygın olarak kullanılan ve Hipokrat, Herodot, Aristo ve diğer antik dönem bilginlerince övgü ile söz edilen propolis, çok eski çağlardan bu yana insanlar tarafından ya çeşitli hastalıkların tedavisinde ya da

etkilerinin azaltılmasında kullanılmıştır (Stangaciu ve Stangaciu 2001, Kumova ve ark. 2002). İlk kez Yunanlılar tarafından keşfedilip doğal bir antibiyotik olarak kullanılan (Kumova ve ark. 2002) propolis, pro (ilk yada savunma) ve polis (şehir) kelimelerinden türetilmiştir (Ghisalberti 1979, Fearnley 1998, Valle 2000, Tutkun 2002, Kumova ve ark. 2002). Mısırlıların bazı hastalıkların tedavi edilmesi ve ölümlerin mumyalanmasında propolisi kullandıkları; Yunanlılar ve Romalıların da propolisin deri apselerini iyileştirdiğine inandıkları ve bu amaçla yüzyıllarca ilaç olarak kullandıkları bildirilmektedir (Houghton 1998, Gençay ve Sorkun 2002a). Propolisin ayrıca ahşap koruma ve vernikleme veya cilalamada kullanıldığı (Ghisalberti 1979, Gençay ve Sorkun 2002b), cilalanmasında propolis kullanılan kemanların 400 yıldan fazla sağlam kalarak günümüze kadar ulaştığı ifade edilmektedir (Gençay ve Sorkun 2002b).

Geleneksel bal üretiminde, arıların çalışma koşullarını ve bal hasadını zorlaştırması ve petekli balın pazar değerini düşürmesi gibi nedenlerle, arıların kolonilerinde propolis toplama eğiliminin yüksek olmasını istemezler (Karacaoğlu 1997, Kumova ve ark. 2002). Oysa günümüzde propolis, dünya ticaretinde ve marketlerde düzenli olarak alınıp satılan bir ürün haline gelmiştir (Karacaoğlu 1997). Başlıca üretici ülkeler, başta Çin olmak üzere Arjantin, Uruguay, Şili, Brezilya, Kanada ve bazı Doğu Avrupa ülkeleridir (Karacaoğlu 1997, Gençay ve Sorkun 2002b). Japonya, Brezilya ve Çin'den fazla miktarlarda propolis ithal etmektedir. Propolis talebi ve tüketimi Avrupa ülkelerinde de hızla artmaktadır (Wongsiri ve ark. 2000, Kutluca 2003). Günümüzde bu değerli arı ürünü antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri yanında yangı giderici, antiülser, lokal anestezi, antitümör ve bağışıklık uyarıcı gibi çok sayıda yararlı biyolojik aktivite göstermekte olup, son 3000 yıldır doğal ilaç olarak kullanılmaktadır (Kutluca 2003).

Propolisin yapısı ve özellikleri ile ilgili çalışmalar 20. yüzyılın başlarında başlamıştır. Bu dönemde yapılan birkaç çalışmada propolisin kaynağının kavak olduğu tespit edilmiştir. Son otuz yılda propolis ve içeriğine olan ilgi artmış; yapısı, farmakolojik özellikleri ve ticari değeri konusundaki araştırmalar devam etmiştir. 1900'lü yıllarda propolisin kaynağı üzerinde çalışmalar yapılmış ve propolisin dallardan, yapraklardan ve huş ağacı, diş budak, karaağaç ve balsam

ağaçlarının tomurcuklarından elde edildiği ve bileşiminin bitki kaynağına bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir. 1926'da propolisten krizin izole edilmiş, daha sonra 1927'den itibaren de propolisin kaynağı hakkında çalışmalar yapılmış ve propoliste bulunan balmumunun kaynağının bitkisel mum olduğunu bildirilmiştir (Ghisalberti 1979).

Propolis 10 °C'nin altında sert ve kırılğan, 15–25 °C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermekte, 30–40 °C'de yumuşayıp yapışkan bir durum almakta ve bu durumda özellikle yaz aylarında arıcıların çalışmasını güçleştirmekte, 80 °C'de kısmen erimektedir. Kovandan alındığı zaman yapışkan ve kendine özgü bir kokusu vardır. Derin dondurucuya konulduğunda hemen katılaşmaktadır (Ghisalberti 1979, Schmidt and Buchmann 1992, Maran 1997, Houghton 1998, Woisky and Salatino 1998, Kumova ve ark. 2002).

Propolisi kimyasal bileşiklerine ayırmak oldukça güçtür. Ancak son yıllarda Yüksek Performanslı Sıvı kromatografisi (HPLC), Kütle Spektrometesi ve Gaz Kromatografisi (MS-GC) teknikleri kullanılarak propolis içerisinde çok az miktarda bulunan ve organik çözücülerde çözünen 149 bileşik ve 20 iz element tespit edilmiştir. Ayrıca propolisin büyük kısmını oluşturan reçine, polen ve suda veya organik çözücülerde çözünmeyen balmumu gibi kısımların varlığı da tespit edilmiştir (Schmidt ve Buchmann 1992, Karacaoğlu 1997, Fearnley 1998, Bankova ve Marcucci 2000). Son 15 yıldır tıpta ve diğer alanlarda bilim adamları tarafından propolisle ilgili çok değerli çalışmalar yapılmaktadır (Fearnley 1998, Bankova ve Marcucci 2000).

Son yıllarda bitkisel ve hayvansal üretim dallarında organik ürünlere olan talep artışıyla birlikte, amaca yönelik üretim yapmayı sağlamak maksadıyla bazı kimyasalların kullanımının sınırlandırılması ya da tamamen kaldırılması gündeme gelmiştir. Günümüz üretim sistemlerinin neredeyse vazgeçilmezi haline gelen bu kimyasallar hayvansal üretimde yem katkı maddeleri olarak belirli oranlarda rasyonlara katılmaktadır. Rasyonlarda kullanılması zorunlu hale gelmiş olan yem katkı maddeleri mevcut üretim sistemi içerisinde vazgeçilemeyecek derecede önem arz etmektedir (Seven ve ark. 2007).

Rasyona katılması zaruri olan bu yem katkı maddelerinden vazgeçilememesi, bunların birinci kaynaktan doğal olarak nasıl ve hangi şekilde

elde edilebileceği konusunda bilim adamlarını yeni araştırmalar yapmaya sevk etmiştir. İşte bu amaç doğrultusunda son yıllarda sektörün ihtiyaç duyduğu hammadde gereksiniminin organik yollarla elde edilmesi yönündeki araştırmaların birleştiği ürünlerden biri propolistir. Çünkü propolisin toksik olmayan alternatif bir madde olarak kullanılması tüketiciler tarafından güvenle karşılanmaktadır (Ghisalberti 1979, Crane 1990). Propolisin herhangi bir yan etkisi bulunmamakla birlikte bazı kişilerde hafif alerjik reaksiyona neden olabilmektedir. Japonya ve Çin gibi uzakdoğu ülkelerinde propolisin bu yüzyılda keşfedilen "en mükemmel doğal ilaç olduğu" ileri sürülmektedir.

Propolisin tıbbi açıdan önemli bileşenleri, alkol gibi çözücülerde çözünen bileşenlerdir. Bu bileşenler, propolisin kaynağına göre değişebilmektedir (Schmidt ve Buchmann 1992, Ötleş 1995, Gençay ve Sorkun 2002a). Propolis örneklerinden tanımlanan bileşik sayıları ile propolisin yapısına giren maddeler ve miktarları Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2’de görülmektedir.

**Çizelge 2.1.**Propolis örneklerinden belirlenen bileşik grupları (Crane 1990).

<b>Gruplar</b>	<b>Tanımlanan bileşik sayısı (adet)</b>
Flavanoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavanonlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik asit ve türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit türevleri	2
Sinamol alkol, sinamik asit ve türevleri	14
Diğer asit ve türevleri	8
Alkoller, ketonlar, fenoller ve heteroaromatik bileşikler	12
Terpen ve sekuterpen alkoller ve türevleri	7
Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar	11
Alifatik hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Steroller ve steroid hidrokarbonlar	6
Şekerler	7
Aminoasitler	24

**Çizelge 2.2.**Propolisin yapısındaki madde ve miktarları (Özkök ve Sorkun 2001).

Kısımlar	Oran (%)
Balsam ve reçine	50-70
Bitkisel mumlar	30-50
Esansiyel yağlar	10
Polen	5
Organik bileşikler ve mineraller	5

### **2.5.1.1. Propolisteki Bazı Bileşiklerin Bilinen Farmakolojik Aktiviteleri**

Acasetin: Ateş düşürücü ve antibakteriyel,  
Apigenin: Gastrik ülserin iyileştirilmesi,  
Artepin C.: Antitümoral ve antileukemik etki,  
Benzoik asit: Bakteriostatik, bakterisit, balzamik ve antiseptik etki,  
Bisabolol: Ateş düşürücü,  
Sinamik asit: Antistafilokokus aureus,  
Diterpenoid: Antitümoral ve antibakteriyel aktivite,  
Ermanin: Antimikotik,  
Ferulik acid: Antibakteriyel, aglutinant ve kollajenik etki,  
Flavan-3-ols: Kılcal damarların güçlendirilmesi,  
3',4'-dihidroksiflavanoidler: Kılcal damarların güçlendirilmesi,  
İzoferulik asit: Antistaphylococcus aureus,  
Kaemferol-7,4'-dimetil eter: Antimikotik,  
Kaemferit: Spazmolitik, antimikobakterium phlei ve mikroorganizmalara asit direncine karşı,  
Krizin: Tümör hücrel toksisite ve antihelicobacter pylori,  
Metil kafeat: Tümör sitotoksitesi veya inhibisyonu,  
3-metil-but-2-enil kafeat: Antiviral aktivite,  
Kuarsetin: Antiviral, antihistaminik, kılcal damarların güçlendirilmesi, antitümoral, spazmolitik ve yara iyileştirici aktivite,  
Pektolinarinenin: Spazmolitik,  
Prenil kafeat: Gizli kontak allerjen,  
Uçucu Bileşikler (eterik yağlar): Antimikrobiyal aktivite (Seven ve ark. 2007).



Flavanoidler: Antimikrobiyal (Ghisalberti 1979), antifungal (Bankova ve Marcucci 2000), ateş düşürücü, antioksidan, kılcal damar geçirgenliğini azaltma ve antihemorajik aktivite (Seven ve ark. 2007).

Galangin: Antibakteriyel (Walker ve Crane 1987), antimikrobiyal, antimikotik (Metzner ve ark. 1979) ve antihelikobakter plorik aktivite (Seven ve ark. 2007).

Kafeik asit: Bazı gram-pozitif ve gram-negatif mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel aktivite, antiviral, (Walker ve Crane 1987), antifungal ve ateş düşürücü etki (Seven ve ark. 2007).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE): Antioksidan, antitümoral aktivite (Gençay ve Sorkun 2002a).

Luteolin: Antiviral (Walker ve Crane 1987) ve gastrik ülserin iyileştirilmesi (Seven ve ark. 2007).

Pterostilben: Antibakteriyel etki (Walker ve Crane 1987).

Sakuraretin: Antibakteriyel etki (Walker ve Crane 1987).

### **2.5.1.2. Propolisin Ekstraksiyon Yöntemleri**

Kovandan alınan ham propolisin saflaştırılarak kullanılması gerekir. Propolis suda az çözünür. Ham propolisin en pratik çözücüsü % 96'lık etanoldur. Ancak % 95'lik alkolde de büyük ölçüde çözünür. Tıbbi amaçlı kullanımlarda % 70'lik etanolda erimiş çözelti kullanılırken, kimyasal analiz amaçlı çözücü için % 99'luk etanol gerekmektedir (Gençay ve Sorkun 2002a).

Propolisin bilinen ekstraksiyon yöntemleri aşağıda maddeler halinde sunulmuştur (Seven ve ark. 2007).

- 1- Propolisin etanolik ekstraksiyon (EEP) metodu,
- 2- Hızlı ekstraksiyon,
- 3- Propolisin glikol ile ekstraksiyonu,
- 4- Propolisin su ile ekstraksiyonu,
- 5- Propolisin yağ ile ekstraksiyonu,
- 6- Propolisin macun kıvamındaki ekstraksiyonu,
- 7- Propolisin kuru ekstraksiyonu,
- 8- Suda çözünebilir, kurutulmuş toz halindeki etanol ekstraksiyonu,

9- Akışkan ve higroskopik olmayan toz halindeki propolis.

Yukarıda bildirilen yöntemlerden en basit ve sık kullanılan etanol ile yapılan ekstraksiyon metodudur.

## **2.6. Oksidatif Stres ve Vitamin C**

Vitamin C'nin lipit peroksidasyonuna karşı bifazik etkisi söz konusudur. Düşük yoğunluktaki vitamin C'nin zar sistemi fosfolipitlerinde mevcut poliansatüre yağ asitlerini peroksidasyona davet eder. Ancak yüksek yoğunluktaki vitamin C kuvvetli bir antioksidan etkiye sahiptir (Dormandy 1978). Bu özelliğinden dolayı stres altındaki kanatlılar üzerinde yapılan çalışmalarda stresi azaltıcı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Mahmoud ve ark. 2004, Erdoğan ve ark. 2005, Tatlı Seven. 2006, Tatlı Seven ve ark 2006). Vitamin C çok hızlı elektron transferi yaparak lipit peroksidasyonu inhibe eder (Halliwell ve Gutteridge 1989). Kurşun verilen ratlarda vitamin C'nin karaciğer ve beyinde lipit peroksidasyonu inhibe ettiği, böbrekte ise CAT aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Patra ve ark. 2001). Ratlarda yapılan farklı bir çalışmada, içme suyuna 500 mg/L vitamin C katkısının kurşundan kaynaklanan serbest radikal oluşumunu % 40 oranında azalttığı bildirilmiştir (Hsu ve ark. 1998). Vitamin C'nin kurşuna maruz kalan ratlarda kan kurşun düzeyini düşürücü etkisi olduğu ve kurşunun toksik etkisini önlediği bildirilmektedir (Vij ve ark. 1998). Ayrıca vitamin C'nin kurşunun şelatörü olarak hareket edebileceği belirtilmektedir (Goyer ve Cherion 1979). Ratlarda yapılan diğer bir çalışmada ise kurşunun idrar atımını arttırdığı, hepatik ve renal yükü hafiflettiği vurgulanmıştır (Dhawan ve ark. 1988). Ancak diğer taraftan bazı çalışmalarda vitamin C katkısının kandaki kurşun düzeyini önemli oranda düşürmediği ve karaciğer, böbrek, beyin ve kanda kurşun birikimini azaltmadığı bildirilmektedir (Lauwerys ve ark. 1983, Patra ve ark. 2001). Vitamin C'nin önceki çalışma sonuçlarına göre kurşun emilimini ve atımını biyolojik olarak etkilediği açıktır, ancak bu etki özellikle vitamin C ilavesini yüksek ve düşük düzeyde kurşuna maruz kalma durumlarında çok daha etkili olduğu görülmektedir (Ahamed ve Siddiqui 2007). Ayrıca vitamin C, vitamin E'nin kurşun toksitesi üzerine lipit peroksidasyonunu azaltıcı etkisini arttırarak dolaylı bir etki yapabilmektedir. Nitekim vitamin C okside olmuş vitamin E'yi tekrar

kullanılabilir bir hale getirerek (Frei 1991) tokoferol radikalini tamir eder ve böylece vitamin E'nin antioksidan kapasitesinin artmasını sağlamaktadır (Buettner 1993).

İçme suyuna % 0.1 oranında kurşun asetat katılan ve antioksidan olarak vitamin C'nin kullanıldığı bir çalışmada (Flora ve ark. 2003), kanda GSH düzeyi kontrol ve kurşun grubunda sırasıyla 3.56 ve 2.57 olarak bulunmuştur. Karaciğer GSH düzeyi ise gruplarda sırasıyla 4.59 ve 2.27 olarak bulunmuş, vitamin C'nin kurşun kaynaklı oksidatif stresi düşürdüğü bildirilmiştir.

## **2.7. Oksidatif Stres ve Propolis**

### **2.7.1. Propolis Besi Performansı ve Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri**

Propolisin birçok olumlu özellikleriyle birlikte, özellikle antioksidan etkisi kanatlılar üzerinde yapılacak olan yeni çalışmaların planlanmasına neden olmuştur. Nitekim kanatlılarda ağır metal, sıcaklık, patolojik ve beslenme bozuklukları gibi stres durumları genellikle performanslarında bozulmaya neden olmaktadır. Stres, ticari kanatlıların performansını en çok etkileyen durumların başında gelmektedir. Bu nedenle, stresin etkilerini azaltmada yem katkılarının rolü dikkat çekici olmuştur. Propolisin yapısında antioksidan etkili flavanoidlerin lipit peroksidasyonunu önlediği bildirilmektedir. Yemle alınan flavanoidler mide bağırsak kanalından emilir. Bağırsakta bakteriyel enzimler tarafından aglikondan glikositlerin serbest bırakılması sonunda yaklaşık % 15 aglikon epitel hücreler içine safra miselleriyle absorbe edilir ve lenfe geçirilirler. Lenfle taşınan flavanoidler karaciğere yakın portal kana girerler ve muhtemelen % 80'i ilk seferde absorbe edilir. Flavanoidlerin bir kısmı serum albumine bağlanır. Geri kalan kısım ise antioksidatif etki için tutulur. Flavanoidler, iz elementlerle veya radikallerle şelat yaparak antioksidan özellik göstermektedirler (Prytyk ve ark. 2003, Wang ve ark. 2003), ayrıca doymamış yağ asitlerini hücre membranında oksidanlara karşı askorbat gibi korudukları bildirilmiştir (Havsteen 2002). Kafeik asit fenetil ester (CAPE) propolisin ana bileşenlerinden biridir. CAPE, ROS üretimini bloklamaktadır (Hoşnuter ve ark. 2004).

Sun ve ark.(2000), propolisin ratlarda vitamin C ve E ile interaksyonu ve antioksidatif aktivitesini in vivo olarak incelemişlerdir. Ratlarda E vitamini yetersizliği yapılarak oksidatif stres oluşturulmuş ve propolisin iyileştirici etkisi in vivo olarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve propolis grubuna vitamin E'den yetersiz rasyon yedirilmiştir. Deneme grubunun rasyonuna % 1'lik propolis katılmıştır. Dokularda 4 ve 8 hafta sonunda vitamin E yoğunlukları arasında önemli bir fark çıkmamış, 4 hafta sonunda propolis grubunun plazma vitamin C yoğunluğu kontrol grubundan önemli oranda yüksek bulunmuş, 8 hafta sonunda yine vitamin C'nin doku yoğunluğu incelenmiş ve böbrek, mide, ince barsak ve kalın bağırsakta propolis grubunun vitamin C yoğunluğu kontrol grubundan önemli oranda daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, propolisin bazı bileşenlerinin kan dolaşımına geçtiğini ve bir antioksidan olarak hareket ederek vitamin C'den tasarruf edildiğini ortaya çıkarmıştır. Yine 8 hafta sonunda propolis grubunda kalın bağırsakta lipit hidro peroksidasyon yoğunluğu önemli oranda düşmüştür.

Propolisin temel aktif bileşiklerinden olan CAPE'nin ısı ile yanık oluşturulan ratların plazmasındaki lipit peroksidasyon ve nitrik oksit düzeyleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Hoşnuter ve ark. 2004), CAPE eklenen grubun SOD aktivitesinin tüketilmesini önlediği, ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ettiği, MDA ve nitrik oksit düzeyini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçlarından yola çıkarak insanlarda oluşan şiddetli yanıklarda CAPE'nin faydalı olabileceği tavsiye edilmiştir.

Propolisin antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal etkileri gıda teknolojisinde de kullanım alanı sağlamaktadır (Gençay ve Sorkun 2002b). Yapılan bir çalışmada (Han ve Park 1995), yağ ilave edilmiş et ürünlerinin 8 haftalık muhafaza periyodu esnasında % 0.02 ve % 0.4'lük EEP ve % 0.28 potasyum sorbat (PS) uygulanmış, % 0.4 EEP ile muamele edilen et ürünlerinin muhafaza süresinin, % 0.28 PS ile muamele edilenlerden daha uzun olduğu tespit edilerek propolisin et ürünlerinde koruyucu bir madde olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca propolisin donmuş haldeki balığın muhafazasında depo ömrünü 2-3 kat artırdığı, ızgaralık piliçlerin yemlerine propolis eklenerek % 20 oranında canlı ağırlık artışı sağlandığı belirtilmiştir (Gençay ve Sorkun 2002b).

Yem katkı maddesi olarak kullanılan propolisle ilgili yapılan çalışmaların bir çoğunda yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine yapısındaki flavanoid içeriği, lezzet arttırıcı olması ve antioksidan, antimikrobiyel gibi bir çok faydalı özelliğinden kaynaklanan olumlu etkiler rapor edilmiştir (Şahin ve ark. 2003, Denli ve ark. 2005, Tatli Seven ve ark. 2008a, Tatli Seven 2008). Nitekim propolisin Japon bildircinlarında besi performansı ve kesim özelliklerine etkileri üzerine yapılan bir çalışmada (Şahin ve ark. 2003), 132 karışık cinsiyetli bildircin civcivleri hayvan materyali olarak kullanılmış ve biri kontrol olmak üzere toplam üç grup oluşturulmuştur. Deneme gruplarının konsantre yemlerine % 5'lik EEP'den sırasıyla 6 ml ve 12 ml katılmıştır. Bu çalışmada propolis katkısının karkas randımanını arttırmak dışında büyüme performansı, yem tüketimi ve kesim özelliklerine önemli bir etkisinin olmadığı, istatistiki olmamakla birlikte ölüm oranında % 50'lik düşüş olduğu tespit edilmiştir.

Denli ve ark.(2005)'nın bildircinlar üzerinde yaptığı bir çalışmada Türkiye kökenli propolis ile flavomisinin büyüme performansı, karkas özellikleri, iç organ ağırlıkları ve bazı serum değişiklikleri üzerine etkisini incelenmişlerdir. Söz konusu çalışma 5 gruptan oluşmuştur. Gruplar sırasıyla rasyonuna antibiyotik eklenmeyen kontrol grubu, flavomisin (10 mg/kg) eklenen antibiyotik grubu ve rasyona 0.5, 1.0, 1.5 g/kg düzeylerinde propolis eklenen gruplarından oluşturulmuştur. Kontrol ve diğer deneme gruplarıyla karşılaştırma yapıldığında, propolis düzeyinin 1 g/kg olduğu grubun yemden yararlanma bulguları diğer gruplardan önemli oranda iyi bulunmuş ( $P<0.01$ ), karkas özellikleri ve iç organ ağırlıkları yönünden istatistiki olarak bir fark çıkmadığı bildirilmiştir. Serum alkalın fosfataz (ALP), total protein, ürik asit, kolesterol ve trigliserit düzeylerinin katkılardan etkilenmediği bildirilirken, propolis ve flavomisin katkısının istatistiki olmasa bile serum HDL düzeyini kontrol grubuna göre yükselttiği belirlenmiştir. Sonuçta propolis ve flavomisinin büyüme periyodu süresince benzer etkiler gösterdiği ve bu nedenle doğal bir antibiyotik olarak yemlere katılabileceği bildirilmiştir.

Yüksek sıcaklığa maruz bırakılan etçi piliçlerde oluşan oksidatif strese karşı, propolis ve vitamin C'nin kullanıldığı bir çalışmada (Tatli Seven ve ark.

2008a) performans parametreleri ve karkas özellikleri incelenmiş ve söz konusu çalışmada 3 propolis dozu kullanılmıştır (Rasyona 0.5, 1 ve 3 g/kg propolis). Performans ve bazı karkas özellikleri üzerine propolis ve vitamin C kullanılan grupların stres grubuna oranla istatistiki olarak önemli oranda pozitif etkiler gösterdiği bulunmuştur. Etçi piliçlerin performans ve karkas özellikleri üzerine 0.5 g/kg rasyon propolis kullanılan grubun diğer iki dozun kullanıldığı gruplardan daha az etkili olduğu bildirilmiştir. Özellikle rasyona 3 g/kg kullanılan propolis grubunun performans parametreleri (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem tüketimi) vitamin C kullanılan gruptan daha etkili olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada karkas verimi ve göğüs oranının stres grubuna göre propolis kullanılan grupta önemli oranda yüksek olduğu görülmüştür.

Yine propolisin ve vitamin C'nin oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili olarak yumurtacı tavuklarda yapılan bir çalışmada (Tatli Seven 2008), performans parametreleri incelenmiş ve rasyona propolis ve vitamin C katkısının stres grubuna kıyasla yem tüketimini, yemden yararlanmayı ve yumurta ağırlığını önemli oranda arttırdığı bildirilmiştir ( $P<0.05$ ). Yine aynı çalışmada mortalite oranı stres grubunda önemli oranda yüksek bulunurken; kuru madde, organik madde, ham protein ve ham yağ sindirimleri stres grubuna kıyasla vitamin C ve propolis katkılı grupta önemli oranda yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Hayvan

Denemenin hayvan materyalini bir günlük yaşta toplam 360 adet Ross-308 etlik civciv oluşturdu. Deneme, hayvanlar 3 günlük yaşta başladı ve Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etlik Piliç Ünitesinde yürütüldü.

##### 3.1.2. Yem

Deneme’de hayvanların beslenmesi için NRC (NRC, 1994) standartlarında belirtilen normlara göre mısır ve soya küspesine dayalı bir karma yem hazırlandı. Karma yemler enerji ve protein içeriğindeki değişikliklere göre 3-21. günler arasında etlik civciv (3138 kcal/kg ME, % 22.6 HP, % 0.9 Ca ve % 0.7 P), 22-42. günlerde etlik piliç bitirme yemi şeklinde hazırlandı (3177 kcal/kg ME, % 19.8 HP, % 0.9 Ca ve % 0.6 P) (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Kullanılan rasyonların % bileşimleri ve besin madde içerikleri.

YEM BİLEŞENLERİ	BAŞLANGIÇ (3-21. Günler)	BITİRME (22-42. Günler)
Mısır	55.71	61.21
Soya Fasulyesi Küspesi (% 44)	29.00	27.00
Balık Unu (% 64)	7.60	4.00
Bitkisel Yağ	4.50	4.50
Kireç taşı	1.20	1.30
Dikalsiyum Fosfat	1.20	1.20
Vitamin-mineral premix <sup>1</sup>	0.35	0.35
DL-Metiyonin	0.19	0.19
Tuz	0.25	0.25
<b>BESİN MADDE İÇERİKLERİ</b>		
<b>Analiz sonuçları (%)</b>		
Kuru Madde (KM)	90.48	90,73
Ham Protein (HP)	22.6	19.8
Ham Kül (HK)	6.1	5.7
Ham Yağ (HY)	7.53	7,40
Kalsiyum	1.00	0.98
Toplam Fosfor	0.68	0.64
<b>Hesaplama sonuçları (%) <sup>2</sup></b>		
ME, kcal/kg	3138	3177
Ham Selüloz (HS)	3.03	3.00
Met.+sis.	0.94	0.85
Lizin	1.42	1.18

<sup>1</sup> : kg yemde vitamin ve mineral premiksi: vitamin A, 12.000 IU; kolekalsiferol, 1.500 IU; vitamin E, 30 mg; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 3 mg; vitamin B2, 6 mg; vitamin B6, 5 mg; vitamin B12, 30 µg; Ca-D- pantotenat, 10 mg; Folik asit, 0.75 mg; D-biotin, 0.08 mg; Mn, 80 mg; Zn, 60 mg; Fe, 40 mg; Cu, 5 mg; Se, 0.15 mg; Co, 0.1 mg; I, 0.4 mg.

<sup>2</sup> : NRC (1994)'e göre hesaplanmıştır.

### 3.1.3. Propolis

Propolis sonbahar ve yaz aylarında Elazığ ve çevre illerdeki arıcılardan toplanmış ve kullanım amacına yönelik olarak % 70'lik etanolik ekstraksiyonlu propolis (EEP)'e dönüştürülmüştür.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Deneme Düzeni

Araştırma, her birinde 90'ar adet 3 günlük yaşta etlik civciv (Ross-308) bulunan kontrol ve 3 deneme grubundan oluşturuldu. Civcivler ilk iki gün karışık olarak barındırıldı, 3. gün ferdi olarak canlı ağırlıkları belirlendi ve homojen ağırlık dağılımı sağlanarak, herbiri 6 tekerrürden oluşan 4 gruba ayrıldı. Her grupta 90, her tekrar grubunda ise 15 civciv yer aldı. Civcivler kafeslere 15 civciv/2 m<sup>2</sup> sıklığına göre yerleştirildi. Altlık olarak 10-12 cm kalınlığında buğday samanı kullanıldı. Deneme grupları aşağıdaki belirtildiği şekilde oluşturuldu (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2.** Deneme grupları

Deneme Grupları	Uygulama
Grup I (Kontrol)	Katkısız
Grup II	500 ppm Vit. C (L-askorbik asit) + 200 ppm Pb (kurşun asetat)
Grup III	1000 ppm EEP + 200 ppm Pb (kurşun asetat)
Grup IV	200 ppm Pb (kurşun asetat)

### 3.2.2. Işıklandırma

Denemede tüm gruplara ilk 2 gün sürekli aydınlık, daha sonrasında araştırma süresince 23 saat aydınlık 1 saat karanlık olacak şekilde ışıklandırma programı uygulandı.

### 3.2.3. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranlarının Belirlenmesi

Alt grupların yem tüketimleri tartılarak verilmiş ve her grubun ortalama yem tüketimi (YT) 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerde verilen yemlerden artan yemler çıkarılarak hesaplandı. Gruplarda 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerde



belirlenen yem tüketim miktarlarının aynı günlerde belirlenen canlı ağırlık artışı (CAA) değerlerine bölünmesiyle yemden yararlanma oranları (YYO) belirlendi.

Hayvanlara yem ve su araştırma süresince askılı tip yemlik ve suluklarla ad libitum olarak verilmiştir.

#### **3.2.4. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışlarının Belirlenmesi**

Hayvanların canlı ağırlıkları 3. günde belirlendi ve alt grupların ortalama canlı ağırlıkları eşit olacak şekilde ayrıldı. Denemenin 3., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde 1 gr'a hassas terazide tartımları yapılarak canlı ağırlıkları ve aynı günlerdeki canlı ağırlık artışları tespit edildi.

#### **3.2.5. Ölüm Oranının Belirlenmesi**

Tüm gruplar her gün kontrol edilmiş ve gruplardaki ölen hayvanların sayısı ve tarihi kaydedilerek deneme süresince ölüm oranları belirlendi.

#### **3.2.6. Besin Maddelerinin Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi**

Sindirilme derecelerinin tespiti indikatör metodu kullanılarak belirlendi (Petry ve Rapp, 1971). Bu amaçla metabolizma kafesleri (20 cm x 40 cm) kullanıldı. Her alt gruptan tesadüfi olarak 1 hayvan seçilerek, her grupta 6 ve toplamda 24 hayvan sindirim denemesi için 12 adet metabolizma kafeslerine her kafeste 2 hayvan olacak şekilde yerleştirildi. Grup yemlerine kromoksit ( $Cr_2O_3$ ) katkısı (% 0.25) yapıldı ve ilk günkü dışkıları atılarak daha sonraki 4 gün her gruptan dışkıları ayrı ayrı toplanıp dışkıdaki kromoksit yoğunluğuna göre yemlerin kuru madde, organik madde, ham kül, ham protein ve ham yağ sindirilme dereceleri belirlendi.

#### **3.2.7. Analitik İşlemler**

##### **3.2.7.1. Propolisin Etanolik Ekstraksiyonu (EEP)**

Toplanan propolisin etanolik ekstraksiyonu için aşağıdaki metot kullanıldı. Buna göre; propolisler bir derin dondurucuda bekletildikten sonra bir öğütücü ile küçük parçacıklara ayrıldı. Daha sonra öğütülmüş bu propolisten 1 birim alınarak (100 gr) 9 birim (900 gr) % 70'lik etil alkol ile karıştırıldı (% 10'luk etanolik

ekstraksiyonu için). Bu karışım karanlık bir yerde bir hafta boyunca bekletildi. Bir haftalık süre boyunca her gün sabah, öğlen ve akşam olmak üzere günde 3 defa karıştırıldı. Karışım bir haftanın sonunda filtre kağıdı ile süzüldü. Elde edilen karışım oda sıcaklığında ağzı açık olarak bekletilerek fazla alkolün uçması sağlandı. Daha sonra elde edilen propolis ekstresi evapore edildi ve katkı maddesi olarak kullanılabilir duruma getirildi (Blonska ve ark., 2004).

### 3.2.7.2. Etanolik Ekstraksiyonlu Propolisin Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi

Evapore edilen propolisin kimyasal bileşimi Gaz Kromatografi–Kütle Dedektörü kullanılarak belirlendi (Agilent GC 6890 ve Mass Dedektör Agilent MSD 5973). Denemede kullanılan propolisin kimyasal bileşimi Çizelge 3.3’de sunulmuştur.

**Çizelge 3.3.** Etanolik ekstraksiyonlu propolisin kimyasal kompozisyonu.

Retensiyon zamanı (dakika)	Bileşikler	% Toplam iyon akışı
<b><i>Flavanoidler</i></b>		
52.49	Krizin	5.33
53.67	Acasetin	3.02
51.66	Naringenin	2.67
<b><i>Alifatik asitler</i></b>		
55.49	Dekanoik asit	0.28
46.93	Oktadekanoik asit	0.39
21.00	Tetradekanoik asit	0.40
51.22	Undekanoik asit	0.79
7.18	Butenadioik asit	0.77
<b><i>Aromatik asitler</i></b>		
26.93	Ferulik asit	0.43
24.80	Sinamik asit	0.41
31.20	Palmitooleik asit	0.51
<b><i>Esterler</i></b>		
34.92	4,3 asetiloksikafeat	0.52
36.33	Kafeik asit	0.39
<b><i>Alkol, terpen ve kinonlar</i></b>		
11.43	l-propen, l-tiol	4.51
7.18	L siklohekzen l-metanol	4.64
28.93	Farnesol	20.64
14.97	Limonen dioksit	0.78
6.87	Gliserol	1.04
<b><i>Diğerleri</i></b>		
11.43	1H-siklopentafuran	3.17
53.43	3-Hekzen	1.61
56.46	Heptan	0.02
42.17	1,3 bis 5 propil benzen	0.55

### **3.2.7.3. Yem Örneklerinin Analizleri**

Yem örneklerindeki ham besin maddeleri AOAC (1995)'ye göre belirlendi.

### **3.2.7.4. Karkas Analizi**

Karkas için kan ve doku analizlerinde kullanılan hayvanlardan yararlanıldı ve kan alımından sonra karkas özelliklerine bakıldı. Baş, tüyler, bacaklar ve iç organlar (böbrek ve akciğer dışında) ayrıldıktan sonra geriye kalan kısım tartılarak sıcak karkas belirlendi. Soğuk karkas ise sıcak karkasın +4 °C'de 24 saat bekletildikten sonra tartılmasıyla belirlendi. Daha sonra T.S.E. parçalama tekniğine uygun olarak soğuk karkaslardan butlar (koksa ekleminden), göğüs (sterno kostalis ekleminden), kanatlar (humerus ekleminden) ve boyun+sırt kısmı ayrıldı (Anonim, 1997). Organlar deriyle birlikte tartıldı.

Sıcak ve soğuk karkas ağırlıkları canlı ağırlığa, göğüs, but, kanatlar ve abdominal yağ ağırlıkları ise soğuk karkas ağırlığına bölünerek oranları belirlendi.

### **3.2.7.5. Kan ve Doku Analizleri**

Araştırma gruplarından deneme sonunda her alt gruptan tesadüfi olarak 1 hayvan seçilerek her grupta 6 hayvan olmak üzere toplam 24 hayvan seçilerek ayrıldı ve kesilerek kan örnekleri alındı. Kesilen hayvanların karaciğer ve kalp dokularından örnekler alındı.

#### **3.2.7.5.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması**

Antikuagülanlı tüplere alınan kan örneklerinde GSH analizi için 1 ml ayrıldıktan sonra geriye kalan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek üstte kalan plazmalar ependorf tüplere alındı. Plazması ayrılan oksalatlı kan örnekleri serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırıldıktan sonra 1:100 oranında fosfat tamponu ile tekrar dilüe edilerek hemolizat elde edildi. Plazmalarda glikoz, albumin, total kolesterol, trigliserit, Serum Glütamik Oksalasetik Transaminaz (SGOT), Serum Glütamik Pirüvik Transaminaz (SGPT), Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein (HDL) ve Düşük

Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) ile lipit peroksidasyonu göstergesi olarak MDA seviyeleri; hemolizatlarda ise CAT ve SOD aktiviteleri belirlendi.

#### **3.2.7.5.2. Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Doku örnekleri 1 gram tartılarak süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra % 1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak kırılmış buz içerisinde homojenize edildi. Homojenat MDA, GSH, CAT aktivite tayini için 18.000 rpm'de +4 °C'de 30 dakika santrifüj edildi.

#### **3.2.7.6. Plazmada Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Analizi**

Plazmada glikoz, albumin, total kolesterol, trigliserit, SGOT, SGPT, HDL ve LDL analizleri biyokimyasal analizör Olympus AU-600 kullanılarak yapıldı.

##### **3.2.7.6.1. Lipit Peroksidasyon (MDA) Düzeyinin Tayini**

Plazma ve doku örneklerinde lipit peroksit ölçümü Placer ve ark.(1966) tarafından modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelir. Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de okundu.

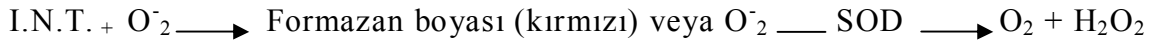
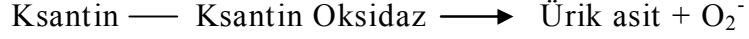
Buna göre, plazma ve doku homojenatlarından 0.25 ml alınarak üzerine 2.25 ml renk ayırıcı (TBA ve % 10'luk triklorasetik asit) ilave edildi. Karışım 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 532 nm' de spektrofotometrede köre karşı okundu.

##### **3.2.7.6.2. Hemolizatta SOD Aktivitesinin Tayini**

Eritrosit SOD enzim aktivitesi Randox firmasının enzimatik metotla çalışan RANSOD adlı ticari kiti ile spektrofotometre kullanılarak yapıldı.

SOD oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin p-iyodonitrotetrazolium violet (I.N.T.) ile meydana getirdiği kırmızı renkli

formazon boyasının 37 °C'de ve 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksiti ortamdan uzaklaştırarak formazon reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin şiddeti SOD aktivitesinin büyüklüğü ile ters orantılıdır. Kırmızı renkteki azalmanın belirlenmesi ile SOD aktivitesi ölçülür (Yüreğir 1995).



Homolizattaki protein miktarları Lowry ve ark.(1951)'nin bildirdikleri yöntemle göre ölçüldü. Alkali bakır tartarat ayracı peptid bağları ile kompleks yapar, 7 veya 8 aminoasit artığı 1 atom bakırı bağlar. Fenol ayracı bakır ile muamele edilmiş karışıma eklendiğinde mor-mavi renk oluşur. Bu renk 650 nm'de okunur. Tüpler içerisindeki sulandırılmış örnekler iyice karıştırılıp 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra vorteks mikserde iyice karıştırıldı ve 55 °C'de 5 dakika bekletildi. Bu süre sonunda musluk suyu altında soğutulup 650 nm'de kör tüpe karşı okundu.

### 3.2.7.6.3. Hemolizat ve Dokuda CAT Aktivitesi Tayini

Plazması ayrılan heparinli kan örnekleri serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositler 1:5 oranında distile su ile sulandırılarak hemoglobin tayini yapıldı. Daha sonra dilüe edilmiş bu kan örnekleri 1:100 oranında fosfat tamponuyla tekrar dilüe edildi ve hazırlanmış bu hemolizatlarda CAT aktivitesinin tayini yapıldı.

Eritrosit ve doku CAT aktivitesini ölçmek için Aebi (1984)'nin bildirdiği metot kullanıldı. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in CAT tarafından yıkım hızı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü.

CAT aktivitesinin tayini için kan ve doku örneklerinden 2'şer ml alındı ve üzerine 1 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu ilave edilip 240 nm'de kör numune ile sıfır ayarı yapıldıktan sonra 30 saniye içerisinde absorbans farkı ölçülmek suretiyle CAT aktivitesi belirlendi.

#### **3.2.7.6.4. Kanda Redükte Glutatyon (GSH) Tayini**

GSH düzeyleri, Ellman (1959)'nın bildirdiği metoda göre tayin edildi. 5,5'-Ditiyobis (2-Nitrobenzoik Asit) (DTNB), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve glutatyon redüktaz varlığında enzimatik döngü prosedürü ile ölçülmektedir. GSH DTNB tarafından okside edilirken, ortamda bulunan okside glutatyon ve diğer çözünür tiyol bileşikleri ile GSH'ın oluşturduğu disülfid bağlanmaları glutatyon redüktaz enzimi varlığında NADPH'ın indirgenmesi ile GSH'a dönüştürülmektedir. Meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asitin miktarı 412 nm'de ölçülmektedir.

Kan ve doku örnekleri çöktürücü solüsyonla (metafosforik asit), etilendiamintetraasetik asit (EDTA), sodyum klorür (NaCl) çöktürüldü ve 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar alınarak üzerine Elman ayırıcı ve disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ilave edilerek 412 nm'de köre karşı okundu.

#### **3.2.7.7. İstatistik Analizler**

İstatistik analizlerde SPSS 11,5 (2002) versiyonlu paket programından yararlanılmıştır. SPSS'de grupların karşılaştırılmasında One-way Anova testi kullanıldı, gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirmesinde önemlilik,  $P < 0.05$  esasına göre ele alındı.

#### 4. BULGULAR

Araştırma gruplarının canlı ağırlık ortalamaları Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Araştırmanın 28. gününden itibaren vitamin C ve propolis katkısının kurşun katkılı gruba göre canlı ağırlığı iyileştirdiği ( $P<0.05$ ), çalışmanın geneli itibari ile vitamin C ve propolis katkısının kurşun katkılı gruptan daha yüksek ( $P<0.01$ ) canlı ağırlık sağladığı belirlendi. 42. günde kontrol, vitamin C ve propolis katkılı grupların canlı ağırlıklarının sırasıyla 2305, 2263 ve 2218 g olduğu ve kurşun katkılı gruba (2089 g) göre daha yüksek ( $P<0.01$ ) canlı ağırlığa sahip oldukları belirlendi.

**Çizelge 4.1.**Araştırma gruplarının canlı ağırlık ortalamaları (g/hayvan) (n=90).

Günler	Kontrol	Vit. C+Kurşun	Propolis+Kurşun	Kurşun	P
3	51.17±0.53	51.23±0.59	51.10±0.51	51.12±0.55	ÖD
14	420.43±5.89 <sup>a</sup>	412.23±6.64 <sup>b</sup>	412.90±7.03 <sup>b</sup>	411.62±5.43 <sup>b</sup>	*
21	785.42±12.28	774.85±11.91	777.53±12.36	772.24±10.53	ÖD
28	1195.93±22.59 <sup>a</sup>	1180.48±22.05 <sup>a</sup>	1165.02±23.63 <sup>ab</sup>	1144.49±20.48 <sup>b</sup>	*
35	1695.33±60.07 <sup>a</sup>	1674.06±38.96 <sup>a</sup>	1669.70±19.33 <sup>a</sup>	1575.05±28.72 <sup>b</sup>	**
42	2305.00±31.25 <sup>a</sup>	2263.00±91.93 <sup>ab</sup>	2218.40±51.77 <sup>b</sup>	2089.80±46.32 <sup>c</sup>	**

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarında dönemlere göre canlı ağırlık artışı Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çalışma boyunca kurşunun canlı ağırlık artışını baskıladığı, vitamin C ve propolis katkısının 22. günden itibaren canlı ağırlığı iyileştirici etki gösterdiği belirlendi. 3–42 günler itibariyle kontrol (57.79 g), vitamin C+kurşun (56.71 g), propolis+kurşun (55.57 g) gruplarında canlı ağırlık artışının, kurşun grubuna göre (52.26 g) önemli derecede yüksek ( $P<0.01$ ) olduğu tespit edildi.

**Çizelge 4.2.**Araştırma gruplarında canlı ağırlık artışları (g/gün/hayvan) (n=90).

Günler	Kontrol	Vit. C+Kurşun	Propolis+Kurşun	Kurşun	P
3-14	33.57±0.38 <sup>a</sup>	32.82±0.09 <sup>b</sup>	32.89±0.30 <sup>b</sup>	32.78±0.28 <sup>b</sup>	*
15-21	52.14±0.41	51.80±1.28	52.09±0.70	51.52±0.91	ÖD
22-28	58.64±2.20 <sup>a</sup>	57.94±0.52 <sup>a</sup>	55.36±0.81 <sup>ab</sup>	53.18±1.07 <sup>b</sup>	*
29-35	71.34±248 <sup>a</sup>	70.51±3.35 <sup>a</sup>	72.10±1.71 <sup>a</sup>	61.50±2.86 <sup>b</sup>	*
36-42	83.52±5.59	84.13±6.25	78.39±2.92	73.54±3.64	ÖD
3-42	57.79±0.35 <sup>a</sup>	56.71±1.05 <sup>a</sup>	55.57±0.59 <sup>a</sup>	52.26±0.53 <sup>b</sup>	**

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarının yem tüketimi Çizelge 4.3’de sunulmuştur. Stres grubuyla diğer gruplar arasında yem tüketimi bakımından araştırmanın genelinde istatistiksel bir farklılık olduğu (P<0.05), 15–21. günlerde en yüksek yem tüketiminin kontrol (81.44 g) ve propolis+kurşun katkılı (81.33 g) gruplarda; 29–35. günlerde ise en düşük yem tüketiminin kurşun katkılı grupta (158.57 g) olduğu belirlendi.

**Çizelge 4.3.**Araştırma gruplarında yem tüketimi (g/gün/hayvan) (n=90).

Günler	Kontrol	Vit. C+Kurşun	Propolis+Kurşun	Kurşun	P
3-14	54.24±0.55	54.79±0.20	55.06±0.21	54.84±0.36	ÖD
15-21	81.44±0.62 <sup>a</sup>	80.71±0.32 <sup>b</sup>	81.33±0.18 <sup>a</sup>	80.82±0.72 <sup>b</sup>	*
22-28	124.47±1.11	125.52±0.25	122.51±2.94	121.77±0.28	ÖD
29-35	161.82±4.53 <sup>a</sup>	160.16±4.00 <sup>ab</sup>	161.19±2.41 <sup>a</sup>	158.57±0.74 <sup>b</sup>	*
36-42	180.79±0.64	178.72±1.65	176.89±2.50	176.22±1.88	ÖD
3-42	120.60±1.16 <sup>a</sup>	119.90±1.87 <sup>a</sup>	119.45±0.96 <sup>a</sup>	118.77±0.45 <sup>b</sup>	*

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Grupların yemden yararlanma oranları incelendiğinde (Çizelge 4.4.), araştırmanın 29–35. günlük döneminden itibaren kontrol, vitamin C+kurşun ve propolis+kurşun gruplarının kurşun katkılı gruba göre yemden yararlanma oranlarının iyileştiği (P<0.05); kendi aralarında bu iyileşmenin istatistiksel bir farklılık oluşturmadığı belirlendi. Araştırmanın tamamı itibariyle kurşun katkılı grubun yemden yararlanma oranının (2.27), kontrol (2.07), vitamin C+kurşun



(2.11) ve propolis+kurşun (2.14) gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek ( $P<0.05$ ) olduğu belirlendi.

**Çizelge 4.4.**Araştırma gruplarının yemden yararlanma oranları (gYT/g CAA) (n=90).

Günler	Kontrol	Vit. C+Kurşun	Propolis+Kurşun	Kurşun	P
3-14	1.61±0.02 <sup>b</sup>	1.66±0.009 <sup>a</sup>	1.67±0.005 <sup>a</sup>	1.67±0.01 <sup>a</sup>	*
15-21	1.56±0.002	1.56±0.03	1.56±0.02	1.57±0.03	ÖD
22-28	2.14±0.09	2.16±0.019	2.21±0.037	2.29±0.04	ÖD
29-35	2.27±0.05 <sup>b</sup>	2.27±0.14 <sup>b</sup>	2.24±0.09 <sup>b</sup>	2.57±0.19 <sup>a</sup>	*
36-42	2.16±0.10 <sup>b</sup>	2.12±0.17 <sup>b</sup>	2.25±0.20 <sup>b</sup>	2.40±0.14 <sup>a</sup>	*
3-42	2.07±0.09 <sup>b</sup>	2.11±0.05 <sup>b</sup>	2.14±0.04 <sup>b</sup>	2.27±0.016 <sup>a</sup>	*

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*:  $P<0.05$ .

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma boyunca kontrol grubunda ölüm olmadı; vitamin C+kurşun, propolis+kurşun ve kurşun katkılı grupda ölüm sayıları ve ölüm oranları sırasıyla 1, 1 ve 3; % 1.11, 1.11 ve 3.33 olarak belirlendi (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5.**Araştırma gruplarının ölüm sayıları (adet) ve oranları (%).

Günler	Kontrol	Vit. C+Kurşun	Propolis+Kurşun	Kurşun
3-14				1
15-21				
22-28				
29-35			1	
36-42		1		2
3-42	-	1	1	3
%	-	1.11	1.11	3.33

Vitamin C ve propolis katkıları ham protein'in sindirilme derecesini, ham kül'ün sindirilme derecesini ise sadece propolis katkısı stres grubuna göre önemli derecede arttırdı ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.6). Kuru madde ve ham yağın sindirilme dereceleri bakımından ise gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi.

**Çizelge 4.6.**Araştırma gruplarında besin madde sindirilme dereceleri (%) (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C+Kurşun</b>	<b>Propolis+Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>Kuru Madde</b>	64.50±1.36	62.94±2.34	62.53±2.55	62.25±3.56	ÖD
<b>Ham Kül</b>	31.38±1.55 <sup>a</sup>	29.45±2.21 <sup>ab</sup>	30.27±1.67 <sup>a</sup>	28.78±1.24 <sup>b</sup>	*
<b>Organik Madde</b>	69.12±3.45 <sup>a</sup>	66.78±5.44 <sup>ab</sup>	66.12±2.57 <sup>ab</sup>	64.78±2.75 <sup>b</sup>	*
<b>Ham Protein</b>	69.29±2.43 <sup>a</sup>	67.40±4.20 <sup>a</sup>	67.92±3.77 <sup>a</sup>	64.69±2.83 <sup>b</sup>	*
<b>Ham Yağ</b>	72.54±6.78	70.46±4.76	70.89±3.18	70.44±3.11	ÖD

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarının karkas özellikleri incelendiğinde (Çizelge 4.7.), kontrol grubunun sıcak karkas, soğuk karkas, but ve göğüs oranlarının kurşun katkılı gruba göre istatistiksel (P<0.05); göğüs oranı hariç, vitamin C ve propolis katkılı gruplarla benzer olduğu belirlendi. Katkılı grupların ise kendi aralarında istatistiksel bir farklılığının oluşmadığı belirlendi.

**Çizelge 4.7.**Araştırma gruplarının karkas özellikleri (%) (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C+Kurşun</b>	<b>Propolis+Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>Sıcak Karkas</b>	72.37±0.35 <sup>a</sup>	70.51±0.67 <sup>ab</sup>	69.90±0.90 <sup>ab</sup>	68.76±0.98 <sup>b</sup>	*
<b>Soğuk Karkas</b>	70.17±0.10 <sup>a</sup>	68.63±0.34 <sup>ab</sup>	68.94±0.15 <sup>ab</sup>	67.83±0.24 <sup>b</sup>	*
<b>But</b>	39.69±0.44 <sup>a</sup>	36.85±0.18 <sup>ab</sup>	36.24±0.82 <sup>ab</sup>	35.23±0.78 <sup>b</sup>	*
<b>Göğüs</b>	28.63±0.23 <sup>a</sup>	27.38±0.98 <sup>b</sup>	27.49±0.24 <sup>b</sup>	27.35±0.87 <sup>b</sup>	*
<b>Kanat</b>	11.44±1.54	10.74±0.75	10.58±0.97	10.31±0.42	ÖD
<b>Abdominal yağ</b>	2.06±0.04	1.95±0.05	1.98±0.04	1.93±0.01	ÖD

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarının bazı biyokimyasal parametreleri Çizelge 4.8'de sunulmuştur. Eritrosit SOD değeri, en yüksek (4.42 U/ml) kurşun katkılı grupta tespit edilirken (P<0.01); kontrol, vitamin C+kurşun, propolis+kurşun gruplarının eritrosit SOD değerlerinde istatistiksel bir farklılık belirlenmedi. Glikoz, albumin, total kolesterol, SGPT, HDL ve LDL değerlerinin katkılardan istatistiksel olarak etkilenmediği belirlendi. En yüksek trigliserit (86.83 mg/dl) düzeyi kurşun katkılı

grupta; en düşük SGOT (90.71 IU/L) düzeyi ise kontrol grubunda tespit edildi (P<0.05).

**Çizelge 4.8.**Araştırma gruplarının SOD aktivitesi ve bazı biyokimyasal parametre değerleri (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C + Kurşun</b>	<b>Propolis + Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>SOD (U/ml)</b>	1.24±0.18 <sup>b</sup>	1.80±0.11 <sup>b</sup>	1.98±0.25 <sup>b</sup>	4.42±0.90 <sup>a</sup>	**
<b>Glikoz (mg/dl)</b>	238.13±11.82	244.86±4.40	227.57±4.95	239.33±6.72	ÖD
<b>Albumin (g/dl)</b>	1.66±0.09	1.53±0.18	1.54±0.07	1.62±0.10	ÖD
<b>Total kolesterol (mg/dl)</b>	116.63±5.77	109.14±6.61	115.57±6.49	108.33±5.14	ÖD
<b>Trigliserit (mg/dl)</b>	53.50±4.34 <sup>b</sup>	63.57±2.28 <sup>ab</sup>	60.14±7.55 <sup>b</sup>	86.83±15.85 <sup>a</sup>	*
<b>SGOT (IU/L)</b>	90.71±16.66 <sup>b</sup>	110.43±8.86 <sup>ab</sup>	128.83±8.87 <sup>a</sup>	135.16±32.17 <sup>a</sup>	*
<b>SGPT (IU/L)</b>	13.83±1.28	13.50±2.95	13.20±3.76	13.66±1.36	ÖD
<b>HDL (mg/dl)</b>	66.89±4.41	73.10±13.40	65.28±4.42	69.42±8.51	ÖD
<b>LDL (mg/dl)</b>	25.56±2.86	34.62±6.56	34.97±3.65	38.03±2.31	ÖD

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarının plazma, karaciğer ve kalp MDA düzeyleri incelendiğinde (Çizelge 4.9.), kurşun katkısının plazma MDA düzeyini diğer gruplara göre önemli derecede (P<0.01) yükselttiği; vitamin C ve propolis katkılarının ise plazma MDA seviyesini kontrol grubuna yakın seviyeye indirdiği belirlendi. En düşük karaciğer MDA seviyesi ise (0.88 nmol/mg) kontrol grubunda belirlendi (P<0.05).

**Çizelge 4.9.**Araştırma gruplarının plazmada (nmol/ml) ve bazı dokularda (nmol/mg protein) MDA düzeyleri (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C+Kurşun</b>	<b>Propolis+Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>Plazma</b>	4.40±0.49 <sup>b</sup>	5.06±0.82 <sup>b</sup>	5.33±0.68 <sup>b</sup>	7.70±0.85 <sup>a</sup>	**
<b>Karaciğer</b>	0.88±0.03 <sup>b</sup>	1.15±0.15 <sup>ab</sup>	1.17±0.07 <sup>ab</sup>	1.53±0.18 <sup>a</sup>	*
<b>Kalp</b>	0.61±0.08	0.72±0.08	0.80±0.09	0.97±0.2	ÖD

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*: P<0.05, \*\*: P<0.01.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Araştırma gruplarının hemolizat, karaciğer ve kalp CAT aktiviteleri Çizelge 4.10'da sunulmuştur. Kontrol grubunun hemolizat ve kalp CAT aktivitesinin katkılı gruplara göre önemli derecede düşük ( $P<0.01$ ); vitamin C ve propolis katkılı grupların ise kalp, hemolizat ve karaciğer CAT aktivitelerinin benzer olduğu belirlendi.

**Çizelge 4.10.** Araştırma gruplarının hemolizat'ta (k/g Hb) ve bazı dokularda (k/g protein) CAT aktiviteleri (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C+Kurşun</b>	<b>Propolis+Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>Hemolizat</b>	1.72±0.46 <sup>b</sup>	3.82±0.62 <sup>a</sup>	4.42±0.74 <sup>a</sup>	5.35±0.62 <sup>a</sup>	**
<b>Karaciğer</b>	0.68±0.06 <sup>b</sup>	0.88±0.05 <sup>a</sup>	0.89±0.06 <sup>a</sup>	0.97±0.08 <sup>a</sup>	*
<b>Kalp</b>	3.51±0.22 <sup>c</sup>	5.22±0.22 <sup>b</sup>	5.62±0.60 <sup>b</sup>	8.40±0.44 <sup>a</sup>	**

\*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

Gruplardan elde edilen plazma, karaciğer ve kalp GSH düzeyleri incelendiğinde (Çizelge 4.11.), kontrol grubunun plazma GSH aktivitesinin (2.30  $\mu\text{mol/ml}$ ) kurşun ilaveli gruptan (6.20  $\mu\text{mol/ml}$ ) önemli oranda düşük ( $P<0.01$ ); diğer gruplarla benzer olduğu belirlendi. Grupların karaciğer GSH aktiviteleri istatistiksel farklılık oluşturmazken; kontrol grubunun kalp GSH aktivitesinin diğer gruplardan önemli oranda düşük olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.11.** Araştırma gruplarının kanda ( $\mu\text{mol/ml}$ ) ve bazı dokularda (nmol/ml) GSH aktiviteleri (n=6).

	<b>Kontrol</b>	<b>Vit. C+Kurşun</b>	<b>Propolis+Kurşun</b>	<b>Kurşun</b>	<b>P</b>
<b>Plazma</b>	2.30±0.47 <sup>b</sup>	3.95±0.67 <sup>ab</sup>	4.27±0.47 <sup>ab</sup>	6.20±1.05 <sup>a</sup>	**
<b>Karaciğer</b>	11.39±0.73	11.80±1.61	9.68±1.02	12.10±1.44	ÖD
<b>Kalp</b>	9.84±0.75 <sup>b</sup>	18.41±2.59 <sup>a</sup>	18.27±3.92 <sup>a</sup>	20.29±2.30 <sup>a</sup>	*

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

## 5. TARTIŞMA

Bu araştırma, ülkemiz arıcılığında atıl bir ürün olarak işlem gören, ancak yapısındaki başta flavanoidler ve CAPE gibi antioksidan özellikteki bileşikler sebebiyle güçlü antioksidan potansiyele sahip propolisin, oksidatif stres altındaki etçi piliç rasyonlarına katılmasının, performans, karkas özellikleri, bazı kan parametreleri ile kan ve çeşitli dokularda antioksidan enzim seviyeleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürütüldü.

### 5.1. Performans

Çevre kirleticilerinden kurşunun kronik olarak alınması hayvansal performans üzerine olumsuz etkiler yapmaktadır (Erdoğan ve ark. 2004).

Araştırmada kurşun ilavesi canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranını olumsuz etkileyerek, hayvansal performansı önemli derecede düşürdüğü belirlendi. Etçi piliçlerde kurşun zehirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda (Bafundo ve ark. 1984, Donaldson 1991, Erdoğan ve ark. 2004) kurşun alımına bağlı olarak büyümenin yavaşladığı ve hayvansal performansın düştüğü bildirilmektedir. Bakalli ve ark.(1995), etçi piliç rasyonlarına 0, 1, 10 mg/kg ve 0, 0.5, 1 mg/kg düzeyinde katılan farklı kurşun formlarının (kurşun sülfat ve kurşun asetat) tüm gruplarda canlı ağırlığı linear olarak azalttığını bildirmiştir.

Etçi piliç rasyonlarına katılan vitamin C'nin oksidatif stresin olumsuz etkilerini azalttığı ve performansı stres gruplarına göre arttırdığı bildirilmektedir (Kutlu ve Forbes 1993, McKee ve ark. 1997). Mevcut araştırmada, oksidatif stres altındaki etçi piliç rasyonlarına 500 ppm düzeyinde vitamin C ilavesinin performansı arttırması, oksidatif stresin performans üzerine olan negatif etkisinin vitamin C ilavesi ile azaltılabileceğini bildiren araştırma bulguları (Bakalli ve ark. 1995, McKee ve ark 1997, Tatli Seven ve ark. 2008a) ile uyum içerisindedir.

Buna karşılık, etçi piliç rasyonlarına 200 ppm kurşun (kurşun asetat) ve 100 ppm askorbik asit katılarak yapılan bir çalışmada (Erdoğan ve ark. 2004), kurşunun canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışında belirgin ( $P<0.05$ ) bir düşüşe neden

olduğu, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranının ise kurşun ve askorbik asitin ayrı ayrı ve birlikte katılmasından etkilenmediği bildirilmiştir.

Propolisin etçi piliçlerde kullanımı ile ilgili çalışmalarda (Tekeli 2007, Tatlı Seven ve Seven 2008), farklı seviyelerde propolis katkılarının yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranını iyileştirerek, hayvansal performansı arttırdığı bildirilmektedir. Shalmany ve Shivazad (2006), farklı propolis seviyelerinin (50, 100, 150, 200, 250 mg/kg rasyon) etçi piliçlerin performansı üzerine etkilerini inceledikleri bir araştırmada, özellikle 250 mg/kg propolis katkısının, performansı önemli düzeyde geliştirdiğini bildirmişlerdir ( $P<0.01$ ).

Tatlı Seven ve ark.(2007), sıcaklık stresi altındaki etlik piliçlerde propolisin yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, canlı ağırlık artışı ve antioksidan enzimler üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışma, kontrol grubunu ile temel rasyona 0.5 g/kg vitamin C katılan grup ve temel rasyona 0.5, 1 ve 3 g/kg propolis katılan gruplardan oluşturulmuş, deneme sonunda canlı ağırlık kazancı ve yem tüketimi 1 ve 3 g/kg propolis katılan gruplarda önemli düzeyde artarken, yemden yararlanma oranı muamelelerden etkilenmemiştir.

Propolis ve vitamin C'nin oksidatif stres altındaki yumurtacı tavuklarda kullanıldığı bir çalışmada ise (Tatlı Seven 2008) performans parametreleri incelenmiş ve rasyona propolis ve vitamin C katkısının stres grubuna kıyasla yem tüketimini, yemden yararlanmayı ve yumurta ağırlığını önemli oranda ( $P<0.05$ ) arttırdığı bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada mortalite oranı stres grubunda önemli oranda yüksek bulunurken, kuru madde, organik madde, ham protein ve ham yağ sindirimleri stres grubuna kıyasla vitamin C ve propolis katkılı grupta önemli oranda yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Etçi piliçlerde antibiyotiğe alternatif olarak propolis katkısının kullanıldığı bir çalışmada (Tekeli 2007), propolisin üç farklı dozu (500, 1000 ve 2000 ppm) denenmiş ve performans parametreleri incelenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre denemenin 2., 3. ve 4. haftaları sonunda gruplar arasında yem tüketimi bakımından istatistiki olarak önemli farklılıklar saptanmıştır ( $P<0.05$ ). En düşük yem tüketimi 2000 ppm kullanılan propolis grubunda bulunurken en yüksek yem tüketimi ise 1000 ppm de bulunmuştur. 2000 ppm katılan propolis grubundaki yem tüketimindeki düşüşü,

propolisin kendine özgü kokusu nedeniyle etçi piliçlerin yemi ret etmesine veya yeme karşı isteksizlik oluşturmaya veya tokluk hissi uyandırmasına bağlanmıştır. Açıkgöz ve ark.(2004), etçi piliçlerde propolis kullanım olanaklarını belirlemek amacıyla mevcut çalışmadan farklı doz kullanarak yaptıkları bir çalışmada, 4000 ppm propolis dozunu denemişlerdir. Sadece başlangıç yemlerine ve hem başlangıç hem de bitiş yemlerine propolisin 4000 ppm ilave edildiği grupta toplam yem tüketimlerinde önemli bir düşüş gözlemlenmiştir, fakat sadece bitiş yemlerine propolisin 4000 ppm ilave edildiği grupta yem tüketiminin etkilenmediğini bildirmişlerdir. Mevcut araştırmada, hayvansal performans değerlerine ait elde edilen sonuçlar, oksidatif stresin olumsuz etkilerini önlemek bakımından propolis katkısının faydalı olacağını bildiren araştırmaların (Bonomi ve ark. 1976, Tatli Seven 2008, Tatli Seven ve ark. 2008a) sonuçları ile uyumludur.

Yem tüketiminin artmasına bağlı olarak hayvansal performansın iyileşmesi, propolisli yemlerin lezzetli olmasından kaynaklanmaktadır. Propolis katkısı, yapısındaki reçine, bal mumu, bal ve vanilin gibi iştah açıcı maddeler nedeniyle yemlerin lezzetini arttırmaktadır (Shalmany ve Shivazad 2006). Mevcut araştırmada yemden yararlanma oranları incelendiğinde (Çizelge 4.4.) vitamin C ve propolis katkılı grupların kurşun katkılı gruba göre yemden yararlanma oranını iyileştirdiği görülmektedir ( $P<0.05$ ). Vitamin C katkısının oksidatif strese maruz kanatlılarda, performansı olumlu etkilediği ile ilgili birçok kaynak (Şahin ve ark. 2003a, Erdoğan ve ark. 2004, Tatli Seven ve ark. 2008a, Tatli Seven 2008) bulunmakla birlikte bu konuda propolisle ilgili kaynaklar daha sınırlı sayıdadır. Stres oluşturulmamış etçi piliçler üzerinde yapılan bir çalışmada (Ghisalberti 1979), 500 ppm propolis katkısının canlı ağırlığı % 20 oranında arttırdığı; bu artışın propolisteki flavanoid içeriğinden ve propolisin lezzet arttırıcı özelliğinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Etçi piliçlerde, alternatif yem katkısı olarak yağ ekstraktları ve propolisin kullanıldığı bir diğer çalışmada (Biavatti ve ark. 2003) ise propolisin yem tüketimi ve yemden yararlanma üzerine (14-21. gün arası hariç) önemli düzeyde bir etkisinin olmadığı ancak canlı ağırlık artışında önemli artışlar meydana getirdiği bildirilmiştir ( $P<0.05$ ). Antioksidan özelliklerinden dolayı stresi azaltmak amacıyla propolis ve vitamin C'nin kullanıldığı çalışmalarda stres grubuna oranla söz konusu iki antioksidanın performansı arttırdıkları, ölüm

oranını düşürdükleri ve besin madde sindirimini arttırdıkları bildirilmektedir (Tatli Seven 2008, Tatli Seven ve ark. 2008a). Mevcut araştırmadan elde edilen bulgular bu araştırma bulguları ile uyum içerisinde dir.

Mevcut bulgulara gore; oksidatif stres oluşturan kurşunun, performansı olumsuz etkilediği; vitamin C ve propolis in mevcut kullanım seviyeleri ile kurşunun bu olumsuz etkisini engelleyerek performansı iyileştirdiği belirlendi.

## **5.2. Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri**

Oksidatif stres durumları özellikle pankreatik enzim inhibisyonuna neden olarak besin maddelerinin sindirimini dşurmekteler. Yemlerle alınan antioksidanlar kısmen oksidatif protein denaturasyonuna engel olmakta ve besinlerin sindirimini ve yemden yararlanma oranını arttırmaktadırlar (Tatli Seven 2008). Mevcut araştırmada, vitamin C ve propolis kullanılan gruplarda besin maddelerinin sindirilme derecelerinin kontrol grubu ile benzer; kurşun grubundan ise ham proteinin sindirilme derecesi bakımından istatistiksel, organik maddenin sindirilme derecesi bakımından ise rakamsal olarak yuksek olması dikkat çekicidir. Ayrıca, propolis katkısı ham kül'n sindirilme derecesini kurşun katkılı gruba göre önemli derecede arttırmıştır ( $P<0.05$ ). Bu bulgular, vitamin C ve propolis in antioksidan özellikleri nedeni ile besin maddelerinin sindirimi üzerinde pozitif etkiler oluşturabileceği şeklindeki çalışma bulgularıyla (Sun ve ark. 2000, Ichikawa ve ark. 2002, Tatli Seven 2008) uyum içerisinde dir. Nitekim sıcaklık stresine maruz yumurtacı tavuklarda, rasyona vitamin C (250 mg/kg) veya iki farklı seviyede (2 g/kg ile 5 g/kg) propolis ilavesinin besin maddelerinin sindirilme derecelerini arttırdığı bildirilmiştir (Tatli Seven 2008). Diğer taraftan, Bonomi ve ark.(2002), strese maruz etçi piliçlerde propolis katkısının performans ve besin maddelerinin sindirimini önemli düzeyde etkilemediğini bildirmiştir. alışmalar arasında farklı sonuçların elde edilmesi çalışmaların stres ortamlarının farklılığına, kullanılan propolis in bileşimine ve dozuna bağlı olarak değişebileceğine bağlanmıştır. Propolis katkısı yapılan grubun ham kül sindirimi stres grubundan önemli düzeyde yuksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bu durum propolis in mineral sindirimini arttırmasına bağlanmıştır. Nitekim yumurtacı tavuklarda yapılan bir çalışmada (Foucher 1982), propolis de bulunan benzoik ve



4-hidroksi benzoik asit gibi asit derivatların mineral sindirimini ve buna bağlı olarak yumurta kabuk kalitesini arttırdığı bildirilmiştir. Vitamin C ile yapılan stres çalışmalarında (Edelstein ve ark. 1984, Fullmer ve Rosen 1990, Şahin ve Şahin 2001) mineral sindirimi üzerine vitamin C'nin pozitif etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da vitamin C'nin ham kül sindirimi üzerine etkileri bazı mineraller üzerine olan spesifik etkilerinden ve vitamin C'nin antioksidan özelliğinden kaynaklanan stresi azaltıcı etkisinin (Şahin ve Şahin 2001) performansı olumlu etkilemesine ve dolayısıyla sindirim üzerine olan pozitif etkiyle yansımaya bağlanmıştır.

### **5.3. Karkas Özellikleri**

Karkas verimi ve karkas özellikleri incelendiğinde (Çizelge 4.7.), kurşun ilavesinin bazı karkas parametrelerinde (sıcak karkas, soğuk karkas, but ve göğüs) olumsuz etki yaptığı; vitamin C ve propolis katkılarının ise bu olumsuz etkiyi rakamsal düzeyde iyileştirdiği belirlendi. Stresli gruplarda muhtemelen protein sentezinin azalmasından kaynaklanan bu olumsuz durumun, yem tüketimindeki düşüşün ve besin maddelerinin sindirilme derecelerindeki azalmanın da bir yansıması olarak değerlendirilmektedir. Vitamin C ve propolis katkılı grupların göğüs parametresi dışında kontrol grubu ile de istatistiksel anlamda benzerlik göstermeleri bu iki antioksidanın yem tüketimi ve yemden yararlanma üzerine olumlu etkiler göstermelerine bağlanmıştır. Nitekim stresle ilgili yapılan bir çalışmada (Tatli Seven ve ark. 2008a) propolisin karkas verimini istatistiksel olarak önemli oranda etkilediği bildirilmiştir. Bu olumlu etki, antioksidanların besin maddelerinin sindirimini arttırmasından ve stres durumunda kortikosteron sentezini azaltıp protein sentezini iyileştirmesinden kaynaklanmaktadır (Hayashi ve ark. 1994). Bu sonuçlarla uyumlu olarak önceki çalışmalarda (Şahin ve ark. 2003a, 2006) yüksek sıcaklık stresinde likopen, krom ve askorbik asit gibi antioksidanların kanatlı rasyonlarına katkılarının büyüme ve karkas verimini arttırdığını bildirilmiştir. Tatli Seven ve ark.(2008a), vitamin C'nin pozitif yönde etkilediğini ancak karkas verimini istatistiksel düzeyde etkilemediğini bildirmişlerdir. Bu durum vitamin C katkısının dozundaki düşüklüğe bağlanmıştır. Aynı çalışmada propolisin bu çalışmada kullanılan dozuyla aynı doz kullanılmış

ancak propolisin karkas verimini istatistiksel olarak önemli düzeyde ( $P<0.05$ ) etkilediği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise propolisin stres grubundan daha iyi bir karkas verimi göstermesi ancak bunun istatistiksel anlamda önemli olmaması iki çalışma arasındaki stres faktörünün farklılığına bağlanmıştır.

#### **5.4. Kan Parametreleri**

Araştırma gruplarının bazı biyokimyasal parametreleri incelendiğinde (Çizelge 4.8.), vitamin C ve propolis katkılarının kan glikoz, albumin, total kolesterol, SGPT, HDL ve LDL seviyelerini etkilemediği; trigliserit seviyesini sadece propolis katkısı istatistiksel olarak ( $P<0.05$ ); SGOT seviyesini ise vitamin C ve propolis katkısının rakamsal olarak düşürdüğü görülmektedir. Trigliserit ve SGOT düzeylerinin düşmesi vitamin C ve propolisin kurşuna bağlı stresi azalttığına göstergesi kabul edilebilir (Zaidi ve ark. 2005, Yousef ve ark. 2006).

Kurşuna maruz kalan buzağılarda (Patra ve Swarup 2005) serum üre, kreatinin, total protein ve albumin düzeylerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı, kurşun maruziyetinin etçi piliçlerde (Khan ve ark. 1993) ratlarda (Skoczynska ve ark. 1993, Schroeder ve Balassa 1965) ve balıklarda (Ruparelia ve ark. 1989, Tulasi ve ark. 1992) serum kolesterol düzeyini istatistiksel olarak önemli oranda azalttığı; tavşanlarda (Tarugi ve ark. 1982), ratlarda (Yagminas ve ark. 1990) ve insanlarda (Nomiya ve ark. 2002) istatistiksel olarak önemli oranda arttırdığı; insanlarda yapılan başka bir çalışmada (Cocco ve ark. 1995) ise istatistiksel olarak önemli bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir. Mevcut çalışmada ise Çizelge 4.8 incelendiğinde kurşun maruziyetinin total, HDL ve LDL kolesterol düzeyleri üzerine gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkarmadığı görülmektedir. Kurşun toksisitesinin önlenmesinde vitamin E, C, B6, beta karoten, çinko ve selenyumun etkili olduğu birçok çalışmada bildirilmektedir (Vij ve ark. 1998, Matte 1999, Simon ve Hudes 1999, Houston ve Johnson 2000, Hsu ve Guo 2002). Etçi piliçlerde propolisin kan parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Biavatti ve ark. 2003) kan glikoz, üre, kreatinin, kolesterol, trigliserit, AST, ALT üzerine bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Ancak farklı çalışmalarda propolisin yüksek kan lipitini, yüksek total kolesterolü, yüksek kan viskozitesini ayarladığı ve arteriosklerozu azalttığı bildirilmiştir

(Akgül ve ark. 1997, Burdock 1998, Stefano ve Francesco 2002). Mevcut çalışmada ise propolis+kurşun katkılı grubun trigliserit düzeyinin kurşun grubuna kıyasla önemli oranda düştüğü ( $P<0.05$ ) ve propolisin trigliserit düzeyi üzerine olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Fuliang ve ark.(2005)'nin yaptığı araştırmada ise propolisin diabetli ratlarda kolesterolü düşürdüğü belirlenmiştir. Yine bu çalışma bulgularında SGOT değerleri incelendiğinde araştırma grupları arasında istatistiki olarak farklar ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.8). Biavatti ve ark.(2003)'nin sonuçlarıyla bu araştırma bulguları kısmen uyumludur. Zaidi ve ark.(2005)'nin stres oluşturulan ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada stres durumunun SGOT değerlerini önemli ölçüde yükselttiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada da oksidatif stres oluşturan kurşun grubunun SGOT düzeyinin katkılı gruplardan rakamsal olarak, kontrol grubundan ise istatistiksel olarak yükseldiği belirlenmiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.8). Vitamin C ve propolis katkısının istatistiksel düzeyde olmasa da matematiksel anlamda SGOT'yi düşürdüğü belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre trigliseritin ve SGOT düzeylerinin düşmesi rasyona propolis ve vitamin C katkısının stresi azalttığı yönünde bir kanıt oluşturabilir (Zaidi ve ark. 2005, Yousef ve ark. 2006). Karaciğer hasarı oluşturulan ratlar üzerinde propolisin etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada (Kolankaya ve ark. 2002), serum SGOT düzeyinin propolis katkısı ile önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir. Mevcut araştırmada propolisin serum SGOT aktivitesini düşürme eğilimi literatür bulguları ile uyumludur.

### **5.5. Araştırma Gruplarında MDA Düzeyleri**

Araştırma gruplarında plazma ve bazı doku MDA düzeyleri incelendiğinde (Çizelge 4.9.), kurşun grubunda MDA düzeyinin dolayısı ile lipid peroksidasyonun yüksek olduğu; vitamin C ve propolis katkılı grupların MDA düzeyinin kurşun grubuna göre düştüğü görülmüştür. Bu düşüş özellikle plazmada daha belirgin olmuştur ( $P<0.01$ ). Kalp dokusunda MDA düzeyi etkilenmemiştir. Vitamin C'nin kurşun absorpsiyonunu ve atımını biyolojik olarak etkilediği açıktır, ancak bu etki özellikle vitamin C suplementasyonunun yüksek ve düşük düzeyde kurşuna maruz kalma durumlarında çok daha etkili olduğu görülmektedir (Hsu ve ark. 1998, Patra ve ark. 2001, Ahamed ve Siddiqui 2007). Ayrıca vitamin C ve E kurşun

toksitesinden kaynaklanan lipit peroksidasyonunu azaltarak indirekt bir etki yapabilmektedir. Nitekim vitamin C oksidize olmuş vitamin E'yi tekrar kullanılabilir hale getirerek (Frei 1991) tokoferol radikalini tamir eder ve böylece vitamin E'nin antioksidan kapasitesini artırıcı etki göstermektedir (Buettner 1993). Mevcut araştırma sonuçlarına göre, vitamin C'nin kurşundan kaynaklanan oksidatif stres üzerine olumlu etkisinin olduğu ve literatürler ile uyumlu olarak plazma ve dokuda MDA düzeyini düşürdüğü görülmektedir.

Propolis, antioksidan özellik gösteren bir arıcılık ürünü olduğu ve antioksidan özelliğinin yapısındaki temel bileşiklerinden olan flavanoidler ve CAPE'den ileri geldiği bilinmektedir. Flavanoidlerin doymamış yağ asitlerini hücre membranında oksidanlara karşı askorbat gibi korudukları bildirilmiştir (Havsteen 2002). Bununla birlikte bazı flavanoidlerin GSH redüktazı inhibe edebilecekleri savunulmuştur (Elliott ve ark. 1992). CAPE'nin ise ROS üretimini bloklayarak MDA düzeyini düşürdüğü ve antioksidan özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Hoşnuter ve ark. 2004). Etçi piliç rasyonlarına ilave edilen kurşunun (400 ve 600 mg/kg) lipit peroksidasyonu istatistiksel olarak önemli oranda yükselttiği bildirilmiştir (Sipos ve ark. 2003). Dişi ratlarda göğüs kanseri oluşturulan ve tedavi amaçlı propolis verilen bir çalışmada (Padmavathi ve ark. 2006), propolisin lipit peroksidasyon ve antioksidan enzimler üzerine etkisi araştırılmış ve çalışma sonuçlarında propolis katkısı ile kanserli grubun meme ve karaciğer dokusunda lipit peroksidasyonun yani MDA düzeyini önemli oranda düşürdüğü ( $P<0.001$ ) belirlenmiştir. Diabetik ratlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada (Okutan ve ark. 2005), propolisin en önemli bileşenlerinden olan CAPE'nin diabetik ratların kalp dokusunda meydana gelen lipit peroksidasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Kalp MDA düzeyinin kontrol, diabetik ve CAPE+diabetik gruplarında sırasıyla 8.26, 10.33 ve 8.40 nmol/mg protein olduğu bildirilmiştir. Kontrol ve CAPE grubu ile diabetik grup arasında istatistiksel olarak önemli farklar meydana gelmiştir ( $P<0.001$ ). Yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere lipit peroksidasyon oluşumuna neden olan durumlarda MDA düzeyinin yükseldiği bildirilmektedir (Okutan ve ark. 2005, Ateş ve ark. 2006). MDA düzeyinin plazmada ya da dokularda düşmesi lipit peroksidasyonun azaldığını ifade etmektedir. Bu yaklaşımla; bu çalışmada kurşun kaynaklı oksidatif stresden

kaynaklanan lipit peroksidasyon oluşumunun azaltılmasında antioksidan özelliğe sahip propolis kullanımı etkili olduğu ve antioksidan özelliğe sahip vitamin C ile benzer aktiviteler gösterdiği ve propolisin daha etkili olmasında dozunun yükseltilmesinin etkin olabileceği düşünülmüştür. Nitekim, vitamin C ile benzer etkinliğe sahip vitamin E'nin propolisle antioksidan özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Okonenko ve ark. 2006), propolisin antioksidan etkisinin daha ileri düzeyde olduğu bildirilmiştir.

### **5.6. Araştırma Gruplarında Antioksidan Enzim Düzeyleri**

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROS'ları toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Doğal olarak vücutta oluşan antioksidan enzimler hücrel savunma sisteminin bir parçasıdır ve bunların başlıcaları SOD, CAT ve GPx dir. (Freeman ve Crapo 1982, Cheeseman ve Slater 1993, McKee ve ark. 1997, Yılmaz ve Bahçecioğlu 2000).

Lipit peroksidasyon olgularında antioksidan enzim düzeylerinde tam bir uyum söz konusu değildir (Okutan ve ark. 2005). Bazı araştırmalarda lipit peroksidasyon durumlarında SOD ve CAT aktivitelerinde düşme (Wohaieb ve Godin 1987, Özkaya ve ark. 2002) bazı çalışmalarda ise söz konusu enzim aktivitelerinde artışlar (Huang ve ark. 1999, Alıcıgüzel ve ark. 2003) olduğu bildirilmiştir. Mevcut araştırmadaki CAT aktivitesi incelendiğinde (Çizelge 4.10), kurşun kaynaklı oksidatif stresin hemolizat, karaciğer ve kalp dokusunda CAT aktivitesini önemli oranda yükselttiği; vitamin C ve propolis katkılarının kalp dokusu CAT aktivitesini istatistiksel olarak düşürdüğü ( $P<0.01$ ); hemolizat ve karaciğer dokusunda CAT aktivesindeki bu düşüşün istatistiksel düzeyde olmadığı belirlendi.

Benzer şekilde, SOD ve GSH aktiviteleri, CAT aktivitesine paralellik göstermektedir. Kurşun grubunda SOD (Çizelge 4.8.) ve GSH (Çizelge 4.11.) (plazma ve kalp dokusu için) aktiviteleri yükselirken, vitamin C ve propolis katkılı gruplarda düşme eğilimi göstermektedirler (Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.11).

CAT aktivitesindeki artış, lipit peroksidasyonun kronik artışı sonucu oluşan oksidatif stres artışına verilen bir cevaptır (Asayama ve ark. 1989, Yıldırım ve Büyükbingöl 2003, Okutan ve ark. 2005). Dokulardaki CAT aktivitesi çok büyük

değişiklikler göstermektedir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye; beyin, kalp, akciğer ve bağı dokusunda ise nispeten daha düşük aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Aebi 1984).

Diabetik ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada (Okutan ve ark. 2005), diabetik grubunun kalp dokusundaki SOD ve CAT enzim aktivitelerinin kontrol ve diabetik+CAPE grubuna oranla yüksek bulunduğu ve kalp dokusu SOD, CAT ve GPx aktiviteleri kontrol, diabetik ve CAPE+diabetik gruplarında sırasıyla 0.060, 0.129, 0.097 U/mg protein; 0.162, 0.289, 0.224 k/g protein; 5.137, 5.137, 6.675 U/g protein olarak bildirilmiştir. SOD ( $P<0.001$ ), CAT ( $P<0.05$ ) ve GPx ( $P<0.001$ ) aktiviteleri üzerine kontrol ve CAPE grubu ile diabetik grup arasında istatistiki olarak önemli farklar meydana gelmiştir. CAPE serbest oksijen radikallerini temizleyerek diabetik ratlarda SOD ve CAT enzim aktivitelerinin yükselmesini önlemektedir.

Patra ve ark.(2001), kurşuna maruz ratlarda yaptıkları bir çalışmada, vitamin C ilavesinin karaciğer ve beyin dokularında CAT aktivitelerini kurşuna maruz kalmayanlara göre; böbrek dokularında ise kurşun grubuna göre önemli derecede yükselttiğini bildirmişlerdir. Yine diabetik ratlar üzerine yapılan bir başka çalışmada (Alıcıgüzel ve ark. 2003), kalp ve böbrek CAT aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bazı araştırmalarda SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitelerinde farklı sonuçlar elde edilmesi farklı hayvan modellerinin kullanılmasına ve kullanılan enzim belirleme metotlarının farklılığı gibi sebeplere bağlanmaktadır (Alıcıgüzel ve ark. 2003). Nitekim soğuk strese maruz kalan ratlar üzerinde CAPE'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Ateş ve ark. 2006), farklı sonuçlar elde edilmiştir. Soğuk strese maruz kalan grubun karaciğer dokusunda SOD, CAT, GPx ve GSH aktivitelerinin önemli düzeyde düştüğü, soğuk stres+CAPE katkılı grupta ise MDA düzeyi düşerken SOD, CAT, GPx ve GSH'ın önemli düzeyde yükseldiği bildirilmiştir. Oksidatif stres altındaki farelerde yapılan bir çalışmada ise % 2 propolis verilen grubun beyin ve plazmasındaki SOD aktivitesinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli oranda düştüğü ve bu sonuçların propolisin antioksidan aktivitesini doğruladığı bildirilmiştir (Ichikawa ve ark. 2002). Dişi ratlarda göğüs kanseri oluşturulan ve tedavi amaçlı propolis verilen bir çalışmadaki (Padmavathi ve ark. 2006),

antioksidan enzim düzeylerine etkiler incelendiğinde meme dokusunda SOD aktivitesinin kanserli grupta kontrol ve propolis katkılı gruplara göre önemli ölçüde düştüğü bildirilmiştir ( $P<0.001$ ).

Oksidatif strese maruz kalan ve antioksidan madde olarak CAPE ve tokoferol kullanılan ratların beyin (Irmak ve ark. 2003) ve kalp dokusundaki (Okutan ve ark. 2005) antioksidan enzim düzeyleri araştırılmış ve kullanılan antioksidan maddenin etkinliğinin dokulara göre değişebileceği, her zaman aynı aktivitenin görülemeyeceği, kan ve dokularda yapılan değerlendirmelerde herhangi bir korelasyondan söz edilemeyeceği görüşü ağırlık kazanmıştır. Mevcut araştırmanın enzim aktivitesi sonuçları, konuyla ilgili yapılan araştırmaların bir kısmı ile (Ichikawa ve ark. 2002, Tatli Seven ve ark. 2008b) uyumlu iken, Patra ve ark.(2001)'nin yaptıkları çalışmayla farklılık göstermektedir. Bu durum oksidatif strese neden olan etkene ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişebilmektedir (Altan ve ark. 2003, Ateş ve ark. 2006). Nitekim Altan ve ark.(2003)'nin sıcaklık stresine maruz kalan Ross ve Cobb broylerler üzerine yaptıkları bir çalışmada Ross etçi piliçlerin kanında antioksidan enzim aktivitelerinin normal gruplara göre stres gruplarında önemli oranda ( $P<0.001$ ) yükseldiği bildirilmiştir. Fakat aynı etkiyi Cobb broylerler üzerinde sadece GPx aktivitesinde belirlerken ( $P<0.05$ ) CAT ve SOD aktivitelerinde önemli bir farklılık tespit edilememiştir ( $P>0.05$ ).

## 6. SONUÇ

Kurşun kaynaklı oksidatif stres, etçi piliçlerin performanslarını olumsuz yönde etkilemiş; vitamin C ve propolis katkısı kurşunun bu olumsuz etkisini engelleyerek etçi piliçlerin performansını iyileştirmiştir.

Oksidatif stres altındaki etçi piliçlerde besin maddelerinin sindirilme dereceleri de olumsuz etkilenmiş; besin maddelerinin sindirilme derecelerindeki düşüş rasyona vitamin C ve propolis katkısı ile kısmen telafi edilmiştir.

Strese bağlı olarak protein sentezinde meydana gelen azalma karkas özelliklerini negatif yönde etkilemiştir. Ancak vitamin C ve propolisin antioksidan etkilerinden kaynaklanan stresi azaltıcı etkisi, kısmen karkas parametreleri üzerine de olumlu etki yapmıştır.

Oksidatif stresin, kan parametrelerinden özellikle trigliserit ve SGOT seviyelerini önemli oranda yükselttiği; vitamin C ve propolisin ise bu parametreleri düşürme eğilimi gösterdiği belirlenmiştir.

Oksidatif stres altındaki etçi piliçlerde SOD, CAT ve GSH aktivitelerinin, hücrel savunma mekanizmasındaki etkinliklerinden dolayı yükseldikleri tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, mevcut katkıların antioksidan enzimlerden SOD aktivitesini önemli oranda düşürdüğü, CAT aktivitesi ile GSH seviyesini ise düşürme eğilimi gösterdiği belirlendi.

Sonuç olarak,

\* Oksidatif stresin olumsuz etkilerinin azaltması ve/veya ortadan kaldırması amacıyla etçi piliç rasyonlarına katılacak propolisin, yaygın olarak kullanılan antioksidan özellikteki vitamin C ile karşılaştırıldığında antioksidan etki yönünden benzer özellikler gösterdiği ve propolisin kurşun kaynaklı oksidatif strese maruz kalan etçi piliçlerin rasyonlarına antioksidan madde olarak kullanımının tavsiye edilebileceği;

\* Daha yüksek düzeylerdeki propolisin daha belirgin antioksidan etki gösterebileceği ve bu amaçla yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Açıköz Z, Yücel B, Altan Ö.** Using Possibilities of Propolis in Broiler Nutrition. XXII World's Poultry Congress. İstanbul, Turkey, 8-13 June 2004, s. 684.
2. **Aebi H.** Catalase *In Vitro*. In: Methods in Enzymology. Ed., B.J. Willam, Academic Press, New York, **1984**, s. 121-126.
3. **Ahamed M, Siddiqui MKJ.** Environmental Lead Toxicity and Nutritional Factors. *Clinical Nutrition*, **2007**, s. 26: 400-408.
4. **Akgül E, İlhan N, Halifeoğlu I, İlhan N, Var A.** Plasma Lipid Peroxide Levels and Antioxidant Enzyme Activities in Type II Diabetics: Relationship With Diabetic Microangiopathic Complications. *Atherosclerosis*, **1997**, s. 130: 9.
5. **Ahıngüzel Y, Özen I, Aslan M, Karayalçın U.** Activities of Xanthine Oxidoreductase and Antioxidant Enzymes in Different Tissues of Diabetic Rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **2003**, s. 142: 172-177.
6. **Altan Ö, Pabuçcuoğlu A, Altan A, Konyalıoğlu S, Bayraktar H.** Effect of Heat Stress on Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Some Stress Parameters in Broilers. *British Poultry Science*, **2003**, s. 44: 545-550.
7. **Anonim.** Tavuk Gövde Eti Parçalama, Ambalajlama, Taşıma ve Muhafazası Kuralları. TS 5890/Nisan, TSE, **1997**, Ankara
8. **AOAC.** Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, **1995**, VA, pp. 4.1-4.17.
9. **Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Niitsu T, Miyao A, Kato K.** Antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in various tissues of diabetic and starved rats. *Diabetes Res*, **1989**, s. 12: 85-91.
10. **Ateş B, Doğru MI, Gül M, Erdoğan A, Doğru AK, Yılmaz I, Yürekli M, Eşrefoğlu M.** Protective Role of Caffeic Acid Phenethyl Ester in The Liver of Rats Exposed to Cold Stress. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **2006**, s. 20: 283-289.
11. **Aydın ŞN.** Mineraloji-Petrografi-Jeokimya ve İnsan Sağlığı Arasındaki Bağlılıklar. *Jeoloji Mühendisliği*, **1989**, s. 34: 18-27.
12. **Bafundo KW, Baker DH, Fitzgerald PR.** Lead Toxicity in The Chick as Affected by Excess Copper and Zinc and by Eimeria Acervulina Infection. *Poult Sci*, **1984**, s. 63:1594-1603.
13. **Bakalli RI, Pesti GM, Ragland WL.** The Magnitude of Lead Toxicity in Broiler Chickens. *Veterinary and Human Toxicology*, **1995**, s.37: 15-19.
14. **Bankova V, Marcucci MC.** Standardization of Propolis, Present Status and Perspectives. *Bee World*, **2000**, s. 81: 182-188.
15. **Berg LR, Nordstrom J0, Ousmithout LE.** The Prevention of Chick Growth Depression due to Dietary Lead by Increased Dietary Calcium and Phosphorus Levels. *Poult. Sci*, **1980**, s.59: 1860-1863.
16. **Biavatti MW, Bellaver MH, Volpato L, Costa C, Bellaver C.** Preliminary Studies of Alternative Feed Additives for Broilers: *Alternanthera Brasiliiana Extract*, Propolis Extract and Linseed Oil. *Rev.Bras.Cienc.Avic.*, **2003**, s.5: 147-151.

17. **Blonska M, Bronikowska J, Pietsz G, Czuba ZP, Scheller S, Krol W.** Effects of Ethanol Extract of Propolis (EEP) and Its Flavones on Inducible Gene Expression in J774A.1 Makrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, **2004**, s.91: 25-30.
18. **Bonomi A, Morletto F, Binachi M.** Propolis in Feeds for Laying Hens. *Avicoltura*, **1976**, s.54: 43-54.
19. **Bonomi A, Bonomi BM, Quarantelli A, Sabbioni A, Superchi P.** The Use of Propolis in Ducks Feeding. *Riv. Sci. Aliment.*, **2002**, s.31: 15-28.
20. **Buettner GR.** The Packing Order of Free Radicals and Antioxidants: Lipid Peroxidation,  $\alpha$ -Tocopherol, and Ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1993**, s.300: 535-543.
21. **Burdock GA.** Review of The Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis. *Food Chem Toxicol*, **1998**, s.36: 347-363.
22. **Cheeseman KH, Slater TF.** An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*, **1993**, s.49: 481-493.
23. **Cocco PL, Cocco E, Anni MS, Flore C, Melis A, Salis S.** Occupational Exposure To Lead and Blood Cholesterol in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficient and Normal Subjects. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, **1991**, s.72: 81-95.
24. **Cocco P, Salis S, Anni M, Cocco ME, Flore C, Ibba A.** Effects of Short-Term Occupational Exposure to Lead on Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity and Serum Cholesterol. *J Appl Toxicol*, **1995**, s.15: 373-378.
25. **Crane E.** Bees and Beekeeping Science Practice and World Resources, Heinemann Professional Publishing Ltd., Oxford, **1990**.
26. **Crane E.** The Plant Resources of Honeybees (first part). *Apiacta*, **1991**, s.26: 57-64.
27. **Cupo MA, Donaldson WE.** Effect of Lead and Niacin on Growth and Serotonin Metabolism in Chicks. *J Nutr*, **1988**, s.118: 107-113.
28. **Çaylak E, Halifeoğlu İ.** Sülfür İçeren Antioksidanların Kurşuna Maruz Kalmış Ratlarda Karaciger, Böbrek ve Beyin Malondialdehit ve Katalaz Düzeylerine Antioksidan Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **2007**, s.27: 1-8.
29. **Denli M, Cankaya S, Silici S, Okan F, Uluocak AN.** Effect of Dietary Addition of Turkish Propolis on the Growth Performance, Carcass Characteristics and Serum Variables of Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *J.Anim.Sci.*, **2005**, s.18: 848-854.
30. **Dhawan M, Kachru DN, Tandon SK.** Influence of Thiamine and Ascorbic Acid Supplementation on The Antidotal Efficacy of Thiol Chelators in Experimental Lead Intoxication. *Archives of Toxicology*, **1988**, s.62: 301-304.
31. **Donaldson WE, Mc Gowan C.** Lead Toxicity in Chickens. Interaction with Toxic Dietary Levels of Selenium. *Biol. Trace Element Res.*, **1989**, s.20: 127-133.
32. **Donaldson WE.** Interactions of Dietary Lead with Fish Oil and Antioxidant in Chicks. *Biol. Trace Elem. Res.*, **1991**, s.31: 215-222.
33. **Dormandy TL.** Free-Radicals Oxidation and Antioxidants. *The Lancet*, **1978**, s.25: 647-650.
34. **Dündar Y, Aslan R.** Yaşamı Kuşatan Ağır Metal Kurşunun Etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **2005**, s.6: 1-5.

35. **Edelstein S, Fullmer CS, Wasserman RH.** Gastrointestinal Absorption of Lead in Chicks: Involvement of The Cholecalciferol Endocrine System. *J. Nutr.*, **1984**, s.114: 692-700.
36. **El-Gazzar RM, El-Hefny SA, Noweir KH, Shamy MY.** Study of The Lipoprotein Pattern Among Workers Exposed to Lead. *J Egypt Public Health Assoc.*, **1989**, s.64: 571-585.
37. **Elliott AJ, Schreiber SA, Thomas G, Pardini RS.** Inhibition of Glutathion Reductase by Flavonoids. A Structure-Activity Study., *Biochem Pharmacol.*, **1992**, s.44: 1603-1608.
38. **Ellman GL.** Tissue Sulphydryl Groups. *Arch Biochem Biophys.*, **1959**, s.82: 70-77.
39. **Erdoğan Z, Erdoğan S, Aksu T, Baytok E.** The Effects of Dietary Lead Exposure and Ascorbic Acid on Performance, Lipid Peroxidation Status and Biochemical Parameters of Broilers. *Turk J. Vet. Anim.Sci.*, **2004**, s.29: 1053-1059.
40. **Erdoğan Z, Erdoğan S, Çelik S, Unlu A.** Effects of Ascorbic Acid on Cadmium-Induced Oxidative Stress and Performance of Broilers. *Biol Trace Elem Res.*, **2005**, s.104: 19-32.
41. **Fearnley J.** Beeswax and Propolis (For Pleasure and Profit). International Bee Research Association, 18 North Road, Cardiff CFI 3DY, 30 p, UK, **1998**.
42. **Flora SJS, Pande M, Mehta A.** Beneficial Effect of Combined Administration of Some Naturally Occurring Antioxidants (Vitamins) and Thiol Chelators in The Treatment of Chronic Lead Intoxication. *Chemico-Biological Interactions*, **2003**, s.145: 267-280.
43. **Foucher D.** La Propolis Et Son Utilisation En Pharmacie. Th Doct, Pharm Clermont-Ferrand, France. **1982**.
44. **Freeman BA, Crapo JD.** Biology of Disease, Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest*, **1982**, s.47: 412-426.
45. **Frei B.** Ascorbic Acid Protects Lipids in Human Plasma and Low-Density Lipoprotein Against Oxidative Damage. *American Journal of Clinical Nutrition*, **1991**, s.54: 1113-1118.
46. **Fuliang HU, Hepburn HR, Xuan H, Chen M, Daya S, Radloff SE.** Effects of Propolis on Blood Glucose, Blood Lipid and Free Radicals in Rats with Diabetes Mellitus. *Pharmacological Research*, **2005**, s.51: 147-152.
47. **Fullmer CS, Rosen JF.** Effect of Dietary Calcium and Lead Status on Intestinal Calcium Absorption. *Environ Res.*, **1990**, s.51: 91-99.
48. **Gatagonova TM.** Characteristics of The Serum Lipids in Workers of Lead Industry. *Med Tr Prom Ekol.*, **1994**, s.12: 17-21.
49. **Gençay Ö, Sorkun K.** Propolis Hakkında Neler Biliyoruz. *Teknik Arıcılık*, **2002a**, s.75: 17-21.
50. **Gençay Ö, Sorkun K.** Propolisin Kullanım Alanları. *Teknik Arıcılık*, **2002b**, s.76: 11-14.
51. **Ghisalberti E.L.** Propolis a Review. *Bee World*, **1979**, 60: 59-84.
52. **Goyer RA, Cherion MG.** Ascorbic Acid and EDTA Treatment of Lead Toxicity in Rats. *Life Sci.*, **1979**, s.24: 433-438.
53. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Protection Against Oxidants in Biological Systems. In: The Superoxide Theory of Oxygen Toxicity. Free radical in biology and medicine. Ed., B. Halliwell and J.M.C. Gutteridge, Clarendon Press, Oxford, USA, **1989**, s. 86-123.

54. **Hami j, Dashti Gh R, Nemat-bakhsh M, Afshar M, Ghaffari HR.** The Relationship Between High Dose Lead Exposure and Serum Lipids and Lipoprotein Levels. *Shiraz E-Medical Journal*, **2006**, s.7: 1-10.
55. **Han SK, Park H.** A study on The Preservation of Meat Products by Natural Propolis, Effect of EEP on Protein Change of Meat Products. *Korean Journal Of Animal Sciences*, **1995**, s.37: 551-557.
56. **Havsteen BH.** The Biochemistry and Medical Significance of The Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, **2002**, s.96: 67-202.
57. **Hayashi K, Nagai Y, Ohtsuka A, Tomita Y.** Effects of Dietary Corticosterone and Trilostane on Growth and Skeletal Muscle Protein Turnover in Broilers Cockerels. *Br. Poult. Sci.*, **1994**, s.35: 789-798.
58. **Hermes-Lima M, Pereira B, Bechara EJ.** Are Free Radicals Involved in Lead Poisoning?. *Xenobiotica*, **1991**, s.21: 1085-1090.
59. **Hoşnuter M, Gürel A, Babuçcu O, Armutçu F, Kargı E, Işıkdemir A.** The Effect of CAPE on Lipid Peroxidation and Nitric Oxide Levels in The Plasma of Rats Following Thermal Injury. *Burns*, **2004**, s.30: 121-125.
60. **Houghton PJ.** Beeswax and Propolis (For Pleasure and Profit). International Bee Research Association, 18 North Road, Cardiff CFI 3DY, UK, **1998**, s.30.
61. **Houston DK, Johnson MA.** Does Vitamin C İntake Protect Against Lead Toxicity?. *Nutr Rev.*, **2000**, s.58: 73-75.
62. **Hsu PC, Hsu CC, Liu MY, Chen LY, Guo YL.** Lead-Induced Changes in Spermatozoa Function and Metabolism. *J Toxicol Environ Health*, **1998**, s.55: 45-64.
63. **Hsu PC, Guo YL.** Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicol*, **2002**, s.180: 33-44.
64. **Huang WC, Juang SW, Liu IM, Chi TC, Cheng JT.** Changes of Superoxide Dismutase Gene Expression and Activity in The Brain of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Neurosci Lett.*, **1999**, s.275: 25-28.
65. **Ichikawa H, Satoh K, Tobe T, Yasuda I, Ushio F, Matsumoto K, Endo K, Ookubo C.** Free Radical Scavenging Activity of Propolis. *Redox Report*, **2002**, s.7: 347-350.
66. **Irmak MK, Fadilloğlu E, Söğüt S, Erdoğan H, Güleç M, Özer M, Yağmurca M, Gözükara ME.** Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester And Alpha-Tocopherol on Reperfusion Injury in Rat Brain. *Cell Biochem Funct.*, **2003**, s.21: 283-289.
67. **Işıklı B, Demir TA, Berber A, Kalyoncu C.** Yol Kenarı Toprak ve Bitkilerinde Kurşun Birikimi. VI Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Adana, Türkiye, 14-18 Nisan 1998, s.414.
68. **Karacaoğlu M.** Propolisin Yapısı ve Kullanımı. *Teknik Arıcılık*, **1997**, s.57: 18-25.
69. **Khan MZ, Szarek J, Krasnodebska-Depta A, Koncicki A.** Effects of Concurrent Administration of Lead and Selenium on Some Haematological and Biochemical Parameters of Broiler Chickens. *Acta Vet Hung.*, **1993**, s.41: 123-137.
70. **Khan MZ, Szarek J, Koncicki A, Krasnodebska-Depta A.** Oral Administration of Monensin and Lead to Broiler Chicks: Effects on Haematological and Biochemical Parameters. *Acta Veterinaria Hungarica.*, **1994**, s.42: 111-120.
71. **Kılınç K.** Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri. *Biyokimya Dergisi*, **1985**, s.10: 60-89.

72. **Kılınç K.** Kanserde Oksijen Radikalleri ve Süperoksit Dismutaz. *Biyokimya Dergisi*, **1986**, s.11: 59-76.
73. **Kitman JL.** The Secret History of Lead. *Nation*, **2000**, s.270: 11-40.
74. **Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B.** Protective Effects of Turkish Propolis on Alcohol-Induced Serum Lipid Changes and Liver Injury in Male Rats. *Food Chemistry*, **2002**, s.78: 213-217.
75. **Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G.** Önemli Bir Arı Ürünü, Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **2002**, s.2: 10-24.
76. **Kutlu HR, Forbes JM.** Changes in Growth and Blood Parameters in Heat-Stressed Broiler Chicks in Response to Dietary Ascorbic Acid. *Livest Product Sci.*, **1993**, s.36: 335-350.
77. **Kutluca S.** Propolis Üretim Yöntemlerinin Koloni Performansı ve Propolisin Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, **2003**.
78. **Lamoureux G, Bourbeau S, Dubais G, Charbonneau R, Gagnon M, Grad BR.** A Rapid Method for Determining Catalase in Human Blood. *Clin.Chim.Acta.*, **1987**, s.167: 105-111.
79. **Latta DM, Donaldson WE.** The Effects of Dietary Methionine and Glycine on Lead Toxicity in Choline-Deficient Chicks. *Biol. Trace Element Res.*, **1986a**, s.10: 129-136.
80. **Latta DM, Donaldson WE.** Lead Toxicity in Chicks: Interactions with Dietary Methionine and Choline. *J. Nutr.*, **1986b**, s.116: 1561-1568.
81. **Laurie D, Kaplowitz DN.** Glutathione Metabolism and Its Role in Hepatotoxicity. *Pharmacol Ther.*, **1991**, s.52: 287-305.
82. **Lauwerys R, Rules H, Bucket JP, Bernad AA, Verhoeven L, Konings J.** The Influence of Orally Administered Vitamin C or Zinc on The Absorption of and Biological Response to Lead. *J Occup Med.*, **1983**, s.22: 567-571.
83. **Lawton LJ, Donaldson WE.** Lead-Induced Tissue Fatty Acid Alterations and Lipid Peroxidation. *Biol. Trace. Elem. Res.*, **1991**, s.28: 83-97.
84. **Leeming TK, Donaldson WE.** Alteration by Dietary Lead of The Nutritional Requirement of The Chick for Methionine. *Nutr. Rep. Int.*, **1985**, s.32: 643-648.
85. **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, **1951**, s.193: 265-275.
86. **Mahmoud KZ, Edens FW, Eisen EJ, Havenstein GB.** Ascorbic Acid Decreases Heat Shock Protein 70 and Plasma Corticosterone Response in Broilers (*Gallus gallus domesticus*) Subjected to Cyclic Heat Stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **2004**, s.137: 35-42.
87. **Maran K.** *Günümüzde Teknik Arıcılık*. Eylül Matbaacılık, Palme Kitabevi, Ankara, 1997, s.190.
88. **Matte TD.** Reducing Blood Lead Levels: Benefits and Strategies. *JAMA*, **1999**, s.281: 2340-2342.
89. **McCord JM.** The Superoxide Free Radical: Its Biochemistry and Pathophysiology. *Surgey*, **1983**, s.94: 412-414.
90. **McKee JS, Harrison PC, Riskowski GL.** Effects of Supplemental Ascorbic Acid on The Energy Conversion of Broiler Chicks During Heat Stress and Feed Withdrawal. *Poult Sci.*, **1997**, s.76: 1278-86.

91. **Meister A.** Glutathione, Ascorbate and Cellular Protection. *Cancer Res.*, **1994**, s.1: 1969-1975.
92. **Mercan U.** Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet. Fak. Derg.*, **2004**, s.15: 91-96.
93. **Metzner J, Bekemeier H, Paintz M, Schneidewind E.** Zur Antimikrobiellen Wirksamkeit von Propolis und Propolisin Halts Stoffen. *Pharmazie*, **1979**, s.34: 97-102.
94. **Miller GD, Massaro TF, Massaro EJ.** Interactions between Lead and Essential Elements: A Review. *Neurotoxicology*, **1990**, s.11: 99-120.
95. **Nakazawa H, Genka C, Fujishima M.** Pathological Aspect of Active Oxygens / Free Radicals. *J of Phsiology*, **1996**, s.46: 15-32.
96. **Nomiyama K, Nomiyama H, Liu SJ, Tao YX, Nomiyama T, Omae K.** Lead Induced Increase of Blood Pressure in Female Lead Workers. *Occup Environ Med.*, **2002**, s.59: 734-738.
97. **NRC.** Nutrient Requirements Of Poultry, 9<sup>th</sup> Rev., ed, National Academy Press, Washington, D.C., **1994**.
98. **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem.*, **1979**, s.95: 351-358.
99. **Okonenko LB, Aidarkhanov BB, Rakhmetova AA, Zhakisheva SSh, Iksymbaeva ZhS** Vitamin E and Propolis as Antioxidants After Excessive Administration of Polyunsaturated Fatty Acids. *Fundam Clin Pharmacol.*, **2006**, s.20: 283-289.
100. **Okutan H, Özçelik N, Ramazan HY, Efkan U.** Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Diabetic Rat Heart. *Clinical Biochemistry.*, **2005**, s.38: 191-196.
101. **Orsollic N, Knezevic AH, Basic I.** Farelerde Yeni Bir Immunomodülatör Potansiyeli Olarak Propolis; Propolisin Suda Çözünen Bir Türevinin (WSDP) Antimetostatik Aktivitesi. *Mellifera*, **2002**, s.2: 7-14.
102. **Ötleş S.** Bal ve Bal Teknolojisi (kimyası ve analizleri), Ege Üniversitesi Alaşehir Meslek Yüksekokulu Yayın No, 2, İzmir, 90. **1995**.
103. **Özçelik D, Dursun Ş, Kahraman R, Kocabağlı N, Alp M.** Broyler Yemine Katılan Toksik Elementlerin Performansa ve Bazı Doku Konsantrasyonlarına Etkisi 1. Kurşun. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, **1999**, s.30: 63-66.
104. **Özçelik D, Toplan S, Darıyerli N, Gülyaşar T, Dursun Ş.** The effect of lead concentration on blood viscosity and erythrocyte osmotic resistance. *Cerrahpaşa J Med.*, **2000**, s.31: 129-133.
105. **Özkök A, Sorkun K.** Apiterapi'de Kullanılan Önemli Arı Ürünlerinden, Bal, Polen ve Propolis. *Teknik Arıcılık*, **2001**, s.72: 4-10.
106. **Özkaya YG, Açar A, Yargıçoğlu P, Hacıoğlu G, Bilmen Sarıkçioğlu S, Özen I, Alıcıgüzel Y.** The Effect of Exercise on Brain Antioxidant Status of Diabetic Rats. *Diabetes Metab.*, **2002**, s.28: 377-384.
107. **Padmavathi R, Senthilnathan P, Codon D, Sakthisekaran D.** Therapeutic Effect of Paclitaxel and Propolis on Lipid Peroxidation and Antioxidant System in 7,12 Dimethyl Benz(a) Anthracene-Induced Breast Cancer in Female Sprague Dawley Rats. *Life Sciences.*, **2006**, s.78: 2820-2825.

108. **Pande M, Flora SJS.** Lead-Induced Oxidative Damage and Its Response To Combined Administration of Lipoic Acid and Succimers In Rats. *Toxicology*, **2002**, s.177: 187-196.
109. **Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK.** Antioxidant Effects of  $\alpha$ -Tocopherol, Ascorbic Acid and L-Methionine on Lead-Induced Oxidative Stress of The Liver, Kidney and Brain in Rats. *Toxicology*, **2001**, s.162: 81–88.
110. **Patra RC, Swarup D.** Effect of Chelation with Calcium Disodium Edta on Haemato-Biochemical and Trace Mineral Profile in Blood from Lead Exposed Calves. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, **2005**, s.18: 1130-1134.
111. **Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC.** Estimation of Product of Lipid Peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in Biochemical Systems. *Anal Biochem.*, **1966**, s.16: 359-364.
112. **Petry H, Rapp W.** Zur Problematik der Chrom-oxidebestimmung in erdauungsversuchen. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde.* **1971**, s.27: 181–189.
113. **Prytyk E, Dantas AP, Salomão K, Pereira AS, Bankova VS, De Castro SL, Aquino Neto FR.** Flavonoids and Trypanocidal Activity of Bulgarian Propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, **2003**, s.88: 189-193.
114. **Ribarov SR, Benov LC.** Relationship between The Hemolytic Action of Heavy Metals and Lipid Peroxidation. *Biochim Biophys Acta*, **1981**, s.640: 721-726.
115. **Rooney BL, Hayes EB, Allen BK, Strutt PJ.** Development of A Screening Total for Prediction of Children at Risk for Lead Exposure in A Midwestern Clinical Setting. *Pediatrics*, **1994**, s.93: 183-187.
116. **Ruparelia SG, Yogendra V, Metha NS, Salyed SR.** Lead-Induced Biochemical Changes in Freshwater Fish Oreochromis Mossombicus. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **1989**, s.43: 310-314.
117. **Schmidt JO, Buchmann SL.** Other Products of The Hive. In: The Hive and The Honey Bee. Ed., J.M. Graham, Dadant and Sons, Hamilton Illinois, USA, **1992**, s.928-977.
118. **Schroeder HA, Balassa JJ.** Influence of Chromium, Cadmium and Lead on Rat Aortic Lipids and Circulating Cholesterol. *Am. J.*, **1965**, s.209: 433-437.
119. **Seven İ, Aksu T, Tatlı Seven P.** Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *YYÜ Vet Fak Derg.*, **2007**, s.18: 79-84.
120. **Shalmany SK, Shivazad M.** The Effect of Diet Propolis Supplementation on Ross Broiler Chicks Performance. *International Journal of Poultry Science*, **2006**, s.5: 84-88.
121. **Simon JA, Hudes ES.** Relationship of Ascorbic Acid to Blood Lead Levels. *JAMA*, **1999**, s.281: 2289-2293.
122. **Sipos P, Szentmihályi K, Fehér E, Abaza M, Szilágyi M.** Some Effects of Lead Contamination on Liver and Gallbladder Bile. *Acta Biologica Szegediensis*, **2003**, s.47: 139-142.
123. **Skoczynska A, Smolik R, Jelen M.** Lipid Abnormalities in Rats Given Small Doses of Lead. *Arch Toxicol.*, **1993**, s.67: 200-204.
124. **SPSS Inc.** SPSS for Windows. Version 11.5, SPSS Inc., USA, **2002**.
125. **Stangaciu S, Stangaciu M.** Apitherapy Principles. *Mellifera*, **2001**, s.1: 64.
126. **Stefano C, Francesco C.** Propolis An Old Remedy Used in Modern Medicine. *Fitoterapia*, **2002**, s.73:1-6

127. **Stone CL, Soares JH.** The Effect of Dietary Selenium Level on Lead Toxicity in The Japanese Quail. *Poult. Sci.*, **1976**, s.55: 341-349.
128. **Sun F, Hayami S, Haruna S, Ogiri Y, Tanaka K, Yamada Y, Ikeda K, Yamada H, Sugimoto H, Kawai N, Kojo S.** In Vivo Antioxidative Activity of Propolis Evaluated by The Interaction with Vitamins C and E and The Level of Lipid Hydroperoxides in Rats. *J Agric Food Chem.*, **2000**, s.48: 1462-1465.
129. **Şahin N, Şahin K.** Optimal Dietary Concentrations of Vitamin C and Chromium Picolinate for Alleviating The Effect of Low Ambient Temperature (6.2°C) on Egg Production, Some Egg Characteristics, and Nutrient Digestibility in Laying Hens. *Vet. Med.-Czech.*, **2001**, s.46: 229-236.
130. **Şahin A, Baylan M, Şahinler N, Gül A.** Propolisin Japon Bıldırcınlarında Besi Performansı ve Karkas Özelliklerine Etkisi. *Uludag Bee Journal*, **2003**, s.3: 42-44.
131. **Şahin K, Şahin N, Küçük O.** Effects of Chromium, and Ascorbic Acid Supplementation on Growth, Carcass Traits, Serum Metabolites, and Antioxidant Status of Broiler Chickens Reared at A High Ambient Temperature (32 °C). *Nutr. Res.*, **2003a**, s.23: 225–238.
132. **Şahin K, Önderci M, Şahin N, Gürsü MF, Khachik F, Küçük O.** Effects of Lycopene Supplementation on Antioxidant Status, Oxidative Stress, Performance and Carcass Characteristics in Heat-Stressed Japanese Quail. *J. Thermal Biol.*, **2006**, s.31: 307-312.
133. **Tarugi P, Calandra S, Borella P, Vivoli GF.** Effect of Lead Intoxication on Rabbit Plasma Lipoproteins. *Atherosclerosis*, **1982**, s.45: 221-234.
134. **Tatlı Seven P.** Effects of Selenium and Vitamin C Supplemented High Energy Diet on Physical Performance, Nutrient Retention and Relative Organ Weights In Cold Stressed Broilers (15°C). International Symposium on Selenium In Health And Disease. Ankara, Turkey, October 12-13 2006, s.45.
135. **Tatlı Seven P, Yılmaz S, Seven İ, Dalkılıç B.** Effects of Dietary Supplementation of Antioxidants (Selenium and Vitamin C), Triiodothyronine (T<sub>3</sub>) Hormone and Iodine on Biochemical Parameters and Antioxidant Enzyme Activities in Cold Stressed Broilers (15°C), International Symposium on Selenium in Health and Disease. Ankara, Turkey, October 12-13 2006, s.44.
136. **Tatlı Seven P, Çerçi İH, Azman MA, Yılmaz S, Seven İ, Yılmaz M.** Sıcaklık Stresi Altındaki Etlik Piliçlerde Antioksidan Etkili Propolisin Yem Tüketimi, Yemden Yararlanma, Canlı Ağırlık Artışı ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi. **2007.** VHAG (104V045) Sonuç Raporu, TÜBİTAK.
137. **Tatlı Seven P.** The Effects of Dietary Turkish Propolis and Vitamin C on Performance, Digestibility, Egg Production and Egg Quality in Laying Hens Under Different Environmental Temperatures. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **2008**, 21: 1164-1170.
138. **Tatlı Seven P, Seven İ.** The Effects of Dietary Turkish Propolis as Alternative to Antibiotic on Performance and Digestibility in Broilers Exposed to Heat Stress. *Journal of Applied Animal Research.* (Makale basımda), **2008**.
139. **Tatlı Seven P, Seven İ, Yılmaz M, Şimşek G.** The Effects of Turkish Propolis on Growth and Carcass Characteristics in Broilers Under Heat Stress. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **2008a**, s.146:137-148.
140. **Tatlı Seven P, Yılmaz S, Seven İ, Dalkılıç B.** Responses of Broilers to Triiodothyronine Hormone and Iodine Supplements in Cold Environment (15°C). *Indian Veterinary Journal* (Makale basımda), **2008b**.



141. **Tekeli A.** Etlik Cıvciv Rasyonlarında Doğal Büyüme Uyarıcı Olarak Bitkisel Ekstraktların ve Propolisin Kullanım Olanakları. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2007**.
142. **Tulasi SJ, Reddy PUM, Ramana Rao JS.** Accumulation of Lead And Effects on Total Lipids and Lipid Derivatives in The Freshwater Fish *Anabas testudineus*. *Ecotoxicol Environ Safety*, **1992**, s.23: 33-38.
143. **Tutkun E.** *Teknik Arıcılık El Kitabı*, Türkiye Kalkınma Vakfı Yayın No:6, Ankara, **2000**, s.235.
144. **Tutkun E.** Bal Arısı Ürünlerinin İnsan Sağlığındaki Önemi. *Teknik Arıcılık*, **2002**, s.75: 11-16.
145. **Valle ML.** Quantitative Determination of Antibacterian Capacities of Propolis. *Apiacta*, **2000**, s.35: 152-161.
146. **Vij AG, Satija NK, Flora SJ.** Lead-Induced Disorders in Hematopoietic and Drug Metabolizing Enzyme System and Their Protection by Ascorbic Acid Supplementation. *Biomed Environ Sci.*, **1998**, s.11: 7-14.
147. **Walker P, Crane E.** Constituents Propolis. *Apidologie*, **1987**, s.18: 327-334.
148. **Wang BJ, Lien YH, Yu ZR.** Supercritical Fluid Extractive Fractionation–Study of The Antioxidant Activities of Propolis. *Food Chemistry*, **2003**, s.86: 237-243.
149. **Warren MJ, Cooper JB, Wood SP, Shoolingin-Jordan PM.** Lead Poisoning, Haem Synthesis and 5-Aminolaevulinic Acid Dehydratase. *Trends Biochem Sci.*, **1998**, s.23: 217-221.
150. **WHO.** Major Poisoning episodes from environmental chemicals. Geneva, 3-15. **1992**.
151. **Wilson RL.** Peroxy Free Radicals and Enzyme Inactivation in Radiation Injury and Oxygen Toxicity, Protection by Superoxide Dismutase and Antioxidants. *The Lancet*, **1984**, s.7: 804.
152. **Wittmann M, Kirchgessner M, Roth F.** Self-Selection of Lead Supplemented Diets by Broilers. 4. Importance of Experience on Subsequent Feed Selection. *Arch. Geflügelk.*, **1994a**, s.58: 156-161.
153. **Wittmann M, Roth F, Kirchgessner M.** Self-Selection of Lead Supplemented Diets by Broilers. 1. Effect of Lead on Performance of Broilers. *Arch. Geflügelk.*, **1994b**, s.58: 38-45.
154. **Wohaieb AS, Godin DV.** Alterations in Free Radical Tissue-Defence Mechanisms in Streptozocin-Induced Diabetes in Rat. Effects of Insulin Treatment. *Diabetes.*, **1987**, s.36: 1014-1018.
155. **Woisky RG, Salatino A.** Analysis of Propolis, Some Parameters and Procedures for Chemical Quality Control. *Journal of Apicultural Research*, **1998**, s.37: 99-105.
156. **Wongsiri S, Chanchao C, Deowanish S, Aemprapa S, Chaiyawong T, Petersen S, Leepitakrat S.** Honey Bee Diversity and Beekeeping in Thailand. *Bee World*, **2000**, s.81: 20-29.
157. **Yagminas AP, Franklin CA, Villeneuve DC, Gilman AP, Little PB, Valli VEO.** Subchronic Oral Toxicity of Triethyl Lead in The Male Weanling Rat. Clinical, Biochemical, Hematological and Histopathological Effects. *Fundam Appl Toxicol.*, **1990**, s.15: 580-596.
158. **Yapıcı G, Can G, Şahin Ü.** Çocuklarda Asemptomatik Kurşun Zehirlenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Derg.*, **2002**, s.33: 197-204.
159. **Yaldır Ş, Sokullu P.** Çevredeki Kurşun ve Alüminyum Metallerinin Verdiği Zararlardan Sağlıklı Beslenerek Kurtulabilir miyiz?. Erişim: [http://www.inepo.com/onaylanan\\_ogrenci\\_form.asp?id=157](http://www.inepo.com/onaylanan_ogrenci_form.asp?id=157). **2008**. Erişim tarihi: 18.10.2008.

160. **Yıldırım O, Büyükbingöl Z.** Effect of Cobalt on The Oxidative Status in Heart and Aorta of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Cell Biochem Funct.*, **2003**, s.21: 27-33.
161. **Yılmaz S, Bahçeciöglu IH.** Karbontetraklorür ile Siroz Oluşturulmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzim ve Pirüvat Kinaz Aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci.*, **2000**, s.24: 25-28.
162. **Yousef MI, Awad TI, Mohamed EH.** Deltamethrin-Induced Oxidative Damage and Biochemical Alterations in Rat and Its Attenuation by Vitamin E. *Toxicology.*, **2006**, s.227: 240-247.
163. **Yüreğir G.** Temel ve Klinik Biyokimyada ileri teknoloji yöntemleri. A. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi yayını. Adana, **1995**, s.1-23.
164. **Zaidi SM, Al-Qirim TM, Banu N.** Effects of Antioxidant Vitamins on Glutathione Depletion and Lipid Peroxidation Induced by Restraint Stress in The Rat Liver. *Drugs in R&D.*, **2005**, s.6: 157-165.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

25.05.1975 yılında Elazığ ili Maden ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Maden ilçesinde, lise öğrenimini ise Elazığ Gazi Endüstri Meslek Lisesi Kimya Bölümünde tamamladı. 1992–94 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tekirdağ MYO Fermente Ürünler bölümünde okudu. 1995–99 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümünde okudu. 2000–03 yılları arasında ise aynı üniversitenin Zootekni AD'da yüksek lisansını yaptı. 2004 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD'da Doktora eğitimine başladı.

1999 yılından bu yana Fırat Üniversitesi Sivrice MYO'da Öğretim Görevlisi olarak görev yapmakta olup, evli ve iki çocuk babasıdır.