



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2024; 38 (3): 252 - 258  
http://www.fusabil.org

Burak KARABULUT <sup>1, a</sup>  
Eren ÇANKAYA <sup>1, b</sup>  
Canan AKDENİZ İNCİLİ <sup>1, c</sup>  
Ülkü Gülcihan ŞİMŞEK <sup>2, d</sup>  
Sultan ASLAN <sup>3, e</sup>  
Mine ERIŞİR <sup>4, f</sup>  
Merve  
KAHRAMANOĞULLARI <sup>4, g</sup>  
Hatice ERÖKSÜZ <sup>1, h</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Patoloji Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Zootečni Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Zootečni Ana Bilim Dalı,  
İzmir, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-4907-6159

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0003-3456-398X

<sup>c</sup> ORCID: 0000-0003-1893-7531

<sup>d</sup> ORCID: 0000-0003-2871-3005

<sup>e</sup> ORCID: 0000-0001-8480-1515

<sup>f</sup> ORCID: 0000-0001-6209-4792

<sup>g</sup> ORCID: 0000-0002-5283-829X

<sup>h</sup> ORCID: 0000-0002-8407-5792

Geliş Tarihi : 13.09.2024  
Kabul Tarihi : 17.10.2024

### Yazışma Adresi Correspondence

Burak KARABULUT  
Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Patoloji Ana Bilim Dalı  
Elazığ – TÜRKİYE

bkarabulut@firat.edu.tr

## Japon Bildircinlerinde (*Coturnix coturnix japonica*) Yeme Farklı Oranlarda İlave Edilen Borun Lenfoid Organlar Üzerindeki Etkileri

Borun canlılarda biyolojik işlevleri olduğu, uygun dozlarda kullanıldığında olumlu etkiler yaratabileceği, ancak yüksek dozlarda toksik etkiler gösterebileceği bilinmektedir. Çalışmada bildircin yemlerine farklı dozlarda bor ilavesinin lenfoid organlar üzerindeki makroskobik, mikroskobik ve antioksidan seviyeleri üzerine etkilerini incelemek amaçlandı. Çalışmada toplam 100 Japon Bildircini kullanılarak, Grup I; Kontrol borik asit (BA): 0 mg/kg, Grup II; yeme 100 mg/kg BA, Grup III; yeme 300 mg/kg BA, Grup IV; yeme 500 mg/kg BA olacak şekilde gruplandırma yapıldı. Birinci haftadan itibaren her hafta her gruptan rastgele 5 bildircin seçilerek, toplamda 20 bildircin ötenazi edildi. Kan örnekleri alınarak, glutatyon, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz ve malondialdehit seviyelerine spektrofotometrik yöntemle bakıldı. Ötenazi sonrası lenfoid organlar alınarak tartımları yapıldı ve formalin solüsyonuna alındı. Kan analizlerinde gruplar arasında sadece glutatyon peroksidaz seviyesinin Yem 300 grubunda anlamlı şekilde arttığı görüldü ( $p<0.001$ ). Lenfoid organ ağırlık ölçümlerinde; dalak, timus ve Bursa Fabricius'un ilk 4 haftada kontrol ve bor katkısı ilave gruplarında artış gösterdiği, 5. haftada ise değişim olmadığı (dalak) ya da azalma (timus ve bursa) gösterdiği, ilk 4 haftadaki artışın ise tüm gruplarda benzer şekilde olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ). Histopatolojik incelemede kontrol ve bor ilave gruplarının lenfoid organlarında patolojiye rastlanmadı. Tüm gruplarda bazı hayvanlarda hafif lenfoid deplesyonlara rastlansa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak bor katkısının bildircinlerde glutatyon peroksidaz seviyelerini artırarak antioksidan aktiveye katkıda bulunabileceği, verilen dozlarda lenfoid organ patolojisine yol açmadığı ancak bu organ ağırlıkları üzerinde de bir etkinlik göstermediği görülmüştür. Bu bulgular, borun lenfoid sistem üzerine olan etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Japon bildircini, bor, lenfoid organlar

### Effects of Boron Added to Feed in Different Rates on Lymphoid Organs in Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*)

It is known that boron has various biological functions in plants and animals, and can have positive effects when used in appropriate doses, but can have toxic effects in high doses. In this study, it was aimed to examine the effects of different doses of boron addition to quail feed on macroscopic, microscopic and antioxidant and oxidant levels on lymphoid organs. A total of 100 Japanese Quails were used in the study, and the groups were; Group I; Control (Boric acid (BA): 0 mg/Kg), Group II; feed 100 mg/Kg BA, Group III; feed 300 mg/Kg BA, Group IV; feed 500 mg/Kg BA. Starting from the first week, 5 quails were randomly selected from each group and a total of 20 quails were euthanized. Blood samples were taken and glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, and malondialdehyde levels were measured by spectrophotometric method. After euthanasia, lymphoid organs were taken, weighed, and placed in a 10% formalin solution. In blood analysis, it was seen that among the groups, only the glutathione peroxidase level increased significantly in the Feed 300 group ( $p<0.001$ ). In lymphoid organ weight measurements; spleen, thymus and Bursa Fabricius increased in the control and boron supplement groups in the first 4 weeks, showed no change (spleen) or decreased (thymus and bursa) in the 5th week, and the increase in the first 4 weeks was similar in all groups and was statistically significant. It was found to be not significant ( $p>0.05$ ). In the histopathological examination, no pathology was found in the lymphoid organs of the control and boron supplement groups. Although mild lymphoid depletions were observed in some animals in all groups, it was not statistically significant ( $p>0.05$ ). As a result, it was concluded that boron supplementation could contribute to antioxidant activity by increasing glutathione peroxidase levels in quails, and did not cause lymphoid organ pathology at the given doses, but did not show any effect on these organ weights. These findings indicate that the effects of boron on the lymphoid system need to be further investigated.

**Key Words:** Japanese quail, boron, lymphoid organs

### Giriş

Bor, periyodik tablonun beşinci elementi olup, B harfi ile gösterilir. Grup IIIA elementleri arasında tek ametaldir ancak metal ve ametaller arasında bir karakter gösterir (1). Bor doğada yaygındır, topraklarda, kayalarda ve yüzey ile okyanus sularında borik asit ve inorganik boratlar şeklinde bulunur ve 1923 yılında tüm damarlı bitkiler için gerekli bir besin maddesi olarak kabul edilmiştir (2). Bazı veriler, borun bitkilerdeki esas işlevinin birincil hücre duvarlarında olduğunu ve burada pektik polisakarit rhamnogalakturonan-II (RG-II) ile çapraz bağlar oluşturduğunu göstermiştir.

RG-II, duvar polisakarit yapısının evrimsel korunmasının uç bir örneğini temsil eden küçük, yapısal olarak karmaşık polisakaritlerdir (3). Borun insan ve hayvan diyetlerine eklendiğinde faydalı olabileceğine dair kanıtlar biriktirmektedir (1). Örneğin, borun bazı metabolik süreçler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu, koroner kalp hastalığı, artrit ve osteoporoz hastalıklarının patogeneğinde yer aldığı (4) tavuk, domuz ve sıçan gibi hayvanların metabolik parametrelerini etkilediği bildirilmiştir (1, 5-12). Borun ayrıca, kemik metabolizmasında önemli olan kalsiyum, vitamin D ve magnezyum ile etkileşimde bulunmakla birlikte, hücre zarının fonksiyonunda veya stabilitesinde rol oynadığını ve hormon etkisine, transmembran sinyalizasyonuna veya düzenleyici kationların veya anyonların transmembran hareketine etkide bulunabileceğini öne sürülmüştür (13). Borun yüksek dozlarının toksik etkili olduğu bildirilmiştir (14, 15). Yüksek dozda bora maruz kalan sıçanlarda testis atrofi ve sperm inhibisyonu görüldüğü (14), içme suyuna 400 mg/L bor eklenmesinin, Gushi tavuklarında bağırsak villuslarının gelişimini inhibe ettiği ortaya konmuştur (15). Yukarıdaki çalışmalar yüksek dozda borun üreme ve sindirim organlarına zarar verebileceğini göstermiştir, ancak uygun miktarda bor ilavesi, hayvanların fizyolojik fonksiyonları üzerinde olumlu etkiler üretebilir. Güncel araştırmalar, uygun miktarda borun memeli makrofaj kültürlerinde F-reseptör ekspresyonunu ve interleükin-6 üretimini artırdığını doğrulamıştır. Ayrıca, bor ilavesinin stres veya hastalık koşullarında tümör nekroz faktörü- $\alpha$  ve interferon- $\gamma$  üretimini artırarak sitokin üretimini etkileyebileceği belirtilmiştir (7). Ayrıca, uygun dozlarda bor ilavesi broylerin performansını ve bağırsaklık fonksiyonunu iyileştirebileceği ve deve kuşu civcivlerinin kemik gelişimini aktive edebileceği de görülmüştür (11, 16). Özdemir ve ark. (17), yeme 50 mg/kg borik asit ilavesinin bildircinlerin yem tüketimini ve karkastaki göğüs oranını düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Yıldız ve ark. (18) etlik piliçlerin büyüme periyotlarının farklı dönemlerinde yeme 60 mg/kg borik asit ilave ederek yaptıkları başka bir araştırmada, yeme katılan borik asidin piliçlerin performansını ve karkas özelliklerini etkilemediği, kemik kalsiyum ve fosfor depolarını önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Jin ve ark. (19) içme suyuna eklenen farklı dozda borun Gushi tavuklarının büyüme performansı, ağırlığı ve bağırsaklık organlarının mikroskopileri üzerinde olumlu etkilerini tespit etmişlerdir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ile borun kanatlı hayvanlarda toksik etkileri olabileceği ancak faydalı dozlarının da yem katkı maddesi olabileceği konusunda doz ayarlamalarının önemine ve detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğuna dikkat çekilmiştir.

Bu çalışma ile yumurtacı ve etçi özelliği ile dünyada kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan bildircinlerde yeme farklı dozlarda ilave edilen borik asidin lenfoid organlardaki (dalak, timus, Bursa Fabricius) makro, mikro yapısal etkilerini ve kandaki antioksidan parametrelere etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

**Araştırma ve Yayın Etiği:** Bu çalışma için Tarım ve Orman Bakanlığı, Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 06.03.2020 tarih ve 2020/01 sayılı etik kurul izni alınmıştır.

**Hayvan Denevi:** Çalışmada toplam 100 Japon bildircini kullanıldı. Her gruba ait 25 bildircin, her katta 3 bölme bulunan ve başlangıç vücut ağırlıklarına göre 4 tekrarlı alt bölümlere ayrılan 5 katlı plastik kafeslere yerleştirildi. Grup I; Kontrol (Borik asit: 0 mg/Kg), Grup II; yeme 100 mg/kg borik asit (Y100 grubu), Grup III; yeme 300 mg/kg borik asit (Y300 grubu), Grup IV; yeme 500 mg/kg borik asit (Y500 grubu) olacak şekilde gruplandırma yapıldı (Borik Asit: Tekkim Kimya, Türkiye). Bildircinler, optimum sıcaklıkta (18-21°C) ve nemde (%50-55), çevre kontrollü odada 35 gün boyunca yetiştirildi. Bildircinlere deneme süresince soya unu ve mısır bazlı etlik piliç yemi (Kuru madde: %88, ham protein: %23, ham selüloz: %6, ham kül: %8, metabolik enerji: 3100 kcal/kg) verildi. Yem ve taze su ad libitum olarak sağlandı. Aydınlatma programı 23 saat aydınlık / 1 saat karanlık/gün olarak uygulandı. Her hafta, her gruptan rastgele 5, toplamda 20 bildircininin kesim işlemleri gerçekleştirildi, 5. hafta sonunda deney sonlandırıldı. Kesim sırasında bildircinlerin juguler ven ve arterleri kesilerek kanları ETDA'lı tüplere alındı. Sistemik nekropsi ile lenfoid organlar (timus, dalak ve Bursa Fabricus) çıkarıldı, tartıldı ve %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna alındı.

**Biyokimyasal Analizler:** Kan analizleri için spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon (GSH) tayini için tam kan ayırıldıktan sonra artan kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkartıldı ve malondialdehit (MDA) tayini için kullanıldı. Geride kalan eritrosit paketi %0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkandıktan sonra katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) tayininde kullanıldı. MDA düzeyi Placer ve ark. (20)'nin yöntemine göre, GSH düzeyi Chavan ve ark. (21)'nin yöntemine göre tayin edildi. GSH-Px aktivitesini ölçmek için Lawrence ve ark. (22)'nin metodu, KAT aktivitesi için Goth (23) metodu, SOD aktivitesi için Sun ve Oberley (24) metodu kullanıldı.

**Histopatolojik İnceleme:** Rutin doku takip ve parafin bloklama işlemlerinden sonra rotary mikrotom (Leica RM2125 Wetzlar, Almanya) ile 3-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, Leica Autostainer XL (Wetzlar, Almanya) otomatik doku boyama makinasında hematoksilin-eosin boyama yöntemiyle boyandı ve normal ışık mikroskopunda (Olympus BX43, Tokyo, Japonya) incelendi. Histopatolojik değişiklikler incelenirken, Aguanta ve ark. (25)'nin skorlama yöntemi kullanıldı ve kullanılan skorlama yöntemi Tablo 1'de verildi.

**İstatistiksel Analiz:** İncelenen parametrelere normallik analizi (Shapiro-Wilk test) yapıldıktan sonra, lenfoid organ ağırlıkları ve oksidatif stres parametrelerine ait analizler 4 grup (Grup I-IV) ve 5 hafta (Hafta 1-5) olacak şekilde faktöriyel deneme düzeninde Genel Linear Model (GLM) prosedürü kullanılarak yapıldı. Çoklu karşılaştırmalarda Tukey-HSD testinden yararlandı. Histopatolojik parametrelerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis-H testi kullanıldı ve veriler grafik olarak sunuldu (Şekil 4). Verilere ait başlıca etkiler ve

interaksiyonlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi. Analizler SPSS paket programı (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0) kullanılarak yapıldı. Ortalamalar arasındaki farklılıklar  $p < 0.05$  olduğunda anlamlı olarak değerlendirildi.

**Tablo 1.** Histopatolojik skorlama yöntemi (25)

Skor	Bursa Fabricius	Timus	Dalak
<b>Skor 0</b>	-	Kortikal bölgede normal kalınlık	Normal seviyelerde lenfoid doku varlığı
<b>Skor 1</b>	%0-10 arası lenfoid deplezyon	Kortikal bölgede hafif lenfoid deplezyon	Parankim boyunca hafif lenfoid deplezyon
<b>Skor 2</b>	%10-30 arası lenfoid deplezyon ve kortikal lenfoid dokuda hafif varyasyon	Kortikal bölgede orta şiddette lenfoid deplezyon	Parankim boyunca orta şiddette lenfoid deplezyon
<b>Skor 3</b>	%30-70 arası lenfoid deplezyon, kortikal lenfoid dokuda orta şiddette varyasyon ve medullada foliküller arası stromada artış	Kortikal bölgede şiddetli lenfoid deplezyon	-

## Bulgular

**Biyokimyasal Parametreler:** Araştırma gruplarına ait oksidatif stres parametreleri Tablo 2' de verilmiştir. Rasyona ilave edilen borik asit GSH-Px enzim aktivitesini önemli şekilde artırmıştır. En yüksek enzim aktivitesi Y300 grubunda tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). MDA, GSH düzeyi ile SOD ve KAT enzim aktivitesi gruplar arasında benzer tespit edilmiştir. Bildircinlarda haftalık olarak ilerleyen yaş ile birlikte MDA düzeyi önemli şekilde düşmüş, 5. hafta hafif bir artış tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). GSH seviyesi 5. hafta önemli şekilde artmıştır ( $p < 0.001$ ). SOD aktivitesi ilk haftalar yüksek tespit edilmiş, sonraki haftalar önemli şekilde düşmüştür ( $p < 0.001$ ). KAT aktivitesi 5. hafta önemli ölçüde düşmüştür ( $p < 0.01$ ). GSH-Px aktivitesi yaş grupları arasında benzer tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ). İnteraksiyonlara ait veriler değerlendirildiğinde, MDA, GSH düzeylerinde katkı

grupları ile bildircin yaşları arasındaki interaksiyonlar önemli tespit edilmişlerdir ( $p < 0.001$ ). Kontrol ve Y100 gruplarında artan yaş ile birlikte MDA düzeyi düşerken, Y300 ve Y500 gruplarında ilk dört hafta MDA düzeyi düşmüş, 5. hafta tekrar artmıştır ( $p < 0.001$ ). GSH düzeyi Kontrol, Y300 ve Y500 gruplarında ilk dört hafta benzer bulunmuş, son hafta yükselmiştir. Y100 grubunda üçüncü hafta yüksek bulunmuş, 2 ve 4. haftalar düşmüştür ( $p < 0.001$ ).

**Lenfoid Organ Ağırlıkları:** Araştırma gruplarında dalak, timus ve Bursa Fabricius dokularının ağırlıkları Tablo 3' de verilmiştir. Araştırmanın, Kontrol, Y100, Y300 ve Y500 gruplarına ait ağırlık değerleri incelendiğinde, rasyona ilave edilen borik asit düzeyine paralel olarak lenfoid dokuların ağırlıklarındaki artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Farklı haftalardaki lenfoid organların ağırlıkları göz önüne alındığında, ilk üç hafta süresince dalak ağırlığının önemli düzeyde arttığı ( $p < 0.001$ ), dördüncü ve beşinci haftalarda ağırlığın değişmediği tespit edilmiştir. Timus ağırlığı ilk dört hafta süresince artmış, beşinci hafta tekrar düşmüştür ( $p < 0.001$ ). Bursa Fabricius ağırlığı yine ilk dört hafta önemli düzeyde yükselmiş ( $p < 0.001$ ), son hafta önemsiz bir düşüş tespit edilmiştir. Araştırma gruplarının timus ağırlığı üzerine olan interaksiyonu önemli tespit edilmesine rağmen ( $p < 0.05$ ), dalak ve Bursa Fabricius ağırlıkları üzerine olan interaksiyonlar önemsiz hesaplanmıştır ( $p > 0.05$ ). Kontrol ve Y300 gruplarında ilk üç hafta timus ağırlığı önemli ölçüde yükselirken, dördüncü ve beşinci hafta değişmemiştir. Y100 ve Y500 gruplarında ilk dört hafta timus ağırlığı önemli ölçüde artarken, beşinci hafta düşüş tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

**Histopatolojik Bulgular:** Lenfoid organların histopatolojik inceleme görüntüleri Şekil 1, 2 ve 3' te verilmiştir. Farklı katkı grupları ve bildircin yaşlarının dalak, timus ve Bursa Fabricius dokularının histopatolojik skorlarına ait ortalamalar Şekil 4' te sunulmuştur. Bursa fabricius dokusunda lenfoid deplezyon, kortikal lenfoid dokuda varyasyon ve medullada foliküller arası stroma artışı borik asit dozundaki artışa bağlı olarak hafif olarak azalmış, bu dokudaki gruplar arası farklılıklar anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Aynı şekilde timus dokusundaki doza bağlı artan deplezyon istatistiki olarak önemli çıkmamıştır ( $p > 0.05$ ). Dalak dokusunda borik asit dozuna bağlı olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Bildircinlarda yaşa bağlı olarak bursa, timus ve dalak dokularına ait histopatolojik değişikliklerin şiddetinde anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 2.** Bildircin yemine farklı dozlarda borik asit ilavesinin farklı haftalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi

	MDA	GSH	GSH-Px	SOD	KAT
<b>Yem katkısının (bor) etkisi (YK)</b>					
Kontrol (Y0)	1.113	0.570	12.002 <sup>b</sup>	61.126	31.078
Y100	1.209	0.632	13.035 <sup>ab</sup>	61.512	27.781
Y300	1.132	0.756	14.689 <sup>a</sup>	64.262	30.692
Y500	1.265	0.671	12.959 <sup>ab</sup>	64.970	34.027
<b>Haftalık değişim (H)</b>					
1. hafta	1.426 <sup>a</sup>	0.501 <sup>bc</sup>	12.179	66.497 <sup>a</sup>	27.847 <sup>ab</sup>
2. hafta	1.469 <sup>a</sup>	0.517 <sup>bc</sup>	13.904	67.103 <sup>a</sup>	31.822 <sup>ab</sup>
3. hafta	0.844 <sup>b</sup>	0.708 <sup>b</sup>	13.390	65.747 <sup>a</sup>	34.882 <sup>a</sup>
4. hafta	1.005 <sup>b</sup>	0.434 <sup>c</sup>	13.729	56.727 <sup>b</sup>	34.671 <sup>a</sup>
5. hafta	1.150 <sup>ab</sup>	1.092 <sup>a</sup>	12.655	58.763 <sup>ab</sup>	25.251 <sup>b</sup>
<b>Yem katkısının (bor) haftalara göre etkileşimi YK x H</b>					
Kontrol - 1. hafta	1.517 <sup>a</sup>	0.381 <sup>c</sup>	11.235	68.490	24.733
Kontrol - 2. hafta	1.403 <sup>a</sup>	0.472 <sup>bc</sup>	9.834	60.666	34.490
Kontrol - 3. hafta	1.089 <sup>b</sup>	0.560 <sup>b</sup>	11.793	54.500	35.945
Kontrol - 4. hafta	0.588 <sup>c</sup>	0.546 <sup>b</sup>	14.398	64.043	38.680
Kontrol - 5. hafta	0.862 <sup>c</sup>	0.872 <sup>a</sup>	12.752	57.929	21.543
Y100 - 1. hafta	1.467 <sup>A</sup>	0.621 <sup>AB</sup>	11.168	60.466	24.236
Y100 - 2. hafta	1.574 <sup>A</sup>	0.490 <sup>B</sup>	15.933	74.359	29.447
Y100 - 3. hafta	1.125 <sup>AB</sup>	0.921 <sup>A</sup>	12.572	51.298	26.969
Y100 - 4. hafta	0.954 <sup>B</sup>	0.424 <sup>B</sup>	13.439	63.600	33.530
Y100 - 5. hafta	0.926 <sup>B</sup>	0.677 <sup>AB</sup>	12.062	57.837	24.723
Y300 - 1. hafta	1.254 <sup>xy</sup>	0.556 <sup>y</sup>	13.795	64.184	27.778
Y300 - 2. hafta	1.531 <sup>x</sup>	0.618 <sup>y</sup>	15.582	66.798	26.786
Y300 - 3. hafta	0.541 <sup>y</sup>	0.799 <sup>xy</sup>	16.082	62.100	39.095
Y300 - 4. hafta	0.876 <sup>y</sup>	0.403 <sup>y</sup>	13.756	72.686	37.208
Y300 - 5. hafta	1.460 <sup>x</sup>	1.488 <sup>x</sup>	14.231	55.540	22.596
Y500 - 1. hafta	1.467 <sup>X</sup>	0.445 <sup>Y</sup>	12.519	72.847	34.640
Y500 - 2. hafta	1.367 <sup>X</sup>	0.474 <sup>Y</sup>	14.266	66.590	36.567
Y500 - 3. hafta	0.619 <sup>Y</sup>	0.551 <sup>Y</sup>	13.112	59.009	37.518
Y500 - 4. hafta	0.517 <sup>Y</sup>	0.330 <sup>Y</sup>	13.321	62.661	29.268
Y500 - 5. hafta	1.353 <sup>X</sup>	1.488 <sup>X</sup>	11.576	63.745	32.142
<b>SH</b>	0.043	0.037	0.264	0.109	0.979
<b>p değeri</b>					
Grup	0.192	0.070	<b>&lt;0.001</b>	0.436	0.113
Hafta	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.104	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>
G x H	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.064	0.291	0.255

**Y100:** Yeme 100 mg/kg borik asit katkısı, **Y300:** Yeme 300 mg/kg borik asit katkısı, **Y500:** Yeme 500 mg/kg borik asit katkısı,

**SH:** Standart Hata,  $p \leq 0.05$  istatistiksel olarak anlamlıdır.

**a,b,c,d:** Katkıların ve haftaların temel etkilerinde, aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklar anlamlıdır.

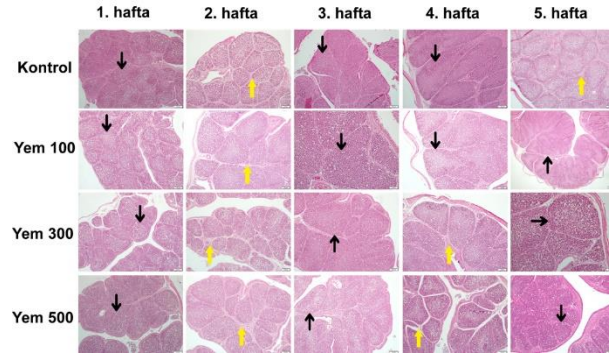
**a,b,A,B,C,x,y,X,Y,Z:** Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen interaksiyonlar (**YK x H**) arasındaki farklar anlamlıdır.

**Tablo 3.** Farklı dozlarda borik asit takviyesinin bildircin yemine eklenmesinin lenfoid organ ağırlıkları üzerindeki etkisi (farklı haftalarda)

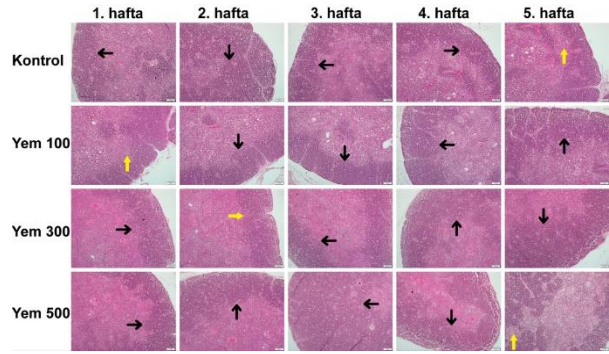
	Dalak	Timus	Bursa Fabricius
<b>Yem katkısının (bor) etkisi (YK)</b>			
Kontrol (Y0)	0.074	0.277	0.132
Y100	0.079	0.294	0.139
Y300	0.087	0.282	0.142
Y500	0.087	0.334	0.144
<b>Haftalık değişim (H)</b>			
1. hafta	0.036 <sup>c</sup>	0.110 <sup>c</sup>	0.071 <sup>d</sup>
2. hafta	0.065 <sup>b</sup>	0.196 <sup>c</sup>	0.107 <sup>cd</sup>
3. hafta	0.103 <sup>a</sup>	0.337 <sup>b</sup>	0.143 <sup>bc</sup>
4. hafta	0.100 <sup>a</sup>	0.478 <sup>a</sup>	0.199 <sup>a</sup>
5. hafta	0.106 <sup>a</sup>	0.363 <sup>b</sup>	0.177 <sup>ab</sup>
<b>Yem katkısının (bor) haftalara göre etkileşimi YK x H</b>			
Kontrol – 1. hafta	0.032	0.044 <sup>b</sup>	0.062
Kontrol – 2. hafta	0.054	0.116 <sup>b</sup>	0.090
Kontrol – 3. hafta	0.100	0.334 <sup>a</sup>	0.112
Kontrol – 4. hafta	0.096	0.458 <sup>a</sup>	0.200
Kontrol – 5. hafta	0.088	0.434 <sup>a</sup>	0.194
Y100 - 1. hafta	0.022	0.136 <sup>C</sup>	0.056
Y100 - 2. hafta	0.066	0.208 <sup>C</sup>	0.088
Y100 - 3. hafta	0.116	0.374 <sup>AB</sup>	0.156
Y100 - 4. hafta	0.102	0.474 <sup>A</sup>	0.194
Y100 - 5. hafta	0.090	0.278 <sup>BC</sup>	0.200
Y300 - 1. hafta	0.044	0.156 <sup>V</sup>	0.090
Y300 - 2. hafta	0.074	0.176 <sup>V</sup>	0.090
Y300 - 3. hafta	0.108	0.334 <sup>X</sup>	0.158
Y300 - 4. hafta	0.082	0.388 <sup>X</sup>	0.200
Y300 - 5. hafta	0.128	0.354 <sup>X</sup>	0.172
Y500 – 1. hafta	0.044	0.104 <sup>Z</sup>	0.074
Y500 – 2. hafta	0.066	0.284 <sup>YZ</sup>	0.158
Y500 – 3. hafta	0.088	0.306 <sup>YZ</sup>	0.144
Y500 – 4. hafta	0.118	0.590 <sup>X</sup>	0.202
Y500 - 5. hafta	0.118	0.388 <sup>XY</sup>	0.142
<b>SH</b>	0.004	0.016	0.006
<b>P değeri</b>			
Grup	0.420	0.194	0.820
Hafta	<0.001	<0.001	<0.001
G x H	0.576	0.047	0.263

**Y100:** Yeme 100 mg/kg borik asit katkısı, **Y300:** Yeme 300 mg/kg borik asit katkısı, **Y500:** Yeme 500 mg/kg borik asit katkısı, **SH:** Standart Hata,  $p \leq 0.05$  istatistiksel olarak anlamlıdır.

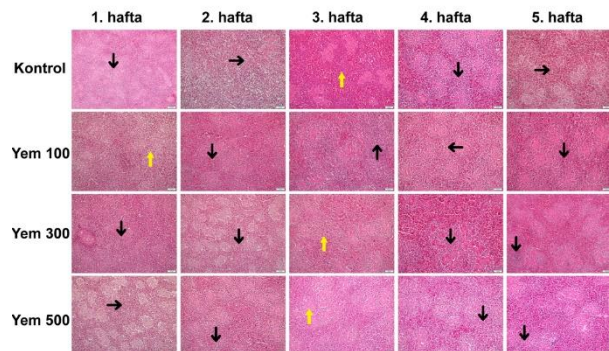
**a,b,c,d:** Haftaların temel etkilerinde, aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklar anlamlıdır. **a,b,A,B,C,x,y,X,Y,Z:** Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen etkileşimler (**YK x H**) arasındaki farklar anlamlıdır.



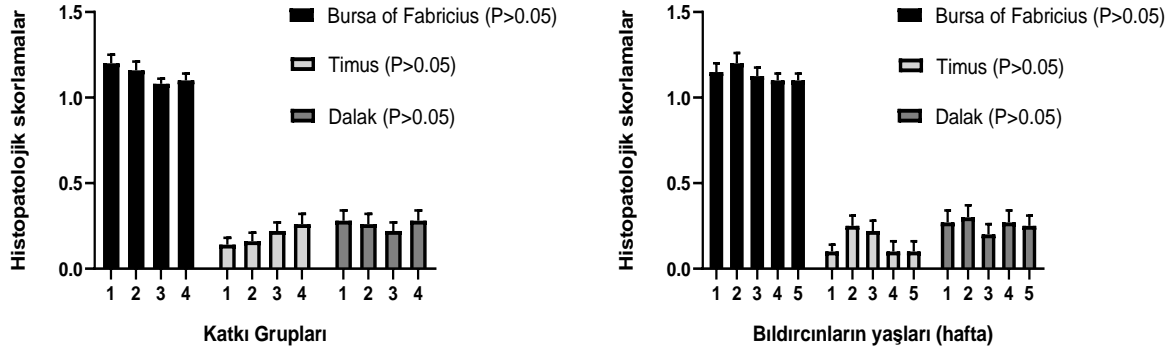
**Şekil 1.** Bildircin yemine farklı dozlarda borik asit ilavesinin farklı haftalarda Bursa Fabricius dokusuna mikroskopik etkileri, siyah oklar; skor 1 olarak değerlendirilmiş normal lenfoid folikül yapılarını, sarı oklar ise; istatistiksel olarak anlamsız bulunan hafif derecedeki lenfoid deplesyonu gösteren skor 2 olarak değerlendirilmiş lenfoid folikülleri göstermektedir, HxE, 10X.



**Şekil 2.** Bildircin yemine farklı dozlarda borik asit ilavesinin farklı haftalarda timus dokusuna mikroskopik etkileri, siyah oklar; skor 0 olarak değerlendirilmiş kortikal bölgedeki normal lenfoid dokuyu, sarı oklar ise istatistiksel olarak anlamsız bulunan hafif derecedeki lenfoid deplesyonu gösteren skor 1 olarak değerlendirilmiş kortikal lenfoid dokuyu göstermektedir, HxE, 10X.



**Şekil 3.** Bildircin yemine farklı dozlarda borik asit ilavesinin farklı haftalarda dalak dokusuna mikroskopik etkileri, siyah oklar; skor 0 olarak değerlendirilmiş normal lenfoid dokuyu, sarı oklar ise istatistiksel olarak anlamsız bulunan hafif derecedeki lenfoid deplesyonu gösteren skor 1 olarak değerlendirilmiş parankimal lenfoid dokuyu göstermektedir, HxE, 10X.



Şekil 4. Farklı katkı grupları ve bildircin yaşlarına (hafta) ait histopatolojik skorlar

## Tartışma

Kanatlılarda lenfoid sistem, primer lenfoid organlar olarak kemik iliği, bursa fabricius ve timustan, sekonder lenfoid organlar olarak ise dalak, lenf düğümü (sadece su kuşlarında) ve organ yerleşik lenf folliküllerinden oluşur. Bağışıklık sisteminin temelini oluşturan lenfoid organların normal gelişimi ve işleyişi esansiyel olduğu için, bu organlarla ilgili yapılacak çalışmalar önem arz etmektedir (26).

Borun vitamin-D, magnezyum ve kalsiyum gibi önemli komponentlerle interaksyonlara giren esansiyel bir element olduğu bilinmektedir. Yüksek dozlarda toksik ve letal etkileri bulunduğu için (1) yem veya su katkısı olarak kullanılacak dozların belirlenmesi oldukça önemlidir. Chapin ve Ku (14) yüksek dozlarda borun testiküler atrofiye neden olarak spermatogenezisi bozduğunu, Wang ve ark. (15) içme suyuna 400 mg/L oranında katılan borun bağırsak villus gelişimini inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Jin ve ark. (19) tavuklarda içme suyuna 100, 200 ve 400 mg/L/gün borik asit ekledikleri 6 haftalık çalışmalarında 200 ve 400 mg/L/gün dozunun lenfoid organ ağırlıklarını önemli derecede düşürdüğünü ve lenfoid organların, mikroskobik olarak her geçen hafta daha fazla hasar aldıklarını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada 100 mg/L/gün dozunun ise lenfoid organ ağırlıklarında anlamlı artışa neden olduğunu ve mikroskobik düzeyde bir hasar oluşmadığını belirtmişlerdir. Bu durum suya veya yeme eklenen bor katkısının doğru dozda olmasının önemini ortaya koymaktadır. Uygun dozlarda kullanılan borun ise, serum sitokin oranını ve bunun indüklediği tümör nekroz faktörü- alfa (TNF- $\alpha$ ) artışını provake ederek bağışıklık sistemine katkı sağladığı (7), yemden yararlanma ve kemik güçlenmesi sağladığı (5), bağışıklık yanıtı ve büyüme parametreleri üzerine etkinlik gösterdiği (6) ortaya konulmuştur. Sunulan çalışmada ise karma yeme 100, 300 ve 500 mg/kg ilave edilen borik asit katkısının letal etki veya lenfoid organ dejenerasyonu gibi olumsuz bir etkiye sahip olmadığını görmüştür. Bu dozlarda anlamlı düzeyde lenfoid organ artışı sağlanmasa da, makroskobik ve mikroskobik düzeyde bir hasar

oluşturmaması, ileride yapılacak çalışmalar için doz belirlenmesinde önem arz etmektedir.

Son yıllarda borun farklı hayvan türlerindeki metabolizma ve verimlilik etkilerini inceleyen araştırmalar yapılmıştır, ancak bu çalışmalar hala sınırlıdır. Devirian ve ark. (1) borun enerji substrat metabolizması, insülin salınımı ve bağışıklık sistemi ile ilgili yollarda enzimlerin aktivitesini düzenlemede rol oynadığını bildirmiştir. Ayrıca, borun nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) metabolizmasını etkileyerek insülin salınımını düzenlediğini ve bu mekanizmanın glikoz, lipid ve protein metabolizması üzerinde önemli bir rol oynadığını rapor etmiştir (1, 6, 11). Kurtoglu ve ark. (27) fareler üzerinde içme suyuna günlük, 0,1, 0,2 ve 0,3 mg borik asit ekledikleri 60 günlük çalışmalarında, borun GSH-Px enziminin aktivitesini arttırdığını bildirmiştir. Sunulan çalışmada da borun oksidatif stres parametrelerinden GSH-Px enzim aktivitesinin önemli ölçüde arttırdığı ve bu artışın en yüksek ve anlamlı olduğu grubun Yem-300 grubu olduğu görülmüştür. Bu durum, borun GSH-Px enzim aktivitesi üzerindeki etkisinin doz ilişkili olduğunu göstermektedir.

Borun lenfoid organlar üzerindeki mikroskobik etkileri Jin ve ark. (19) tarafından broyler tavuklarda detaylı bir şekilde araştırılmıştır. İçme suyuna katılan 100 mg/L/gün borik asidin timus korteks gelişimini ve korteks/medulla oranını 6. haftadaki ölçümlerde arttırdığını görmüşlerdir. Aynı çalışmada 400 mg/L/gün dozunun ise ciddi ölçüde timus korteksini küçülttüğünü ortaya koymuşlardır. Bursa Fabricius analizlerinde 100 mg/L/gün borun mikroskobik farklılık oluşturmadığını, 200 ve 400 mg/L/gün borik asidin ise ciddi anlamda bursa nodüllerini ve lenfosit sayısını azalttığını belirtmişlerdir. Dalak incelemelerinde de bursa ile benzer şekilde 100 mg/L/gün dozunun bir değişiklik oluşturmadığını, 200 ve 400 mg/L/gün dozlarının ise dalak nodülleri ve periarteriyel lenfatik kılıflarda küçülmeye neden olduğunu görmüşlerdir. Bu sonuçlar ışığında yüksek dozda borun broylerde, timus, Bursa Fabricius ve dalak üzerinde toksik etkileri olduğunu söylemek mümkündür. Sunulan çalışmada ise, yeme



katılan borun uygulanan en yüksek doz olan 500 mg/kg dozda dahi mikroskobik olarak patolojik lezyon oluşturmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak, rasyonlara eklenen borun Japon bildircinlerinde GSH-px seviyelerini artırarak antioksidan aktiviteye katkı sağlayabileceği ve verilen dozların lenfoid organlarda lezyon oluşturmadığı ve bu organ ağırlıkları üzerinde belirgin bir etkiye sahip

olmadığı gözlenmiştir. Benzer çalışmalar ile kıyaslandığında, içme suyuna ilave edilen borun, yeme ilave edilene göre, doza bağımlı olarak daha değişken sonuçlar ortaya çıkardığı görülmüştür. Yeme ilave edilen borun doz aralığının belirli seviyelere kadar daha güvenli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bulgular, borun lenfoid sistem üzerindeki etkilerinin daha kapsamlı ve derinlemesine araştırılması gerektiğini göstermektedir.

## Kaynaklar

- Devirian TA, Volpe SL. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 219-231.
- Warrington K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann Bot* 1923; 37: 629-667.
- O'Neill MA, Ishii T, Albersheim P, Darvill AG. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annu Rev Plant Biol* 2004; 55:109-139.
- Naghii MR, Samman S. The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects. *Biol Trace Elem Res* 1997; 56: 273-286.
- Armstrong TA, Spears JW, Crenshaw TD, Nielsen FH. Boron supplementation of a semipurified diet for weanling pigs improve feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *J Nutr* 2000; 139: 2575-2581.
- Armstrong TA, Spears JW, Lloyd KE. Inflammatory response, growth, and thyroid hormone concentrations are affected by long-term boron supplementation in gilts. *J Anim Sci* 2001; 79: 1549-1556.
- Armstrong TA, Spears JW. Effect of boron supplementation of pig diets on the production of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. *J Anim Sci* 2003; 81: 2552-2561.
- Fort DJ. Boron deficiency disables *Xenopus laevis* oocyte maturation events. *Biol Trace Elem Res* 2002; 85: 157-169.
- Wallace JM, Hannon-Fletcher MP, Robson PJ, et al. Boron supplementation and activated factor in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 1102-1107.
- Bakken NA, Hunt CD. Dietary boron decreases peak pancreatic in situ insulin release in chicks and plasma insulin concentrations in rats regardless of vitamin D or magnesium status. *J Nutr* 2003; 133: 3577-3583.
- Hunt CD. Dietary boron: an overview of the evidence for its role in immune function. *J Trace Elem Exp Med* 2003; 16: 291-306.
- Huel G, Yazbeck C, Burnel D, Missy P, Kloppmann W. Environmental boron exposure and activity of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) in a newborn population. *Toxicol Sci* 2004; 80: 304-309.
- Nielsen FH. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: current knowledge and speculation. *FASEB J* 1991; 5: 2661-2667.
- Chapin RE, Ku WW. The reproductive toxicity of boric acid. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 87-91.
- Wang J, Gu YF, Li SH, Shang CF, Chen HL. Effect of boron toxicosis on jejunum development in broilers. *Chin J Vet Sci* 2005; 25: 514-517.
- Cheng J, Peng K, Jin E, et al. Effect of additional boron on tibias of African ostrich chicks. *Biol Trace Elem Res* 2011; 144: 538-549.
- Özdemir G, İnci H, Söğüt B, et al. Effects of dietary boron supplementation on performance and some haematological and antioxidant parameters in Japanese quail exposed to high stocking density. *Europ Poult Sci* 2016; 80.
- Yıldız G, Koksall BH, Sızmaç O. Effects of dietary boric acid addition on growth performance, cholesterolemia, some carcass and tibia characteristics in different rearing periods in broiler chickens. *Revue Med Vet* 2013; 164: 219-224.
- Jin E, Gu Y, Wang J, Jin G, Shenghe L. Effects of supplementation of drinking water with different levels of boron on performance and immune organ parameters of broilers. *Ital J Anim Sci* 2014; 13: 205-214.
- Placer ZA, Cushman L, Johnson BC. Estimation of products of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biological fluids. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
- Chavan S, Sava L, Saxena V. Reduced Glutathione: Importance of specimen collection. *I J of Clin Biochem* 2005; 20: 150-152.
- Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1976; 71(4):952-958.
- Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta* 1991; 196: 143-151.
- Sun Y, Oberley WL, Li YA. Simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
- Aguinta BN, Fuller AL, Milfort MC, et al. Histologic effect of concurrent heat stress and coccidial infection on the lymphoid tissue of broiler chickens. *Avian Dis* 2018; 62: 345-350.
- Aslan Ş, Deprem T, Bingöl SY, Koral Taşçı S. Lenfoid sistem ve kan hücreleri. In: Aslan Ş, (Editor). *Kanatlı Histolojisi*. 1. Baskı, Bursa: Dora Basım-Yayın Dağıtım Ltd Şti, 2018: 23-32.
- Kurtoglu V, Kurtoglu F, Akalin PP. The effects of various levels of boron supplementation on live weight, plasma lipid peroxidation, several biochemical and tissue antioxidant parameters of male mice\*\*: Effects of boron on performance, antioxidant and some metabolites of mice. *J Trace Elem Med Biol* 2018; 49:146-150.