



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZZO-DR-2008-0003**

**YÜKSEK SICAKLIKLARDA DENİZLİ IRKI
TAVUKLARINDA HSP70 SENTEZİ VE BAZI VERİM
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Demir ÖZDEMİR

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa AKŞİT**

AYDIN - 2008

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZZO-DR-2008-0003**

**YÜKSEK SICAKLIKLARDA DENİZLİ İRKİ
TAVUKLARINDA HSP70 SENTEZİ VE BAZI VERİM
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Demir ÖZDEMİR

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa AKŞİT**

AYDIN - 2008

Türkiye Bilimsel Araştırmalar Kurumu (TOVAG-1050400 no'lu proje) ve A.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (ZRF-06013 no'lu proje) tarafından desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE,
AYDIN

Zootekni Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi **Demir ÖZDEMİR** tarafından hazırlanan “Yüksek Sıcaklıklarda Denizli Irkı Tavuklarında Hsp70 Sentezi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Bir Araştırma” başlıklı tez, 14 Kasım 2008 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı	Adı Soyadı	Üniversitesi	İmzası
Başkan	Doç. Dr.	Mustafa AKŞİT	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	Prof. Dr.	Özge ALTAN	Ege Üniversitesi
Üye	Prof. Dr.	Yavuz AKBAŞ	Ege Üniversitesi
Üye	Prof. Dr.	Mete KARACAOĞLU	Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	Prof. Dr.	Çiğdem YENİSEY	Adnan Menderes Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun sayılı kararıyla.....tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ
Enstitü Müdürü

İNTİHAL BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı: Demir ÖZDEMİR

İmza:

ÖZET

Doktora Tezi

Yüksek Sıcaklıklarda Denizli Irkı Tavuklarında Hsp70 Sentezi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Bir Araştırma

Demir ÖZDEMİR

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa AKŞİT

Araştırmanın amacı, değişik çevre sıcaklıklarında Denizli ırkı tavuklarının HSP70 (sıcak şok proteini) sentezini, kandaki bazı biyokimyasal değişikliklerini ve ırka ait bazı verim özelliklerini saptamaktır. Çalışmada hayvan materyali olarak 196 adet Denizli ırkı tavuk kullanılmıştır. Yirmi haftalık yaşa kadar birlikte yerde yetiştirilen tavuklar 20. haftada 4 gruba ayrılarak bireysel yumurtlama kafeslerine alınmıştır. Tavuklar bu kafeslerde 40 haftalık yaşa kadar normal yetiştirme şartlarında barındırılmıştır ve bu dönemdeki verim özellikleri belirlenmiştir. Kontrol grubundaki (grup I) tavuklar 40-44 haftalar arasında 22°C'lik sıcaklıkta barındırılmış, bu haftalarda II, III ve IV. deneme gruplarına sırasıyla 34°C, 37°C ve 40°C'lik sıcaklıklar uygulanmıştır. Artan sıcaklıkların etkisiyle yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, yumurta verimi, yumurta ağırlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranında önemli düzeyde azalmalar saptanmıştır. Sıcaklıkların uygulandığı farklı zamanlarda (0, 30, 60, 90 ve 120. dakika) her gruptan 3 tavuğun boyun toplardamarından kan örnekleri alınmış ve alınan örneklerde toplam kolesterol, T₃ hormonu, hematokrit ve HSP70 düzeyleri saptanmıştır. Mononükleer kan hücreleri izole edilmiş ve HSP70 konsantrasyonları monoklonal anti-HSP70 antikorunu kullanarak Western Blot analizi ile saptanmıştır. Artan çevre sıcaklığı ile birlikte T₃ hormonu ve hematokrit değerleri düşerken toplam kolesterol düzeyi artmıştır (P<0.05). Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda sıcak stresi ile birlikte HSP70 sentezinin gerçekleştiği ve sentez miktarının zamana ve uygulanan sıcaklığa bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Kan serumunda ve mononükleer kan hücrelerinde saptanan HSP70 sentezinde tavuklar arasında bireysel farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Araştırma bulgularına göre, Denizli ırkı içerisinde sıcağa daha dayanıklı bireylerin seçiminde HSP70 ve T₃ özelliklerinin ıslah programlarında seleksiyon parametresi olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Denizli ırkı, HSP70, sıcak şok proteinleri, sıcak stresi, T₃

2008, 121 Sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

A Research on Some Production Characteristics and Synthesis of HSP70 in Denizli Genotype Hens at High Temperatures

Demir ÖZDEMİR

Adnan Menderes University
Faculty of Agriculture
Department of Animal Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa AKŞİT

The aim of this study was to determine the synthesis of HSP70 (heat shock protein), some biochemical changes in blood and also some production characteristics in Denizli genotype hens at different ambient temperatures. In the research, 196 Denizli genotype hens were used as animal material. Chickens were divided into 4 groups at 20th week and kept at normal rearing conditions until 40 weeks of age. All hens were kept in individual cages up to age of 44 weeks and performance data were recorded. Chickens in control group (I. group) were kept at 22°C and heat exposure was 34, 37 and 40°C at the II, III and IVth experimental groups respectively between 40-44 weeks. Feed consumption, feed conversion ratio, egg production, egg weight, shell weight, shell thickness, shell ratio were decreased significantly by increasing ambient temperature. Blood samples were taken from jugular vein of 3 hens from each group at several times of heat exposure (0, 30, 60, 90, and 120. minutes) to determine hematocrit, T₃ hormone, total cholesterol and HSP70 levels. Mononuclear blood cells were isolated and HSP70 concentrations were determined by Western Blot analysis with a monoclonal anti-Hsp70 antibody. By increasing ambient temperature, T₃ hormone and hematocrit levels decreased whereas total cholesterol level was increased significantly (P<0.05). Thermal stress caused induction of HSP70 in all experimental groups except control group and level of HSP70 induction was both temperature and time-dependent. Individual variations were observed in synthesis of HSP70 at serum and mononuclear blood cells either. According to our results, HSP70 and T₃ levels may be use as a selection criterion in breeding programmes for choosing the heat-tolerant individuals in Denizli genotype chickens.

Key Words: Denizli Genotype, HSP70, Heat Shock Proteins, Heat Stress, T₃

2008, 121 Pages

ÖNSÖZ

Ege Bölgesine adapte olmuş yerli genotipimiz Denizli ırkı tavuklarının, yüksek sıcaklıklarda ortaya koyacakları bazı verim özelliklerinin belirlenmesi ve hücrel termometre olarak adlandırılan HSP70 proteini ile bazı kan değerlerinin bu ırkta hangi sıcaklıklarda, ne düzeyde sentezleneceğinin belirlenmesi amacıyla bu çalışma ele alınmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçların ileride yapılabilecek çalışmalara temel oluşturacağı düşünülmektedir.

Projeyi maddi olarak destekleyerek sonuçlanmasına katkı sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (ZRF-06013 no'lu proje) ile Türkiye Bilimsel Araştırmalar Kurumuna (TOVAG-1050400 no'lu proje) desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Bu tezin hazırlanmasında ve lisansüstü eğitimim boyunca akademik hayatıma yön veren, bugüne kadar birlikte yaptığımız tüm çalışmalarda bana özgür çalışma imkânı tanıyan ve bugünlere gelmemde büyük payı olan sevgili hocam Doç. Dr. Mustafa AKŞİT'e teşekkür ederim.

Araştırmanın laboratuvar aşamasında Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Bölüm laboratuvarını kullanma olanağı sağlayan ve bu çalışmanın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Kubilay METİN'e, Elektroforez ve Western Blot yöntemlerinin uygulanmasında büyük emeği geçen Araş. Gör. Öznur ARAT ve Araş. Gör. Dr. Ali ÖZMEN'e, laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Burcu BAKIR ATEŞLİER'e teşekkür ederim. Ayrıca, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında ELISA, T₃ ve kolesterol testlerinin yapılmasına olanak sağlayan ve değerli zamanlarını benimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY ve Dr. Nilüfer ŞİMŞEK'e, tezin laboratuvar aşamasında tecrübelerini benimle paylaşan Ziraat Mühendisi Dr. Dilşat YEĞENOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve her zaman yanımda olan sevgili eşim Seval ÖZDEMİR'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. DENİZLİ TAVUĞU	4
2.2. Sıcak Stresi ve Etkileri	5
2.2.1. Kolesterol	7
2.2.2. Triiyodotironin (T ₃)	8
2.2.3. Hematokrit	10
2.3. SICAK ŞOK PROTEİNLERİ (HEAT SHOCK PROTEINS)	11
2.3.1. Küçük Sıcak Şok Proteinleri (<40 kDa)	13
2.3.2. Sıcak Şok Proteini 60 kDa (HSP60)	14
2.3.3. Sıcak Şok Proteini 90 kDa (HSP90)	14
2.3.4. Sıcak Şok Proteini 110 kDa (HSP110)	15
2.3.5. Sıcak Şok Proteini 70 kDa (HSP70)	16
2.3.6. HSP70 Sentezi ve Gen Regülasyonu	17
2.3.7. Sıcak Şok Faktörleri (Heat Shock Factors: HSF)	19
2.4. Kanatlılarda Sıcak Şok Proteinleri (HSP) ile İlgili Çalışmalar	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. MATERYAL	26
3.1.1. Hayvan Materyali	26
3.1.2. Bakım Yönetim Uygulamaları	26
3.1.3. Yem Materyali	27
3.1.4. Sıcaklık Uygulaması	28
3.2 YÖNTEM	30
3.2.1. Saptanan Ölçümler	30
3.2.1.1. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Değeri	30
3.2.1.2. Canlı Ağırlık Artışı	30
3.2.1.3. Eşeyssel Olgunluk Yaşı	30
3.2.1.4. Yumurta Ağırlığı	31
3.2.1.5. Bazı Yumurta Kalite Özelliklerine İlişkin Ölçümler	31
3.2.1.6. Vücut Sıcaklıklarının Saptanması	31
3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması	31
3.2.2.1. T ₃ ve Kolesterol Analizleri	32
3.2.2.2. Hematokrit Değeri	32
3.2.2.3. Mononükleer Hücrelerin HSP70 Analizi İçin Hazırlanması	32
3.2.3. Protein Saptama ve Elektroforetik Analiz	33
3.2.3.1. Protein Tayini	33

3.2.3.2. Elektroforez.....	33
3.2.3.2.1. Örneklerin Hazırlanışı ve Jele Uygulanışı	35
3.2.3.2.2. Elektroforez İçin Gerekli Çözeltiler.....	37
3.2.4. Western Blotting Analizi ve HSP70 Saptama.....	38
3.2.4.1. Western Blotting Analizi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	44
3.2.5. Western Blot Sonrası HSP70 Bantlarının Karşılaştırılması.....	45
3.2.6. Kan Serumunda Hücrelerinde ELISA Yöntemi ile HSP70 Miktar Tayini.....	45
3.2.7. İstatistik Analiz	49
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1. DENİZLİ TAVUKLARININ VERİM ÖZELLİKLERİ.....	50
4.1.1. I. Dönem Verim Özellikleri (0–20 haftalık yaş dönemi)	50
4.1.2. II. Dönem Verim Özellikleri (20–40 haftalık yaş dönemi).....	52
4.1.3. III. Dönem Verim Özellikleri (40–44 hafta)	57
4.2. KAN ÖRNEKLERİNDE SAPTANAN ÖLÇÜTLER.....	67
4.2.1. Serum Kolesterol Düzeyi	67
4.2.2. T ₃ (pg/ml)	70
4.2.3. Hematokrit Değeri (%).....	72
4.2.4. Vücut Sıcaklığı (°C).....	74
4.3. SICAK ŞOK PROTEİNİ 70 kDa (HSP70).....	77
4.3.1. Denizli Tavuklarına Ait Serum HSP70 Düzeyleri.....	77
4.3.2. Denizli Tavuklarının Mononükleer Hücrelerine Ait HSP70 Düzeyleri.....	80
4.4. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	88
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	90
6. KAYNAKLAR	94
ÖZGEÇMİŞ	xiii

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

HSP	Sıcak Şok Proteinleri (Heat Shock Proteins)
T₃	Triiodothyronin
kDa	Kilo Dalton
ER	Endoplazmik Retikulum
mHSP70	Mitokondrial HSP70
Hsc70	Sıcak Şoku Kökenli Proteinler (Heat Shock Cognates) 70 kDa
GRP78	Endoplazmik Retikulum Şaperon Proteini 78 kDa
PAGE	Poliakrilamid Jel Elektrofözezi
HSF	Sıcak Şok Faktörleri (Heat Shock Factors)
HSE	Sıcak Şok Elemanları (Heat Shock Elements)
P	Fosforilizasyon
I/R	İskemi/Reperfüzyon
ROS	Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri (Reactive Nitrogen Species)
GSHpx	Glutasyon Peroksidaz
ND	Yalancı Veba (Newcastle Disease)
IBD	Gumboro (Inkefsiyoz Bursal Disease)
EDS76	Egg Drop Sendrom
PBS	Fosfat Tuz Tamponu (Phosphate Buffer Saline)
EDTA	Etilen-diamintetra-asetik asit
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektrofözezi
TEMED	Tetrametil Etilen Diamin
TBS	Tris Tuz Tamponu
AP	Amonyum Persülfat
ALP	Alkalın Fosfataz
NBT	Nitro Blue Tetrazolium Klorit
BCIP	5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyphosphate P-Toluidine

TCA	Trikloroasetik Asit
TMB	Tetrametil Benzidin
rpm	Dakikadaki devir sayısı
g	Yer Çekimi İvmesi
pg	Pikogram
ng	Nanogram
nm	Nanometre
%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
g	Gram
dk	Dakika
M	Molar
ml	Mililitre
mg	Miligram
°C	Derece Santigrad
L	Litre
dl	Desilitre
CA	Canlı Ağırlık
YT	Yem Tüketimi
YYO	Yemden Yararlanma Oranı
EOY	Eşeyssel olgunluk Yaşı
EOA	Eşeyssel Olgunluk Yaşı Canlı Ağırlığı
YA	Yumurta Ağırlığı
YV	Yumurta Verimi
KK	Kabuk Kalınlığı
KA	Kabuk Ağırlığı
KO	Kabuk Oranı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. HSP70 sentezi ve gen regülasyonunun şematik anlatımı	18
Şekil 3.1. Deneme gruplarının yerleşim planı	28
Şekil 3.2. Bireysel yumurtlama kafeslerinin görünümü.	29
Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü bireysel yumurtlama kafeslerinin görünümü.	29
Şekil 3.4. Elektroforez tankı ve yüklenen örneklerin görüntüsü.	35
Şekil 3.5. Ayırma işleminde üst jele 100 V elektrik akımı uygulanması	36
Şekil 3.6. Yürütme işleminde alt jele 200 V elektrik akımı uygulanması	36
Şekil 3.7. Western Blot tankı ve sandviçler.....	40
Şekil 3.8. Nitroselüloz mebranın sandviç içerisine yerleştirilmesi.....	41
Şekil 3.9. Transfer sonrası sandviçlerin açılması.....	41
Şekil 3.10. Çalkalayıcıda süt solüsyonu ile bloklama işlemi.....	42
Şekil 3.11. Soğuk 1xTBS çözeltisi ile membranın yıkanması.....	42
Şekil 3.12. Membrana blocking sütü ile antibody uygulaması.....	43
Şekil 3.13. BCIP/NBT ile boyama sonrasında oluşan HSP70 bantları.....	43
Şekil 3.14. HSP70 standart eğrisinin oluşturulması	46
Şekil 3.15. Örneklerin yüklenmesi.....	47
Şekil 3.16. Substratın eklenmesi.....	48
Şekil 3.17. Elisa okuyucuda absorbans okuma işlemi.	49
Şekil 4.1. Denizli tavuklarının 20–40 haftalık dönemlerine ait ortalama yumurta verimi ve yumurta ağırlıkları	54
Şekil 4.2. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) tavuklarının ortalama YT (g), YA (g) ve YYO (kg yem/kg yumurta) değerlerine ait eğriler.	56
Şekil 4.3. Denizli tavuklarının 23-52 haftalık dönemdeki ortalama yumurta verimi (%) ve yumurta ağırlıkları (g).	63
Şekil 4.4. Serum kolesterol düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.	69
Şekil 4.5. T ₃ hormon düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.	72
Şekil 4.6. Hematokrit düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.	74
Şekil 4.7. Vücut sıcaklığının uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.....	76
Şekil 4.8. Denizli tavuklarında farklı sıcaklıklarda sentezlenen HSP70'in uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.....	79
Şekil 4.9. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezlenen HSP70 düzeyinin zamana bağlı değişimi.....	82
Şekil 4.10. Denizli ırkı tavuklarının 22°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.....	83
Şekil 4.11. Denizli ırkı tavuklarının 34°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.....	84
Şekil 4.12. Denizli ırkı tavuklarının 37°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.....	85
Şekil 4.13. Denizli ırkı tavuklarının 40°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.....	86

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Sıcak şok proteinlerinin hücre içerisindeki yerleri ve görevleri.....	13
Çizelge 2.2. HSP70 ailesinin hücre içerisindeki yerleri ve görevleri.	16
Çizelge 3.1. Uygulanan aşılama programı.....	27
Çizelge 3.2. Cıvcıv (0–6 hafta), piliç büyütme(7-12 hafta), piliç geliştirme(13-18 hafta), yumurtlama öncesi (19-23 hafta) ve yumurtlama (23-44 hafta) dönemlerinde verilen yemlerin bazı besin madde içerikleri	28
Çizelge 3.3. Ayırma jelinin içeriği (% 12'lik)	34
Çizelge 3.4. Yoğunlaştırma jelinin içeriği (% 5'lik).....	34
Çizelge 4.1. Yumurtlama öncesi dönemine ait (erkek+dişi) ortalama canlı ağırlık (CA) yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma Oranları (YYO)	51
Çizelge 4.2. I. Dönem (0–20 hafta) ölüm oranları.....	51
Çizelge 4.3. Tavukların yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranı (YYO)	53
Çizelge 4.4. Tavukların eşeyssel olgunluk yaşı (EOY) ve eşeyssel olgunluk yaşı canlı ağırlığı (EOA).....	53
Çizelge 4.5. Denizli tavuklarının 20-40 haftalık dönemlerine ait yumurta verimi (YV) ve yumurta ağırlık (YA) ortalamaları	55
Çizelge 4.6. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) tavukların ortalama yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranı (YYO)	56
Çizelge 4.7. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) saptanan ölüm oranları (%)......	57
Çizelge 4.8. Tavuklarda sıcaklık uygulaması (40-44 hafta) ve sonrası dönemde saptanan yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranlarına (YYO) ilişkin ortalama değerler	58
Çizelge 4.9. Sıcaklık uygulaması öncesi ve sonrası Denizli tavuklarının ortalama yem tüketimleri (YT) ve yemden yararlanma oranlarına (YYO) ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları.....	59
Çizelge 4.10. Sıcaklık uygulaması öncesi ve uygulama sırasında Denizli tavuklarının yumurta verimleri (YV) ve yumurta ağırlıklarına (YA) ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları.	60
Çizelge 4.11. Sıcaklık uygulama öncesi, sıcaklık uygulama sırasında ve sonrası deneme gruplarına ait haftalık ortalama yumurta verimi (YV) ve yumurta ağırlığı (YA)	62
Çizelge 4.12. Sıcaklık uygulama öncesinde ve sıcaklık uygulama döneminde Denizli tavuklarına ait yumurtaların kabuk kalınlıkları (KK), kabuk ağırlıkları (KA) ile kabuk oranlarına (KO) ait ortalamalar ve standart hataları.....	64
Çizelge 4.13. Sıcaklık uygulama öncesinde ve sıcaklık uygulama döneminde deneme gruplarından toplanan yumurtaların haftalık ortalama kabuk kalınlıkları (KK), kabuk ağırlıkları (KA) ve kabuk oranları (KO)	65
Çizelge 4.14. Sıcaklık uygulaması sırasında gerçekleşen ölüm oranları.....	66
Çizelge 4.15. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının kan serumu toplam kolesterol düzeyi.	68
Çizelge 4.16. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının T ₃ hormon düzeyi	71

Çizelge 4.17. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının hematokrit düzeyi	73
Çizelge 4.18. Farklı yetiştirme sıcaklıklarının ve sıcaklık uygulama sürelerinin Denizli ırkı tavuklarının vücut sıcaklık değerlerine etkisi	75
Çizelge 4.19. Farklı sıcaklıklarda ve sıcaklık uygulama sürelerinde Denizli ırkı tavuklarının sentezledikleri serum HSP70 miktarları.	78
Çizelge 4.20. Farklı sıcaklıklarında yetiştirilen Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezlenen HSP70 düzeyinin zamana bağlı değişimi	81
Çizelge 4.21. Stres parametreleri arasındaki ilişki.....	89

1. GİRİŞ

Tavuklukçuluk sektörünün hızlı gelişmesinde, ıslah edilmiş yüksek verimli hibrit genotiplerin kullanılmasının payı oldukça büyüktür. Günümüzde uluslararası damızlık şirketlerinin önemli kısmı Kanada, Fransa, Almanya, Hollanda ve İngiltere gibi serin iklim kuşağındaki ülkelerde yer almaktadır. Ancak dünya kanatlı eti ve yumurta üretiminin büyük bir kısmı sıcak iklim kuşağında bulunan ülkelerde gerçekleştirilmektedir. Üretimde kullanılmakta olan bu hibrit genotiplerin uygun çevre koşullarında, yüksek verim ve hızlı büyüme yönünde ıslah edilmiş olmaları, onların çevre sıcaklığına karşı duyarlılığını artırmıştır. Serin iklim bölgelerinde en uygun koşullarda geliştirilmiş olan yüksek verimli genotipler, uygun olmayan koşullarda önemli verim kayıplarına uğramaktadır (Hartmann, 1990; Daghir, 1995). Bu olumsuzluklar nedeniyle dünya tavukçuluk piyasasını elinde tutan uluslararası damızlık şirketleri ilgilerini geliştirmekte olan ülkelerdeki ıslah edilmemiş gen kaynaklarına çevirmiştir.

Ülkemizin özellikle Çukurova, Ege, Trakya, Güney Doğu Anadolu ve bazen İç Anadolu Bölgelerinde yaz aylarında önemli sıcaklık artışlarıyla karşılaşmaktadır. Bu durum, ülke tavukçuluğundan beklenen verimleri olumsuz yönde etkilemekte ve üreticilerin önemli düzeyde ekonomik kayıplara uğramalarına neden olmaktadır (Kutlu, 1999).

Günümüzde sera etkisinin giderek artması nedeniyle dünyamız hızla ısınmakta, yaz ayları daha sıcak geçmektedir. Önümüzdeki yüzyılın ortalarında çevre sıcaklığının yıllık ortalama 1–4°C artacağı ve böyle bir sıcaklık artışına adapte olamayan birçok canlı türünün yok olacağı tahmin edilmektedir. Bugün dünyayı tehdit eden bu büyük küresel ısınma sorunu dünyanın her yerinde henüz tam anlamıyla yaşanmamış olsa da, ekonomik, ekolojik ve sosyolojik sorunları beraberinde getirecektir.

Kanatlılarda sıcak stresinin verimler üzerindeki olumsuzluklarını gidermek için ülkemiz gibi sıcak iklim kuşağında yer alan birçok ülkede, her yıl çevre kümes içi şartların iyileştirilmesine yönelik birçok yatırım yapılmaktadır. Tavukçulukta sıcak

stresinin önlenmesine yönelik harcanan enerjinin küresel ısınma üzerine olan olumsuz etkisi tavukçuluk sektörünü değişik besleme teknikleri ve genetik iyileştirme gibi farklı arayışlar içerisine sürüklemiştir.

Uygun olmayan çevre koşullarından oldukça fazla etkilenen ve özellikle sıcak stresi durumunda yetiştiricileri verim kayıplarına uğratan hibritlerin, genetik açıdan sıcak stresine karşı dayanıklı hale getirilmesi için yapılan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. İslah firmaları rekabet güçlerini artırabilmek ve üretim maliyetlerini azaltmak için son yıllarda sığağa dayanıklı ırklar üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmış ve sığağa dayanıklı hibrit genotiplerin üretiminde kullanmak üzere sıcak çevre koşullarına uyum yetenekleri yüksek ırkları incelemeye almışlardır.

Sıcak iklim kuşağında yer alan bölgelere uyum sağlamış yerel ırklar, ıslah edilmiş ticari hibrit genotiplerden daha düşük verim özelliklerine sahip olmalarına rağmen sığağa daha dayanıklı olmaları nedeniyle bu koşullarda daha yüksek yaşama gücüne sahiptir (Arad ve Marder, 1982). Ayrıca, sıcak iklime adapte olmuş lokal ırkların sıcak toleranslarının da yüksek olduğu bilinmektedir (Arad *et al.*, 1981).

Ülkemizde tavukçuluğun yaygın olduğu batı ve güney bölgelerinde haziran, temmuz ve ağustos aylarında ani sıcaklık artışlarında yüksek verim kayıplarıyla ve kitlesel ölümlerle karşılaşılabilir. Bu tür risk almak istemeyen birçok tavuk üreticisi yüksek sıcaklıkların görülmesi muhtemel dönemlerde kümeslerini boş bırakmakta, üretim programlarını buna göre düzenlemektedirler. Bu durum, mevcut kapasitelerinin yıl içinde düzenli kullanılmasını engellemekte ve aynı zamanda bu dönemde kümeslerden yararlanmak isteyen üreticilerin kümes içi sıcaklıkları düşürmek amacıyla serinletme ekipmanlarına yatırım yapmalarını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle ıslah çalışmalarında sığağa dayanıklı genotipler üzerinde durulmalı ve stres oluşturan çevre koşullarına uyum yeteneği yüksek genotiplerin seçilmesi gerekmektedir.

Ege Bölgesi gibi yaz aylarında oldukça sıcak olan bir bölgeye kuşaklar boyunca adapte olmuş yerli genotipimiz Denizli ırkı tavuklarının sığağa karşı toleranslarının yüksek verimli hibrit genotiplere göre daha yüksek olacağı düşünülmektedir.

Hücresel anlamda sıcağa dayanıklılığın en iyi göstergesi olarak kabul edilen stres proteinlerinin bu ırkta yüksek sıcaklıklarda daha az saptanması halinde, bundan sonra ülkemizde üretilecek hatlarda Denizli ırkının bu özelliğinden yararlanılabileceği düşünülmektedir. Bugüne kadar üzerinde oldukça az sayıda çalışma yapılmış olan Denizli ırkının sıcak stresi sırasındaki verim özelliklerinin araştırılması bu ırk hakkında bilinen sınırlı bilgiye katkıda bulunacaktır.

Bu çalışmada, Ege Bölgesi'ne adapte olmuş yerli genotipimiz Denizli ırkı tavuklarının, yüksek sıcaklıklarda ortaya koyacakları bazı verim özelliklerinin saptanması ve hücresel termometre olarak adlandırılan HSP70 proteini ile bazı kan değerlerinin bu ırkta hangi sıcaklıklarda, ne düzeyde sentezleneceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular ile gen kaynakları koruma kapsamında olan Denizli ırkının bu yönüyle ıslah materyali olarak kullanılması, ırkın daha amaçlı ve yaygın bir şekilde yetiştirilmesini ve doğal olarak korunmasını da sağlayacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. DENİZLİ TAVUĞU

Ülkemiz kanatlı hayvan gen kaynağı bakımından oldukça zengin bir yapıya sahip olmasına rağmen bugüne kadar bu zenginlik ne yazık ki yeterince korunamamış ve değerlendirilememiştir. Ülkemizin farklı bölgelerine uyum göstermiş birçok tavuk ırkı bulunmasına karşın sadece Gerze ve Denizli ırklarının tescil edilmiş olması bu konuda yapılan çalışmaların ne kadar yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır.

Denizli ili ve yöresinin yerel bir ırkı olan Denizli ırkı tavuğu bugüne kadar erkeklerinin uzun ötüşleriyle dikkat çekmiştir. İrkin erkeklerinde boyun sırt ve kanatta değişik renkte telekler bulunabilmektedir. Bu renklerin dağılımına göre demir kır, pamuk kır, kefi sarı, al ve siyah olmak üzere beş alt varyeteye sahip olan Denizli ırkı erkeklerinin tüm varyetelerinde gözler siyah sürmeli, gaga koyu gri renkte; ibik balta ibik şeklindedir. Dişiler, bazılarının boynunda görülen eser miktardaki sarı-kahverengi tüyler dışında tamamen siyahtır. Beyaz bir deri rengine sahip olan ırkın incik, ayak derisi ve pulları açık ya da koyu gri renkte, tüysüz, dört parmaklı ve mahmuzludur. Dişiler erkeklere göre daha kısa bir bacak boyuna sahiptir (Şekeroğlu ve Özen, 1997; Anonim, 2004; Özdoğan ve Gürcan, 2006).

Denizli ırkı ile ilgili olarak 2004 yılında 25668 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan tescil tebliğinde, Denizli ırkı erkeklerinin 2000 g, dişilerinin ise ortalama 1500 g ergin canlı ağırlığa sahip olduğu, ırkın erkeklerinin 24, dişilerinin ise 24-25 haftalık (168-175 gün) yaşta eşeyssel olgunluğa ulaştığı bildirilmiştir. Aynı tebliğde, ırkın tavuklarının yıllık ortalama 110 adet yumurta verimine sahip oldukları ve yumurta kabuk renginin beyaz olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2004).

Gerze ile Denizli tavuk ırklarının bazı verim özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Denizli ırkı tavuklarına ait eşeyssel olgunluk yaşı ortalaması 155 gün (%5 verim yaşı), yıllık ortalama yumurta sayısı (tavuk-gün) 113.66 adet olarak bildirilmiştir (Şekeroğlu ve Özen, 1997). Çalışmada, Denizli ırkına ait yumurta

ağırlığı ortalamasının 44 g ve yumurta kabuk kalınlığı ortalamasının ise 0.336 mm olduğu belirtilmiştir.

Nazlıgül ve ark. (1995), farklı tavuk ırklarının verim özelliklerini araştırdıkları bir çalışmada, Denizli ırkının 24, 36 ve 50 haftalık yaşlarda sırasıyla % 11.9, % 56.5 ve % 46.9 yumurta verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırmada 24, 36 ve 52. haftalarda Denizli ırkına ait ortalama yumurta ağırlıklarını sırasıyla 39.3, 51.3 ve 55.40 g, yumurtalara ait ortalama kabuk kalınlığını ise 0.37 mm olarak saptamışlardır.

Gerze ve Denizli ırklarının değişik yaşlardaki yumurta verimlerinin incelendiği bir çalışmada, birer hafta arayla kuluçkadan çıkan üç farklı Denizli tavuk sürüsü kullanılmış ve en yüksek yumurta verimi 38. haftada % 75.34 olarak saptanmıştır. Bu bilgilere ek olarak Denizli ırkı tavuklarının 24-54 haftalık yaş dönemine ait 30 haftalık yumurta verim ortalamasını % 56.08, ortalama yumurta sayısını 113.72 adet ve ortalama yumurta ağırlığını ise 53.72 g olarak saptamışlardır (Özdoğan ve Gürcan, 2006).

Denizli tavuklarının yumurta özellikleri üzerine yapılan bir başka çalışmada ise ortalama yumurta kabuk kalınlığının 0.399 mm, ortalama yumurta kabuk ağırlığını ise 5.62 g olduğu bildirilmiştir (Türkyılmaz ve ark., 2005).

2.2. Sıcak Stresi ve Etkileri

Sıcak stresi, üzerinde en çok durulan ve kanatlıları en çok etkileyen stres faktörüdür. Kanatlıların yaşamlarını rahat sürdürebilecekleri ve en yüksek verimi verebilecekleri “termonötral sınırlar” olarak bilinen sıcaklıklar 15-25°C arasındadır. Bu sınırların üzerinde kanatlılar sıcak stresine maruz kalmaktadır.

Tavuklarda, stres faktörünün merkezi sinir sistemini uyarmasıyla adrenal medulladan katekolaminlerin (Nor-epinefrin ve epinefrin) salgılanması ve bu yolla kullanıma hazır enerji kaynağı glikojenin glikojenolisis yoluyla glikoza dönüştürülerek stres faktörüne karşı kullanılması sağlanır ve bu devre çok kısa sürer. Eğer stres faktörü

devam ederse, direnç devresi şekillenerek hipotalamus, kortikotropin salgılanmasını sağlamak amacıyla hipofiz bezini uyarır. Kortikotropin, adrenal korteks üzerine etki eder ve kortikosteron salgılanmasını sağlar. Kortikosteron salgısı ile birlikte glikonejenezis yoluyla glikojen sentezlenmesi sonucu vücut rezervleri (protein, yağ vb.) harekete geçirilir. Aynı süreç içerisinde vücut rezervlerinin kullanımı büyüme, yumurta verimi, bağışıklık gibi fonksiyonlardan solunum, kan dolaşımı, vücutta biriken fazla ısının atılması gibi yaşamsal fonksiyonlara doğru kaydırılır. Stres altındaki hayvanlarda kortikosteron hormonu salgılanması stres faktörü ortadan kalkıncaya veya adrenal kortekste kortikosteron tükeninceye kadar devam etmektedir. Adrenal kortekste kortikosteron hormonunun tükenmesi durumu hayvanda bitkinlik ve ölüm ile sonuçlanır (Şenköylü ve Altınsoy, 1987).

Çevre sıcaklığının 27°C'nin üzerine çıkmasıyla birlikte Nor-epinefrin ve epinefrin gibi hormonların etkisiyle tavuklarda kan basıncı artar, kalp atım sayısı yükselir ve kan damarları genişler. Böylece kan vücut periferindeki damarlara doğru kaydırılarak ibik, sakal ve ayak gibi vücut organlarına daha fazla gönderilip burada soğutulmaya çalışılır. Bu sayede deri yüzeyine yakın kan damarlarından ısı kaybı sağlanmış olur. Tavuklarda bu sırada gözlenen tipik davranışlardan birisi de kanatların yana doğru açılıp, tüylerin kabartılmasıdır. Çevre sıcaklığının 30°C ve üzerine çıkmasıyla birlikte radyasyon ve konveksiyon yoluyla ısı atımı yetersiz kalır ve bu andan sonra tavuklar ısı atımını hiperventilasyon yaparak sağlarlar. Hiperventilasyon sırasında solunum hızının artışı ile birlikte vücuttan aşırı derecede karbondioksit atılması kan pH'sının artırılmasına ve kandaki bikarbonat iyonlarının azalmasına neden olur. Bikarbonat iyonları kaybı ve pH'daki yükselme, tavuklarda özellikle kalsiyum metabolizmasını etkilemekte ve yumurta kabuğunun incelmeye yol açmaktadır.

Yumurtlayan tavuklarda sıcak stresinin ilk belirtisi yem tüketiminin önemli şekilde azalmasıdır. Yem tüketimindeki azalma yumurta veriminin düşmesine, yumurta kabuk kalitesinin bozulmasına ve kırık yumurta sayısının artmasına yol açar. Hayvanlar sıcak stresinin etkisinden kurtulmak için vücut rezervlerini harekete geçirmek üzere bol miktarda kortikosteron hormonu salgırlar. Stresin şiddetine ve sürekliliğine bağlı olarak Bursa fabricius küçülür ve bunun sonucunda bağışıklık mekanizması zayıflar, hastalıklara direnç azalır ve ölüm oranı yükselir. Tüm bunlara

ek olarak vücudun elektrolit metabolizması bozularak plazma sodyum konsantrasyonu yükselir; potasyum konsantrasyonu düşer. Bu durum sonucunda hücrelerden su kaybı gerçekleşir ve vücut tarafından tolere edilmemesi durumunda hücre ölümleri gerçekleşir.

Yüksek çevre sıcaklığının kanatlılar üzerinde meydana getirdiği sıcak stresi etkisiyle ilgili yapılan birçok çalışmada fizyolojik stresin belirleyicisi olarak serum kolesterol ve tiroid hormon (T_3 ve T_4) düzeyleri araştırılmıştır. Bu çalışmaların genelinde sıcak stresine bağlı olarak serum kolesterol düzeyinin arttığı buna karşın T_3 hormon düzeyinin azaldığı belirtilmiştir.

2.2.1. Kolesterol

Şahin ve ark. (2004), Japon bildircinlarında, sıcak stresi altında melatonin uygulamasıyla ortaya çıkan bazı biyokimyasal parametreleri inceledikleri bir araştırmada, melatonin uygulanmayan kontrol grubundaki bildircinların kan örneklerinde serum kolesterol düzeyinin önemli ölçüde yükseldiğini belirtmişlerdir.

Kronik sıcak stresinin etlik piliçlerin lipid metabolizması ve peroksidasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 34°C sıcaklıkta piliçlerin sıcak stresinin etkisiyle serum trigliserid düzeylerindeki azalmaya karşın toplam kolesterol düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Shim *et al.*, 2006).

Lokal bir genotip olan Dandarawi tavuklarında yapılan bir araştırmada, yüksek sıcaklığın etkisiyle tavukların toplam lipid ve kolesterol düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Saleh, 1997).

Kanatlılarda sıcak stresi ile serum kolesterol düzeyi arasındaki ilişkinin incelendiği pek çok çalışmada yüksek sıcaklığın etkisiyle toplam kolesterol düzeyinin arttığı belirtilmiş olmasına rağmen bazı çalışmalarda sıcak stresi ile birlikte serum kolesterol düzeyinin sıcak stresinden etkilenmediği hatta sıcak stresi ile birlikte kolesterol düzeyinin azaldığı belirtilmiştir. Örneğin, değişik sürelerde sıcak stresine (35°C) maruz bırakılmış et tipi tavukların kontrol grubunda yer alan (23.9°C)

tavuklara göre daha düşük serum kolesterol düzeyine sahip oldukları belirtilmiştir (Sands ve Smith, 2002).

Kanatlılarda vücut sıcaklığının yükselmesi, serumdaki kolesterol yoğunluğunu değiştirmektedir (Yamamoto *et al.*, 2003). Cress ve Gerner (1980)'e atfen Yamamoto *et al.*, (2003) sıcak stresi sırasında serum kolesterol düzeyindeki azalmanın, hücrenin sıcağa karşı koyma gücüyle bağlantılı olabileceğini ve bu azalmanın sıcak stresi sırasında serumdaki hücre içi membranlara kolesterol taşınmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir.

Serum kolesterol düzeyi ile triiyodotironin (T_3) düzeyi arasında negatif bir ilişki bulunmaktadır. Kan kolesterol düzeyi yüksek hastalara T_3 hormonu verilmesi durumunda kolesterol miktarının düştüğü bildirilmiştir (Noyan, 2004).

2.2.2. Triiyodotironin (T_3)

Tiroid bezinin başlıca hormonları T_4 (tiroksin) ve T_3 (triiodotironin)'tür. Tiroksin 4, triiodotironin 3 iyot taşıyan amin asitleridir. Tiroid hormonları kan dolaşımında plazma proteinlerine bağlı olarak taşınırlar. Tiroid bezi, TSH (tirotropin) tarafından uyarılınca, tiroglobulin proteolitik bir enzim tarafından parçalanır ve T_4 ile T_3 serbest kalarak kana geçerler. Kana geçen bu hormonlardan % 90'ı T_4 , % 10'u T_3 'tür. Fakat gerek tiroid bezinde gerekse diğer doku hücrelerinde T_4 'ten bir iyot, enzimatik bir reaksiyonla ayrılarak T_3 meydana getirilir. T_4 'ün metabolik yönden yetersiz olduğu asıl hormon etkisini yaratan bileşiğin T_3 olduğu kabul edilmektedir. Tiroid hormonlarının en önemli etkileri dokuların metabolik hızını ve oksijen kullanma hızını artırmaktır. Hayvanların veya insanların soğuğa maruz kalması tiroid hormonlarının artmasını sağlamaktadır. Yüksek sıcaklıklarda ise metabolizma hızını düşürmek için tiroid hormonlarının seviyesi düşmektedir. Çeşitli sinirsel reaksiyonlar (fazla heyecan, ağrı, üzüntü, stres gibi sempatik sinir sistemini etkileyen durumlar) tiroid bezinden hormon salınmasını hemen azaltır. Bu nedenle de bu hormonlar organizmadaki stresin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılmaktadır (Noyan, 2004).

Kanatlılarda sıcak stresinin etkilerinin araştırıldığı birçok çalışmada T_3 , stres parametrelerinden biri olarak kullanılmış ve artan çevre sıcaklığı ile T_3 arasında ters bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Bowen *et al.*, 1984; Moraes *et al.*, 2003; Maak *et al.*, 2003; Yahav *et al.*, 2004)

Maak *et al.*, (2003), üç farklı genotipte (*Angete Melat(Na)*, *New Hampshire (NH)* ve bu iki genotipin melezleri olan *NaxNH*) yaptıkları çalışmada, uzun süreli orta dereceli sıcak stresinin etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada orta derecede sıcak ve kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuş ve deneme boyunca kontrol grubuna 18-20°C, deneme grubuna 30-32°C'lik orta dereceli sıcak stresi uygulanmıştır. Uzun dönem orta dereceli sıcak stresinin uygulandığı deneme grubundaki tavuklarda T_3 hormon seviyesinin kontrol grubu tavuklarına göre önemli derecede azaldığı bildirilmiştir.

Etlik piliçlerde embriyonik dönemde sıcağa alıştırma uygulamalarının sıcak stres fizyolojisi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kuluçkanın 13. günü ile 17. günü arasında deneme grubundaki yumurtalara 2 saat boyunca 39°C'lik bir ön ısıtma uygulanırken diğer grup normal kuluçka sıcaklığında kuluçka edilmiştir. Bu yumurtalardan çıkan civcivler 33, 35, 37, 39, 41 ve 43. günlerde 22°C'lik ortama alınmış ve piliçler ortam sıcaklığı 30°C'ye çıkartılarak 4 saat boyunca sıcak uygulaması yapılmıştır. Sıcak uygulamasının etkisiyle serum T_3 düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı, T_3 düzeyindeki en fazla düşüşün ön ısıtma yapılmış gruptaki yumurtalardan çıkan piliçlere ait olduğu bildirilmiştir (Moraes *et al.*, 2003).

Yahav *et al.* (2004), etlik piliçlerin embriyonik dönemde yüksek sıcaklığa alıştırılmasının, piliçlerin sıcak toleranslarına olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubu yumurtaları 37.8°C sıcaklıkta kuluçka edilmiş, deneme grubu yumurtalarına ise erken ve geç embriyonik dönemlerde 3 saat boyunca 39.5°C ve 41°C sıcaklıklar uygulanmıştır. Kuluçka çıkışından sonra civcivlere 3 günlük yaşta 6 saat boyunca 41°C'lik yüksek sıcaklık uygulanmıştır. Sıcaklık uygulaması öncesi ve sonrasında alınan kan örnekleri incelendiğinde, sıcak stresi ile birlikte T_3 hormon düzeyinin düştüğü, en fazla azalmanın sıcağa alıştırılan grupta gerçekleştiği belirtilmiştir.

Termonötral ortamda yetiştirilen piliçlerin sıcak ortamda yetiştirilen piliçlerle karşılaştırıldığı bir çalışmada, farklı sürelerde uygulanan (0, 4, 8, 12, 16, 20 saat) 29.9, 34.1 ve 31.9°C'lik sıcaklıkların serumdaki T₃ ve T₄ hormon düzeylerini azalttığı, en fazla düşüşün T₃ hormon düzeyinde gerçekleştiği bildirilmiştir. Uygulanan sıcaklığın ve uygulama süresinin artması ile T₃ hormonunun da azaldığı saptanmıştır (Tao *et al.*, 2006).

Yahav *et al.* (1997a), erken dönemde sıcaklık uygulamasının sıcaklığa dayanıklılıkta (termo-tolerans) fizyolojik mekanizma ve sıcak şok proteinlerinin sentezi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, sıcağa alıştırma uygulamalarının T₃ hormon düzeyini azalttığını ve bunun etlik piliçlerin sıcağa toleransını geliştirdiğini belirtilmiştir. Çalışma bulgularına göre sıcak stresine maruz kalan hayvanlarda T₃ hormon düzeylerinin düşmesi o hayvanlarda sıcağa karşı dayanıklılığın gelişmiş olmasının bir göstergesi olduğu vurgulanmıştır.

2.2.3. Hematokrit

Kanatlıların hematokrit değeri çevre sıcaklığında meydana gelen değişimlerden etkilenmektedir. Akut yüksek sıcaklığın (39°C) etlik piliçlerin hematokrit ve lökosit değerleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, sıcak stresinin piliçlerin hematokrit değerinde önemli olmayan bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Altan ve ark., 2000a).

Donkoh (1989) etlik piliçlerde yaptığı çalışmasında değişik çevre sıcaklıklarının gelişme performansı ve fizyolojik özellikler üzerine etkilerini incelemiştir. Araştırmada 21 günlük yaştan itibaren farklı deneme gruplarına 20, 25, 30 ve 35°C'lik sıcaklıklar uygulanmış ve artan çevre sıcaklığıyla birlikte hematokrit değerlerinin sırasıyla % 33, 32.7, 31.8 ve 30.6 olarak azaldığı saptanmıştır.

Etlik piliçlerin sıcak stresine ve yemin elektrolit dengesine verdikleri fizyolojik tepkinin araştırıldığı bir çalışmada piliçlere, 24°C'den 30°C'ye 30 dakika, 32°C'den 36°C'ye 30 dakika, 36°C'den 37°C'ye 15 dakika ve 37°C'den 41°C'ye 45 dakika boyunca sıcaklık uygulaması yapılmıştır. Sıcak stresi öncesi % 22.2 olarak

hesaplanan hematokrit değerinin sıcak uygulamaları sonrasında % 20.2'ye gerilediği bildirilmiştir (Borges *et al.*, 2004).

Çevresel sıcaklığın tavukların kanlarındaki değişime etkisinin incelendiği bir çalışmada, 10-30°C ve 30-35°C'lik iki ortamda yetiştirilen etlik piliçlerde sıcak ve soğuk çevre etkisinin bazı kan parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir. Soğuk ortamda yetiştirilen hayvanlardan alınan kan örneklerinde hematokrit değeri önemli derecede yüksek bulunurken sıcak gurubunda yetiştirilen piliçlerde sıcaklığın etkisiyle hematokrit değerinin düştüğü bildirilmiştir. Sıcaklığın 10, 20, 30°C'ye yükseltilmesiyle hematokrit düzeyindeki değişim sırasıyla 34.5, 31.1 ve 25.6 olarak bulunmuştur (Yahav *et al.*,1997b).

2.3. SICAK şOK PROTEİNLERİ (HEAT SHOCK PROTEINS)

Hem ökaryotik hem de prokaryotik hücrelerde bulunan sıcak şok proteinleri (HSPs), ilk olarak 1962 yılında Ritossa tarafından *Drosophila melanogaster*'in salya hücrelerinde saptanmıştır. Ritossa (1962), 30 dakika boyunca 37°C sıcaklığa maruz bırakılmış *Drosophila melanogaster*' in salya hücrelerine ait polytene kromozomlarında puff adı verilen şişkinliklerin meydana geldiğini ve bir süre sonra bu şişkinliklerde gerilemelerin olduğunu saptamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda şişkinliklerde meydana gelen gerilemelerde 70 ve 26 kDa'luk proteinlerin etkili olduğu saptanmıştır (Tissieres *et al.*, 1974).

Drosophila melanogaster dokularında normal vücut sıcaklığının 5°C üzerindeki bir sub-lethal sıcaklıkta şişkinlik (puff) bölgelerinde sıcak şok proteinlerinin sentezlendiği görölmüş ve sıcaklıktaki ani artışlarla bu proteinlerin sentezinin arttığı saptanmıştır. Bu nedenle bu proteinler "sıcak şok proteini" olarak adlandırılmıştır (Tissieres *et al.*, 1974).

Keşfedildikleri ilk 20 yıl içerisinde tipik hücre içi proteinler olarak varsayılan sıcak şok proteinlerinin (HSP) 1980'li yıllarda yapılan birtakım çalışmalar sonucunda hücre içinde çok özel işlevleri olan karmaşık proteinler oldukları anlaşılmıştır (Tytell, 2005).

Sıcak stresi, sıcak şok proteinlerinin sentezini artıran tek uyaran değildir. Normal şartlar altında yardımcı protein (şaperon) olarak görev yapan bu proteinler ayrıca, hücresel enerji boşalımı, aşırı iyon konsantrasyonu, hücrenin osmolit dengesinin bozulması, hypoxia durumu ve çeşitli toksik maddelerin hücre içerisine alınması gibi çeşitli stres etmenlerine karşı da sentezlenerek organizmayı koruma görevlerini üstlenmektedirler. Bu nedenle sıcak şok proteinleri “stres proteinleri” olarak da adlandırılmaktadır (Feder ve Hofmann, 1999).

Yapılan çalışmalar sonucunda, stres proteinlerini şifreleyen genler büyük ölçüde belirlenmiş ve üzerinde çalışılan tüm türlerde saptanmıştır. Bu genler üzerinde yapılan çalışmalar sonucu, genler sekans sıralarına ve moleküler ağırlıklarına göre gruplara ayrılmışlardır. Bunlar: HSP110, HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40, HSP29, HSP27, HSP10 kDa ve küçük HSP aileleridir (Feder ve Hofmann, 1999). Moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılan sıcak şok proteinlerinin görevleri ve organizmadaki yerleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Üzerinde en fazla çalışılan ve en fazla bilgi sahibi olunan sıcak şok proteinleri 60, 70, 90 ve 110 kDa moleküler ağırlığa sahip proteinlerdir. HSP70 ve HSP90 tüm organizmalarda bulunurken HSP110 sadece memeli hücrelerinde bulunmaktadır (Feder ve Hofmann, 1999).

Çizelge 2.1. Sıcak şok proteinlerinin hücre içerisindeki yerleri ve görevleri (Kiang ve Tsokos, 1998; Feder ve Hofmann, 1999; Kregel, 2002).

HSP	Hücredeki Yeri	Görev
HSP110	Sitozol	-Protein katlanması (folding)
HSP101	Sitozol Çekirdek	-Yüksek sıcaklığa tolerans
HSP90	Sitozol ER Çekirdek	-Yüksek sıcaklığa tolerans -İskemik tolerans -Apoptosis -Protein taşınması -Hücre döngüsü kontrolü -Glukokortikoid reseptörlerinin düzenlenmesi
HSP70	Sitozol ER Mitokondri Çekirdek	-Yüksek sıcaklığa tolerans -İskemik ve hipoksik tolerans -Sıcak şok tepkisinin regülasyonu -Apoptosis -Stres uyarımlı protein katlanması ve taşınması -U.V. radyasyona tolerans -Sıcak şoku sırasında proteinlerin denatürasyonunu ve agregatlaşmasını önleme -Hücre koruma
HSP60	Mitokondri Kloroplast	-Yüksek sıcaklığa tolerans -Protein taşıma -HSP10 ile birlikte iskemiye karşı hücre koruması
Küçük HSP'ler	Sitozol Çekirdek	-İskemik tolerans -Yüksek sıcaklığa tolerans

HSP: Heat Shock Protein

ER: Endoplazmik Retikulum

2.3.1. Küçük Sıcak Şok Proteinleri (<40 kDa)

Sıcak şok proteinlerinin bu küçük familyası 15–30 kDa'luk molekül ağırlıklarına sahiptir. Evrim boyunca korunmuş bir gen dizisine sahip olan küçük HSP grubu normal şartlarda hücre sitozolünde bulunmaktadırlar. Diğer sıcak şok proteinlerine göre daha az bilgi sahibi olunan küçük sıcak şok proteinleri sıcak stresinde hücreyi

koruma görevini üstlenmektedir (Lindquist ve Craig, 1988; Jacob *et al.*, 1993). Einat *et al.*, (1996), uzun süreli sıcak şokuna maruz bırakılmış et tipi tavuklarda kalp kası ve akciğer dokularında sıcak stresinin başlangıcından 3 saat sonra 29 kDa moleküler ağırlığında yeni bir sıcak şok proteinin sentezlendiğini saptamışlardır. Bu küçük sıcak şok proteinin sıcaklık uygulaması sırasında HSP90, HSP70 ve HSP27'den çok daha sonra sentezlendiği, bu nedenle de bu proteinin sıcak toleransında HSP70 ve HSP90'dan farklı olarak ikinci bir koruma döneminde hücreyi koruduğu belirtilmiştir (Einat *et al.*, 1996). Ayrıca sıcak toleransı dışında iskemiye karşı da hücreyi koruma görevleri bulunmaktadır (Lau *et al.*, 1997).

2.3.2. Sıcak Şok Proteini 60 kDa (HSP60)

Sıcak şok proteinlerinden 60 kDa'luk molekül ağırlığına sahip HSP60 proteinlerin sitoplazmadan mitokondrial matrikse taşınmasında ve taşınmış proteinlerin yeniden katlanmasında (refolding) görev alan bir mitokondrial şaperondur (Ryan *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 2003). HSP60'ın planlı hücre ölümü adı verilen "apoptosis" olayında da önemli roller üstlendiği ve insanlarda kanser üzerine yapılan çalışmalarda HSP60'ın daha az sentezlenmesinin hastalığın seyrini kötüleştirdiği ve tümör gelişimini tetiklediği belirtilmiştir (Lebret *et al.*, 2003). HSP60 aynı zamanda sıcak şokuna ve iskemiye karşı hücrelerin korunmasında da görev alan önemli bir stres proteindir (Heads *et al.*, 1995).

2.3.3. Sıcak Şok Proteini 90 kDa (HSP90)

Evrim süreci içerisinde yüksek oranda korunmuş bir protein grubudur. Tüm hücrelerde hem stres anında hem de normal şartlarda en fazla bulunan sıcak şok proteinlerindedir. Sitozolik bir protein olan HSP90 stres durumunda hücre çekirdeğine taşınmaktadır (Lindquist ve Craig, 1988). Bunun dışında hücre içerisinde endoplazmik retikulum ve mitokondride bulunurlar. Protein katlanması dışında, sıcak şokuna ve iskemiye karşı hücreyi koruma görevini üstlenen HSP90, glukokortikoid hormon reseptörlerinin düzenlenmesinde ve apoptosiste görev almaktadır (Mailhos *et al.*, 1994; Heads *et al.*, 1995; Whitesell ve Cook, 1996).

2.3.4. Sıcak Şok Proteini 110 kDa (HSP110)

Sadece memeli hücrelerinin sitozolünde bulunan HSP110 sıcak şok proteinleri ailesinin büyük moleküler ağırlığa sahip üyesidir. Normal şartlar altında sürekli sentezlenen HSP110'un hücre içerisinde protein katlanması ve hücresel düzeyde sıcağa toleransın gelişmesinde görev aldığı bildirilmektedir (Feder ve Hofmann, 1999; Kregel, 2002).

Sıcak şok proteinleri (HSP) sıcak şoku sırasında tüm organizmalarda hızlı bir şekilde sentezlenmekte fakat organizmalarda sıcak şok proteinlerinin sentezlendiği eşik sıcaklık değişikliği göstermektedir. Örneğin, somon balıklarında ve alabalıklarda 24°C'de sentez geçici süre ile görülürken 28°C'de sıcak şok proteinlerinin sürekli olarak sentezlendiği saptanmıştır. Diğer organizmalara örnek olarak deniz kirpilerinde 30-32°C'de, deniz salyangozlarında 30°C'de, bira mayasında 39-40°C'de, mısır bitkisinde 40-45°C'de, *E.coli*'de 45-50°C'de, *Halobacteria*'da 60°C'de sıcak şok proteinlerinin maksimum düzeyde sürekli sentezlendiği saptanmıştır (Lindquist, 1986).

Drosophila hücrelerinin normal şartlarda yaşama sıcaklığı 25°C'dir. Çevre sıcaklığının 29-38°C'ye yükselmesiyle HSP sentezinin başladığı ve 36-37°C'de sentezin maksimum düzeye ulaştığı belirtilmiştir (Lindquist, 1980a). Organizmalarda yaşam sıcaklığının 10-15°C üzerinde HSP sentezinin maksimum düzeyde gerçekleştiği belirtilmektedir. Yukarıda belirtilen sıcaklıklarda sıcak şok proteini gen mesajlarının 4 dakika içinde oluşturulduğu ve bunu izleyen 1 saat içinde her hücrede birkaç bin HSP gen transkripsiyonu gerçekleşmektedir (Lindquist, 1980b).

Lindquist (1980b) *Drosophila* hücrelerini direkt olarak yüksek sıcaklığa maruz bıraktığı çalışmada, 37°C'de maksimum HSP sentezinin gerçekleştiğini saptamış, sıcaklığın 39°C'ye yükselmesiyle HSP sentezinin oldukça azaldığını belirtmiştir. Ayrıca uygulanacak yüksek sıcaklığın kademeli olarak artırılması HSP sentezini birkaç derece daha yüksek sıcaklıkta sentezlenmesine neden olabilmektedir. Organizmanın sıcağa karşı koyma gücü üzerine (termotolerans) sıcak şok proteinlerinin çok önemli bir görev üstlendiği belirtilmektedir.

2.3.5. Sıcak Şok Proteini 70 kDa (HSP70)

Evrin boyunca oldukça iyi korunmuş bir sekans yapısına sahip olan HSP70, sıcak şok proteinleri arasında üzerinde en çok çalışma yapılmış stres proteini familyasıdır. HSP72 (HSP70), HSP73 (Hsc70), HSP75 (mHSP70) ve HSP78 (GRP78) olmak üzere 4 üyeden oluşan HSP70 ailesi çeşitli stres uyaranlarına (yüksek sıcaklık, iskemi, hipoxia, hidrojen peroksit, tümör oluşumu) karşı hücreyi koruma görevini üstlenmişlerdir (Çizelge 2.2).

Stres şartları dışında hücre içerisinde moleküler şaperon görevini üstlenen HSP70 proteinlerin bir araya kümelenmesini ve yanlış katlanmasını önleyerek hücreyi korur (Lindquist, 1986; Hartl, 1996; Feder ve Hofmann, 1999; Kregel, 2002).

HSP70 ailesi içerisinde sadece sıcak şoku sonrasında sentezlenen HSP72 literatürde HSP70 olarak adlandırılmaktadır ve özellikle sıcağa karşı hücrel tolerans konularında üzerinde en fazla çalışma yapılan sıcak şok proteindir. HSP78 daha çok salgı hücrelerinin endoplazmik retikulumunda bulunmaktadır. Sıcak stresi sırasında sentezlenmeyen HSP78'in, glikoz eksikliği, kalsiyum iyonoforları, glikozolasyon inhibitörleri v.b. etmenlerle sentezi artmaktadır (Lindquist ve Craig, 1988). HSP78'in antikör salgılayan hücrelerde bol miktarlarda bulunduğu ve HSP70 nükleer yapısından ATP ile salındığı bildirilmektedir (Munro ve Pelham, 1986).

Çizelge 2.2. HSP70 ailesinin hücre içerisindeki yerleri ve görevleri (Lindquist ve Craig, 1988; Kregel, 2002).

HSP70 Ailesi	Hücredeki Yeri	Görevi
HSP72 (HSP70)	Sitozol	•Protein katlanması
	Çekirdek	•Yüksek sıcaklığa karşı hücre koruma
HSP73 (Hsc70)	Sitozol	•Moleküler şaperon
	Çekirdek	
HSP75 (mHSP70)	Mitokondri	•Moleküler şaperon
HSP78 (GRP78)	Endoplazmik Retikulum	•Moleküler şaperon
		•Stres uyarımlı hücre koruma

Hsc: Sıcak şoku kökenli proteinler mHSP: Mitokondrial HSP GRP: Endoplazmik Retikulum Şaperon Proteini

Organizmalar arasında sıcak şok proteinlerinin sentezi farklılık gösterebilmektedir. Tavuklarda, lenfositlerde sıcak şok proteinlerinin büyük bir kısmı sentezlenirken retikolositlerde sadece HSP70 sentezinin gerçekleştiği bildirilmiştir (Morimoto ve Fodor, 1984).

Organizmanın normal yaşam sıcaklıklarında HSP70 sentezi tespit edilemezken organizma için sıcak şokunun olduğu yüksek sıcaklıklarda HSP70 sentezi belirgin bir şekilde artarak poliakrilamid jel elektroforezinde (PAGE) boyanabilen major proteinlerden biri olarak saptanabilmektedir (Velazquez, *et al.*, 1983).

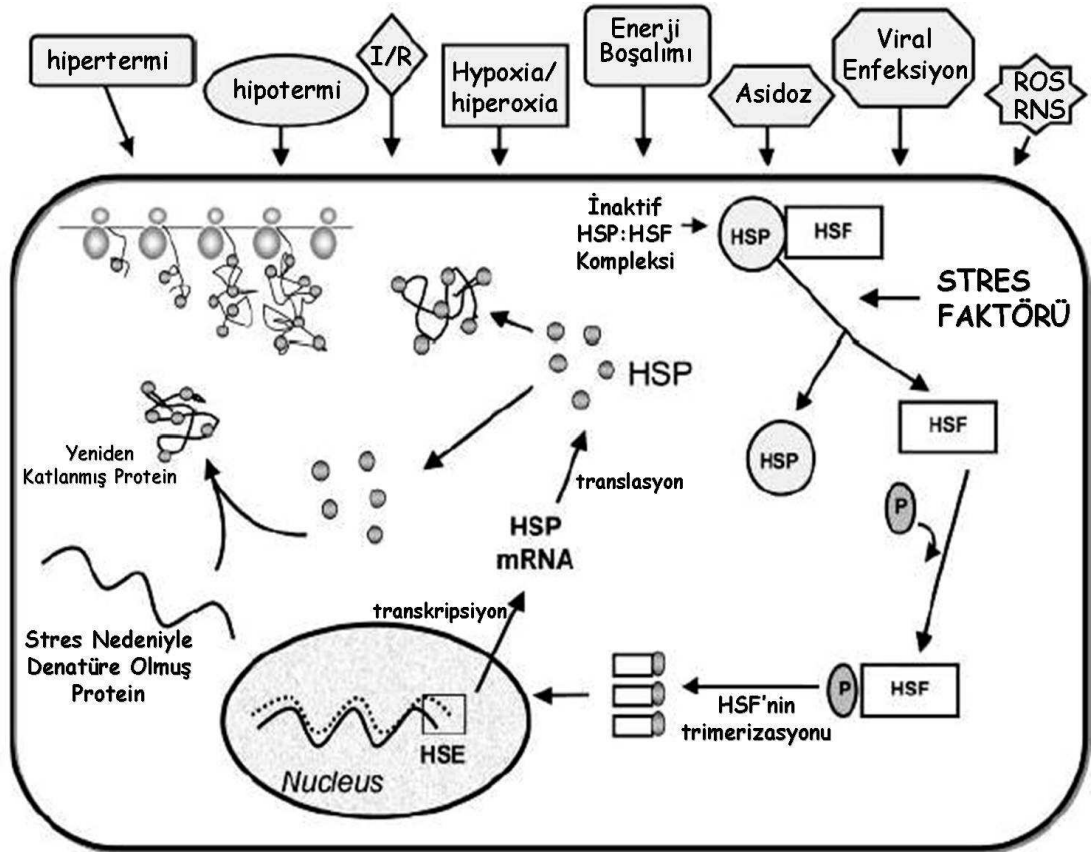
Velazquez ve Lindquist (1984), sıcak şoku sırasında HSP70 yoğunluğunun sitoplazma içerisinde azaldığını, hücre çekirdeği içerisinde ise hızla arttığını saptamışlardır. Sıcak şokundan sonra iyileşme safhasında HSP70'in hücre çekirdeğini terk ederek yeniden sitoplazma içerisine dağıldığını ve ikinci bir sıcak şoku ile ani olarak tekrar çekirdek içerisine taşındığını belirtilmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda mutasyonların HSP70 sentezini etkilediği belirtilmiştir. Tobe *et al.*, (1984), *E. coli*'de yaptıkları çalışmalarında yabancı hatlara ait hücreleri 30°C'den 42°C'lik sıcaklık uygulanan bir ortama taşımışlar ve daha sonra bu hücrelerin 55°C'lik sıcaklığa tolerans sağladığını belirtmişlerdir. Aynı uygulama mutant hatlar üzerine yapıldığında yabancı tiplerde sağlanan ısıya toleransın gözlenmediği görülmüştür. Bu çalışmanın aksine ökaryotlarda yapılan benzer bir çalışmada HSP70 gen ailesinden olan *SSA1* ve *SSA2* mutant genlerini taşıyan hatlarda hücrelerin direkt olarak yüksek sıcaklığa maruz bırakılması sonucunda ısıya toleransın yabancı tiplerdekine benzer şekilde geliştiği belirtilmiştir (Craig ve Jacobsen, 1984).

2.3.6. HSP70 Sentezi ve Gen Regülasyonu

Çevre sıcaklığının hücre için yüksek veya düşük olması, iskemi, reperfüzyon, hypoxia, hiperoksia, toksik maddeler, enfeksiyon, enerji boşalımı ve benzeri birçok stres faktörü normal şartlar altında inaktif durumda bulunan HSP70 proteinin sentezini uyarmaktadır. Hücre içerisinde sitozolde sıcak şok proteinlerine bağlı olarak inaktif durumda bulunan sıcak şok faktörleri (HSF), çeşitli stres etmenlerinin

uyarımı ile aktive olarak sıcak şok proteinlerinden ayrılır ve sitozol içerisinde protein kinaz enziminin etkisiyle fosfor grubuyla birleşerek fosforilize olurlar. Fosfor grubuyla birleşen HSF sitozol içerisinde trimerizasyona uğrar ve trimer kompleksler oluşturur. Bu HSF trimer kompleksleri hücre çekirdeğine girerek HSP70 geninin promoter bölgesindeki sıcak şok elemanlarına (HSE) bağlanırlar. Daha sonra HSP70 mRNA kopyalanarak hücre çekirdeğinden hücre sitozolüne geçer ve yeni HSP70 sentzlenerek HSP70 miktarı artırılır. Artan HSP70, stres nedeniyle yapısı bozulmuş proteinlerin yeniden katlanmasında ve taşınmasında şaperon görevi yaparak hücrenin korunmasında görev alır (Kregel, 2002). HSP70 sentezi ve gen regülasyonunun şematik anlatımı Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. HSP70 sentezi ve gen regülasyonunun şematik anlatımı (Kregel, 2002). (P:Fosforilizasyon; I/R: İskemi/Reperfüzyon; ROS: Reaktif Oksijen Türleri; RNS: Reaktif Nitrojen Türleri) HSF: Sıcak Şok Faktörleri HSE: Sıcak Şok Elemanları

2.3.7. Sıcak Şok Faktörleri (Heat Shock Factors: HSF)

Şok sıcaklık değişimlerine ve birtakım kimyasal uyarıcılara karşı organizmaların sıcak şok proteinlerini sentezleyerek tepki verdikleri bilinmektedir. Ökaryotlarda organizmaların vermiş olduğu bu tepki hücre içinde var olan sıcak şok faktörlerinin (HSF) sıcak şok proteini genlerinde bulunan sıcak şok elemanlarına bağlanmasıyla düzenlenir. Bu nedenle sıcak şok genlerinin transkripsiyonunun gerçekleşmesi, sıcak şok proteinlerinin ve şaperon proteinlerin sentezinin artırılabilmesi için sıcak şok faktörlerine ihtiyaç vardır (Sorger, 1991; Pirkkala *et al.*, 2001). Sıcak şok faktör genleri bugüne kadar bir maya, böcek, fare, tavuk, domates ve insan gibi birçok organizmadan klonlanmış ve genlerin sıcak şok proteinleri gibi evrim sürecinde çok iyi korunmuş oldukları belirtilmiştir (Morimoto *et al.*, 1992).

Sıcak şok faktörleri memelilerde HSF1, HSF2 ve HSF4 olmak üzere üç şok faktörüne sahipken, tavuklarda sıcak şok faktörleri ailesi HSF1, HSF2 ve HSF3'den oluşmaktadır (Nakai ve Ishikawa, 2001; Morange, 2006). Sadece kanatlılarda saptanan HSF3 sıcak şok faktörünün aminoasit sekans yapısının HSF1 ve HSF2 faktörlerinin sekans yapısıyla % 40 benzerlik taşıdığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada sıcak şok faktörü türleri arasındaki benzerliklere rağmen kanatlı HSF'sinin DNA'ya bağlanması açısından diğer türlere göre farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir (Nakai ve Morimoto, 1993).

Sıcak şokunun atlatılmasından sonra hücrenin iyileşme sürecinde artan HSP gen miktarına karşın sıcak şok faktörlerinin (HSF1) DNA'ya bağlanma aktivitelerinin azaldığı belirtilmiştir (Sridhar *et al.*, 1994).

Klasik sıcak şok faktörü özelliklerine sahip olan HSF1 sıcak şoku sonrası ve diğer stres uyarıcıları sonrasında hızlı bir şekilde DNA'ya bağlanma ve transkripsiyon aktivitesi göstermektedir. Diğer sıcak şok faktörlerinden farklı bir kinetiğe sahip olan HSF3'ün sıcak şok tepkisinin ayarlanmasında HSF1'in aktivitesinin kontrolünde dominant bir rol üstlendiği bildirilmiştir (Tanabe *et al.*, 1998).

Nakai ve Morimoto (1993) çeşitli tavuk dokularına uyguladıkları sıcak şoku sonrası en fazla HSF3 sentezinin eritrositlerde gerçekleştiğini saptamışlardır. Çalışmada, artan transkripsiyonel HSP70 sentezine karşın HSF2 sentezinin azaldığı HSF3 sentezinin ise arttığı bildirilmiştir. Bu sonuç ile HSF3'ün kanatlı eritrositlerinde sıcak şok gen transkripsiyonlarında önemli bir rolünün olduğu belirtilmektedir.

Sıcak şok tepkisi üzerine yapılan *in vivo* çalışmalarda HSP70, karaciğer dokusunda beyin, akciğer ve deri dokularına göre daha az sentezlenmiştir (Blake *et al.*, 1990). Bu bilgilere ek olarak tavuklarda en fazla sıcak şoku tepkisinin karaciğer dokusunda 6 saat sonra gözleendiği oysa diğer dokularda HSP70 sentezinin sıcak şokunu takiben ilk 1 saat içinde gerçekleştiği belirtilmiştir. Sıcak şoku sonrasında karaciğer dokusunda HSP70 sentezinin gecikme sebebinin bu dokudaki HSF2 ve HSF3 mesajlarının oldukça az olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Nakai ve Morimoto, 1993).

Stresten uzak normal şartlar altındaki hücrelerde HSF1 metazoan hücrelerde monomer olarak DNA'ya bağlanma gücü zayıf bir şekilde bulunur. Hücrenin strese maruz kalması durumunda HSF1'in monomer yapısı, aktif homotrimer yapıya dönüşerek sıcak şok genlerinin promoter uçlarına bağlanır ve gen transkripsiyonu gerçekleşir. HSF1'in pasif yapıdan aktif duruma geçmesinin çok aşamalı bir süreç olduğu bildirilmiştir (Wu, 1995; Mercier *et al.*, 1999).

2.4. Kanatlılarda Sıcak Şok Proteinleri (HSP) ile İlgili Çalışmalar

Kanatlılarda sıcak stresi sırasında lökositlerde moleküler ağırlıkları 22 ile 90 kDa arası değişen stres proteinlerinin sentezlendiği saptanmıştır (Morimoto ve Fodor, 1984; Wang 1992). Kanatlılarda saptanan stres proteinleri arasında sıcağa dayanıklılık bakımından en iyi belirleyicinin HSP70 olduğu bildirilmektedir (Li ve Mark, 1989; Givisiez *et al.*, 1999). Aynı zamanda bu çalışmalarda HSP70 ile sıcağa dayanıklılık düzeyi arasında logaritmik bir ilişkinin bulunduğu da belirtilmiştir (Li, 1985). Bu nedenle de HSP70'in hücredeki düzeyleri, hücrenin sahip olduğu sıcağa dayanıklılık gücü açısından güçlü bir belirleyici olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Li ve Mark, 1989).

Çiftlik hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada sıcak stresi ile birlikte sığır, at, koyun ve tavuk lenfositlerinde HSP70 sentezi artmakta, sıcak stresi sırasında tüm türlerde moleküler ağırlıkları 70 ve 90 kDa olan sıcak şoku proteinlerinin sıcaklık uygulamasının ilk 30 dakikasında sentezi gerçekleşmektedir (Guerriero ve Raynes, 1990).

Wang ve Edens (1998), laboratuvar şartlarında yaptıkları çalışmada tavukların HSP sentezleme yeteneklerinin ani sıcak stresine karşı direnç güçleri ile ilgili olduğunu bildirmiştir. Hücre kültürü üzerinde yapılan yoğun çalışmalar, stres proteinlerinin sentezlenmesinin organizmanın sıcağa karşı koyabilme gücüne bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (Wang ve Edens, 1998).

Stres koşulları dışında organizmada saptanamayan bu proteinlerin sentezlenmesi, canlıdaki stres düzeyine ve stres faktörünün etkili olduğu süreye bağlı olarak değişmektedir. Wang ve Edens (1998), tavuklar üzerinde yaptıkları çalışmada, 25°C'lik ortamdaki tavuklardan alınan kan örneklerinde HSP70'e rastlamazlarken, 41°C'lik ortamdaki tavukların kan örneklerinde yüksek düzeyde HSP70 saptamışlardır.

Yahav *et al.*, (1997c), yaptıkları çalışmada etlik piliçlerde akciğer dokularında sıcak şok proteini sentezinin vücut sıcaklığının 44.5°C'nin üzerine çıktığında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada vücut sıcaklığının 46.4°C'ye ulaştığı anda HSP70, HSP90 sentezinden sonra 29 kDa'luk moleküler ağırlığa sahip bir başka sıcak şok proteinin daha sentezlendiğini bildirmişlerdir.

Selenyum katkılı bir rasyonla beslenen hindilerden elde edilen yumurtalara kuluçkada uygulanan sıcak stresinin, hindi embriyolarının karaciğer dokularında HSP70 konsantrasyonlarına ve GSHpx aktivitelerine etkisi araştırılmıştır. Kuluçkanın 22. gününde 2 saat boyunca uygulanan 40°C'lik sıcaklığın hem selenyum katkılı ve hem de selenyumsuz rasyonlarla beslenen hindilere ait embriyoların karaciğer dokularında HSP70 sentezinin gerçekleştiği bildirilmiştir. Ancak sıcak şoku sonrası 3 saatlik iyileşme döneminde, selenyum katkılı rasyonla beslenen hindilere ait embriyolarda daha az HSP70 sentezinin saptandığı ve

selenyumun sıcak şoku sonrası hücre aktivitelerinin regulasyonuna yardımcı olduğu belirtilmiştir (Rivera *et al.*, 2005). Etlik piliçlerde sıcak stresi üzerine selenyumun etkisinin araştırıldığı benzer bir çalışmada, rasyona selenyum katkısının enterik bakteri aktivitesini, oksidatif stresi ve HSP70 sentezini azalttığı bildirilmiştir (Mahmoud ve Edens, 2005).

Mahmoud *et al.*, (2004), etlik piliçlerde döngüsel stres ve HSP70 sentezi üzerine askorbik asit etkisini araştırdıkları çalışmalarında, askorbik asit ilave edilen ve edilmeyen rasyonlarla beslenen etlik piliçlere, birbirini izleyen üç gün boyunca 3.5 saatlik periyotlarda 21°C'den 30°C'ye 30°C'den tekrar 21°C'ye olmak üzere sıcaklıklar uygulamışlardır. Çalışmada askorbik asit ilave edilmiş rasyonlarla beslenen piliçlerin döngüsel stres sırasında daha az HSP70 sentezledikleri saptanmıştır. Bir başka çalışmada erken yaşta yem kısıtlaması ve sıcağa alıştırmaya uygulamalarının termo-tolerans ve HSP70 üzerine olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (Zulkifli *et al.*, 2003).

Etlik piliçlerde erken yaşta sıcağa alıştırmaya uygulamalarının sıcak toleransını geliştirdiğini belirten Yahav *et al.*, (1997c) sıcağa alıştırmaya yapılan tavukların daha az HSP70 sentezlediğini saptamışlardır. Buna ek olarak kalp ve akciğer dokularındaki HSP70 sentezinin hayvanın vücut sıcaklığı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Erken dönemde sıcaklık uygulamasının sıcaklığa dayanıklılığın (termo-tolerans) fizyolojik mekanizması ve sıcak şok proteinlerinin sentezi üzerine yapılan bir çalışmada, kontrol grubu hayvanları normal yetiştirme sıcaklığında yetiştirilirken, sıcağa alıştırılacak etlik civcivlere 5 günlük yaşta 24 saat boyunca 36°C'lik sıcaklık uygulanmıştır. Piliçlere 42 günlük yaşlarında $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik ikinci bir sıcaklık uygulaması yapılmış ve 5 günlük yaşta yüksek sıcaklık uygulanan hayvanların rektal sıcaklıklarının kontrol grubundaki hayvanlarına göre daha yavaş yükseldiğini saptamışlardır. Erken yaşta sıcaklık uygulaması yapılmayan kontrol grubu hayvanlarında HSP70 ve HSP90 sentezi 42 günlük yaşta uygulanan sıcak şokunun ilk saatinde gözlenirken, sıcak stresine alıştırmış grupta sentezin sıcak uygulamasından 3 saat sonra gerçekleştiği bildirilmiştir (Yahav *et al.*, 1997a).

In vitro ve *in vivo* şartlarda hindi periferal lökositlerinde yapılan bir çalışmada sıcak stresi sırasında HSP90, HSP70 ve HSP23 sıcak şok proteinlerinin sentezinin saptandığı bildirilmiştir. Çalışmada *in vivo* ve *in vitro* şartlarda değişik zaman dilimlerinde farklı yüksek sıcaklıklar uygulanmıştır. Çalışma sonucu olarak sıcak şok proteinlerinin sentezinin sıcaklık ve zamana göre değiştiği belirtilmiştir (Wang ve Edens, 1993).

Mazzi *et al.*, (2002), çıplak boyunlu etlik piliçlerin üç genotipinde (Na/Na, Na/na, na/na), sıcak stresinin kloak sıcaklığı, canlı ağırlık kaybı ve HSP70 sentezi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada uygulanan sıcak stresi ile birlikte (ortam sıcaklığı 28°C'den 36°C'ye yükseltilmiştir) heterozigot bireylerin (Na/na) diğer tiplere göre önemli düzeyde daha düşük canlı ağırlığa ve kloakal sıcaklığa sahip olduğu belirtilmiş, genotipler arasında sentezlenen HSP70 düzeyleri bakımından bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir.

Mazzi *et al.*, (2003), Tavuklarda HSP70 genindeki polimorfizmi inceledikleri çalışmalarında, Hubbard-Peterson, PP1 (canlı ağırlık yönünde seçilmiş hat) ve çıplak boyunlu olmak üzere üç farklı genotipte HSP70 geninin promoter bölgesinin ve HSP70 geninin kod bölgesini saptamışlardır. Üç genotipte de HSP70 geninin promoter bölgesinin birbirleri ile aynı olduğu saptamışlar ve tüm kuşlarda HSP70 gen regülasyonunun aynı promoter bölgede gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışmada HSP70 geninin HSP70-1, HSP70-2 ve HSP70-3 olmak üzere üç farklı allelinin olduğu ve HSP70-3 allelinin sadece Hubbard Peterson ve PP1 ticari genotiplerde düşük frekanslarda (0.016 ve 0.006) saptadıklarını belirtmişlerdir.

Etlik piliçlerde yapılan bir çalışmada tavuklara 1 saat boyunca uygulanan 41°C'lik sıcaklığın lökositlerde, testislerde ve bursa fabricius'da HSP70 mRNA sentezine neden olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, büyük ibikli genç horozların testis ve bursa fabricius'larında küçük ibiklilerinkine göre daha fazla HSP70 mRNA kopyalarının sentezinin saptandığı belirtilmiş ve HSP70 mRNA sentezinin tavuklarda sıcağa dayanıklılıkta önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Wang ve Edens, 1994)

Wang ve Edens (1998), etlik tavuklarda ve hindi palazlarında periferik lökositlerde HSP90, HSP70 ve HSP23 sıcak şok proteinlerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda saptamışlardır. Çalışmada günde 1 saat 41°C'lik sıcaklık uygulamasının 1 ve 2. haftalarda *in vitro* şartlardaki tavuk lökositlerinde HSP70 sentezinin uyarıldığını, hindilerde ise aynı şartlarda HSP70 uyarımının 3. haftada gerçekleştiği bildirilmiştir. *In vivo* şartlarda en fazla HSP70 sentezinin, sıcaklık uygulamalarının 1. hafta sonrasında saptandığı fakat sıcaklık uygulamasının 2. haftasında HSP70 sentezinde ek bir artışın gözlenmediği bildirilmiştir.

Franco-Jimenez *et al.*, (2007), üç farklı tavuk hattına (Hy-line kahverengi, W36, W98) 2 hafta boyunca 22°C'lik sıcaklık uygulamış, daha sonra 2 hafta boyunca 35°C'lik sıcak stresi uygulamışlardır. Tavuklara sıcak stresinden sonra tekrar 2 haftalık 22°C'lik sıcaklık uygulanmıştır. Çalışma sonucunda W98 ve kahverengi Hy-line hatlarında HSP70 sentezinde sırasıyla % 33 ve % 36'lık artışlar gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre W98 hattının diğer iki hatta göre sıcak stresinde fizyolojik olarak daha avantajlı olduğu bildirilmiştir.

Maak *et al.*, (2003) farklı yumurta tavuğu genotiplerinde uzun dönemde orta dereceli sıcak stresinin (30-32°C) mono-nükleer hücrelerdeki HSP70, T₃ ve kortikosteron üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada *Angete Melat(Na)*, *New Hampshire (NH)* ve bu iki genotipin melezleri (*NaxNH*) olmak üzere üç farklı genotip kullanılmıştır. Sıcak stresi ve kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturulmuş ve deneme boyunca kontrol grubuna 18-20°C, deneme grubuna 30-32°C'lik orta dereceli sıcak stresi uygulanmıştır. Orta dereceli sıcak stresinin tavuklarda HSP70 sentezini önemli derecede artırdığı buna karşın T₃ hormon seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. Çalışma sonuçları, HSP70 ve T₃ düzeylerinin orta dereceli sıcak stresinde de etkilenebileceğini göstermiştir.

Givisiez *et al.*, (1999), farklı sıcaklıkların etlik piliçlerin karaciğer dokusundaki HSP70 sentezine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, kontrol grubundaki piliçler normal yetiştirme sıcaklığında, stres grubundaki piliçler ise haftada bir, iki ve üç gün, dörder saat 35°C sıcaklık uygulayarak yüksek sıcaklığa alıştıırılarak yetiştirilmişlerdir. Bu uygulamalara ek olarak çalışmada 39-42. günler arasında tüm

gruplara 41°C'lik akut sıcaklık uygulanmış ve karaciğer dokularındaki HSP70 sentezine etkisi incelenmiştir. En yüksek HSP70 sentezi haftada üç kez 35°C sıcaklık uygulanan grupta saptanmıştır. Çalışmada HSP70 sentezi ile sıcak uygulama süresi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Yetiştirme sırasında uygulanan 35°C sıcaklığın piliçlerin, ileriki dönemlerde karşılaşılabilecekleri akut sıcak stresine (41°C) karşı dayanıklılıklarını artırırken, hepatik HSP70 düzeyinde aynı etki saptanmamıştır.

Yeğenoğlu (2007), kuluçka ve yetiştirme döneminde sıcağa alıştırma uygulamalarının, iki ayrı damızlık yaşından elde edilen etlik piliçlerin beyin dokusundaki HSP70 proteini düzeyine etkisini araştırmıştır. Araştırma sonuçlarına göre genç damızlıklardan ve standart kuluçkadan elde edilen piliçlerde sıcağa alıştırma grubunda HSP70 miktarının kontrol ve stres gruplarına göre daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Sıcak kuluçkadan elde edilen piliçlerde ise kontrol ve stres gruplarının HSP70 miktarını benzer düzeyde etkilediği, alıştırma grubunda ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Henüz tüm görevleri tam olarak bilinmemekle birlikte, stres proteinlerinin hücresel iç dengenin (homeostazi) belirlenmesinde çok önemli katkılarının olacağı düşünülmektedir (Craig, 1985; Lindquist ve Craig, 1988). Bu konuda yapılan yoğun araştırmalar, sıcağa dayanıklı genotiplerin ıslahında, ırkların farklı sıcaklıklarda stres proteinleri sentezlenme farklılığından yararlanılabileceğini göstermektedir (Li ve Laszlo, 1985; Hahn ve Li, 1990; Sanchez ve Lindquist, 1990).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada kullanılan hayvan materyali, Denizli Tarım İl Müdürlüğü'nden temin edilen Denizli ırkına ait 700 adet damızlık yumurtanın kuluçka edilmesiyle sağlanmıştır. Yumurtalar 11 Nisan 2006 tarihinde kabuk yüzeyinde bulunması muhtemel mikroorganizmalardan arındırılmak amacıyla fümige edilerek kuluçka makinesine yerleştirilmiş ve bu yumurtalardan 02 Mayıs 2006 tarihinde 583 adet canlı civciv elde edilmiştir. Elde edilen civciv materyalden 200 adet Denizli ırkı tavuk, araştırmanın hayvan materyalini oluşturmuştur.

3.1.2. Bakım Yönetim Uygulamaları

Kuluçka çıkışında civcivlere Marek aşısı yapılarak kanat numarası takılmış ve her civciv ± 0.01 g duyarlılıktaki dijital terazi ile tartılarak başlangıç ağırlıkları saptanmıştır. Tartım sonrası civcivler 5 katlı ana makinesine yerleştirilmiş ve ilk 5 gün ana makinesinde büyütülmüşlerdir. Civcivler 4. günün sonunda 06 Mayıs 2006 tarihinde her biri 2x3.75 cm boyutunda 6 bölmeye sahip büyütme kümesine taşınarak erkek dişi karışık olarak yerde altlık üzerinde yetiştirilmeye başlanmıştır. Bu dönemde kümeste askılı yuvarlak tipte yemlik ve suluklar kullanılmıştır. Aydınlatma programı ilk 3 gün 23 saat aydınlık 1 saat karanlık, üçüncü günün sonundan yumurta verim dönemine kadar normal gün ışığı şeklinde uygulanmıştır. Civcivlerin gaga kesimleri 10 günlük yaşta (12 Mayıs 2006 tarihinde) yapılmıştır.

Aşılama uygulaması, bölgemizde yumurtacı tavuklara uygulanan örnek bir aşılama programı izlenerek yapılmıştır. Uygulanan aşılama programı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Uygulanan aşılama programı

Yaş Dönemi	Uygulama Tarihi	Uygulanan Aşı	Uygulama Şekli
1. Gün	02 Mayıs 2006	Marek	Deri altı enjeksiyon
7. Gün	08 Mayıs 2006	ND (B ₁)	İçme suyu
9. Gün	10 Mayıs 2006	ND/IBD	Deri altı enjeksiyon
15. Gün	16 Mayıs 2006	IBD	İçme suyu
21. Gün	22 Mayıs 2006	ND/IB	İçme suyu
23. Gün	24 Mayıs 2006	IB	İçme suyu
8. Hafta	27 Haziran 2006	ND/IB	İçme suyu
13. Hafta	31 Temmuz 2006	ND/IB	İçme suyu
16. Hafta	21 Ağustos 2006	ND/IBD/EDS-76/Koriza Tavuk Çiçek	Kas içi enjeksiyon Kanat zarına

ND: Yalancı Veba IBD: Gumboro IB: Enfeksiyöz Bronşit EDS-76: Egg Drop Sendrom

3.1.3. Yem Materyali

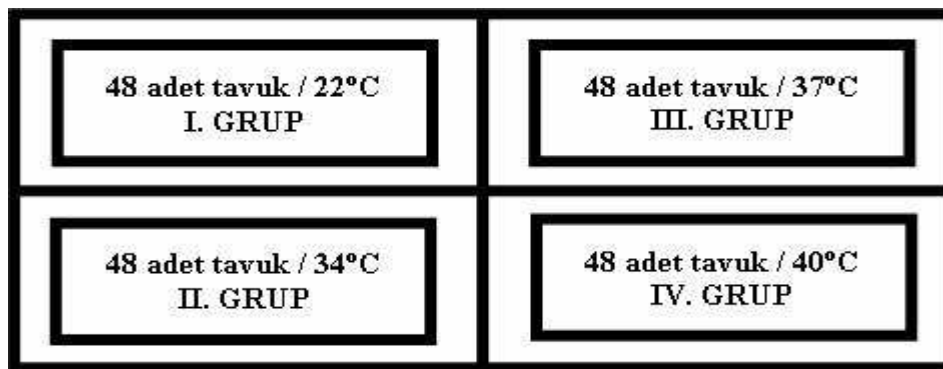
Bu araştırmada kontrol ve deneme gruplarına ait kanatlıların beslenmesinde 0-6 haftalık dönemde civciv büyütme yemi, 7-12 haftalık dönemde piliç büyütme yemi, 13-18 haftalık dönemde piliç geliştirme yemi, 19-23 hafta yumurtlama öncesi yemi, eşeyssel olgunluktan başlayarak deneme sonuna kadar kafes tavuğu yumurta yemi kullanılmıştır. Yemlerin besin madde içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Deneme süresince su ve yem ad-libitum olarak sağlanmıştır.

Çizelge 3.2. Cıvciv (0–6 hafta), piliç büyütme(7-12 hafta), piliç geliştirme(13-18 hafta), yumurtlama öncesi (19-23 hafta) ve yumurtlama (23-44 hafta) dönemlerinde verilen yemlerin bazı besin madde içerikleri

Dönem (hafta)	Enerji (kcal/kg)	Ham Protein (%)	Kalsiyum (%)	Toplam Fosfor (%)	Metiyonin (%)	Lisin (%)
0–6	2901	19.10	0.91	0.68	0.45	1.31
7–12	2854	16.50	0.96	0.63	0.34	0.95
13–18	2746	14.40	0.90	0.61	0.32	0.87
19–23	2664	16.05	2.55	0.63	0.35	0.96
24–44	2667	16.91	3.28	0.66	0.36	1.12

3.1.4. Sıcaklık Uygulaması

Piliçler, 20. haftaya kadar birlikte yerde altlık üzerinde yetiştirilmiş, 20. haftada rasgele seçilerek birbirinden bağımsız, farklı sıcaklıkların uygulandığı bölmelerde bulunan bireysel yumurtlama kafeslerine her grupta 48 tavuk olacak şekilde yerleştirilmişlerdir (Şekil 3.1, 3.2, 3.3). Kafese alındıklarında dört gruba ayrılmış olan tavuklar 40 haftalık yaşa geldiklerinde I. gruba 22°C (kontrol grubu), II. gruba 34°C, III. gruba 37°C ve IV. gruba 40°C'lik sıcaklık 4 hafta süreyle uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Deneme gruplarının yerleşim planı



Şekil 3.2. Bireysel yumurtlama kafeslerinin görünümü.



Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü bireysel yumurtlama kafeslerinin görünümü.

Civciv döneminden başlayarak üretim dönemi sonuna kadar bütün deneme gruplarına ticari yumurtacılar için uygulanan bakım yönetim işlemleri (aşılama, gaga kesimi ve aydınlatma v.s.) aynen uygulanmıştır.

3.2 YÖNTEM

3.2.1. Saptanan Ölçümler

3.2.1.1. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Değeri

Yem tüketimleri sıcaklık uygulaması öncesinde, uygulama sırasında ve sonrasında 4'er haftalık dönemler şeklinde belirlenmiştir. Hayvanlara 4'er haftalık dönemlerde verilen yem miktarları kaydedilmiş ve dönem sonunda yem geri tartımları yapılarak yem tüketimleri saptanmıştır. Yemden yararlanma değerleri 20. haftaya kadar piliç canlı ağırlıkları dikkate alınarak kg yem/kg canlı ağırlık olarak, 20. haftadan sonra 28 günlük yumurta kitle ağırlıkları ile yem tüketimleri dikkate alınarak kg yem/kg yumurta olarak hesaplanmıştır.

3.2.1.2. Canlı Ağırlık Artışı

Kuluçka çıkışında hayvanların bireysel performanslarını izleyebilmek için kanat numaraları takılmış ve civcivler 0.01 g hassasiyetteki dijital terazi ile tartılmıştır. Kuluçka çıkış tarihini takiben her 28 günlük dönemlerde canlı ağırlık tartımları deneme süresi sonuna kadar saptanmıştır.

3.2.1.3. Eşeyssel Olgunluk Yaşı

Piliçlerin ilk yumurtlama yaşları, yumurtladıkları gün dikkate alınarak saptanmış ve ilk yumurtlama yaşında tavuklar tartılmıştır. İlk yumurtlama yaşından deneme süresi sonuna kadar yumurtalar günlük olarak kaydedilmiş ve yumurtlama döngüsü bireysel olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.4. Yumurta Ağırlığı

Yumurta ağırlıkları bireysel olarak günlük tartımlarla saptanmıştır. Yumurta ağırlıkları tartımında 0.01 g hassasiyetli dijital terazi kullanılmıştır.

3.2.1.5. Bazı Yumurta Kalite Özelliklerine İlişkin Ölçümler

Kontrol ve deneme gruplarından kan örneği alınan tavukların yumurtaları sıcaklık uygulamasından önce ve sonra 10 gün süreyle toplanmıştır (40°C sıcaklık uygulanan deneme grubunda 2 saatlik sıcaklık uygulaması sonucu ölümlerin artması nedeniyle bu grupta sıcaklık uygulamasına son verilmiş ve bu grupta bulunan tavuklara ait yumurtalarda belirtilen özellikler saptanamamıştır). Bu yumurtalara ilişkin kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk oranı özellikleri saptanmıştır. Kabuk kalınlıkları 0.01 mm hassasiyetli Mitutoyo dijital mikrometre ile kabuk ağırlıkları ise 0.01 g hassasiyetli dijital teraziyle belirlenmiştir.

3.2.1.6. Vücut Sıcaklıklarının Saptanması

Kanatlılarda sıcak stresinin saptanmasına yönelik yapılan çalışmalarda hayvanların vücut sıcaklıklarını saptamak için rektal termometreler kullanılmıştır (Yahav *et al.*, 1997a, 1997b; Altan ve ark., 2000a, 2000b). Hayvanların kolonlarından 3 cm içeri girilerek yapılan rektal sıcaklık ölçümlerinin hayvanlarda stresi ve dolayısıyla vücut sıcaklığını artırdığı düşünülmektedir. Bu nedenle hayvanlarda sadece ortam sıcaklığından kaynaklanan sıcaklık artışının saptanması için termal kamera kullanılmasının daha doğru sonuçlar vereceği düşünülmüştür. Çalışmada tavukların vücut sıcaklıkları, sıcaklık uygulama süreleri olan başlangıç, 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda termal kamera ile saptanmıştır.

3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Deneme gruplarına ayrılmış tavuklara 40 haftalık yaştan (05.02.2007) itibaren değişik sıcaklıklar uygulanmıştır. Sıcak stresi sırasında HSP70 sentezinin zaman içindeki değişimini gözlemek için kan örnekleri 30'ar dakikalık aralıklarla 0., 30.,

60., 90. ve 120. dakikalarda alınmıştır. Kan örnekleri alınırken her deneme grubundan şansa bağlı 15 tavuk seçilmiş ve her 30 dakikalık periyotta 3'er tavuğun boyun toplardamarlarından T₃ ve kolesterol analizi için 6 ml, HSP70 analizi için 3 ml kan örneği alınmıştır.

3.2.2.1. T₃ ve Kolesterol Analizleri

Vakumlu boş tüplere alınan 6 ml kan örnekleri 3500 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen serum 1.5 ml'lik mikro santrifüj tüplerine aktarılarak -80°C'lik derin dondurucuda analiz aşamasına kadar bekletilmiştir. Kan T₃ hormonu düzeyleri, BIODPC firmasına ait IMMULATE 2000 hormon analizöründe kemiluminesans yöntemiyle çalışılmıştır. Sonuçlar pg/ml olarak verilmiştir. Kolesterol düzeyleri ise ABBOT firmasına ait C800 rutin biyokimya analizöründe spektrofotometrik olarak ölçülmüş, sonuçlar mg/dl olarak verilmiştir.

3.2.2.2. Hematokrit Değeri

Kan örnekleri heparinli mikropapiller tüplere alınmıştır ve bir ucu cam macunu ile kapatılarak numaralandırılmış ve mikro santrifüje hazırlanmıştır. Örnekler aynı gün içinde Hettich Microliter santrifüjde 10000 rpm devirde 5 dakika santrifüj edilerek hematokrit değerleri hesaplanmıştır. Hematokrit sonuçları % olarak verilmiştir.

3.2.2.3. Mononükleer Hücrelerin HSP70 Analizi İçin Hazırlanması

EDTA'lı tüplere alınan 3 ml kan örnekleri Histopaque 1077 ile santrifüj edilmiştir. Konik tabanlı santrifüj tüplerine 2 ml Histopaque 1077 ilave edilmiş ve oda sıcaklığında ılıtılmıştır. Alınan kan örneklerinin 2 ml'si içerisinde Histopaque 1077 bulunan tüplere dikkatli bir şekilde aktarılmış ve örnekler 400xg'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında oluşan süpernatant dikkatli bir biçimde aspire edilerek uzaklaştırılmış ve ara faz otomatik pipet aracılığıyla alınarak temiz bir tüpe aktarılmıştır. Temiz tüplere ayrılan ara faz sıvısı üzerine 5 ml PBS (fosfat tuz tamponu) çözeltisi ilave edilmiş ve nazik bir şekilde pipetasyon yapılmıştır. Tüpler daha sonra 250xg'de 10 dakika süre ile ikinci bir santrifüj

işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj işlemi sonrasında tüpün üst kısmında kalan PBS çözeltilisi dikkatlice uzaklaştırılmış ve tek çekirdekli kan hücrelerini içeren çökelti -80°C'lik derin dondurucuda elektroforetik analize kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Protein Saptama ve Elektroforetik Analiz

3.2.3.1. Protein Tayini

Dondurucuda -80 °C'de muhafaza edilen tek çekirdekli kan hücreleri analiz için + 4 °C'de çözdürülmüş ve her bir örnek üzerine 200 µl (pH 7.0) fosfat tampon ilave edilerek dilüe edilmiştir. Fosfat tamponu ile dilue edilen örneklerden 40µl'si protein tayininde, kalan örnekler ise HSP70 tayinine kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerdeki protein miktar tayini, Lowry *et al.*, (1951)'in bildirdiği şekilde yapılmıştır. Standart olarak farklı yoğunluklarda hazırlanan (10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 ve 210 µg) sığır serum albümini (Fraksiyon VII) kullanılmıştır.

3.2.3.2. Elektroforez

Proteinlerin görüntülenmesi ve moleküler ağırlıklarının saptanması Laemmli (1970) yöntemine göre SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel) kullanılarak yapılmıştır. Protein kontaminasyonunu ve her türlü kirliliği önlemek için bütün işlemler eldiven giyilerek yapılmıştır. Elektroforez camları, her test uygulamasından önce % 70'lik etil alkolle silinerek iyice temizlenmiştir. Cam levhalar arasında sızıntı olup olmadığı kontrol edildikten sonra, Çizelge 3.3'te içeriği belirtilen % 12'lik ayırma jeli, hava kabarcığı kalmayacak şekilde otomatik pipet ile mini elektroforez (Bio-Rad, Mini Protean III, US) camları arasına dökülmüştür. Jelin hava ile temasını kesmek için üzeri % 70'lik etil alkol ile kapatılmış ve jelin polimerleşmesi için 1 saat beklenmiştir. Süre sonunda jel üzerindeki alkol, kurutma kâğıdı kullanılarak jelle temas etmeden yavaş yavaş uzaklaştırılmıştır. Ayırma jelinin üzerine içeriği Çizelge 3.4'te verilen % 5'lik yoğunlaştırma jeli yine otomatik pipet ile dökülmüştür. Taraklar, yoğunlaştırma jeli döküldükten sonra fazla beklemeden jel ile arasında hava kabarcığı kalmamasına ve ayırma jeline temas etmemesine dikkat edilerek takılmıştır. Jelin polimerleşmesi için 1 saat kadar beklenmiştir.

Çizelge 3.3. Ayırma jelinin içeriği (% 12'lik)

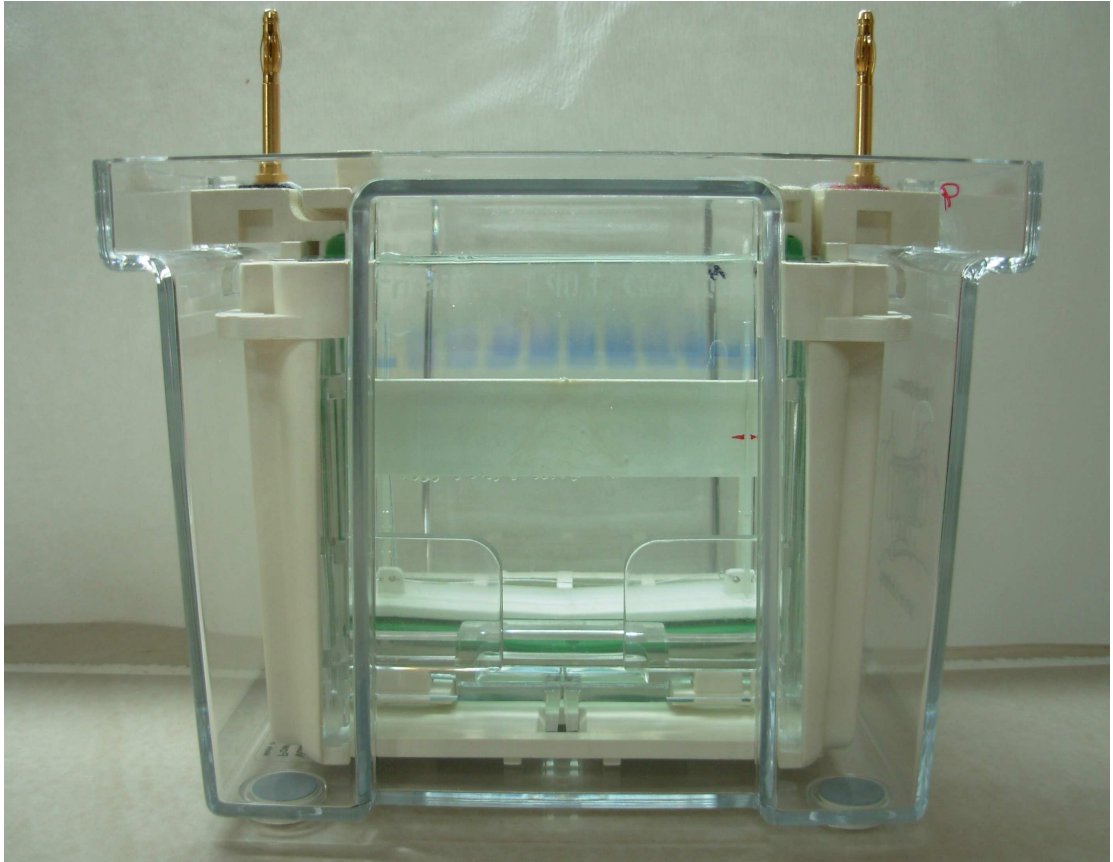
Kullanılan Malzeme	Mini Elektroforez (Çift jel için)
Saf Su, ml	2.35
Ayırma Tamponu (pH 8.8), ml	1.80
% 30'luk Akrilamid/Bis akrilamid, ml	2.80
TEMED, µl	6.5
% 10'luk Amonyum Persülfat, µl	47

Çizelge 3.4. Yoğunlaştırma jelinin içeriği (% 5'lik)

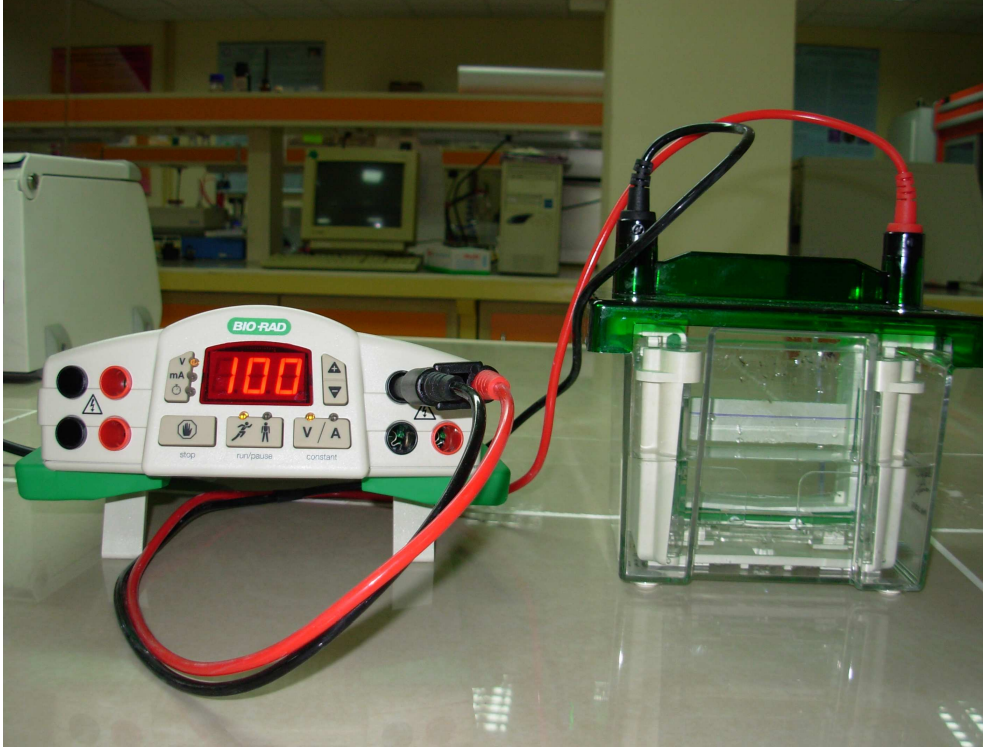
Kullanılan Malzeme	Mini Elektroforez (Çift jel için)
Saf Su, ml	1.93
Yoğunlaştırma Tamponu (pH 8.8), µl	833
% 30'luk Akrilamid/Bis akrilamid, µl	556
TEMED, µl	3.33
% 10'luk Amonyum Persülfat, µl	33.33

3.2.3.2.1. Örneklerin Hazırlanışı ve Jele Uygulanışı

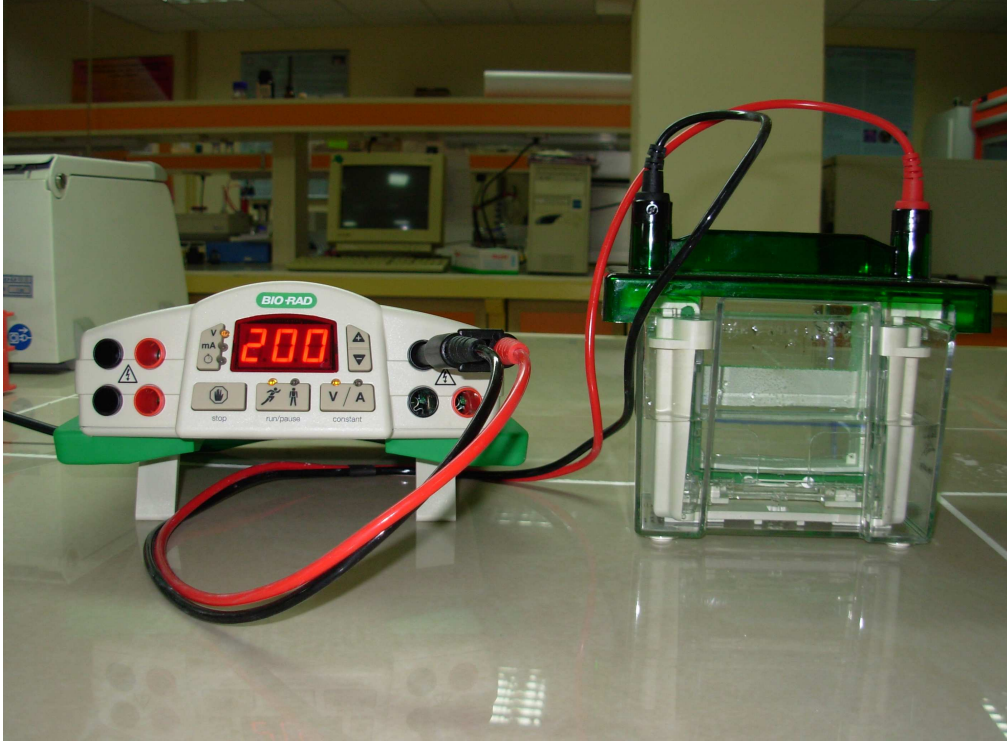
Taraklar jele zarar vermeden çekilmiştir. Jel saf su ile yıkanarak, polimerleşmeyen jel kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Tarak çıkarıldıktan sonra oluşan kuyucukların yarısına kadar elektrot tamponu eklenmiştir. Uygun seyretmeleri yapılan örneklerden 15 µl, örnek tamponundan ise 5 µl temiz mikro santrifüj tüplerine alınmış ve bu tüpler kaynar su banyosunda 3 dakika kaynatılmıştır. Kaynatma işleminden sonra örnekler buz üzerinde soğutulmuştur. Daha sonra jeldeki ilk kuyucuğa ön boyama yapılmış (prestained) moleküler ağırlık standardı, diğer kuyucuklara ise 20 µl örnek yüklenmiştir (Şekil 3.4). Örnekler jele yüklendikten sonra jel elektroforez tankı içerisine yerleştirilmiş ve kuyucukların üzerine elektrot tamponu eklenmiştir. Proteinleri ayırma işleminde üst jele 100 V (Şekil 3.5), alt jele ise 200 V (Bio-Rad, Power Pac, US) elektrik akımı uygulanmıştır (Şekil 3.6). Uygulama 4 °C'lik ortamda yapılmıştır.



Şekil 3.4. Elektroforez tankı ve yüklenen örneklerin görüntüsü.



Şekil 3.5. Ayırma işleminde üst jele 100 V elektrik akımı uygulanması



Şekil 3.6. Yürütme işleminde alt jele 200 V elektrik akımı uygulanması

3.2.3.2.2. Elektroforez İçin Gerekli Çözeltiler

a. Akrilamid/Bisakrilamid Stok Çözeltisi % 30'luk

Elektroforez için üretilmiş Sigma A3574 hazır %30'luk Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi kullanılmıştır.

b. Ayırma Tamponu (Separating Tamponu)

Az miktarda saf su içerisinde 34.344 g tris-baz çözdürüldükten sonra, konsantre HCl kullanılarak pH'sı 8.8'e ayarlanmıştır. 0.8 g SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) az miktarda saf su içerisinde çözüldükten sonra hazırlanan Tris-baz üzerine eklenmiş ve saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan tampon oda sıcaklığında kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

c. Yoğunlaştırma Tamponu (Stacking Tamponu)

Tris-baz (1.515 g) az miktarda saf su içerisinde çözüldükten sonra konsantre HCl kullanılarak pH'sı 6.8'e ayarlanmıştır. 0.1 g SDS az miktarda distile su içerisinde çözüldükten sonra hazırlanan Tris-baz üzerine eklenmiş ve saf su ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan tampon oda sıcaklığında 1 ay süre ile saklanmıştır.

d. Amonyum Persülfat % 10'luk

Amonyum persülfat (0.1 g), 1 ml distile su içinde çözülmüştür. Çözelti kullanılacağı zaman her seferinde taze olarak hazırlanmıştır.

e. Trizma Baz 1 M

Triz-baz (12.114 g), az miktarda saf su içerisinde çözülmüştür. Konsantre HCl kullanarak pH 6.8'e ayarlandıktan sonra saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

f. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) % 10'luk

SDS (5 g), 50 ml saf su içerisinde yavaş yavaş karıştırılarak çözülmüştür.

g. Yükleme Tamponu (Sample Buffer)

1 M Tris-bazdan (pH 6.8) 12.5 ml, % 10'luk SDS'den 40 ml, gliserolden 20 ml, % 2'lik brom fenol mavisinden 2 ml ve % 5'lik β -merkaptoetanolden 5 ml alınarak karıştırılmıştır. Hazırlanan tampon koyu mavi renkte değilse, renk oluşana kadar NaOH ilave edilmiştir. Tamponun hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Örnek tamponu, kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında saklanmıştır. β -merkaptoetanol'ün etkisi zamanla kaybolduğundan gerektiği zaman hazırlanan tampona aynı oranda ilave edilmiştir.

h. Elektrot Tamponu (Yürütme Tamponu)

Tris-baz (3 g) ve 14.4 g glisin az miktarda saf su içerisinde çözülmüş ve konsantre HCl kullanılarak pH'sı 8.5'e ayarlanmıştır. 1 g SDS az miktarda saf su içerisinde çözülmüş ve total hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan tampon 4°C'de saklanmıştır. Tampon 2-3 kez kullanıldıktan sonra yeniden hazırlanmıştır.

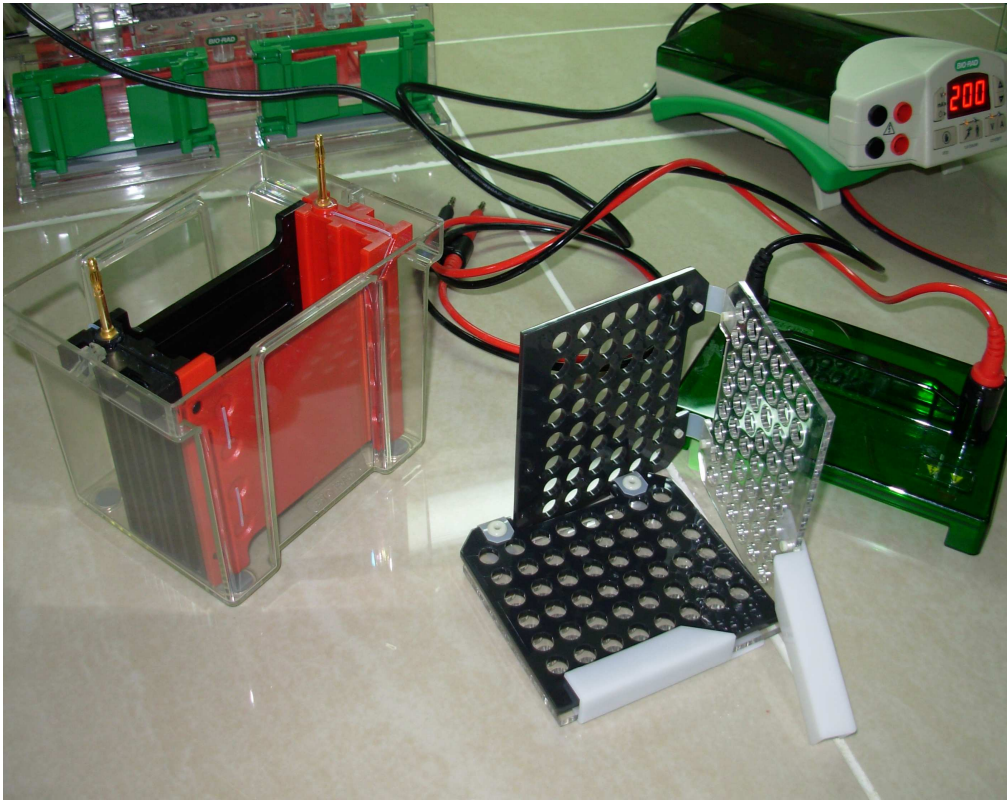
3.2.4. Western Blotting Analizi ve HSP70 Saptama

Elektroforez işlemi bitince jel elektroforez camları arasından çıkartılmıştır. Jelin yükleme kısmı düzgün bir şekilde kesilerek uzaklaştırılmış ve transfer işlemi için hazırlanmıştır. Bu aşamada sandviç aparat, fiber spanç, filtre kâğıtları ve nitroselüloz membranlar transfer tamponu içerisinde 30 dakika ıslatılmış daha sonra jeller de bu tampon içerisine alınmıştır. Sandviçler, içerisinde sırasıyla fiber spanç, filtre kâğıdı, membran, jel, filtre kâğıdı ve tekrar fiber spanç olacak şekilde hazırlanarak tekrar kapatılmıştır (Şekil 3.7, 3.8). Bu işlem yapılırken jel ile nitroselüloz membran arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir. Daha sonra sandviç ve buz aküsü, blotlama tankına yerleştirilmiş ve tank içerisine sandviçlerin üst seviyesine

kadar soğuk transfer tamponu ilave edilmiştir. Elektroforez sonrasında proteinler, Givisiez *et al.*, (1999)'in belirttikleri prosedüre göre elektroforetik olarak nitroselüloz membranlara transfer edilmiştir. Protein transferi 4 °C'de 12 saat boyunca 66 V sabit voltaj uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Proteinlerin transfer aşamasından sonra sandviç kasetleri blotlama tankından çıkartılmıştır (Şekil 3.9). Önceden boyanmış protein standardının nitroselüloz membrana geçmesi transfer aşamasının başarılı olduğunu göstermiştir.

Transfer işlemi sonrasında membranlar 0.5 g/l Ponceau S çözeltisi içerisinde 30 dakika boyamaya tabi tutulmuş ve boyama sonrasında protein transferinin başarılı olduğuna karar verilmiştir. Daha sonra membranlar uygun boydaki petri kaplarına yerleştirilmiş ve % 60'lık metanol ile yıkanarak Ponceau S boyasından arındırılmıştır. Membranlar soğuk 1xTBS (Tris Tuz Tamponu) çözeltisi ile 10'ar dakikalık aralıklarla, çözelti her defasında değiştirilerek 3 defa yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra membranlar, spesifik olmayan bölgelerin bloklanması amacıyla 1 saat boyunca bloklama sütü içerisinde bekletilmiştir (Şekil 3.10). Bloklama sütü ile bloklama işlemi oda sıcaklığında ve çalkalayıcı kullanılarak (yaklaşık 100 rpm/dk) gerçekleştirilmiştir. Bloklama işleminden sonra bloklama sütü dökülmüştür ve membranlar çalkalayıcı kullanılarak 30 dk boyunca soğuk 1xTBS çözeltisi ile yıkanmış her yıkamadan sonra çözelti dökülerek yenilenmiştir (Şekil 3.11). Membranlar daha sonra 10 µl monoclonal anti-HSP70 antijeni (H-5157, Sigma) ile Tween-20 içeren 10 ml soğuk TBS-süt solüsyonu (1:1000 seyreltme) içerisinde oda sıcaklığında 1 saat süreyle çalkalayıcıda bekletilmiştir (Şekil 3.12). Süre sonunda petri kaplarındaki sütlü çözelti dökülmüş ve membranlar soğuk 1xTBS ile oda sıcaklığında çalkalayıcı kullanılarak 30 dakika süre ile yıkanmıştır (yıkama sırasında 5 dakikada bir TBS çözeltisi yenilenmiştir). Membranlar daha sonra 10 ml soğuk TBS-süt solüsyonu (1:5000 seyreltme) ile seyreltilmiş ikinci bir antijen (2 µl anti-mouse antijeni) ile (A-5153, Sigma) oda sıcaklığında 1 saat sabit hızda çalkalanmıştır. Membranlar, yukarıda anlatıldığı gibi soğuk 1xTBS ile durulandıktan sonra boyama işlemine tabi tutulmuştur. Boyama 10 ml ALP (Alkalin Fosfataz) tamponuna (100 mM Tris-HCL, pH 9.5; 100 mM NaCl; 5 mM MgCl₂), 33 µl nitro-blue tetrazolium chlorid (NBT) çözeltisi (50 g/l dimetilformamid içerisinde) ve 66 µl

5-bromo-4-chloro-3-indolyphosphate p-toluidine(BCIP) (50 g/l içinde 700 g/l dimetilformamid) eklenerek yapılmıştır (Şekil 3.13). Reaksiyon, solüsyona 30g/l TCA (trikloroasetik asit) eklenerek bloke edilmiştir. Daha sonra membran deiyonize suyla yıkanarak oda sıcaklığında ışıktan korunarak kurutulmuştur. Membranların görüntülenmesinde ve bilgisayar ortamına aktarılmasında Vilber Lourmat görüntüleme sistemi kullanılmıştır.



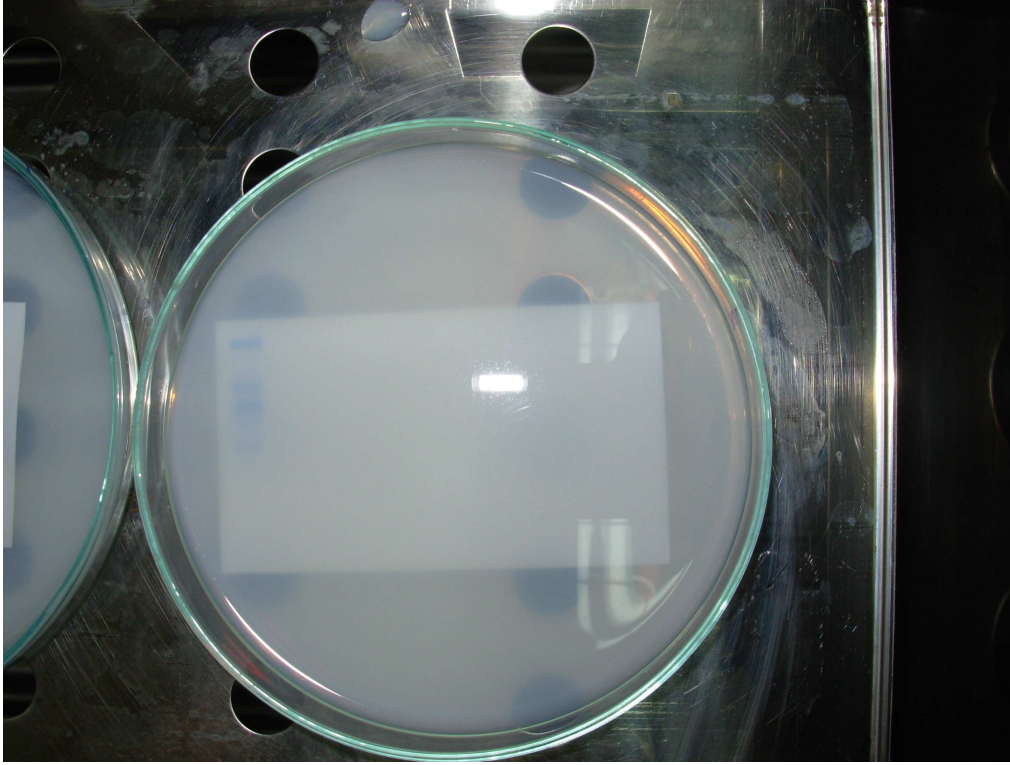
Şekil 3.7. Western Blot tankı ve sandviçler.



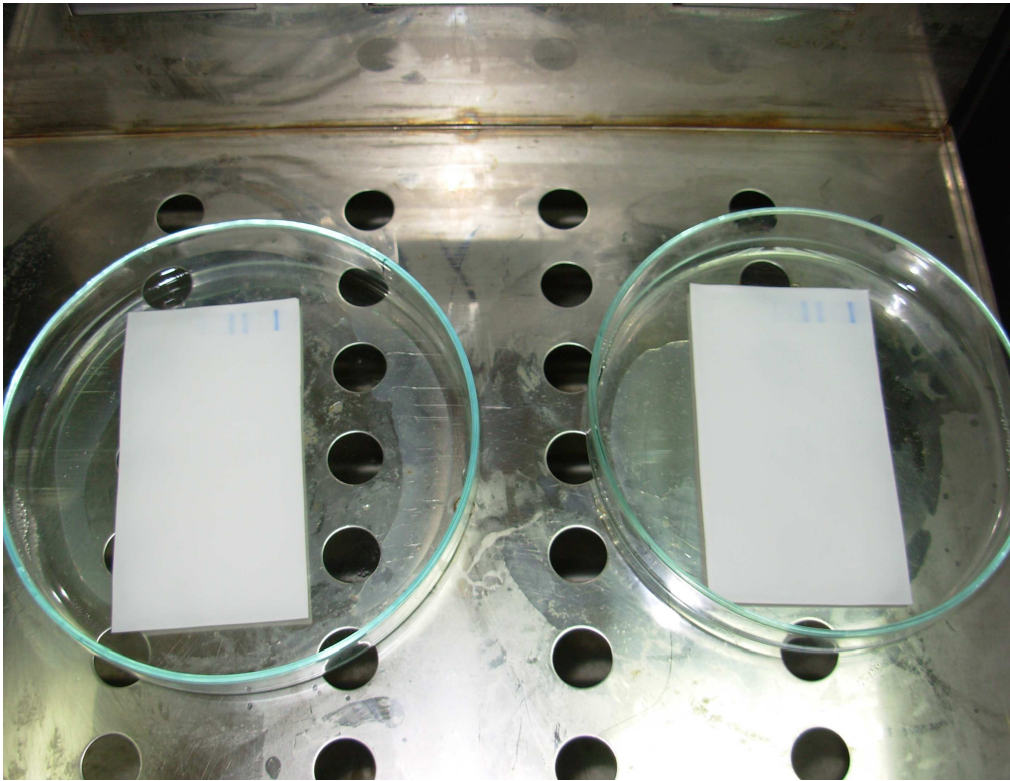
Şekil 3.8. Nitroselüloz mebranın sandviç ierisine yerleştirilmesi.



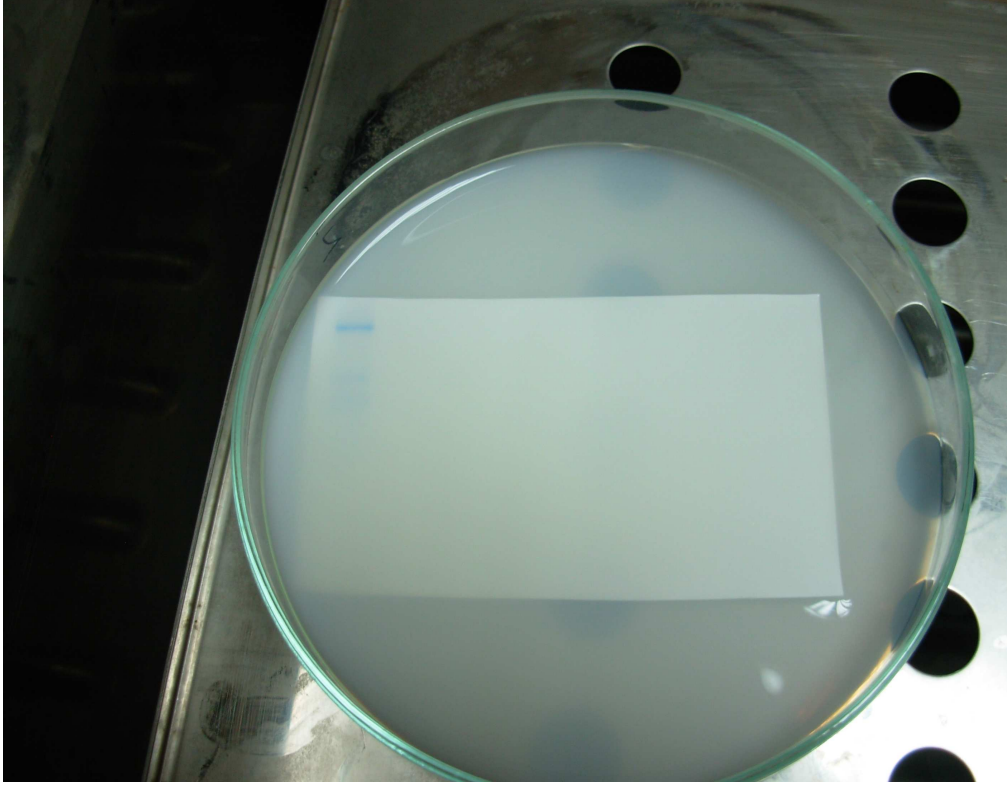
Şekil 3.9. Transfer sonrası sandviçlerin açılması.



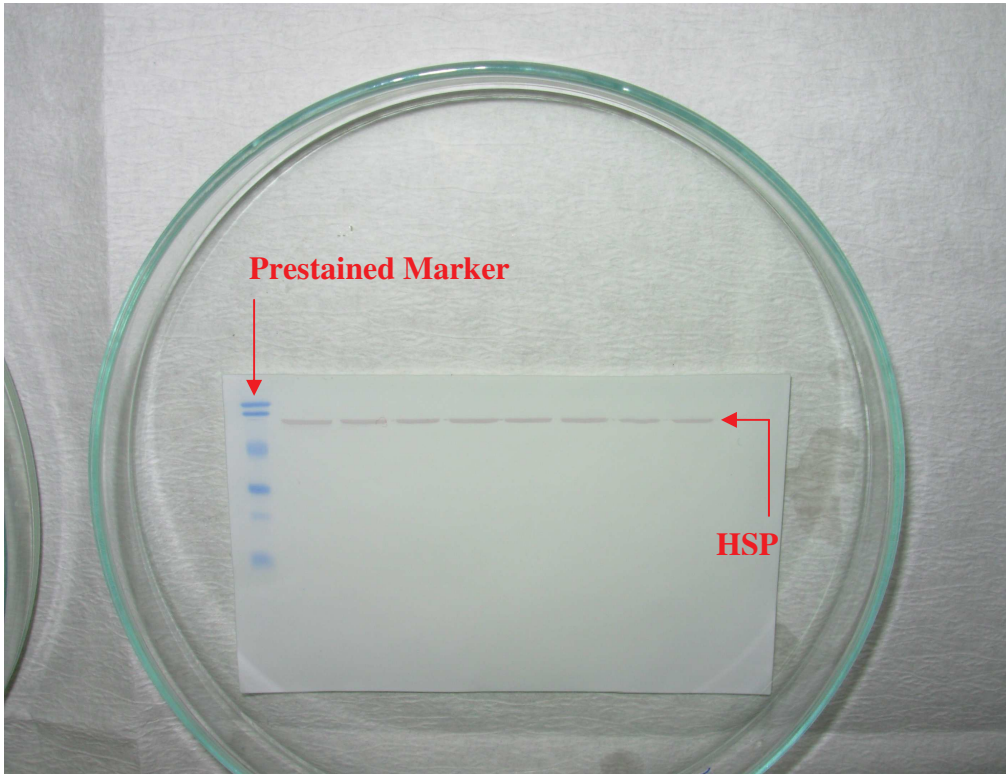
Şekil 3.10. Çalkalayıcıda süt solüsyonu ile bloklama işlemi.



Şekil 3.11. Soğuk 1xTBS çözeltisi ile membranın yıkanması.



Şekil 3.12. Membrana blocking sütü ile antibody uygulaması.



Şekil 3.13. BCIP/NBT ile boyama sonrasında oluşan HSP70 bantları.

3.2.4.1. Western Blotting Analizi İçin Kullanılan Çözeltiler

a. Transfer Tamponu

Tris-baz, glisin ve metanol yukarıdaki miktarlarda karıştırılmış ve çözelti 10 litreye saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanmış olan tampon kullanılıncaya kadar 4 °C’de saklanmıştır.

Tris-baz	24.5 g
Glisin	112 g
Metanol	2 lt

b. 10 x TBS (Tris Tuz Tamponu) Çözeltisi (pH:7.6)

Maddeler az miktarda saf suda çözüldükten sonra pH 7.6’ya ayarlanmış ve saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

Tris-baz	24.2 g
NaCl	80 g

c. 1 x TBS

10 x TBS çözeltisinden % 0,1’lik hazırlanmıştır. Çözelti için 50 ml 10 x TBS çözeltisine 500 µl Tween 20 ilave edilmiş ve total hacim saf su ile 500 ml’ye tamamlanmıştır. Çözelti kullanılıncaya kadar 4 °C’de saklanmıştır.

10 x TBS	50 ml
Tween 20	100 µl

d. Bloklama Sütü

Bloklama sütü (TBS-süt solüsyonu) 50 ml TBS içerisine 25 g Süt tozu ve 2.5 ml Tween 20 eklenerek total hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti magnetik karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Bloklama sütü her kullanımda taze hazırlanarak kullanılmıştır.

Süt Tozu (%5 yağlı)	25 g
TBS	50 ml
Tween 20	2.5 ml

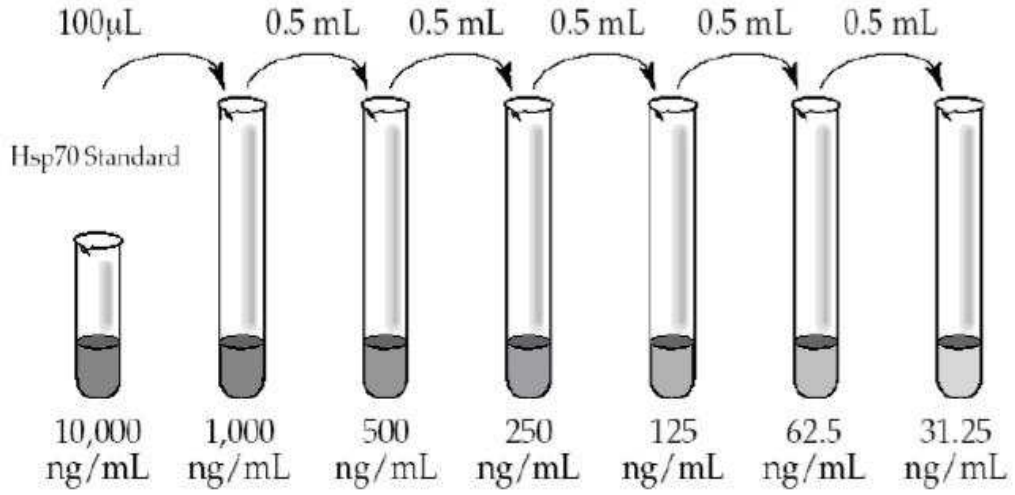
3.2.5. Western Blot Sonrası HSP70 Bantlarının Karşılaştırılması

Bireylerin farklı zamanlarda üretmiş oldukları HSP70 miktarlarının oransal alanları ImageJ 1.39 yazılım programı kullanılarak saptanmıştır (Abramoff *et al.*, 2004)

3.2.6. Kan Serumu Hücrelerinde ELISA Yöntemi ile HSP70 Miktar Tayini

Analiz öncesi -20 °C'lik derin dondurucuda saklanan serum örnekleri ELİSA testinin uygulanabilmesi için +4 °C'de çözündürülmüştür. Test öncesinde testte kullanılacak olan HSP70 immunoassay plağı, örnek seyreltici 2, 20X yıkama tamponu, TMB (Tetrametilbenzidin) substratı ve stop çözeltisi buzdolabından çıkartılarak oda sıcaklığında kullanılıncaya kadar bekletilmiştir. Serum örnekleri 1:1000 oranında örnek seyreltici 2 tamponu ile seyreltilmiş ve her birey için 250 µl örnek sulandırıcı hazırlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında bekletilmiştir.

HSP70 standardı, kullanılmadan önce vorteks ile kısa bir süre karıştırılmıştır. Daha sonra HSP70 standart eğrisi için 31.25 ile 1000 ng/ml arasında altı nokta oluşturulmuştur (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. HSP70 standart eğrisinin oluşturulması

Daha önce hazırlanan HSP70 standartları, örnek seyreltme tamponu ile seyreltilmiş serum örnekleri ve kör, çift tekrarlı olmak üzere HSP70 immunoassay plağında bulunan kuyucuklara sırasıyla eklenmiş (Şekil 3.15) ve üzeri parafilm ile kaplanarak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.



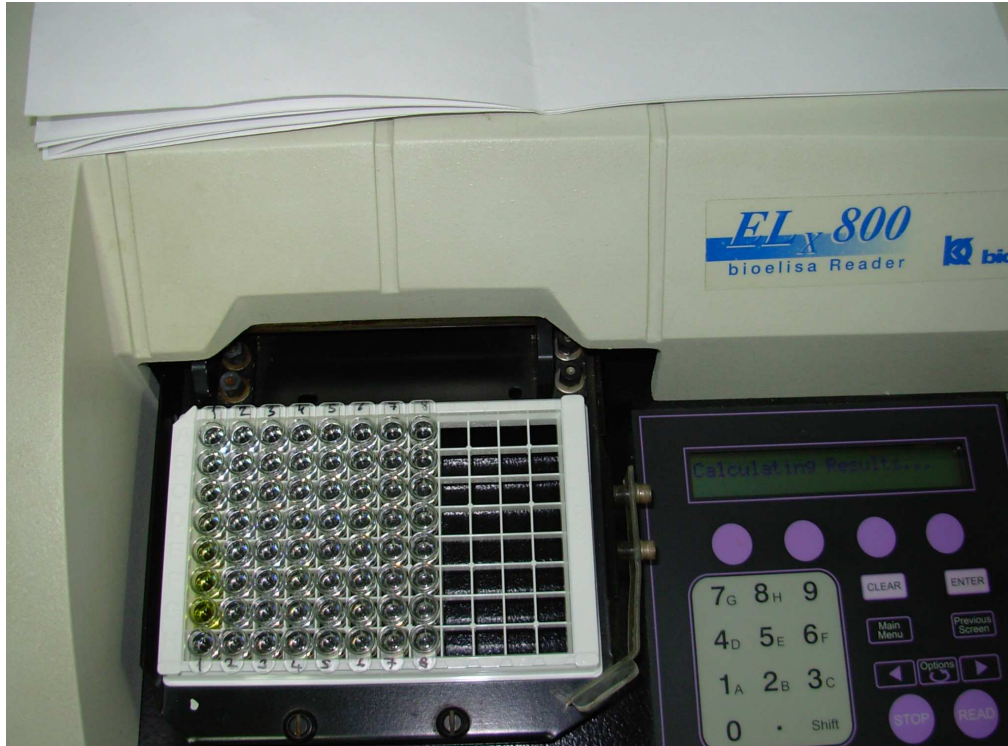
Şekil 3.15. Örneklerin yüklenmesi.

Süre sonunda plakta bulunan kuyucuklardaki sıvılar uzaklaştırılmıştır. Daha sonra her kuyucuğa çoklu mikropipetle 400 μ l yıkama tamponu eklenerek yıkama yapılmıştır (Şekil 3.16). Bu işlem 4 defa tekrar edilmiştir. Dördüncü yıkama sonrasında yıkama tamponu kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve plak kurutma kâğıdı üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.16. Substratın eklenmesi

Kurutma işlemi sonrasında plağın her kuyucuğuna 100 µl Anti-Human GAM-HRP anti body eklenmiş ve işlem sonrasında plak üzeri parafilm ile kaplanarak 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda yukarıda belirtilen yıkama işleminin aynısı tekrarlanmıştır. Yıkama ve kurutma işleminden sonra her kuyucuğa 100 µl TMB (Tetrametilbenzidin) substratı eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sırasında ELİSA okuyucu hazırlanmıştır. Süre sonunda her kuyucuğa 100 µl stop çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika içerisinde ELİSA okuyucuda 450 nm dalga boyunda absorbans okuma yapılmıştır (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Elisa okuyucuda absorbans okuma işlemi.

3.2.7. İstatistik Analiz

Araştırmada yem tüketimi (YT), yemden yararlanma oranı (YYO), yumurta ağırlığı (YA), yumurta verimi (YV), kabuk kalınlığı (KK), kabuk ağırlığı (KA) ve kabuk oranı (KO) özelliklerinin sıcaklık gruplarına ve sıcaklık uygulama dönemlerine göre değişimi 3 x 2 faktöryel yapıda analiz edilmiştir. 40°C sıcaklık grubuna ait verilerin elde edilememesi nedeniyle bu sıcaklık grubu verileri analize dahil edilmemiştir. Kolesterol, T₃, hematokrit, vücut sıcaklığı ve HSP70 özellikleri ve HSP70'in sıcaklık düzeyleri ile sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi ise 4 x 5 (4 farklı sıcaklık uygulaması x 5 farklı sıcaklık uygulama süresi) faktöryel yapıda analiz edilmiştir. Önemli çıkan etkilerin düzeyleri arasındaki karşılaştırmalarda Duncan testi kullanılmıştır. Sıcaklık uygulama döneminde gerçekleşen ölümler ki-kare testi uygulanarak analiz edilmiştir. İstatistik analizlerde, sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerinin polinomial (doğrusal, kübik, kuadratik vb.) açılımına da bakılmıştır. Çalışma verilerinin istatistik analizleri SPSS 10.0 istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (SPSS, 1999).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. DENİZLİ TAVUKLARININ VERİM ÖZELLİKLERİ

Projede Denizli ırkı tavuklara ait verim özellikleri üç ayrı dönemde incelenmiştir. Bunlar:

I. Dönem: Cıvciv döneminden 20 haftalık yaşa kadar yerde altlık üzerinde yetiştirildiği dönemdir (0–20 haftalık yaş dönemi).

II. Dönem: Tavukların sıcaklık uygulaması öncesi kafeste yetiştirildiği dönemdir (20–40 haftalık yaş dönemi).

III. Dönem: Tavukların sıcaklık uygulaması sırasında kafeste yetiştirildiği dört haftalık dönemdir (40–44 haftalık yaş dönemi).

4.1.1. I. Dönem Verim Özellikleri (0–20 haftalık yaş dönemi)

Denizli Tarım İl Müdürlüğü'nden satın alınan Denizli ırkına ait 700 adet damızlık yumurtanın kuluçka edilmesiyle 583 adet canlı cıvciv elde edilmiş, kuluçka randımanı %83.28 olarak saptanmıştır. Cıvcivlere kuluçka çıkışında kanat numaraları takılmış ve 0.01 g hassasiyetteki dijital terazi ile kuluçka çıkış ağırlıkları saptanmıştır. Yirmi sekiz günlük dönemlerde elde edilen canlı ağırlık (CA), yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma oranı (YYO) değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yumurtlama öncesi dönemine ait (erkek+dişi) ortalama canlı ağırlık (CA) yem tüketimi (YT) ve yemden yararlanma Oranları (YYO)

Tarih	Dönem (hafta)	CA (g/civciv-piliç)	YT (g/civciv-piliç)	YYO (kg yem/kg CA)
02.05.06	Kuluçka çıkışı	39.29	-	-
02-29.05.2006	0-4	215.48	17.73	2.82
30.05-26.06.2006	5-8	569.38	35.63	3.50
27.06-24.07.2006	9-12	977.65	66.53	3.43
25.07-21.08.2006	13-16	1225.67	87.61	2.38
22.08-18.09.2006	17-20	1490.59	117.88	1.95

Kuluçka çıkışından 20 haftalık yaşa kadar saptanan ölüm oranları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Başlangıçta % 2.40 düzeylerinde saptanan ölüm oranı, yaşın ilerlemesi ve hayvanların adaptasyon güçlerinin artması ile % 0.54 düzeylerine kadar gerilemiştir.

Çizelge 4.2. I. Dönem (0-20 hafta) ölüm oranları

Dönem (Hafta)	Ölüm Oranı (%)
0-4	2.40
4-8	2.28
8-12	2.34
12-16	0.55
16-20	0.54
0-20	9.73

4.1.2. II. Dönem Verim Özellikleri (20–40 haftalık yaş dönemi)

Tavuklar, 20. haftada sıcaklık uygulamasının yapılacağı kümeslerde bulunan apartman tipi yumurtlama kafeslerine her gözde bir tavuk olacak şekilde yerleştirilmiştir. Tavuklar yerleştirme işlemi öncesinde ve ilk yumurtalarını yumurtladıkları eşeyssel olgunluk yaşlarında tartılmıştır. Bu dönemde canlı ağırlık tartımlarına hayvanın strese gireceği düşünülerek son verilmiştir. Yem geri tartımlarına 28 günlük dönemlerle devam edilmiş ve bu dönemde yemden yararlanma oranı tavukların yumurta kitle ağırlıkları dikkate alınarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

Yumurtlamaya başlayan tavukların yumurtaları günlük olarak tartılmıştır. Deneme gruplarındaki tavukların eşeyssel olgunluk yaşları ve eşeyssel olgunluk yaşlarındaki canlı ağırlık değerlerine ait en düşük, en yüksek ve ortalama değerler Çizelge 4.4'te verilmiştir. Araştırma bulgularına göre Denizli ırkı tavuklarının en erken 165. günde, en geç ise 214. günde eşeyssel olgunluk gösterdiği saptanmıştır. Aradaki 49 günlük yaş farkı bireyler arasındaki varyasyonu açıkça ifade etmektedir. Gruplara ait ortalama eşeyssel olgunluk yaşı 191 gün olarak saptanmış ve bu değer Resmi gazete tebliğinde Denizli ırkı tavuklar için bildirilen değerlere yakın iken, Şekeroğlu ve Özen (1997)'in bulgularından (155 gün) daha yüksek bulunmuştur. En düşük EOA (eşeyssel olgunluk ağırlığı) 1188 g, en yüksek EOA ise 2026 g olarak saptanmıştır. Eşeyssel olgunluk yaşında Denizli ırkı tavuklara ait ortalama canlı ağırlık 1616 g olarak saptanmış ve bulunan değer Resmi gazetede yayınlanan değerden 116 g fazla bulunmuştur (Anonim, 2004). Eşeyssel olgunluk yaşları ve eşeyssel olgunluk ağırlıklarında bireyler arasında gözlenen varyasyon, ırkın bu özellikler bakımından ıslah çalışmalarına uygun olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.3. Tavukların yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranı (YYO)

Tarih	Hafta	GRUPLAR											
		I.GRUP (22°C)			II.GRUP (34°C)			III.GRUP (37°C)			IV.GRUP (40°C)		
		YT	YA	YYO	YT	YA	YYO	YT	YA	YYO	YT	YA	YYO
19.09-16.10.2006*	21-24	71.92	-	-	78.35	-	-	74.65	-	-	81.04	-	-
17.10-13.11.2006	25-28	73.72	40.0	16.60	81.57	41.0	11.49	76.46	39.8	9.85	83.57	40.5	12.35
14.11-11.12.2006	29-32	112.04	47.2	3.73	110.01	47.7	3.57	109.96	46.9	3.59	108.15	47.1	3.92
12.12.06-08.01.07	33-36	121.73	50.2	3.18	118.22	49.4	3.28	119.34	49.7	3.19	119.44	49.6	3.41
09.01-05.02.2007	37-40	116.84	51.6	3.37	117.50	50.9	3.43	115.69	51.0	3.30	115.63	52.0	3.31

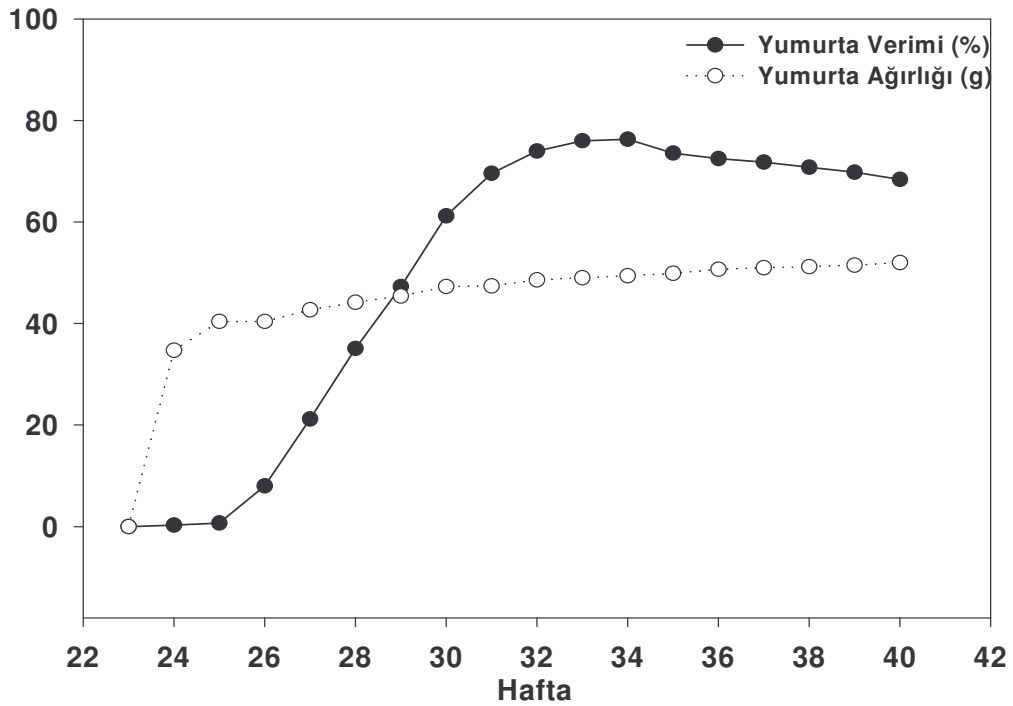
* Bu dönemde yumurta verimi başlamadığı için YYO hesaplanmamıştır.
Yem tüketimi (g/gün/tavuk); yumurta ağırlığı (g); YYO (kg yem/kg yumurta)

Çizelge 4.4. Tavukların eşeyssel olgunluk yaşı (EOY) ve eşeyssel olgunluk yaşı canlı ağırlığı (EOA)

GRUP	EOY		EOA	
	En Düşük-En Yüksek	Ortalama	En Düşük-En Yüksek	Ortalama
I	168-214	193	1344-2026	1608.94
II	165-210	189	1338-1957	1639.40
III	172-211	190	1240-1852	1609.74
IV	168-212	190	1188-2020	1604.43

Eşeyssel olgunluk yaşı (gün); eşeyssel olgunluk yaşı canlı ağırlığı (g).

Denizli tavuklarının 20–40 haftalık döneme ait ortalama yumurta verimi ve yumurta ağırlıkları Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Beklendiği gibi yaşın ilerlemesiyle birlikte yumurta ağırlığı artış göstermiştir. Araştırma bulgularına göre ilk yumurta verimi 24. haftada gözlenirken pik verimi % 81.25 ile 33. haftada saptanmış ve bu haftadan sonra yaşın ilerlemesiyle birlikte yumurta verimi düşüşe geçmiştir. Özdoğan ve Gürcan (2006), Denizli ırkı tavuklarında en yüksek pik verimini 39. haftada ortalama % 75.34 olarak saptamışlardır. Saptanan bu değer bulgularımızdan daha düşük bulunmuştur. Araştırma bulgularımıza göre Denizli ırkı tavuklarının % 50 yumurta verimine 29. haftada (203 gün) ulaştıkları saptanırken, Şekeroğlu ve Özen (1997) yerde yetiştirdikleri Denizli ırkı tavuklarının % 50 yumurta verimine 178 günde ulaştıklarını belirtmişlerdir. Aradaki 25 günlük farkın yetiştirme sistemleri arasındaki farklılıktan (kafeste ve yerde yetiştirme) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.1. Denizli tavuklarının 20–40 haftalık dönemlerine ait ortalama yumurta verimi ve yumurta ağırlıkları

Çizelge 4.5'te gruplara ait 20-40 haftalık dönemdeki haftalık yumurta verim (YV) ve yumurta ağırlık (YA) ortalamaları verilmiştir. Yumurta veriminin pik dönemi olarak saptanan 33. hafta incelendiğinde III. grubun % 81.25'lik yumurta verimi ile diğer gruplardan daha yüksek bir verime sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5. Denizli tavuklarının 20-40 haftalık dönemlerine ait yumurta verimi (YV) ve yumurta ağırlık (YA) ortalamaları

Tarih	Hafta	GRUPLAR							
		I 22°C		II 34°C		III 37°C		IV 40°C	
		YV	YA	YV	YA	YV	YA	YV	YA
03-09.10.06	23	-	-	-	-	-	-	-	-
10-16.10.06	24	-	-	0.3	34.72	-	-	-	-
17-23.10.06	25	1.2	33.70	0.9	38.23	0.3	34.00	0.3	32.31
24.10-30.10.06	26	5.4	40.31	11.0	40.45	7.4	39.20	8.0	41.78
31.10-06.11.06	27	15.5	42.94	18.5	43.13	27.4	41.63	23.2	42.96
07-13.11.06	28	22.3	42.71	40.1	45.01	42.9	44.39	35.1	44.73
14-20.11.06	29	41.1	45.16	51.8	46.25	51.8	45.06	44.3	45.32
21-27.11.2006	30	63.1	47.08	62.5	48.87	64.3	46.57	54.8	46.83
28.11-04.12.06	31	74.0	47.64	71.3	47.39	68.0	47.32	64.9	47.26
05.12-11.12.06	32	76.2	48.73	72.3	48.40	77.1	48.54	70.5	48.79
12-18.12.2006	33	78.87	49.45	73.81	48.39	81.25	49.03	70.24	49.10
19-25.12.2006	34	78.27	50.20	76.49	49.13	75.89	49.51	74.70	48.95
26-12/01.01.07	35	72.92	50.20	74.64	49.76	74.54	49.81	72.37	49.74
02-08.01.07	36	73.81	51.15	72.02	50.42	73.21	50.48	70.83	50.63
09-15.01.07	37	72.56	51.36	71.05	50.50	72.35	50.51	71.13	51.48
16-22.01.07	38	71.86	51.82	68.45	50.73	72.67	50.74	70.17	51.51
23-29.01.07	39	70.56	51.93	67.86	50.96	71.96	50.91	68.99	52.18
30-05.02.07	40	69.77	52.11	65.69	51.44	70.32	51.72	67.77	52.70

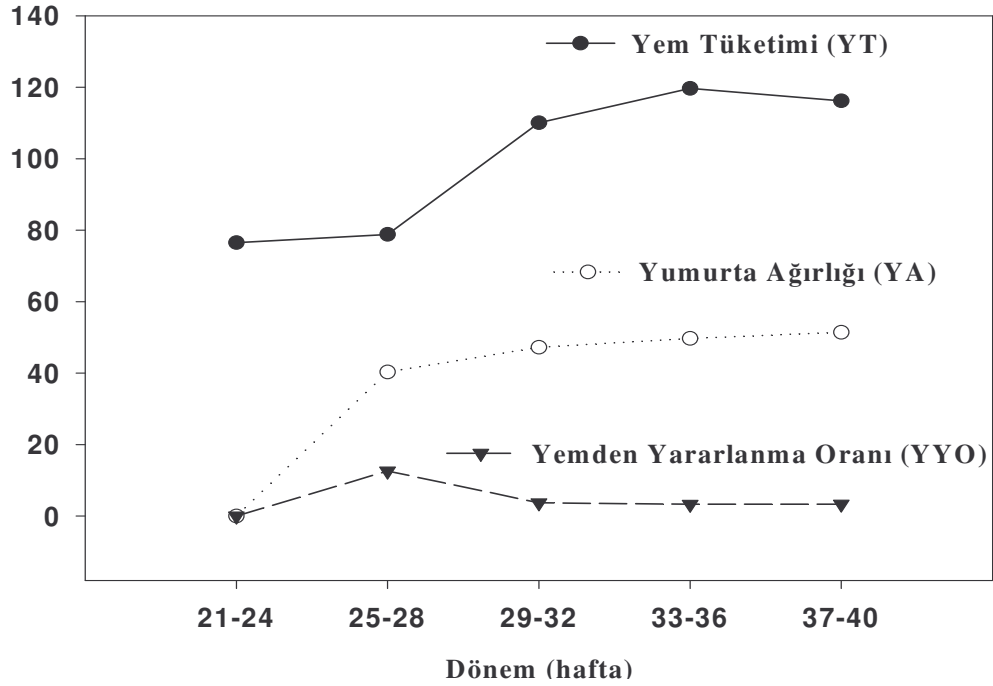
Yumurta verimi (%); yumurta ağırlığı (g)

Denizli tavuklarının 20-40 haftalık dönemdeki ortalama yem tüketimleri (YT), yumurta ağırlıkları (YA) ve yemden yararlanma oranları (YYO) Çizelge 4.6 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Yumurta verimi 24. haftada başladığı, 21-24 haftalık dönemde yumurta verimi olmadığı için bu dönemde yemden yararlanma oranı saptanamamıştır.

Çizelge 4.6. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) tavukların ortalama yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranı (YYO)

Dönem (hafta)	YT (g)	YA (g)	YYO (kg yem/kg yumurta)
21-24	76.49	-	-
25-28	78.83	40.3	12.57
29-32	110.04	47.2	3.70
33-36	119.68	49.7	3.27
37-40	116.17	51.4	3.35

Yem tüketimi (g); yumurta ağırlığı (g).



Şekil 4.2. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) tavuklarının ortalama YT (g), YA (g) ve YYO (kg yem/kg yumurta) değerlerine ait eğriler.

Bu dönemde saptanan ölüm oranları (%) Çizelge 4.7’de verilmiştir. Tüm gruplarda 33. haftaya kadar ölüm saptanmamış, 36-40. haftalarda gerçekleşen ölümlerin enfeksiyon kaynaklı olmadığı tespit edilmiştir. I, II ve IV. gruplarda ölen tavukların yerine yenileri eklenerek örnek sayısı sıcaklık uygulamasına kadar tüm gruplarda eşit tutulmuştur.

Çizelge 4.7. Sıcaklık öncesi dönemde (20–40 hafta) saptanan ölüm oranları (%).

Dönem (hafta)	GRUPLAR			
	I (22°C)	II (34°C)	III (37°C)	IV (40°C)
20-24	-	-	-	-
25-28	-	-	-	-
29-32	-	-	-	-
33-36	2.0	-	-	-
37-40	-	2.0	-	2.0

Sıcaklık öncesi dönemde (20-40 hafta) tavukların yaşama gücü ortalaması % 96.87 saptanmıştır. Şekeroğlu ve Özen (1997), bu dönem için Denizli tavuklarının yaşama gücünü % 98.84 olarak bildirmişlerdir. Sıcaklık uygulanmayan kontrol grubunda 20-52 haftalık dönemde Denizli ırkına ait yaşama gücü % 95.83 olarak saptanmıştır. Elde edilen bulgulara bakıldığında ırkın yaşama gücünün oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

4.1.3. III. Dönem Verim Özellikleri (40–44 hafta)

Bu dönemde, tavuklara dört hafta boyunca farklı sıcaklıklar uygulanmıştır. Buna göre I. gruba 22°C, II. gruba 34°C, III. gruba 37°C ve IV. gruba 40°C’lik sıcaklık uygulanmıştır. Ancak 40 °C sıcaklık uygulanan IV. grupta tavuk ölümlerinin artması nedeniyle örneklerin alınmasından sonra sıcaklık uygulamasına son verilmiş ve bu nedenle IV. gruptaki tavukların bu döneme ait verim özellikleri saptanamamıştır.

Tavukların yumurta ağırlıkları bu dönemde de her gün bireysel olarak tartılıp kaydedilmiştir. Yemler tavuklara tartılarak verilmiş ve yine 28 günlük dönem sonunda yem geri tartımı yapılmıştır. Deneme gruplarında yapılan yem geri tartımları

sonucu elde edilen yem tüketimleri (YT) ve yemden yararlanma oranlarına (YYO) ilişkin bulgular ve gruplara ait ortalama yumurta ağırlıkları (YA) Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Tavuklarda sıcaklık uygulaması (40-44 hafta) ve sonrası dönemde saptanan yem tüketimi (YT), yumurta ağırlığı (YA) ve yemden yararlanma oranlarına (YYO) ilişkin ortalama değerler

Hafta	GRUPLAR											
	22°C I.GRUP			34°C II.GRUP			37°C III.GRUP			40°C IV.GRUP		
	YT	YA	YYO	YT	YA	YYO	YT	YA	YYO	YT	YA	YYO
41-44	117.29	54.3	3.58	73.95	49.2	3.12	45.71	42.44	3.18	*	*	*
45-48	118.19	54.8	3.32	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖
49-52	117.84	55.0	3.57	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖	❖

Yem tüketimi (g/gün/tavuk); yumurta ağırlığı (g); YYO (kg yem/kg yumurta)

* Ölümün çok yüksek olması nedeniyle uygulamaya son verilmiştir.

❖ 41–44. haftalardaki sıcaklık uygulamasından sonra sadece 22°C’deki tavukların yumurta ve yem kayıtları alınmıştır.

Sıcaklık uygulaması öncesi ve sonrası grupların ortalama yem tüketimleri (YT) ve yemden yararlanma oranlarının (YYO) istatistiksel karşılaştırması Çizelge 4.10’da verilmiştir. Bu dönemde grupların yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları arasındaki farklar önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Yemden yararlanma oranı bakımından 34°C ve 37°C grupları arasındaki fark önemsiz bulunurken bu gruplar ile 22°C grubu arasındaki ortalamalar arası fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Tavukların yem tüketimine, uygulanan sıcaklıklar ve sıcaklık uygulama döneminin etkisi önemli ($P<0.001$) bulunmuştur. Yüksek sıcaklıklarda kanatlılarda yem tüketiminin azaldığı bilinmektedir. Araştırma bulgularımızda da sıcaklık uygulamasıyla ve artan sıcaklıkla birlikte yem tüketimi azalmış buna bağlı olarak da yumurta verimi azalmıştır. Yumurta veriminde gözlenen azalma doğal olarak

yemden yararlanma oranında da değişimlere yol açmıştır. Elde edilen bu sonuç ile beklendiği gibi yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı için uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama dönemi arasındaki interaksiyon etkisi önemli ($P<0.001$) bulunmuştur (Çizelge 4.9). Literatürde Denizli tavuklarında sıcak stresi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle saptanan sonuçların karşılaştırılması yapılamamıştır

Çizelge 4.9. Sıcaklık uygulaması öncesi ve sonrası Denizli tavuklarının ortalama yem tüketimleri (YT) ve yemden yararlanma oranlarına (YYO) ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları

	Sıcaklık Grupları	YT (g/gün/tavuk)	YYO (kg yem/kg yumurta)
Uygulama Öncesi (37-40 hafta)	22°C	116.84 ^a ±0.39	3.37 ^a ±0.09
	34°C	117.50 ^a ±0.97	3.43 ^a ±0.01
	37°C	115.69 ^a ±0.22	3.30 ^a ±0.06
Uygulama Dönemi (41-44 hafta)	22°C	117.29 ^a ±1.74	3.58 ^a ±0.09
	34°C	73.95 ^b ±1.08	3.12 ^b ±0.05
	37°C	45.71 ^c ±0.83	3.18 ^b ±0.11
GENEL		97.83±0.41	3.33±0.02
Önemlilik Düzeyi (P)			
	YT		YYO
Sıcaklık	<0.001		<0.05
Doğrusal	<0.001		<0.05
Kuadratik	0.069		0.184
Dönem	<0.001		0.197
Sıcaklık x Dönem	<0.001		<0.001

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arası farklar önemlidir ($P<0.05$).

* Ölümlerin çok yüksek olması nedeniyle 40°C sıcaklık uygulanan grupta ölçüm yapılmamıştır.

Yem tüketimi ve yemden yararlanma özelliklerinin uygulanan sıcaklıklara göre değişimi doğrusal olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Her iki özelliğe sıcaklık şiddetinin artışıyla birlikte doğrusal olarak azalmıştır

Sıcaklık uygulaması öncesi gruplar arasında yumurta verimi ve yumurta ağırlıklarına ait farklar önemsiz bulunurken, sıcaklık uygulaması sırasında deneme grupları arasında bu özelliklere ait ortalamalar arasındaki farklar önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Sıcaklık uygulaması öncesi ve uygulama sırasında Denizli tavuklarının yumurta verimleri (YV) ve yumurta ağırlıklarına (YA) ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları.

	Sıcaklık Grupları	YV (%)	YA (g)
Uygulama Öncesi (37-40 hafta)	22°C	71.19 ^a ±0.63	51.81 ^a ±0.16
	34°C	68.26 ^a ±1.10	50.91 ^a ±0.20
	37°C	71.83 ^a ±0.52	50.97 ^a ±0.26
Uygulama Dönemi (41-44 hafta)	22°C	66.34 ^a ±0.91	53.84 ^a ±0.25
	34°C	48.16 ^b ±1.46	49.17 ^b ±0.22
	37°C	33.80 ^c ±0.37	42.44 ^c ±0.20
GENEL			
		Önemlilik Düzeyi (P)	
		YV	YA
Sıcaklık		<0.001	<0.001
Doğrusal		<0.001	<0.001
Kuadratik		<0.05	0.163
Dönem		<0.001	<0.001
Sıcaklık x Dönem		<0.001	<0.001

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arası farklar önemlidir ($P<0.05$).

* Ölümün çok yüksek olması nedeniyle 40°C sıcaklık uygulanan grupta ölçüm yapılmamıştır.

Deneme gruplarında uygulanan farklı sıcaklıkların ve sıcaklık uygulama döneminin yumurta verimi ve yumurta ağırlıkları üzerine olan etkileri önemli ($P<0.001$) bulunmuştur. Bu iki özellik için tavuklara uygulanan sıcaklıklar ile sıcaklık uygulama dönemi arasındaki interaksyonlar da önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Uygulanan sıcaklıkların yumurta verimi ve yumurta ağırlıklarındaki düşüslere etkisi dönemlere göre farklılık göstermiştir. Bu özellikler için gözlenen azalma dönemlerde paralel değildir. Yumurta verimi ve yumurta ağırlığı özellikleri için uygulanan sıcaklıklar ile sıcaklık uygulama dönemi arasındaki interaksyonların önemli bulunması bu şekilde yorumlanabilir. Daha önce de belirtildiği gibi artan sıcaklıklarla birlikte yem tüketiminde önemli azalmalar saptanmıştır. Yem tüketimindeki azalmaya paralel olarak yumurta veriminde dolayısıyla yumurta ağırlığında düşüsler gözlenmiştir. Yem tüketimindeki etkilenme bu iki özelliği de olumsuz yönde etkilemiştir.

Yumurta veriminin uygulanan sıcaklıklara göre değişimi doğrusal ($P<0.001$) ve kuadratik ($P<0.05$) olarak önemli bulunurken, yumurta ağırlığının sıcaklıklara göre değişimi önemli düzeyde ($P<0.001$) doğrusallık göstermiştir.

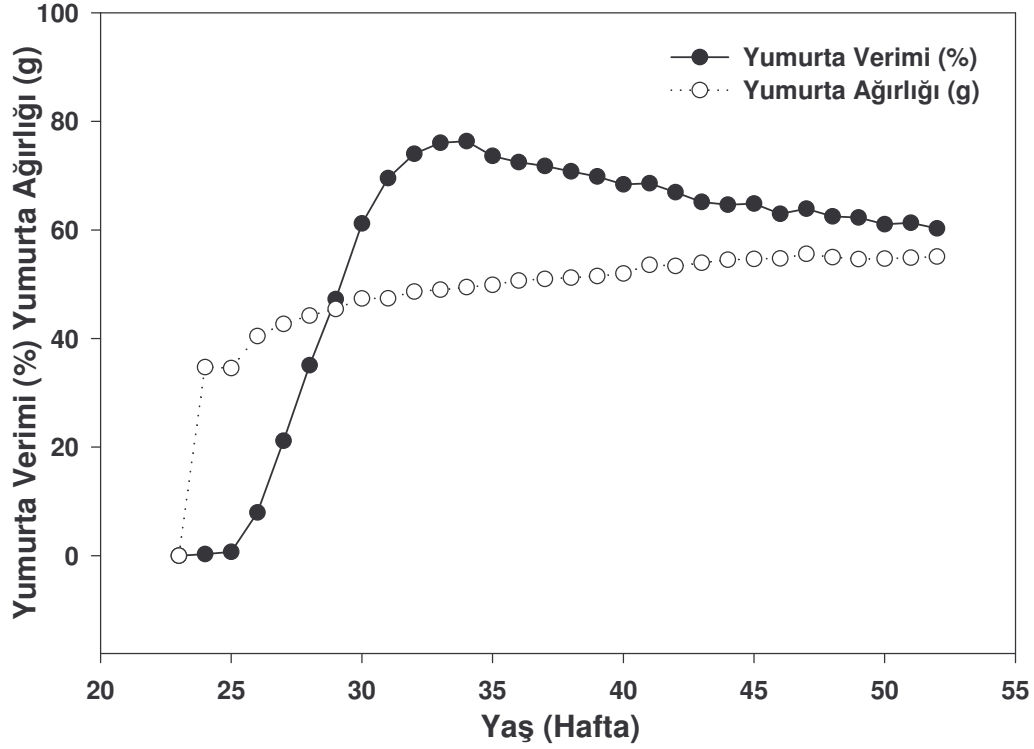
Sıcaklık uygulama öncesi ve sonrası deneme gruplarına ait haftalık ortalama yumurta verimi ve yumurta ağırlığına ait elde edilen bulgular Çizelge 4.11’de verilmiştir. Tüm gruplarda sıcaklık 33. haftadan 40. haftaya kadar yaşlanmanın etkisiyle yumurta verimi azalmış, yumurta ağırlığı artmıştır. Sıcaklık uygulamasının başlaması ile birlikte kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda sıcak stresinin etkisiyle birlikte yem tüketimi azalmış buna bağlı olarak da yumurta verimi ve yumurta ağırlığı azalmıştır. Yumurta verimindeki en fazla artış 37°C grubunda gözlenmiştir.

Sıcaklık uygulama sonrasında 44. haftadan itibaren sadece 22°C sıcaklık uygulanan kontrol grubundaki tavukların yumurta kayıtları tutulmuş ve kayıt işlemi 52. haftaya kadar sürdürülmüştür. Bu verilere göre Denizli ırkı tavuklarına ait 23-52 haftalık dönemde ortalama yumurta verimi % 59, ortalama yumurta ağırlığı ise 50.40 g olarak hesaplanmıştır. Bu iki özelliğin anılan süredeki değişimi Şekil 4.3’te verilmiştir. Saptanan değerler Özdoğan ve Gürcan (2006)’nın araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.11. Sıcaklık uygulama öncesi, sıcaklık uygulama sırasında ve sonrası deneme gruplarına ait haftalık ortalama yumurta verimi (YV) ve yumurta ağırlığı (YA)

Tarih	Hafta	GRUP							
		22°C		34°C		37°C		40°C	
		YV	YA	YV	YA	YV	YA	YV	YA
12-18.12.2006	33	78.87	49.45	81.25	49.03	73.81	48.39	70.24	49.10
19-25.12.2006	34	78.27	50.20	75.89	49.51	76.49	49.13	74.70	48.95
26-12 /01.01.07	35	72.92	50.20	74.54	49.81	74.64	49.76	72.37	49.74
02-08.01.2007	36	73.81	51.15	73.21	50.48	72.02	50.42	70.83	50.63
09-15.01.2007	37	72.56	51.36	72.35	50.51	71.05	50.50	71.13	51.48
16-22.01.2007	38	71.86	51.82	72.67	50.74	68.45	50.73	70.17	51.51
23-29.01.2007	39	70.56	51.93	71.96	50.91	67.86	50.96	68.99	52.18
30-05.02.2007	40	69.77	52.11	70.32	51.72	65.69	51.44	67.77	52.70
SICAKLIK UYGULAMA VE SONRASI DÖNEM									
		22°C		34°C		37°C		40°C	
06-12.02.2007	41	68.61	53.57	51.24	48.58	34.58	42.65	*Ölümlerin çok yüksek olması nedeniyle uygulamaya son verilmiştir.	
13-19.02.2007	42	66.96	53.35	49.64	49.29	34.18	42.86		
20-26.02.2007	43	65.14	53.93	47.19	49.15	33.50	41.97		
27.02-05.03.07	44	64.65	54.49	44.58	49.65	32.93	42.29		
06-12.03.2007	45	64.84	54.65	41-44. HAFTALARDAKİ SICAKLIK UYGULAMASINDAN SONRA SADECE 22 °C 'DEKİ TAVUKLARIN YUMURTA KAYITLARI ALINMIŞTIR					
13-19.03.2007	46	62.97	54.73						
20-26.03.2007	47	63.90	55.58						
27.03-02.04.07	48	62.50	54.96						
03-09.04.2007	49	62.29	54.62						
10-16.04.2007	50	61.06	54.72						
17-23.04.2007	51	61.31	54.88						
24-30.04.2007	52	60.27	55.09						

* Sıcaklık uygulamasına başlandıktan 3-4 saat sonra ölümlerin çok artması nedeniyle 40°C sıcaklık uygulamasına son verilmiştir. Yumurta verimi (%); Yumurta ağırlığı (g).



Şekil 4.3. Denizli tavuklarının 23-52 haftalık dönemdeki ortalama yumurta verimi (%) ve yumurta ağırlıkları (g).

Sıcaklık uygulama öncesinde ve sıcaklık uygulama döneminde deneme gruplarından toplanan yumurtaların ortalama kabuk kalınlıkları, kabuk ağırlıkları ve kabuk oranlarına ilişkin değerler Çizelge 4.12’de verilmiştir. Sıcak stresi ile birlikte azalan yem tüketiminin etkisiyle gruplar arasında kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk oranı değerlerinde önemli farklar ortaya çıkmıştır ($P < 0.05$). Tavuklara uygulanan sıcaklığın kabuk kalite özellikleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Sıcaklık uygulama döneminin KK, KA ve KO özellikleri üzerine etkisi önemli ($P < 0.001$) bulunurken bu özellikler için, uygulanan sıcaklıklar ile sıcaklık uygulama dönemi arasındaki interaksiyon da önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Uygulanan sıcaklıkların kabuk kalitesindeki düşümlere etkisi dönemlere göre farklılık göstermiştir. Bu özellikler için gözlenen azalma dönemlerde paralel değildir. Tavuklar yumurta kabuğu sentezi için kullandıkları kalsiyumun büyük bir kısmını tükettikleri yemden karşılamaktadırlar. Sıcaklık uygulaması ve uygulanan yüksek

sıcaklıkların etkisiyle yumurta verimi ve yumurta ağırlığında olduğu gibi yumurta kabuk kalite özelliklerinde de azalan yem tüketimine bağlı olarak düşüşler gözlenmiştir. Bunlara ek olarak artan çevre sıcaklığının kanatlılarda solunum hızını artırdığı bilinmektedir. Artan solunum hızı, yumurta kabuğunun kalsifikasyonu için gerekli olan kalsiyum bikarbonat iyonlarının kandaki miktarını seyreltmekte ve bunun sonucunda yumurta kabuk kalitesi kötüleşmektedir. Kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk oranı özellikleri için, uygulanan sıcaklıklar ile sıcaklık uygulama dönemi arasındaki interaksiyonun önemli bulunması, yukarıda bahsedilen neden-sonuç ilişkilerinden kaynaklanabilir.

Çizelge 4.12. Sıcaklık uygulama öncesinde ve sıcaklık uygulama döneminde Denizli tavuklarına ait yumurtaların kabuk kalınlıkları (KK), kabuk ağırlıkları (KA) ile kabuk oranlarına (KO) ait ortalamalar ve standart hataları.

	Sıcaklık Grupları	KK (mm)	KA (g)	KO (%)
Uygulama Öncesi (37-40 hafta)	22°C	0.389 ^a ±0.008	5.43 ^a ±0.24	10.5 ^a ±0.21
	34°C	0.391 ^a ±0.004	5.53 ^a ±0.21	10.7 ^a ±0.36
	37°C	0.392 ^a ±0.018	5.25 ^a ±0.26	10.2 ^a ±0.27
Uygulama Dönemi (41-44 hafta)	22°C	0.379 ^a ±0.003	5.09 ^a ±0.06	10.4 ^a ±0.12
	34°C	0.349 ^b ±0.001	4.55 ^b ±0.03	9.3 ^b ±0.04
	37°C	0.312 ^c ±0.008	3.99 ^c ±0.12	9.1 ^b ±0.07
GENEL		0.369±0.004	4.97±0.72	10.03±0.09
Önemlilik Düzeyi (P)				
		KK	KA	KO
Sıcaklık		<0.05	<0.05	<0.05
Doğrusal		<0.05	<0.05	<0.05
Kuadratik		0.789	0.528	0.842
Dönem		<0.001	<0.001	<0.001
Sıcaklık x Dönem		<0.05	<0.05	<0.05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0.05).

* Ölümlerin çok yüksek olması nedeniyle 40°C sıcaklık uygulanan grupta ölçüm yapılmamıştır.

Kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk oranı özelliklerinin uygulanan sıcaklıklara göre değişimi doğrusal olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

Sıcaklık uygulama öncesinde (40. hafta) ve sıcaklık uygulama döneminde (41–44 hafta) tavuklardan toplanan yumurtaların kabuk kalınlıkları (KK), kabuk ağırlıkları (KA) ve kabuk oranlarına (KO) ait haftalık ortalamalar Çizelge 4.13'te verilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi sıcaklık uygulaması sırasında kan örnekleri alındıktan sonra 40°C'lik grupta tavuk ölümlerin fazla olması nedeniyle sıcaklık uygulama işlemine son verilmiştir. Bu nedenle bu gruba ait sıcaklık uygulaması sırasındaki tavukların yumurta ile ilgili verileri alınamamıştır.

Çizelge 4.13. Sıcaklık uygulama öncesinde ve sıcaklık uygulama döneminde deneme gruplarından toplanan yumurtaların haftalık ortalama kabuk kalınlıkları (KK), kabuk ağırlıkları (KA) ve kabuk oranları (KO)

Hafta	GRUPLAR											
	22°C			34°C			37°C			40°C)		
	KK	KA	KO	KK	KA	KO	KK	KA	KO	KK	KA	KO
40	0.389	5.43	10.5	0.391	5.53	10.7	0.392	5.25	10.2	0.390	5.43	10.3
41	0.386	4.96	10.2	0.350	4.57	9.4	0.332	4.35	9.1	*Ölümlerin çok yüksek olması nedeniyle uygulamaya son verilmiştir.		
42	0.379	5.18	10.5	0.347	4.58	9.3	0.312	3.90	9.3			
43	0.376	5.21	10.6	0.351	4.57	9.3	0.310	3.90	9.0			
44	0.374	5.01	10.1	0.348	4.47	9.2	0.294	3.81	9.0			

Kabuk Kalınlığı (mm); Kabuk Ağırlığı (g); Kabuk Oranı (%)

Normal çevre sıcaklıklarında yetiştirilen Denizli ırkı tavuklarının normal ortalama yumurta kabuk kalınlığı, yumurta kabuk ağırlığı ve yumurta kabuk oranı sırasıyla 0.391 mm, 5.41 g, % 10.4 olarak saptanmıştır. Bulgularımız Türkyılmaz ve ark. (2005)'nin yaptığı araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Deneme gruplarında sıcaklık uygulaması ile birlikte ölüm oranları artmıştır. En fazla ölüm % 33.3 ile 40°C sıcaklık uygulanan IV. grupta saptanmıştır. Bu grubu % 12.5 ile III. grup (37°C) ve % 4.2'lik ölüm oranı ile II. (34°C) grup izlemiştir. Bu dönemde 22°C sıcaklık uygulanan kontrol grubunda (I. grup) herhangi bir ölüm gerçekleşmemiştir. Sıcaklık uygulaması sırasında gerçekleşen ölüm oranlarının karşılaştırılmasına ait ki-kare değeri (χ^2 :108) önemli (P<0.01) bulunmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Sıcaklık uygulaması sırasında gerçekleşen ölüm oranları

Hafta	I.GRUP 22°C	II.GRUP 34°C	III.GRUP 37°C	IV.GRUP 40°C
41-44	0/48 ^d	2/48 ^c	6/48 ^b	16/48 ^a

^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harflere sahip oranlar arası fark önemlidir P<0.05

Bu araştırma Denizli ırkı tavuklarında sıcak stresinin etkilerinin incelendiği ilk çalışma olması nedeniyle elde edilen sonuçların, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

4.2. KAN ÖRNEKLERİNDE SAPTANAN ÖLÇÜTLER

4.2.1. Serum Kolesterol Düzeyi

Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının kan serum kolesterol düzeyi Çizelge 4.15’de verilmiştir. Araştırmada gruplara uygulanan sıcaklıkların ($P<0.05$) ve sıcaklık uygulama sürelerinin ($P<0.05$) tavukların kolesterol düzeyine önemli etkilerde bulunduğu, sıcaklık ile sıcaklık uygulama süresi arasındaki etkileşimin önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

Araştırma bulguları incelendiğinde 22°C sıcaklıkta yetiştirilen kontrol grubu (90.dk hariç) dışındaki diğer gruplarda, sıcaklık uygulama süresiyle birlikte serum kolesterol düzeyinde başlangıç değerine göre önemli artışlar saptanmıştır (Çizelge 4.15). Yüksek sıcaklığın etkisiyle tavukların serum kolesterol düzeyinde ortaya çıkan bu artışların beklendiği gibi genelde doğrusal artışlar olduğu söylenebilir. Ancak tüm grupların kolesterol düzeylerinde doğrusallığı bozan değerler de göze çarpmaktadır. Sıcaklık uygulama süresi içerisinde, grupların toplam serum kolesterol değerinde gözlenen bu değişiklikler, yumurta kolesterolünün bir bileşeni olan VLDL (Çok düşük yoğunluklu lipoprotein) değerinde yumurta sarısının sentezlenmesine bağlı ortaya çıkmış olabilir. Nitekim yumurta sarısının sentezlenmesi sırasında kan plazmasında VLDL miktarı artmaktadır (Walzem, 1996).

Araştırma gruplarında en yüksek serum kolesterol miktarı 90. dakikada 191.33 mg/dl ile 40°C sıcaklıkta yetiştirilen tavuklarda, en düşük kolesterol değeri ise 30. dakikada 110 mg/dl ile 22°C ’de barındırılan kontrol grubu tavuklarında saptanmıştır. Sıcaklık gruplarında artan sıcaklık yer alan tavukların serum kolesterol düzeyinde 30. dakikadan sonra önemli artışlar elde edilmiştir.

Literatürde, araştırma bulgularında olduğu gibi, yüksek çevre sıcaklığının yol açtığı sıcak stresi nedeniyle kanatlıların kan serum kolesterol düzeyinin arttığını bildiren (Saleh, 1997; Özbey ve ark., 2004; Şahin ve ark., 2004; Shim *et al.*, 2006) araştırma sonuçlarının yanı sıra, yüksek sıcaklıklarda serum kolesterol düzeyinin azaldığını

ileri süren çalışmalara da (Soliman ve Huston, 1974; Sands ve Smith, 2002) rastlanmıştır.

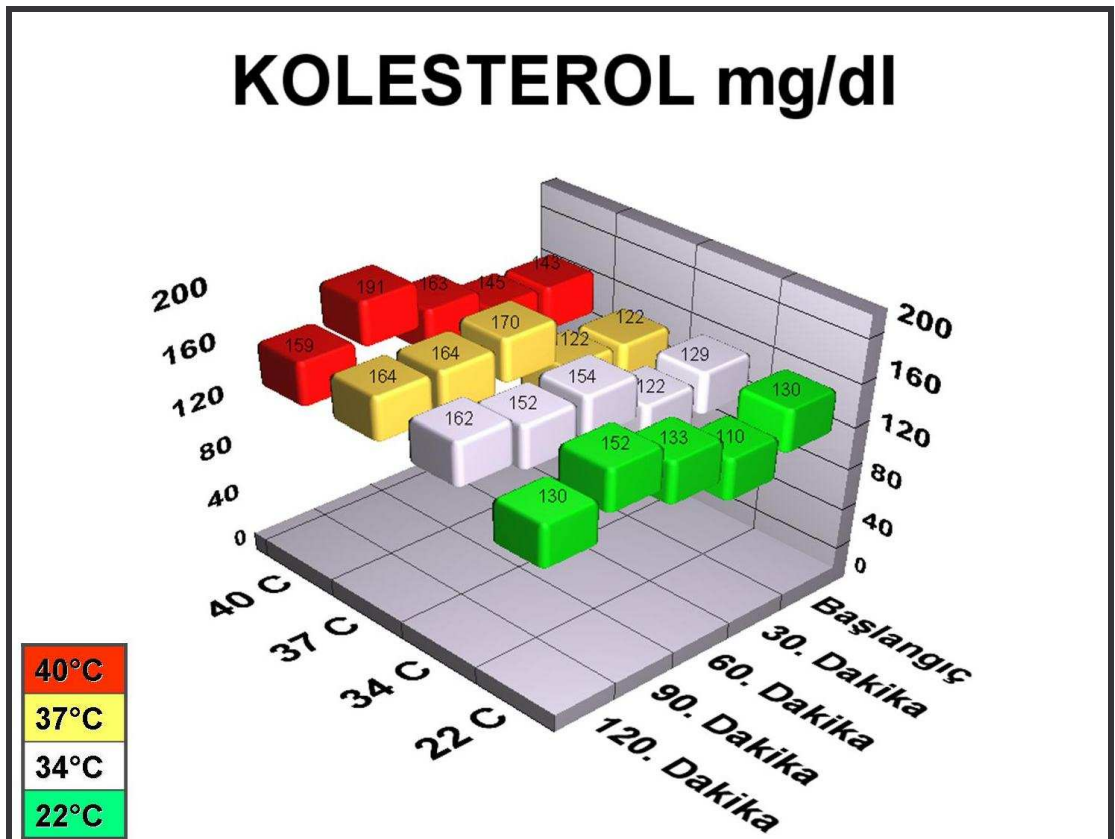
Çizelge 4.15. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının kan serumu toplam kolesterol düzeyi.

Toplam Kolesterol Düzeyi (mg/dl)					
Süre(dk)	Sıcaklık Grupları				GENEL
	22°C	34°C	37°C	40°C	
0	130.00±9.88	129.33±2.60	121.50±2.58	143.00±4.98	130.96 ^b ±7.77
30	110.00±0.43	121.67±4.31	122.33±5.13	144.67±4.85	124.67 ^b ±7.77
60	133.00±1.54	154.00±6.09	170.00±8.53	163.33±8.39	155.08 ^a ±7.77
90	152.00±5.21	151.67±6.74	163.67±6.98	191.33±6.63	164.67 ^a ±7.77
120	129.67±5.48	161.67±5.48	164.00±7.09	159.33±2.59	153.67 ^a ±7.77
GENEL	130.93 ^B ±6.95	143.67 ^B ±7.29	148.30 ^{AB} ±7.29	160.33 ^A ±6.95	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.05				
Doğrusal	<0.05				
Kuadratik	0.959				
Kübik	0.609				
Süre	<0.05				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	0.289				
Kübik	<0.05				
IV. Düzey	0.364				
Sıcaklık x Süre	0.925				

^{A,B} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

^{a,b} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

Serum kolesterol düzeyinin uygulanan farklı sıcaklıklar ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi Şekil 4.4'te verilmiştir. Kolesterol düzeyinin, uygulanan sıcaklıklara ($P<0.05$) ve sıcaklık uygulama sürelerine ($P<0.001$) göre değişimi doğrusal olarak önemli bulunmuştur. Kolesterol düzeylerinde Uygulanan sıcaklıkların ve uygulama sürelerinin artışına paralel olarak gözlenen doğrusal artışın yanı sıra bu özelliğin sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi kübik olarak da önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Kan kolesterol düzeyinin yumurta sarı sentezi sırasında yükseldiği sentez sonrasında ise düştüğü bilinmektedir (Walzem, 1996). Her sıcaklık uygulama süresinde 3 tavuktan kan alınmış, gözlem sayısının sınırlı olması nedeniyle de bireysel farklılıklar dönem ortalamasını oldukça fazla etkilemiştir. Bu nedenlerden ötürü kolesterol düzeyinde gözlenen kübik değişimin nedeninin, tavukların yumurtlama saatlerindeki bireysel farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.



Şekil 4.4. Serum kolesterol düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.

4.2.2. T₃ (pg/ml)

Denizli tavuklarının farklı sıcaklıklarda ürettikleri T₃ hormon düzeyleri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Tavuklara uygulanan sıcaklıkların (P<0.001) ve sıcaklık uygulama süresinin (P<0.05) T₃ hormon seviyesi üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Ancak, sıcaklık ile sıcaklık uygulama süresi arasındaki interaksiyon, tavukların T₃ hormon seviyelerini etkilememiştir (Çizelge 4.16). Yüksek sıcaklık gruplarında akut sıcaklıkların uygulama başlangıcından 120. dakikaya doğru T₃ hormon düzeylerinde önemli düşüşler görülmüştür. Aynı sürelerde kontrol gurubuna ait T₃ hormon seviyelerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Tavukların T₃ hormon düzeyi 34 ve 37°C 'de birbirine yakın değerlere sahip olurken, T₃ hormon değerlerinde sıcak stresine bağlı en fazla düşüş 40°C sıcaklık uygulanan grupta ortaya çıkmıştır. Denizli tavuklarında 22°C'de saptanan serum T₃ hormon düzeyi ortalaması 8.76 pg/ml iken, bu değer 40°C'lik akut sıcaklık uygulanma süresinin sonunda 3.83 pg/ml'ye kadar düşmüştür. Özellikle 40°C'de yetiştirilen tavukların T₃ seviyesindeki düşüş oldukça dikkat çekicidir.

Tiroid hormonları canlılarda metabolizma hızının ayarlanmasında ve vücut sıcaklığının korunmasında önemli görevler üstlenmişlerdir. Sıcakkanlılar düşük çevre sıcaklığında T₃ hormon düzeyini artırarak metabolizma hızını ve vücut sıcaklığını yükseltebilmekte, yüksek sıcaklıklarda ise hormon seviyesini azaltarak vücut sıcaklığını kontrol altına alabilmektedirler (Noyan, 2004). Yahav *et al.* (1997a), sıcağa karşı toleransı artırılmış tavukların sıcak stresi sırasında T₃ düzeyini düşürebilmesini, bu hayvanlarda sıcağa dayanma gücü metabolizmasının geliştiğinin bir göstergesi olarak yorumlamışlardır. Akut sıcak stresi uygulanan Denizli ırkı tavuklarda serum T₃ düzeyinin uygulanan sıcaklık süresinin artmasıyla birlikte önemli düşüşler göstermesi bu ırkın sıcak çevre şartlarına toleransı yeteneğinin yüksek olduğu biçimde yorumlanabilir.

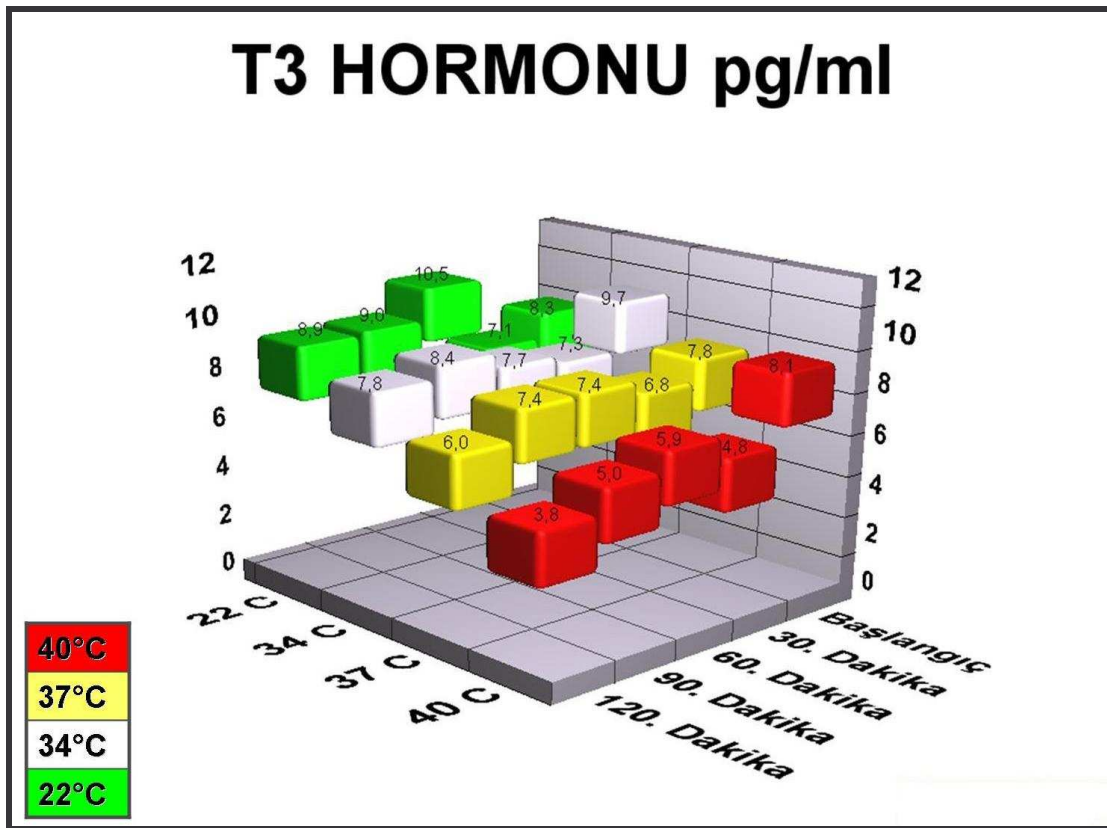
Çizelge 4.16. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının T₃ hormon düzeyi

T ₃ (pg/ml)					
Sıcaklık Grupları					
Süre(dk)	22°C	34°C	37°C	40°C	GENEL
0	8.27±0.33	9.68±0.28	7.82±0.35	8.08±0.18	8.46 ^a ±0.49
30	7.06±0.23	7.30±0.16	6.78±0.62	4.78±0.74	6.48 ^b ±0.49
60	10.53±0.41	7.67±0.44	7.44±0.32	5.86±0.09	7.88 ^{ab} ±0.49
90	9.03±0.68	8.39±0.33	7.39±0.79	4.96±0.18	7.44 ^{ab} ±0.49
120	8.89±0.39	7.75±1.12	6.02±0.51	3.83±0.13	6.62 ^b ±0.49
GENEL	8.76 ^A ±0.44	8.16 ^{AB} ±0.44	7.09 ^B ±0.44	5.50 ^C ±0.44	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	0.261				
Kübik	0.976				
Süre	<0.05				
Doğrusal	0.085				
Kuadratik	0.787				
Kübik	<0.05				
IV. Düzey	0.110				
Sıcaklık x Süre	0.494				

^{A,B,C} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

T₃ hormon düzeyinin uygulanan sıcaklıklara göre değişimi doğrusal olarak (P<0.001), sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi ise kübik olarak önemli (P<0.05) bulunmuştur (Şekil 4.5). Uygulanan sıcaklıkların artışı ile birlikte tavukların vücut sıcaklıklarında meydana gelen artış, T₃ hormonunu doğrusal olarak azaltmıştır. Sıcaklık uygulama süresinin artışı ile birlikte T₃ hormon düzeyinde gözlenen kübik artış ırk içerisindeki bireysel varyasyondan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.5. T₃ hormon düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.

4.2.3. Hematokrit Değeri (%)

Denizli tavuklarında farklı sıcaklıklarda saptanan hematokrit değerleri Çizelge 4.17’de verilmiştir. Tavukların hematokrit değerine, sıcaklığın ($P<0.001$), sıcaklık uygulama süresinin ($P<0.001$) ve sıcaklık ile süre arasındaki etkileşimin ($P<0.05$) etkileri önemli bulunmuştur (Çizelge 4.17). Normal sıcaklıkta (22°C) 40 haftalık Denizli tavuklarına ait ortalama hematokrit değeri % 33.6 olarak hesaplanmıştır. En yüksek hematokrit değeri de % 34 ile yine kontrol grubunda saptanırken, en düşük % 26’lık hematokrit değeri 37°C ve 40°C sıcaklıkların uygulandığı grupta 120. dakikada gözlenmiştir. Hematokrit değeri kanda kırmızı kan küreciklerinin oransal hacmini ifade etmektedir. Yüksek sıcaklıklarda organizmada hücre içi membran sıvısı sıcaklığa bağlı olarak artmaktadır. Bu artış kandaki kırmızı kan küreciklerinin oransal hacmini seyreltmekte ve buna bağlı olarak da hematokrit düzeyinde sıcaklık artışına bağlı olarak azalmalar meydana gelmektedir. Uygulanan sıcaklık farkı ve

süresi ile hematokrit değeri arasındaki etkileşimin önemli bulunması sıcaklık ile hematokrit değeri arasındaki bu ilişkiden kaynaklanabilir. Kontrol grubu dışındaki sıcaklık gruplarında, sıcaklık artışı ile birlikte tavukların hematokrit değerlerinde saptanan azalma, literatür ile uyum göstermektedir (Yahav *et al.*, 1997b; Altan ve ark., 2000a; Borges *et al.*, 2004).

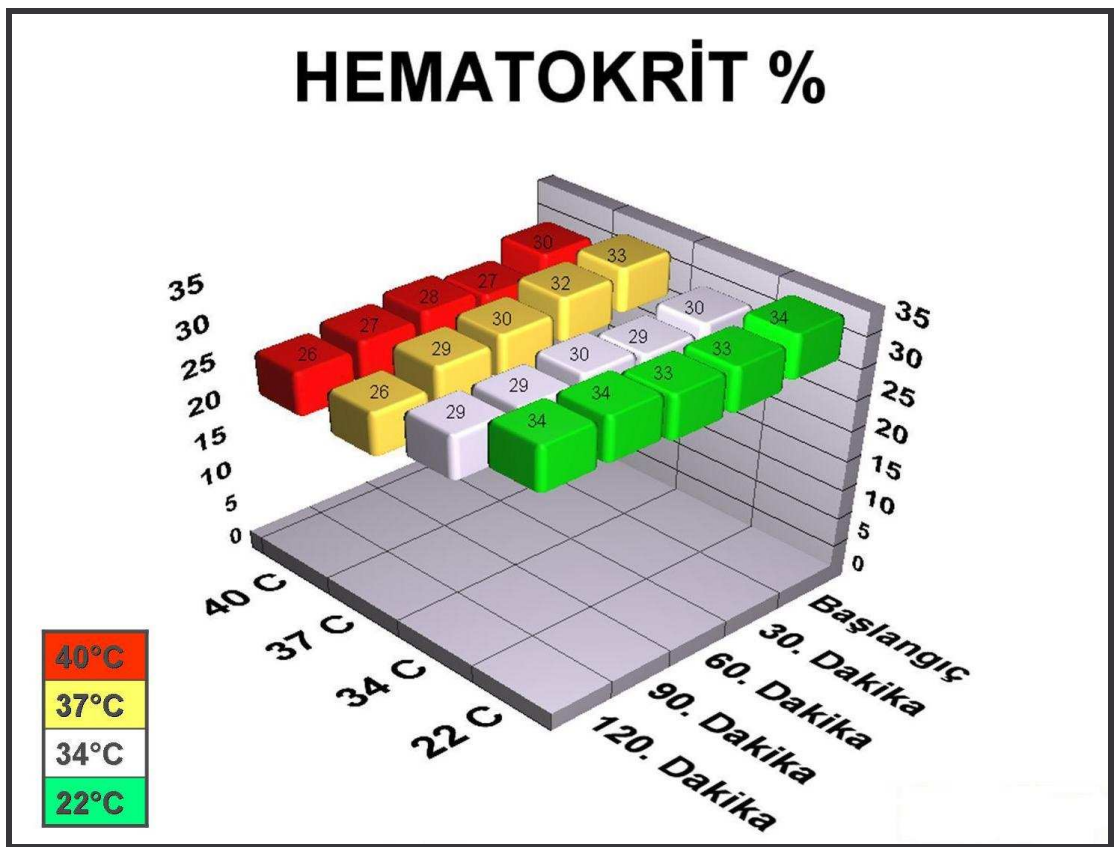
Çizelge 4.17. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının hematokrit düzeyi

Hematokrit (%)					
Sıcaklık Grupları					
Süre(dk)	22°C	34°C	37°C	40°C	GENEL
0	34 ^{Aa} ±0.49	30 ^{Ca} ±0.24	33 ^{Ba} ±0.25	30 ^{Ca} ±0.24	31.75±0.35
30	33 ^{Aa} ±0.25	29 ^{Cb} ±0.25	32 ^{Bb} ±0.49	27 ^{Dbc} ±0.25	30.25±0.35
60	33 ^{Aa} ±0.25	30 ^{Ba} ±0.25	30 ^{Bc} ±0.21	28 ^{Cb} ±0.24	30.25±0.35
90	34 ^{Aa} ±0.49	29 ^{Bb} ±0.25	29 ^{Bd} ±0.25	27 ^{Cbc} ±0.25	29.75±0.35
120	34 ^{Aa} ±0.25	29 ^{Bb} ±0.26	26 ^{Cc} ±0.24	26 ^{Cc} ±0.49	28.75±0.35
GENEL	33.60±0.32	29.40±0.32	30.00±0.32	27.60±0.32	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	<0.05				
Kübik	<0.001				
Süre	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	0.707				
Kübik	0.081				
IV. Düzey	0.503				
Sıcaklık x Süre	<0.05				

^{A,B,C} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

Hematokrit düzeyinin uygulanan farklı sıcaklıklara göre değişimi doğrusal ($P<0.001$), kuadratik ($P<0.05$) ve kübik ($P<0.001$) olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.6). Uygulanan sıcaklıklardan 37°C grubunda hematokrit değerinde doğrusal bir düşüş gözlenirken diğer gruplarda Denizli ırkı tavuklarının bireylerinin sıcağa tepkilerinin farklılığından bu doğrusallık bozulmuştur. Bu nedenle diğer gruplarda kuadratik ve kübik azalmalar saptanmıştır. Sıcaklık uygulama süresinin artmasına bağlı olarak hematokrit düzeyindeki azalma doğrusal olarak önemli bulunmuştur ($P<0.001$).



Şekil 4.6. Hematokrit düzeyinin uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.

4.2.4. Vücut Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)

Kanatlılarda artan çevre sıcaklığı ile doğru orantılı olarak vücut sıcaklığının da arttığı bilinmektedir. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının vücut sıcaklıkları

Çizelge 4.18’de verilmiştir. Tavukların vücut sıcaklığına, yetiştirilme sıcaklıklarının ($P<0.001$), sıcaklık uygulama sürelerinin ($P<0.05$) ve sıcaklık ile süre arasındaki etkileri önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Yüksek sıcaklıklar, ilerleyen süre içerisinde tavukların vücut sıcaklıklarında artışa neden olmuştur (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Farklı yetiştirme sıcaklıklarının ve sıcaklık uygulama sürelerinin Denizli ırkı tavuklarının vücut sıcaklık değerlerine etkisi

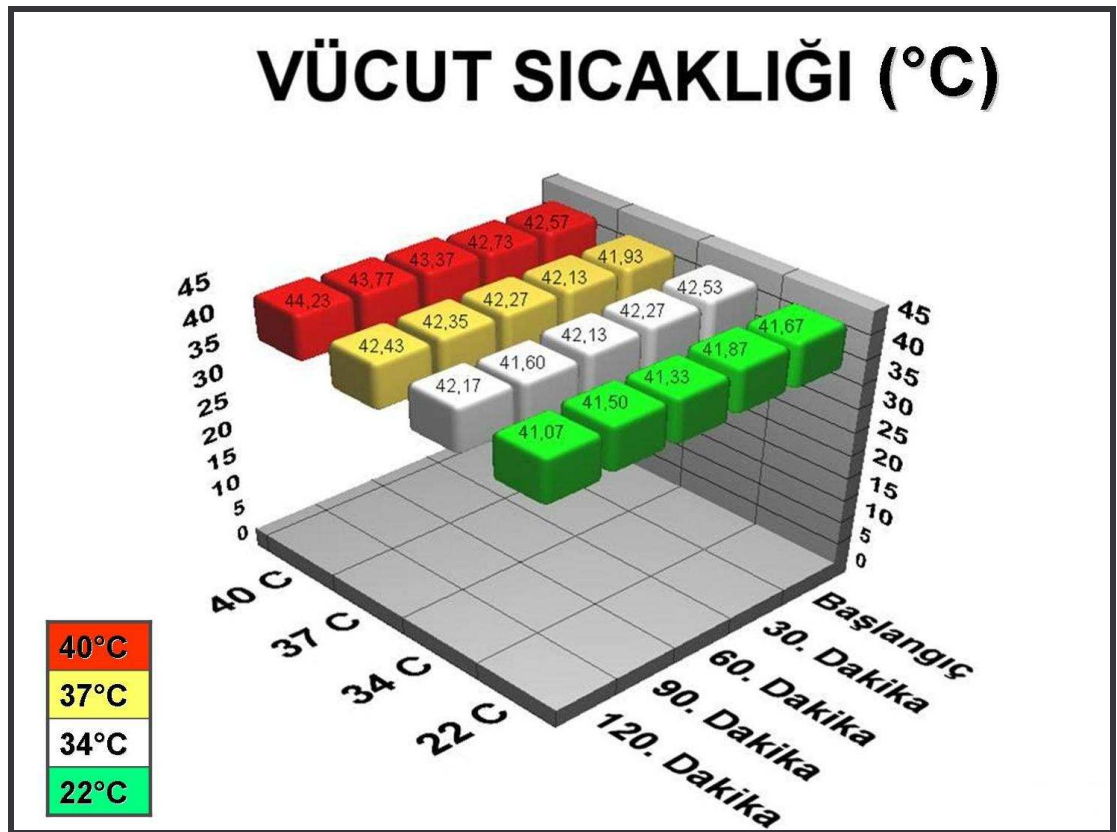
Vücut Sıcaklığı (°C)					
Sıcaklık Grupları					
Süre(dk)	22°C	34°C	37°C	40°C	GENEL
0	41.67 ^{Ba} ±0.11	42.53 ^{Aa} ±0.04	41.93 ^{Bc} ±0.01	42.57 ^{Ac} ±0.04	42.10±0.09
30	41.87 ^{Ca} ±0.12	42.27 ^{Ba} ±0.08	42.13 ^{Bb} ±0.03	42.73 ^{Ad} ±0.07	42.25±0.09
60	41.33 ^{Cab} ±0.21	42.13 ^{Ba} ±0.06	42.27 ^{Bab} ±0.03	43.37 ^{Ac} ±0.09	42.28±0.09
90	41.50 ^{Ca} ±0.11	41.60 ^{Cb} ±0.05	42.35 ^{Bab} ±0.19	43.77 ^{Ab} ±0.04	42.30±0.09
120	41.07 ^{Cb} ±0.03	42.17 ^{Ba} ±0.03	42.43 ^{Ba} ±0.05	44.23 ^{Aa} ±0.10	42.50±0.09
GENEL	41.49±0.08	42.16±0.08	42.16±0.08	43.33±0.08	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	<0.05				
Kübik	<0.001				
Süre	<0.05				
Doğrusal	<0.05				
Kuadratik	0.772				
Kübik	0.299				
IV. Düzey	0.964				
Sıcaklık x Süre	<0.001				

^{A,B,C} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir $P<0.05$

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir $P<0.05$

Tavukların vücut sıcaklıklarında en yüksek artış 40°C sıcaklık uygulanan grupta saptanmıştır. Diğer sıcaklık gruplarında (34 ve 37°C) yer alan tavukların vücut sıcaklıklarında ortaya çıkan artışların daha ılımlı artışlar olduğu göze çarpmaktadır. Normal sıcaklıkta (22°C) 40 hafta yaşındaki Denizli tavuklarının ortalama vücut sıcaklıkları 41.48°C olarak saptanmıştır.

Diğer özelliklerde olduğu gibi vücut sıcaklığında da bireyler arasındaki farklılıklar ortalamaları önemli düzeyde etkilemiş ve saptanan vücut sıcaklıklarının uygulanan sıcaklıklar ile değişimi doğrusal ($P<0.001$), kuadratik ($P<0.05$) ve kübik ($P<0.001$) açılımında önemli bulunmuştur (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.7). Uygulanan sıcaklık süresinin artmasıyla vücut sıcaklıkları da beklendiği gibi önemli düzeyde ($P<0.001$) doğrusal artış göstermiştir.



Şekil 4.7. Vücut sıcaklığının uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.

4.3. SICAK ŞOK PROTEİNİ 70 kDa (HSP70)

4.3.1. Denizli Tavuklarına Ait Serum HSP70 Düzeyleri

Canlının sentezlediği HSP70 miktarı ile sıcağa dayanıklılık düzeyi arasında logaritmik bir ilişki bulunmaktadır (Li, 1985). Bu nedenle, hücredeki HSP70 düzeyi, hücrenin sahip olduğu sıcağa dayanıklılık gücünün önemli bir göstergesi olarak kabul edilmekte olup, kanatlılarda saptanan stres proteinleri arasında sıcağa dayanıklılığın en iyi belirleyicisi olarak gösterilmektedir (Li ve Mark, 1989; Givisiez *et al.*, 1999).

Bu çalışmada, Denizli tavuklarının farklı sıcaklıklarda ve sıcaklık uygulama sürelerinde sentezledikleri serum HSP70 miktarlarına ait ELISA testi sonuçları Çizelge 4.19'da verilmiştir. Deneme gruplarına uygulanan sıcaklık düzeyi ($P<0.05$) ve sıcaklık uygulama süresinin tavukların sentezlediği HSP70 miktarına etkisi ($P<0.05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Sıcaklık grupları incelendiğinde, 22°C sıcaklıkta yetiştirilen kontrol grubunda tavukların kan serumunda HSP70 bulgusuna rastlanmamıştır. Ancak, yüksek sıcaklık uygulanan tüm gruplarda (34, 37 ve 40°C), kümes ortamı uygulama sıcaklığına ulaştığı andan (0.dk) itibaren HSP70 sentezi başlamıştır. Sıcaklık uygulamasının 60. dakikasında, gruplarda yer alan tavukların sentezlediği HSP70 miktarları arasında önemli bir fark ortaya çıkmazken, 37°C'de yetiştirilen tavuklarda 120. dakikada, 40°C de yetiştirilen tavuklarda ise 90. ve 120. dakikalarda en yüksek serum HSP70 miktarını sentezledikleri görülmektedir. Bu süre içerisinde sıcağın etkisiyle sıcaklık gruplarında sentezlenen HSP70 miktarları arasındaki farklar önemli bulunmuştur.

Denizli tavuklarının farklı sıcaklıklarda ve sıcaklık etkisinin devam ettiği süre içerisinde sentezledikleri serum HSP70 düzeylerine bakıldığında, sıcaklık uygulama süresi ilerledikçe yüksek sıcaklığın giderek artan olumsuz etkilerine karşı koyabilmek amacıyla, tavukların sentezlediği HSP70 miktarlarında zamana bağlı doğrusal bir artışın ortaya çıktığı görülmektedir (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.11).

Çizelge 4.19. Farklı sıcaklıklarda ve sıcaklık uygulama sürelerinde Denizli ırkı tavuklarının sentezledikleri serum HSP70 miktarları.

Serum HSP70 Düzeyleri (ng/ml)					
Sıcaklık Grupları					
Süre(dk)	22°C	34°C	37°C	40°C	GENEL
0	0	0.59±0.81	1.20±0.36	1.03±0.09	0.71 ^b ±1.85
30	0	2.90±0.96	6.97±0.46	3.82±0.06	3.42 ^{ab} ±1.85
60	0	6.07±0.62	7.83±0.57	7.26±0.51	5.29 ^{ab} ±1.85
90	0	6.58±1.23	8.45±0.19	10.86±0.60	6.48 ^a ±1.85
120	0	7.44±0.83	11.58±0.71	15.13±1.47	8.54 ^a ±1.85
GENEL	0 ^B	4.72 ^{AB} ±1.65	7.20 ^A ±1.65	7.62 ^A ±1.65	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.05				
Doğrusal	<0.05				
Kuadratik	0.200				
Kübik	<0.05				
Süre	<0.05				
Doğrusal	<0.05				
Kuadratik	0.775				
Kübik	0.769				
IV. Düzey	0.929				
Sıcaklık x Süre	0.935				

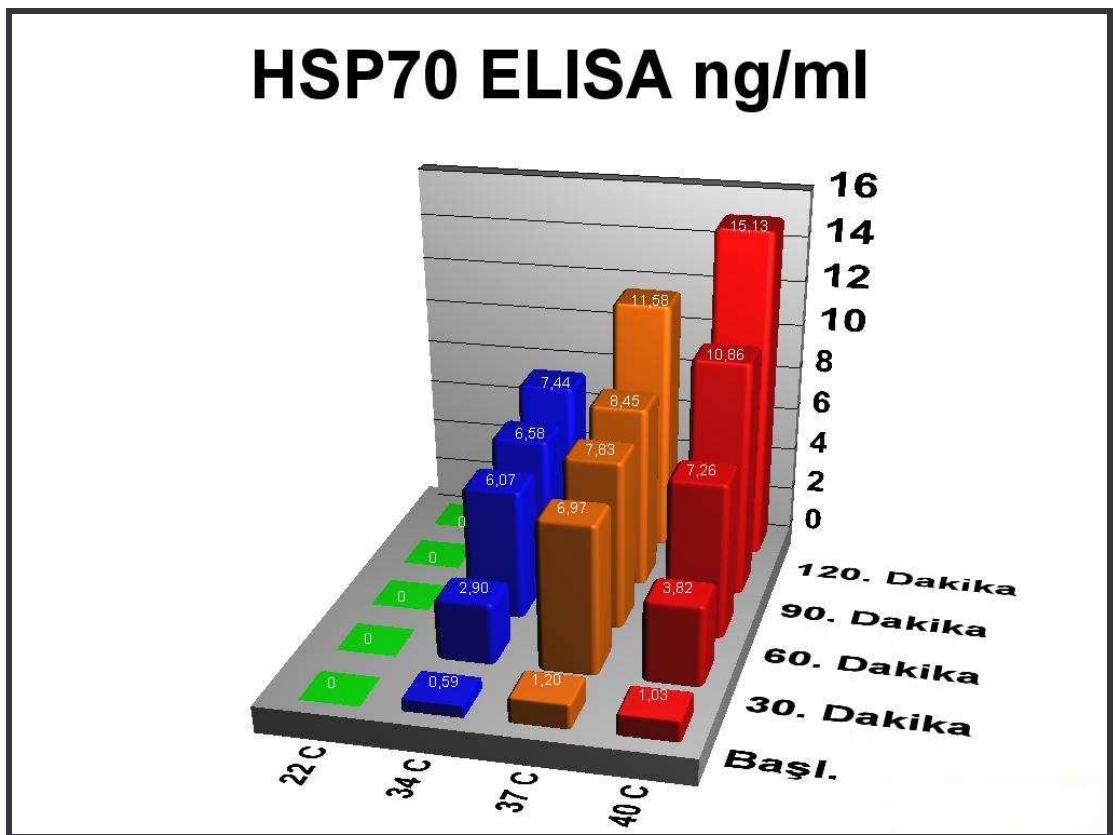
* : 22°C sıcaklık uygulanan gruptaki tavuklarda kan serumunda HSP70 saptanmamıştır

^{A,B,C} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir P<0.05

Araştırma bulgularına benzer olarak Wang ve Edens, (1993); Yahav *et al.*, (1997a, 1997c), piliçlere uyguladıkları çevre sıcaklığında ve sıcaklık uygulama süresindeki artışla birlikte piliçlerin sentezledikleri serum HSP70 miktarının da arttığını bildirmişlerdir.

Denizli tavuklarında farklı sıcaklıklarda sentezlenen HSP70'in uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi Şekil 4.11'de verilmiştir. Uygulanan sıcaklıklara göre HSP70 sentezinin değişimi doğrusal ve kübik olarak önemli düzeyde ($P<0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.19). Sıcaklık düzeyinin artışıyla birlikte doğrusal olarak artması beklenen HSP70 sentezinde ırk içi bireysel farklılıklar dönem ortalamalarını değiştirmiş bu da kübik açılımlara neden olmuştur. Sıcaklık uygulama süresinin artışı ile birlikte HSP70 sentezinde saptanan doğrusal artış önemli düzeyde ($P<0.05$) bulunmuştur (Şekil 4.8 ve Çizelge 4.19).



Şekil 4.8. Denizli tavuklarında farklı sıcaklıklarda sentezlenen HSP70'in uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama sürelerine göre değişimi.

Canlının kendini sıcaklık stresine karşı koruyabilmek için üretmiş olduğu sıcak şok protein miktarı ile sıcağa karşı koyabilme gücü arasında doğrusal bir ilişkili bulunmaktadır (Lindquist, 1986; Wang ve Edens, 1998). Denizli tavuklarının maruz kaldıkları sıcaklık dereceleri ile sentezledikleri HSP70 miktarları arasındaki paralellik bu ilişkiyi oldukça açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

Maak, *et al.*, (2003), kanatlılar için ılımlı bir sıcaklık stresi oluşturabilecek 32°C' sıcaklığa maruz kalan yumurtacı tavukların HSP70 sentezlediklerini saptamışlardır. Araştırmamızda, 34°C sıcaklıkta yetiştirilen tavukların, ortam sıcaklığının 34°C'ye ulaştığı başlangıç süresinde (0. dk), düşük miktarda da olsa (0.59 ng/ml) HSP70 sentezledikleri görülmekte ve elde edilen bulgu literatür ile uyum içerisindedir. Orta dereceli bir sıcaklık stresi olarak varsayılan bu sıcaklıklarda tavukların kan serumunda HSP70 sentezine rastlanması, sıcağa karşı hücrel korumanın erken dönemde başladığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu bulgu, Denizli ırkının yüksek sıcaklığa toleransının bir kanıtı olarak değerlendirilebilir.

Bir grup hücre ve organizmanın iki farklı ortama uyum yeteneklerinin incelendiği bir araştırmada, ilk ortamda, gruplar yaşadıkları normal çevre sıcaklığından akut yüksek çevre sıcaklığına alınmış, diğer ortamda ise önce sıcaklıklar kademeli olarak artırılmış ve daha sonra ilk ortamdaki gibi akut sıcaklık uygulanmıştır. İlk ortamdaki hücre ve organizmalarda yaşama gücü çok düşük bulunurken ikinci ortamdaki uygulamada önemli düzeyde HSP70 sentezinin görüldüğü ve buna bağlı olarak da yaşama gücünün arttığı bildirilmiştir (Lindquist, 1986). Araştırmamızda deneme gruplarına herhangi bir şekilde sıcağa alıştırmaya uygulaması yapılmadığı için, özellikle 37°C ve 40°C sıcaklık uygulanan gruplarda 60. dakikadan sonra tavuk ölümlerinde çok hızlı bir artış ortaya çıkmıştır. Yukarıdaki çalışmada, daha yüksek yaşama gücüne sahip olan grupta, akut yüksek sıcaklık uygulaması öncesinde organizmanın sıcağa alıştırılmış olması, aynı zamanda yeterli düzeyde HSP70 sentezini de sağlamıştır. Erken yaşta sıcak stresine alıştırılmış 42 günlük piliçlerde, şok sıcak uygulamasından 3 saat sonra HSP70 sentezi gerçekleşirken, alıştırmaya yapılmayan kontrol grubunda sıcak şokunun ilk saatinde sentez gözlenmiştir (Yahav *et. al.*, 1997a).

4.3.2. Denizli Tavuklarının Mononükleer Hücrelerine Ait HSP70 Düzeyleri

Sıcaklık uygulama döneminde farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 düzeyinin zaman bağlı değişimi Çizelge 4.20 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Deneme gruplarına uygulanan sıcaklığın ve

sıcaklık sürelerinin, tavukların mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 düzeyine etkisi ($P<0.001$) ve sıcaklık ile sıcaklık uygulama süresi arasındaki etkileşim ($P<0.05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Farklı sıcaklıklarında yetiştirilen Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezlenen HSP70 düzeyinin zamana bağlı değişimi (densitometrik alan)

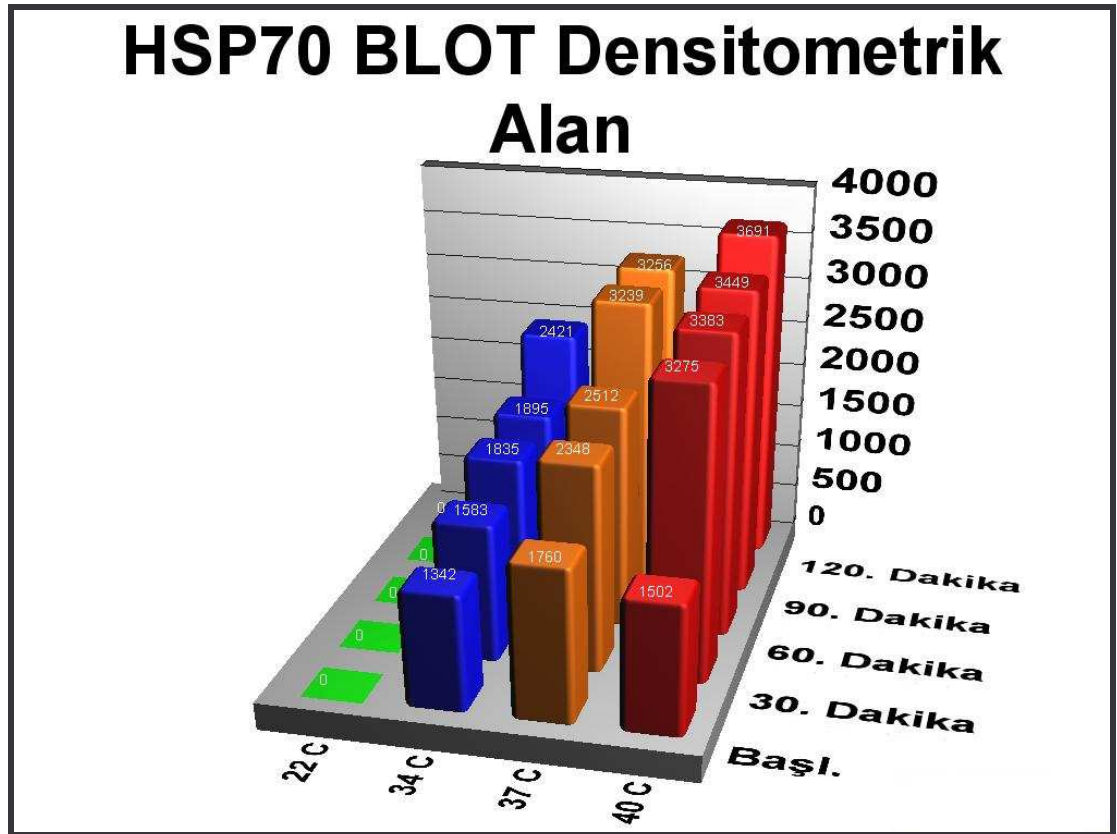
Mononükleer HSP70 Düzeyleri (% Densitometrik Alan)					
Sıcaklık Grupları					
Süre(dk)	22°C	34°C	37°C	40°C	GENEL
0	0	1342 ^{Ad} ±62.39	1761 ^{Ac} ±114.87	1502 ^{Ab} ±116.23	1151±148.45
30	0	1583 ^{Cc} ±53.81	2348 ^{Bb} ±41.06	3275 ^{Aa} ±114.24	1843±148.45
60	0	1835 ^{Cb} ±89.54	2512 ^{Bb} ±110.13	3383 ^{Aa} ±127.80	1892±148.45
90	0	1895 ^{Bb} ±98.97	3239 ^{Aa} ±167.19	3449 ^{Aa} ±145.07	2146±148.45
120	0	2421 ^{Ca} ±29.42	3256 ^{Ba} ±136.96	3691 ^{Aa} ±128.87	2342±148.45
GENEL	0	1815±132.78	2623±132.78	3060±132.78	
Önemlilik Düzeyi (P)					
Sıcaklık	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	<0.001				
Kübik	0.290				
Süre	<0.001				
Doğrusal	<0.001				
Kuadratik	0.165				
Kübik	0.221				
IV. Düzey	0.377				
Sıcaklık x Süre	<0.05				

* : 22°C sıcaklık uygulanan gruptaki tavuklarda kan serumunda HSP70 saptanmamıştır

^{A,B,C} Aynı satırda farklı büyük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir $P<0.05$

^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip ortalamalar arası fark önemlidir $P<0.05$

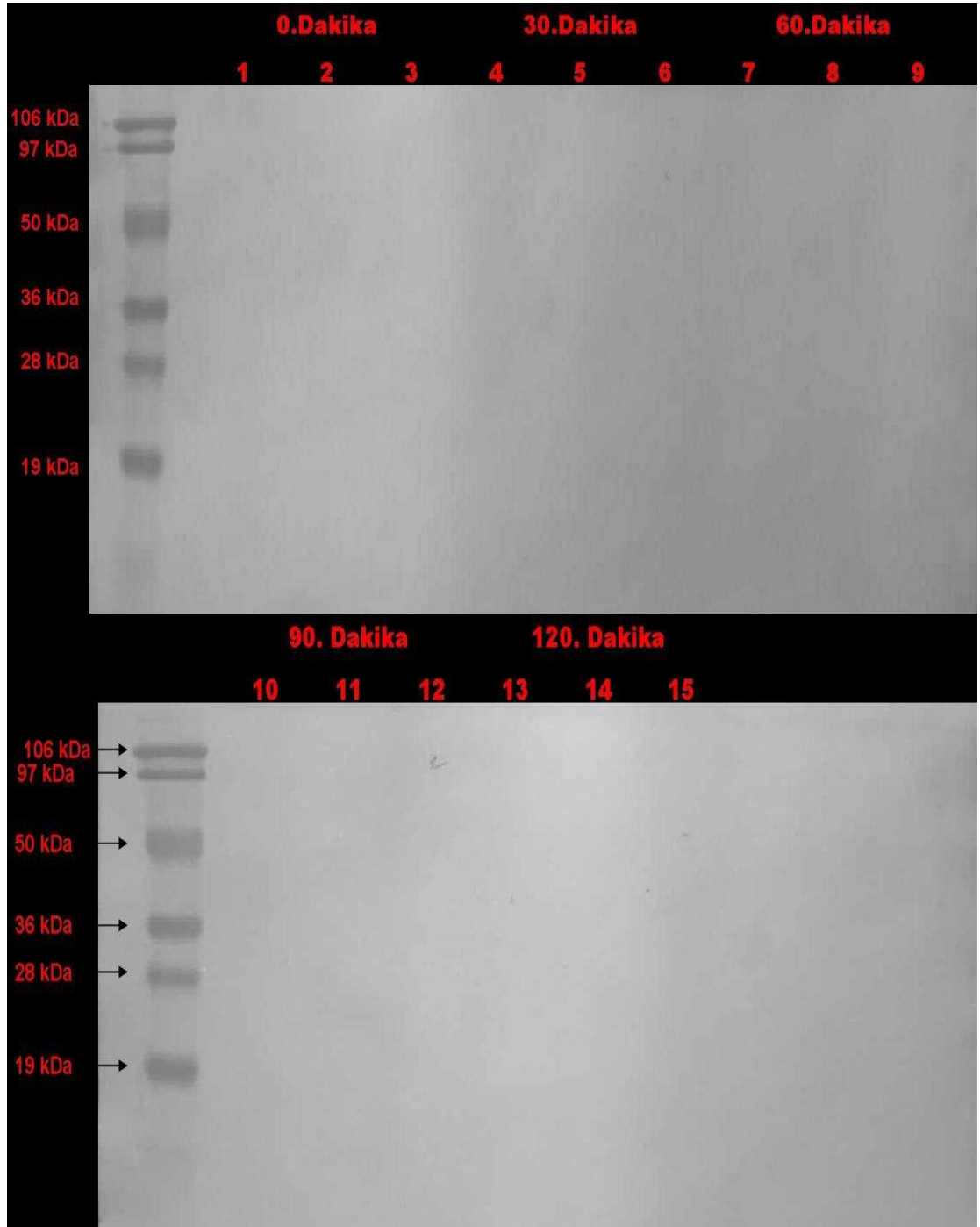
Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezlenen HSP70 düzeyinin uygulanan farklı sıcaklıklara göre değişimi doğrusal ve kuadratik olarak önemli ($P<0.001$) bulunmuştur. Artan sıcaklıklar ile birlikte HSP70 sentezinin de doğrusal olarak artması beklenen bir sonuçtur ancak sıcaklık uygulama başlangıç süresi bakımından gruplar karşılaştırıldığında, 22°C grubunda %0 olarak saptanan HSP70 sentezi 37°C grubunda % 1760 ile pik yapmış, 40°C grubunda ise % 1502 ile tekrar düşüşe geçmiş gibi görünmektedir. HSP70 sentezinde gözlenen bu kuadratik değişim serum HSP70 sentezinde olduğu gibi bireyler arasındaki sentez farklılığından kaynaklanmaktadır. Sıcaklık uygulama sürelerinin artmasıyla birlikte mononükleer HSP70 düzeyinin artışı doğrusal ($P<0.001$) olarak önemli bulunmuştur.



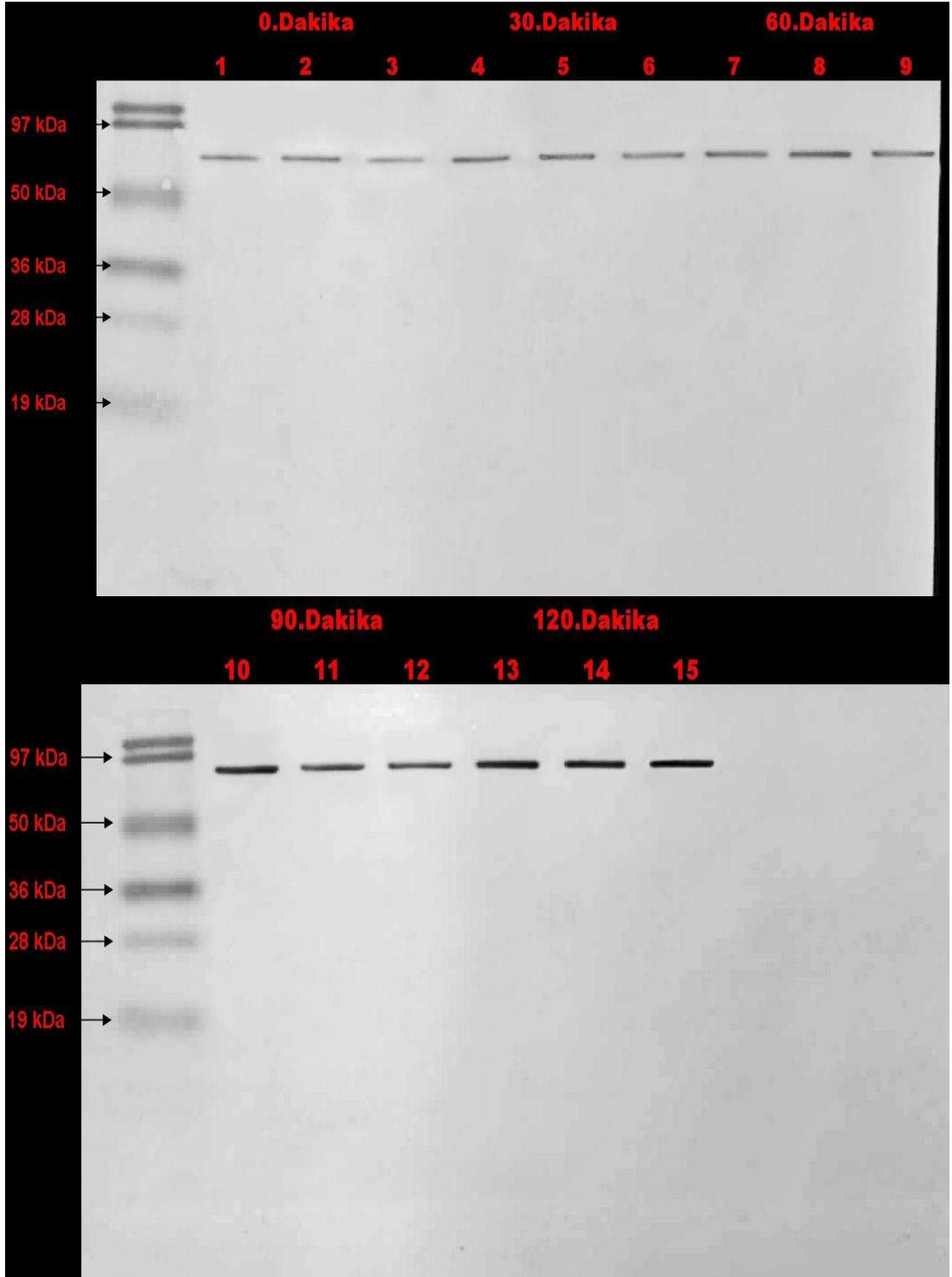
Şekil 4.9. Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezlenen HSP70 düzeyinin zamana bağlı değişimi.

Araştırmada, 22°C sıcaklıkta yetiştirilen kontrol grubu ile 34, 37 ve 40°C sıcaklıkta yetiştirilen yüksek sıcaklık gruplarında yer alan Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 proteinlerine ait bant yoğunlukları, sıcaklık

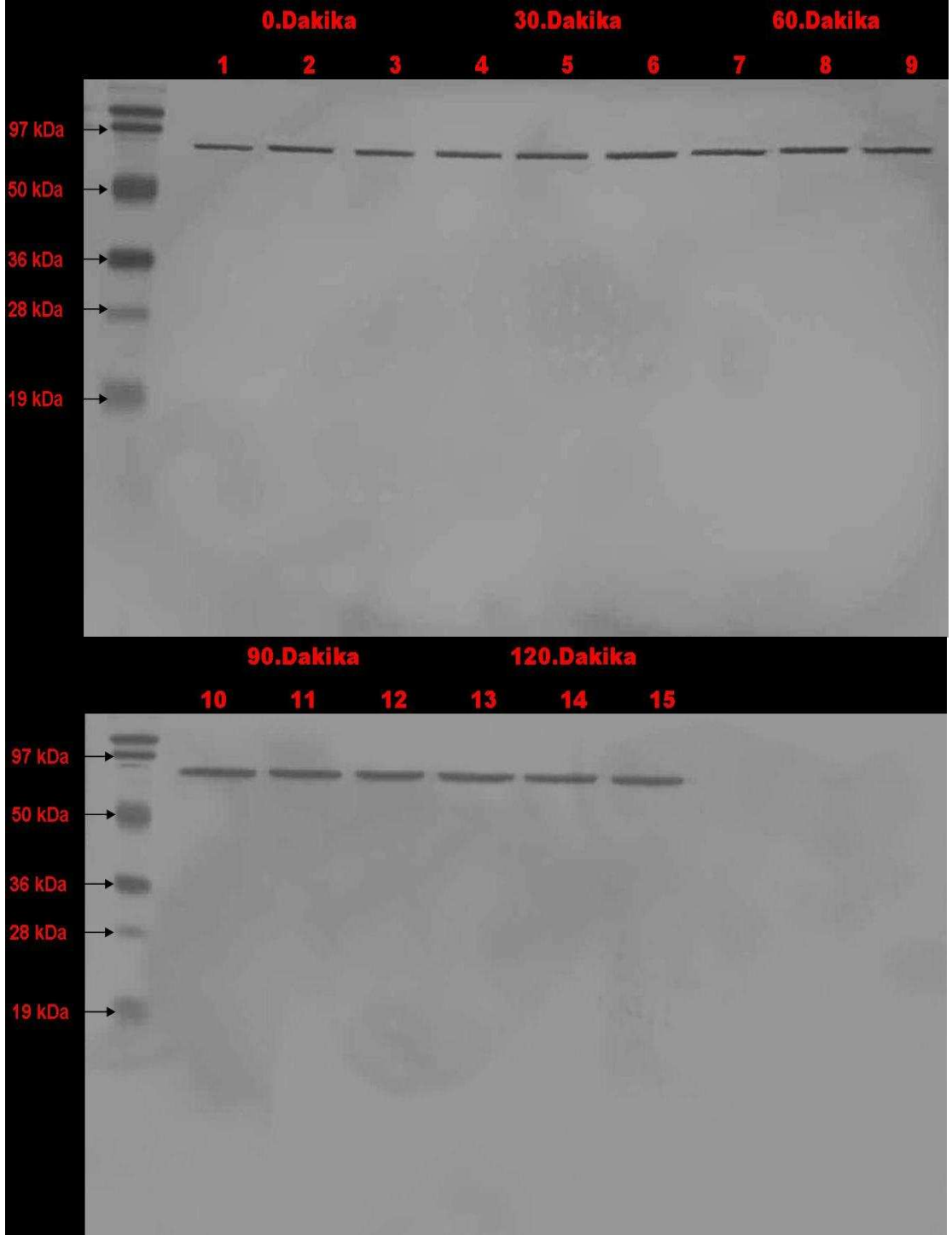
uygulamasının başlamasından (0. dk) itibaren 30 dk aralıklarla Şekil 4.10, 4.11, 4.12 ve 4.13'te verilmiştir.



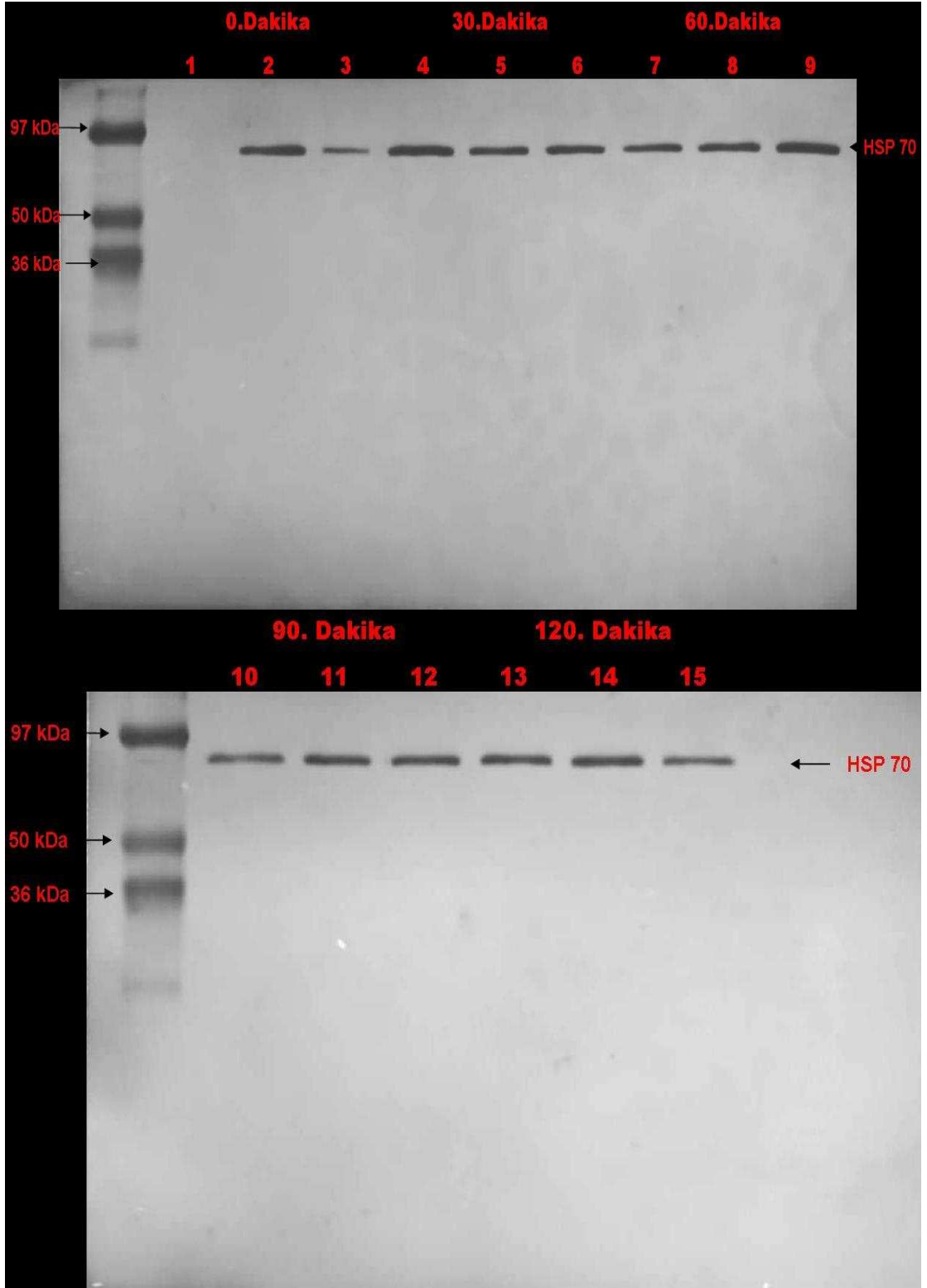
Şekil 4.10. Denizli ırkı tavuklarının 22°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.



Şekil 4.11. Denizli ırkı tavuklarının 34°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.



Şekil 4.12. Denizli ırkı tavuklarının 37°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.



Şekil 4.13. Denizli ırkı tavuklarının 40°C sıcaklıkta mononükleer hücrelerinde HSP70 düzeyi.

Beklendiği gibi 22°C sıcaklıkta Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde HSP70 sentezine rastlanmamıştır. Ancak, tüm yüksek sıcaklık gruplarında yer alan Denizli tavuklarının mononükleer hücrelerinde, HSP70 sentezi sıcaklık uygulamasına geçilmesiyle birlikte başlamıştır. Sıcaklık başlangıcında (0.dk) stres gruplarında HSP70'in saptanmış olması, ortam sıcaklığının gruplara uygulanacak sıcaklık düzeyine getirilmesi sırasında (yaklaşık 15 dk) sıcaklık stresinin başladığını ve tavukların HSP70 senteziyle hücrel korumayı başlatmış olabileceğini göstermektedir. Yüksek sıcaklık gruplarında sıcaklık uygulama süresinin ilerlemesiyle birlikte tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 düzeyinde önemli artışlar gözlenmiştir. Dikkat çekici olan, 40°C' de yetiştirilen tavukların sıcaklığın etkili olduğu dönemde sentezlemiş oldukları HSP70'in büyük bir kısmını (% 81) ilk 30 dakikada sentezlemeleridir. Diğer gruplarda en yoğun HSP70 sentezi 34°C 'de son 30 dakikada, 37°C'de 0–30. ve 60–90. dakikalar arasında saptanmıştır. Denizli tavuklarının sentezlediği mononükleer HSP70 düzeyleri incelendiğinde, 40°C'de sıcaklık başlangıcında (0. dk) 1. tavuğa ait HSP70 sentezinin bulunmaması (Şekil 4.13) bu sıcaklıkta ya hücrel korumanın henüz başlamadığını ya da sığa karşı hücre ölümlerinin gerçekleşmiş olabileceğini akla getirmektedir. Ancak sıcaklığın uygulandığı ortamda, 40°C' ye oldukça kısa bir sürede ulaşılmış olması (15 dk) ve bu bireyin başlangıç T₃ (8.7 pg/ml) ve hematokrit (%30) değerlerinin de dikkate alınması durumunda, bu tavukta hücre ölümünün gerçekleşmiş olabileceği olasılığını zayıflatmaktadır.

Denizli ırkıyla yürütülen bu çalışmada, tavuklar daha düşük sıcaklıklarda (34 ve 37°C) sıcaklık başlangıcında bile HSP70 sentezlemiş olmalarına karşın, 40°C'de başlangıçta tavuklardan bir tanesinde HSP70 sentezinin görülmemesi, diğerinde ise oldukça düşük düzeyde sentezlenmiş olması, Denizli ırkının yüksek çevre sıcaklığına karşı koymada bireysel farklılıklara sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, Denizli tavuklarının HSP70 düzeylerinde saptanan bu farklılıklar, genotipin kendi içinde sığa, daha dayanıklı bireylere sahip olduğunu göstermektedir.

Değişik insan popülasyonları üzerinde yapılan bir çalışmada, insan ırklarında HSP70 sentezinin ve dolayısıyla sığa dayanıklılığın farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada daha sıcak iklim koşullarında yaşayan Türkmenlerin, Ruslara göre daha

fazla HSP70 sentezledikleri ve sıcağa karşı daha dayanıklı oldukları bildirilmiştir (Lyashko *et al.*, 1994). HSP70 sentezinin kalıtsal olduğunu bildiren Krebs *et al.* (1998), *Drosophila*'da HSP70 sentezi ve kalıtımı üzerine yaptıkları çalışmada, HSP70 sentezinin organizmanın yaşam döngüsü içerisinde varyasyon gösterdiğini, bu dönemlerde HSP70'e ait kalıtım derecelerini 0.28 ve 0.49 olarak tahminlediklerini bildirmişlerdir. Bu sonuçlarla HSP70'in sıcağa dayanıklı bireylerin seçiminde bir belirleyici ve genotiplerin seçiminde bir seleksiyon parametresi olarak kullanılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Stres proteinlerinin sentezlenme sıcaklıklarının ırklara göre farklılıklar göstermesi nedeniyle, yüksek sıcaklığa dayanıklı genotiplerin ıslahında stres proteinlerinden yararlanmak mümkün olabilir (Li ve Laszlo, 1985; Hahn ve Li, 1990; Sanchez ve Lindquist, 1990).

Diğer taraftan, sıcak şok proteinleri, suda toksik madde ve ağır metallerin, karada ise ağır metal, pestisit ve herbisit birikiminin belirlenmesinde biyolojik bir indikatör olarak kullanılmaktadır (Feder ve Hofmann, 1999).

Sıcak şok proteinlerinin birçok alanda biyo-indikatör olarak kullanılması, kanatlı sektörünün önemli bir sorunu olan sıcak stresine karşı daha dayanıklı genotiplerin seçiminde de sıcak şok proteinlerinden yararlanılabileceği fikrini ortaya koymaktadır. Literatürde kanatlılarda sıcak şok proteinlerinin kalıtımı üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. HSP70 üretiminde bireysel varyasyonun yüksek olduğu saptanan Denizli ırkının, yüksek sıcaklığa dayanıklılık yönünde ıslahı amacı ile HSP70'e ait genetik parametrelerin tahminlenmesi yararlı olacaktır.

4.4. BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ARASINDAKİ İLİŞKİ

Araştırmada Denizli ırkı tavuklarında sıcak stresini belirlemek için kullanılan kolesterol, T₃, vücut sıcaklığı, hematokrit ve HSP70 arasında önemli ilişkiler saptanmıştır (Çizelge 4.21). Vücut sıcaklığının artmasıyla birlikte HSP70 sentezi ve kolesterol düzeyi önemli düzeyde artmış (P<0.01), T₃ ve hematokrit değerleri önemli

düzye (P<0.01) azalmıştır. T₃ hormonu ile hematokrit değeri arasında önemli düzye (P<0.01) pozitif korelasyon saptanmıştır. Kolesterol düzeyinin artışı ile birlikte T₃ hormon seviyesi (P<0.05) ve hematokrit değerlerinde önemli (P<0.01) düzye azalmalar saptanmıştır.

Çizelge 4.21. Stres parametreleri arasındaki ilişki

	HSP70	Kolesterol	T ₃	Vücut Sıcaklığı	Hematokrit
HSP70	1.000				
Kolesterol	0.195	1.000			
T ₃	-0.524**	-0.220*	1.000		
Vücut Sıcaklığı	0.544**	0.379**	-0.610**	1.000	
Hematokrit	-0.583**	-0.275**	0.541**	-0.641**	1.000

* : P<0.05

** : P<0.01

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kanatlılarda sıcak stresinin verim üzerindeki olumsuzluklarını gidermek için ülkemiz gibi sıcak iklim kuşağında yer alan ülkelerde, her yıl çevre şartlarının iyileştirilmesine yönelik birçok yatırım yapılmakta yine de kitlesel ölümler ve verim kayıpları tamamen önlenememektedir. Son yıllarda bu yatırım maliyetlerini azaltmak için sıcak iklim koşullarına en uygun genotipin kullanılması, eldeki genotiplerin sıcağa dayanıklılık yönünde ıslah edilmesi ve sıcağa toleransı artırıcı bazı 'büyük etkili genlerin' günümüz ticari hatlarında kullanılmasına yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu amaçla çalışmamızda Ege Bölgesi gibi yaz aylarında oldukça sıcak olan bir bölgeye kuşaklar boyunca adapte olmuş, yerli genotipimiz Denizli ırkı tavuklarının sıcağa karşı toleransları araştırılmıştır. Araştırmada Denizli ırkı tavuklarında sıcak stresi sırasında ortaya çıkan bazı biyokimyasal değişiklikler belirlenmiş ve HSP70 sentezinin hangi sıcaklıklarda sentezlendiği saptanmıştır.

- Denizli ırkı tavuklarının 23-52 haftalık dönemde saptanan ortalama yumurta verimi % 59, ortalama yumurta ağırlığı ise 50.40 g olarak hesaplanmıştır. Eşeyssel olgunluk yaşına ortalama 191 günde ulaşan Denizli ırkına ait civcivlerin kuluçka çıkış ağırlığı ortalama 39.29 g olarak saptanmış, pik yumurta verimine 33. haftada ulaşılmıştır. Yumurta veriminin başladığı 24. haftadan verim kayıplarının tamamlandığı 52. haftaya kadar yumurta veriminde yaşın ilerlemesiyle birlikte azalma gözlenirken, ırka ait 29 haftalık ortalama yumurta verimi 119 adet/tavuk olarak bulunmuştur. Denizli ırkı tavuklarının 39-40 haftalık dönemdeki yumurta kabuk kalınlığı, yumurta kabuk ağırlığı ve yumurta kabuk oranı sırasıyla 0.391 mm, 5.41 g, % 10.4 olarak saptanmıştır. Denizli ırkı tavuklarında bireyler arasında yumurta özellikleri bakımından farklılıklar dikkat çekici bulunmuştur.
- Sıcak stresinin etkilerini belirlemek amacıyla 40. haftadan itibaren 4 hafta süreyle uygulanan sıcaklıkların etkisiyle yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, yumurta verimi, yumurta ağırlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk oranında önemli düzeyde azalmalar saptanmıştır.

- Araştırmada gruplara uygulanan yüksek sıcaklıkların kan kolesterol değerlerini yükselttiği saptanmıştır. Bulgularımıza göre 22°C sıcaklıkta yetiştirilen kontrol grubu dışındaki diğer gruplarda, sıcaklık uygulama süresiyle birlikte serum kolesterol düzeyinde önemli artışlar saptanmıştır. Sıcaklık gruplarında yer alan tavukların serum kolesterol düzeyinde, 30. dakikadan sonra önemli artışlar elde edilmiştir.
- Tavuklara uygulanan sıcaklıkların ve sıcaklık uygulama süresinin T₃ hormon seviyesi üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Yüksek sıcaklık gruplarında sıcaklık uygulama süresiyle birlikte T₃ hormon düzeylerinde önemli düşüşler görülmüştür. Aynı sürelerde kontrol gurubuna ait T₃ hormon seviyelerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Akut sıcak stresi uygulanan Denizli ırkı tavuklarda serum T₃ düzeyinin bireyler arasında önemli düşüşler göstermesi bu ırkın sıcak çevre şartlarına toleransının gelişmiş olduğunu göstermektedir.
- Denizli ırkı tavuklarının hematokrit değerlerinin sıcaklık uygulaması ile birlikte düştüğü saptanmıştır. Tavukların hematokrit değerine, sıcaklığın, sıcaklık uygulama süresinin ve sıcaklık ile süre arasındaki interaksiyonun etkileri önemli bulunmuştur.
- Denizli tavuklarının normal çevre sıcaklıklarında ortalama vücut sıcaklıkları 41.48°C olarak hesaplanmıştır. Uygulanan yüksek sıcaklıklar tavukların vücut sıcaklıklarında artışa neden olmuştur. Vücut sıcaklıkları 34 ve 37°C sıcaklık uygulanan tavuklarda ılımlı bir artış gösterirken en yüksek artış 40°C sıcaklık uygulanan grupta gözlenmiştir.
- Kontrol grubu (22°C) dışındaki tüm gruplarda kan serumunda HSP70 sentezi saptanmış, sıcaklık uygulanan gruplar arasında HSP70 sentezindeki en yüksek artış 30. dakikada 37°C'de, 90. ve 120. dakikalarda ise 40°C de yetiştirilen tavuklarda tespit edilmiştir. Sıcaklık gruplarından 34°C sıcaklık uygulanan tavuklarda sıcaklık uygulamasının başlangıcında kan serumunda düşük miktarda HSP70 sentezine rastlanmıştır. Orta dereceli bir sıcaklık stresi olarak kabul edilen bu sıcaklıkta başlangıç süresinde HSP70 sentezinin gözlenmesi Denizli ırkı

tavuklarında sıcağa karşı hücrel korumanın erken dönemde başladığının bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Deneme gruplarına uygulanan sıcaklık ve sıcaklık uygulama süresinin tavukların sentezlediği HSP70 miktarına etkisi ($P<0.05$) önemli bulunmuştur.

- Deneme gruplarına uygulanan sıcaklığın ve sıcaklık sürelerinin, tavukların mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 düzeyine etkisi ($P<0.001$) ve sıcaklık ile sıcaklık uygulama süresi arasındaki interaksyon önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Kontrol grubunda yetiştirilen tavukların mononükleer hücrelerinde HSP70 sentezine rastlanmazken, yüksek sıcaklık gruplarında sıcaklık uygulama süresinin ilerlemesiyle birlikte tavuklarının mononükleer hücrelerinde sentezledikleri HSP70 düzeyinde önemli artışlar gözlenmiştir. HSP70 sentezinin en yoğun olduğu 40°C grubunda sıcaklık uygulama başlangıcında 1. tavukta HSP70 sentezinin bulunmaması, 3. tavukta ise az miktarda HSP70 sentezinin saptanması Denizli ırkının yüksek çevre sıcaklığına karşı toleransta bireysel farklılıklara sahip olduğunu göstermektedir.

Bu araştırmada Denizli ırkına ait HSP70 sentezi farklı sıcaklık uygulamalarıyla 2 saat boyunca gözlenmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda 5 saat gibi daha uzun sürelerde ırka ait HSP70 sentezi incelenmeli hatta yüksek sıcaklıklarda HSP70, HSP60 ve HSP90'dan çok daha sonra, ikinci bir hücre koruyucu olarak sentezlenen HSP29'un bu ırkta hangi sıcaklıklarda ve hangi sürelerde sentezlendiği saptanmalıdır. Bu parametrelere ek olarak Denizli ırkında sıcak şok proteinlerinin sentezlenme mekanizmasının açıklanabilmesi için sıcak şok faktörlerinin de belirlenmesi ırk için çok önemli bir bilgi birikimi sağlayacaktır.

Yaz aylarında sıcak stresi nedeniyle kanatlı sektöründe büyük verim kayıpları yaşanan ülkemizde HSP70'in sıcağa dayanıklı bireylerin seçiminde bir seleksiyon parametresi olarak kullanılabilmesi için bu konuda çalışmaların yaygınlaştırılması gerekmektedir. Sıcağa dayanıklılık bakımından geniş bir varyasyon gösteren yerli genotipimiz olan Denizli ırkı tavuklarında ırk içindeki varyasyonun incelenmesi, sıcağa dayanıklı tavukların belirlenebilmesi ve seçimi için ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

HSP70'in sıcağa dayanıklı tavukların seçiminde seleksiyon parametresi olarak kullanılabilceği düşünölmektedir. Denizli tavuklarının yüksek sıcaklıkta sentezlediği HSP70 ve diğer kan değerlerinde ortaya çıkan bireysel farklılıklar, bu ırkın kendi içinde sıcağa toleransı yüksek bireylere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Denizli ırkı tavuklarında yüksek sıcaklıklarda, daha az ve daha geç sıcak şok proteini sentezleyen tavukların bulunması ırkın genetik ıslah potansiyelinin varlığını göstermektedir. Yapılacak çalışmalarda tahminlenecek genetik parametrelerin, sıcak stresine daha dayanıklı hatların seçiminde kullanılabilceği görüşünü ileri sürmektedir. İleride yapılacak çalışmalarda sıcağa dayanıklı bireylerin belirlenmesi ve ıslah çalışmalarında bu özelliklerinden yararlanma olanaklarının araştırılması Denizli ırkının geleceği açısından da büyük önem taşımaktadır.

Ülkemiz kanatlı hayvan çeşitliliği bakımından oldukça zengin bir yapıya sahip olmasına rağmen ne yazık ki bugüne kadar sadece Gerze ve Denizli olmak üzere iki tavuk ırkımız tescil edilmiş durumdadır. Bu sonuç bugüne kadar yapılan gen kaynaklarının korunmasına yönelik çalışmaların ne kadar yetersiz olduğunun bir göstergesidir.

Denizli ırkı tavuklarının sıcak stresi sırasındaki verim özelliklerinin ve biyokimyasal stres parametrelerinin incelendiği bu araştırma, Denizli ırkında, sıcak stresinin etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Araştırma sonucunda gözlenen bireysel farklılıklar ırk içinde sıcağa dayanıklı bireylerin bulunduğunu göstermektedir. Bu nedenle daha sonraki aşamada yapılacak olan çalışmalarda bu bireyler üzerinde durulması ırkın uzun ötüş özelliğinin yanında sıcağa dayanıklılık özelliğini de öne çıkaracaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J., Ram, S.J., 2004. "Image Processing with ImageJ". **Biophotonics International**, volume 11, issue 7, pp. 36-42.
- Altan, Ö., Altan, A., Çabuk, M., Bayraktar, H., 2000a. Effects of heat stress on some blood parameters in broilers. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, 24:145–148.
- Altan, Ö., Altan, A., Oğuz, I., Pabuçcuoğlu, A., and Konyalıoğlu, S., 2000b. Effects of heat stress on growth, some blood variables and lipid oxidation in broilers exposed to high temperature at an early age. **Br. Poult. Sci.**, 41:489-493.
- Anonim, 2004. 25668 sayılı resmi gazetede yayınlanan tescil 2004/39 nolu tebliğ ek:18. **Resmi Gazete**.
- Arad, Z., Marder J., and Soller, M., 1981. Effect of gradual acclimatization to temperature up to 44°C on productive performance of the desert Bedouin fowl, the commercial white Leghorn and the two crossbreds. **Br. Poult. Sci.**, 22: 511-520.
- Arad, Z., and Marder, J., 1982. Comparision of the productive performance of the Sinai Bedouin fowl the white leghorn and their crossbreds: study under natural desert conditions. **Br. Poult. Sci.**, 23:333-338.
- Blake, M.J., Gershon, D., Fagnoli, J., and Holbrook, N.J., 1990. Discordant expression of heat shock protein mRNAs in tissues of heat-stressed rats. **J. Biol. Chem.**, 265:15275-15279.
- Borges, S. A., Fischer da Silva, A.V., Majorca, A., Hooge, D.M., and Cummings, K.R., 2004. Physiological Responses of Broiler Chickens to Heat Stress and Dietary Electrolyte Balance (Sodium Plus Potassium Minus Chloride, Milliequivalents Per Kilogram). **Poult. Sci.**, 83:1551–1558.

- Bowen S.J., Washburn K.W., Huston T.M., 1984. Involvement of the thyroid gland in the response of the young chicken to heat stress. **Poult. Sci.**, 63: 66–69.
- Craig, E.A., and Jacobsen, K., 1984. Mutations of the heat-inducible 70 kilo Dalton genes of yeast confer temperature sensitive growth. **Cell**, 38:841-849.
- Craig E.A., 1985. The heat shock response. **Crit. Rev. Biochem.**, 18:239-280.
- Cress, A.E., and Gerner, E.W., 1980. Cholesterol levels inversely reflect the thermal sensitivity of mammalian cells in culture. **Nature**, 283: 677–679.
- Daghir, N. J., 1995. Present Status and Future of Poultry Industry in Hot Regions. In Poultry Production in Hot Climates, Edt. by N. J. Daghir, CAB Int., Pg:1-9.
- Donkoh, A., 1989. Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. **Int. J. Biometeorol.**, 33:259-265.
- Einat, M.F., Habersfeld, A., Shamayi A., Horev, G., Hurwitz, S., and Yahav, S., 1996. A novel 29-kDa chicken heat shock protein. **Poult. Sci.**, 75:1528-1530.
- Feder, M.E., and Hofmann, G.E., 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. **Annu. Rev. Physiol.**, 61:243–82.
- Franco-Jimenez, D.J., Scheideler, S.E., Kittok, R.J., Brown-Brandl, T.M., Robeson, L.R., Taira, H., and Beck, M.M., 2007. Differential effects of heat stress in three strains of laying hens. **J. Appl. Poult. Res.**, 16:628-634.
- Givisiez, P.E.N., Ferro, J.A., Ferro, M.I.T., Kronka, S.N., Decuypere, E., Macari, M., 1999. Hepatic concentration of heat shock protein 70 kDa (HSP70) in broilers subjected to different thermal treatments. **Br. Poult. Sci.**, 40: 292-296.

- Guerriero, V., and Raynes D.A., 1990. Synthesis of heat stress proteins in lymphocytes from livestock. **J. Anim. Sci.**, 68:2779-2783.
- Hahn G.M., and Li, G.C., 1990. Thermotolerance, thermoresistance, and thermosensitization. In *Stress Proteins in Biology and Medicine* (Edited by Morimoto R.I., Tissieres A. And Georgopoulos C.), Cold Spring Harbor Laboratory Pres, Cold Spring Harbor, N.Y., pp:79-100.
- Hartl, U., 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding. **Nature**, 381:571-580.
- Hartmann, W., 1990. Implications of genotype x environment interactions in animal breeding: genotype-location interactions in poultry. **Worlds Poult. Sci. J.**, 46:197-210.
- Heads, R.J., Yellon, D.M., Latchman, D.S., 1995. Differential cytoprotection against heat stress or hypoxia following expression of specific stress protein genes in myogenic cells. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, 27:1669-78.
- Jacob, U., Gaestel, M., Engel, K., Buchner, J., 1993. Small heat shock proteins are molecular chaperones. **J. Biol. Chem.**, 268(3):1517-1520.
- Johnson, RB; Fearon, K; Mason, T; Jindal, S., 2003. Cloning and characterization of the yeast chaperonin HSP60 gene. **Gene**, 84: 295-302.
- Kiang, J.G., and Tsokos, G.C., 1998. Heat shock protein 70 kDa: Molecular biology, biochemistry, and physiology. **Pharmacol. Ther.**, 80(2):183-201.
- Krebs RA, Feder ME, Lee J. 1998. Heritability of expression of the 70-kD heat-shock protein in *Drosophila melanogaster* and its relevance to the evolution of thermotolerance. **Evolution**, 52:841-847.

- Kregel, K.C., 2002. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **J. Appl. Physiol.**, 92: 2177–2186.
- Kutlu, H.R., 1999. Tavukların beslenmesinde vitaminler ve çevre sıcaklığı ilişkisi. **Interkim Katkı.**, 3:3-4.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, 227:680-685.
- Lau, S., Patnaik, N., Sayen, M.R., Mestril, R., 1997. Simultaneous overexpression of two stress proteins in rat cardiomyocytes and myogenic cells confers protection against ischemia-induced injury. **Circulation**, 96:2287–94.
- Lebret, T., Watson, R., William G., Molinie, Vincent, O., Amanda, G., Christophe, F., John M., and Botto H., 2003. Heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: Expression in bladder carcinoma. **Cancer**, 98: 970-977.
- Li, G.C., 1985. Elevated levels of 70,000 Dalton heat shock protein in transiently thermotolerant Chinese hamster fibroblasts and in their stable heat resistant variants. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 11: 165:177.
- Li, G.C., and Laszlo, A., 1985. Thermotolerance in mammalian cells: a possible role from heat shock proteins. In *Changes in Eukaryotic Gene Expression in Response to Environmental Stress*, Ed: Atkinson B.G. and Walden D.B., Academic Pres, Orlando, FL, pp. 227-254.
- Li, G.C., and Mark, J.Y., 1989. Re-induction of HSP-70 synthesis: an assay for thermotolerance. **Int. J. Hyperther.**, 5: 389:403.
- Lindquist, S., 1980a. Varying patterns of protein synthesis in *Drosophila* during heat shock: implications for regulation. **Dev. Biol.**, 77:463-479.

- Lindquist, S., 1980b. Translational efficiency of heat-induced messages in *Drosophila melanogaster* cells. **J. Mol. Biol.**, 137: 151-158.
- Lindquist, S., 1986. The heat-shock response. **Ann. Rev. Biochem.**, 55:1151-1191.
- Lindquist, S., and Craig, E.A., 1988. The heat-shock proteins. **Ann. Rev. Genet.**, 22:631-677.
- Lowry, O.H., Rosebrugh, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. **J. Biol. Chem.**, 193:265-275.
- Lyashko, V.N., Vikulova, V.K., Chernicov, V.G., Ivanov, V.I., Ulmasov, K.A., Zatsepina, O.G., and Evgen'ev, M.B., 1994. Comparison of the heat shock response in ethnically and ecologically different human populations. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 91:12492-12495.
- Maak, S., Melesse, A., Schmidt, R., Schneider, F., and Lengerken, G.V., 2003. Effect of long-term heat exposure on peripheral concentrations of heat shock protein 70 (HSP70) and hormones in laying hens with different genotypes. **Br. Poult. Sci.**, 44:133-138.
- Mahmoud, K.Z., Edens, F.W., Eisen E.J., Havenstein, G.B., 2004. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. **Comp. Biochem. Physiol.**, Part B 137:35-42.
- Mahmoud, K.Z., and Edens, F.W., 2005. Influence of organic selenium on HSP70 response of heat-stressed and enteropathogenic *Escherichia coli*-challenged broiler chickens (*Gallus gallus*). **Comp. Biochem. Physiol.**, Part C: Toxicology & Pharmacology, 141(1): 69–75.

- Mailhos, C., Howard, M.K., Latchman, D.S., 1994. Heat shock proteins HSP90 and HSP70 protect neuronal cells from thermal stress but not from programmed cell death. **J. Neurochem.**, 63:1787–95.
- Mazzi, C.M., Ferro, J.A., Ferro, M.I.T., Coelho, A.A.D., Savino, V.J.M., Macari, M., Ferro, J.A., Givisiez, P.E.N., Giachetto, P.F., Silva, M.M., Dionello, N.J.L., 2002. Effect of heat exposure on the thermoregulatory responses of selected naked neck chickens. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 54(1): 35-44.
- Mazzi, C.M., Ferro, J.A., Ferro, M.I.T., Savino, V.J.M., Coelho, A.A.D., Macari, M., 2003. Polymorphism analysis of the HSP70 stress gene in Broiler chickens (*Gallus gallus*) of different breeds. **Gen. Mol. Biol.**, 26(3): 275-281.
- Mercier, P.A., Winegarden, N.A., Westwood, J.T., 1999. Human heat shock factor 1 is predominantly a nuclear protein before and after heat stress. **J. Cell Sci.**, 112, 2765–2774.
- Moraes, V.M.B., Malheiros, R.D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., Van As, P., Onagbesan, O.M., Buyse, J., Decuypere, E. Macari, M., 2003. Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. **J. Therm. Biol.**, 28: 133-140.
- Morange, M., 2006. HSFs in development. **HEP**, 172: 153-169.
- Morimoto, R., and Fodor. E., 1984. Cell specific expression of heat shock proteins in chicken reticulocytes and lymphocytes. **J. Cell. Biol.**, 99: 1316–1323.
- Morimoto, R.I., Sarge, K.D., and Abravaya, K., 1992. Transcriptional regulation of heat shock genes. **J. Biol. Chem.**, 267 (31): 21987-21990.

- Munro, S., and Pelham, H.R.B., 1986. An HSP70-like protein in the ER. Identity with the 78kDa glucose regulated protein and immunoglobulin heavy chain binding protein. **Cell**, 46:291–300.
- Nakai, A., and Morimoto, R.I., 1993. Characterization of a novel chicken heat shock transcription factor, heat shock factor 3, suggests a new regulatory pathway. **Mol. Cell. Biol.**, 13(4):1983-1997.
- Nakai, A., and Ishikawa, T., 2001. Cell cycle transition under stress conditions controlled by vertebrate heat shock factors. **EMBO J.**, 20:2885–2895.
- Nazlıgöl, A., Ertuğrul, O., Orman, M., Aksoy, F.T., 1995. Some production characteristics of layers from different genetic origin (*Gallus domesticus*) and effects of different cage position on egg production and egg weight traits. **Turk. J. Vet. and Anim. Sci.**, 19:339-347.
- Noyan, A., 2004. Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji, 14. Baskı., METEKSAN yayını, Ankara, 1157 s.
- Özbey, O., Yıldız, N., Aysöndü, M.H., and Özmen, Ö., 2004. The effects of high temperature on blood serum parameters and the egg productivity characteristic of Japanese Quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Int. J. Poult. Sci.**, 3(7):485-489.
- Özdoğan, N. ve Gürçan, İ.S., 2006. Denizli ve Gerze tavuk ırklarında yumurta verimine ait bazı özellikler. **Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.**, 46 (2) 13 - 21
- Pirkkala, L., Nykänen, P., and Sistonen, L., 2001. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. **FASEB J.**, 15:1118–1131.

- Ritossa, F.M., 1962. A new puffing system induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. **Experientia**, 18:571–573.
- Rivera, R.E., Christensen, V.L., Edens, F.W., Wineland, M.J., 2005. Influence of selenium on heat shock protein 70 expression in heat stressed turkey embryos (*Meleagris gallopavo*). **Comp. Biochem. Physiol., Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 142(4): 427-432.
- Ryan, M.T., Naylor, D.J., Hoj, P.B., Clark, M.S., Hoogenraad, N.J., 1997. The role of molecular chaperones in mitochondrial protein import and folding. **Int. Rev. Cytol.**, 174:127–93.
- Saleh, T.M., 1997. Light and temperature as stress factors in relation to embryonic development, blood constituents and performance of Dandarawi chicken, (Ph.D), Assiut University, Dept. of Animal and Poultry Production, Fac. of Agriculture, (abstract).
- Sanchez Y., and Lindquist, S.L., 1990. HSP 104 required for induced thermotolerance. **Science**, 242:433-436.
- Sands, J.S., and Smith, M.O., 2002. Effects of dietary manganese proteinase or chromium picolinate supplementation on plasma insulin, glucagon, glucose and serum lipids in broiler chickens. **Int. J. Poult. Sci.**, 1(5): 145-149.
- Shim, K.S., Hwang, K.T. Son, M.W., Park, G.H., 2006. Lipid metabolism and peroxidation in broiler chicks under chronic heat stress. **Asian-Australasian J. Anim. Sci.**, 19: 1206-1211.
- Soliman, K.F.A., and Huston, T.M., 1974. Effect of dietary protein and fat on the plasma cholesterol and packed cell volume of chickens exposed to different environmental temperature. **Poult. Sci.**, 53: 161-166.
- Sorger, P.K., 1991. Heat shock factor and the heat shock response. **Cell**, 65:363-366.

SPSS., 1999. SPSS for Windows Release 10.0, SPSS Inc.

Sridhar, K.R., Jan, W., Ligeng, LI., Gloria, C.L., and Carl W., 1994. Interaction between heat shock factor and HSP70 is insufficient to suppress induction of DNA-binding activity in vivo. **Mol. Cell. Biol.**, 14:6552-6560.

Şahin, K., Önderci, M., Gürsu, M. F., Küçük, O., ve Şahin, N., 2004. Effect of melatonin supplementation on biomarkers of oxidative stress and serum vitamin and mineral concentrations in heat-stressed Japanese quail. **J. Appl. Poult. Res.**, 13:342–348.

Şekeroğlu, A., ve Özen, N., 1997. Gerze (Hacıkadı) ve Denizli tavuk ırklarının bazı verim özellikleri bakımından karşılaştırılması. **Akd. Üniv. Zir. Fak. Derg.**, 10: 41-57.

Şenköylü, N., ve Altınsoy, M., 1987. Tavuklarda stress olgusu. **Damla-Roche**, 11:1-11.

Tanabe, M., Kawazoe, Y., Takeda, S., Morimoto, R.I., Nagata, K., Nakai, A., 1998. Disruption of the *HSF3* gene results in the severe reduction of heat shock gene expression and loss of thermotolerance. **EMBO J.**, 17:1750–1758.

Tao, X., Zhang, Z.Y., Dong, H., Zhang, H., and Xin, H., 2006. Responses of thyroid hormones of market-size broilers to thermoneutral constant and warm cyclic temperatures. **Poult. Sci.**, 85:1520–1528.

Tissieres, A., Mitchell, H.K., and Tracy, U., 1974. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. **J. Mol. Biol.**, 84:389-398.

Tobe, T., Ito, K., and Yura, T., 1984. Isolation and physical mapping of temperature-sensitive mutants defective in heat-shock induction of proteins in *Escherichia coli*. **Mol. Gen. Genet.**, 195:10-16.

- Türkyılmaz, M.K., Dereli, E., Şahin, T., 2005. Denizli tavuklarında bazı yumurta özellikleri ile yumurtaların kuluçka işlemi sırasındaki ağırlık kaybı üzerine bir araştırma. **Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.**, 16(2):89-92.
- Tytell, M., 2005. Release of heat shock proteins (HSPs) and the effects of extracellular HSPs on neural cells and tissues. **Int. J. Hyperther.**, 21(5):445–455.
- Velazquez, J. M., Sonoda, S., Bugaisky, G., Lindquist, S., 1983. Is the major *Drosophila* heat shock protein present in cells that have not been heat shocked? **J. Cell. Biol.**, 96:286-290.
- Velazquez, J.M., and Lindquist, S., 1984. HSP70: nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. **Cell**, 36(3):655-62.
- Whitesell, L., and Cook., P., 1996. Stable and specific binding of heat shock protein 90 by geldanamycin disrupts glucocorticoid receptor function in intact cells. **Mol. Endocrinol.**, 10:705–12.
- Walzem, R., 1996. Lipoproteins and the laying hen: Form follows function. **Poultry Avian Biol. Rev.**, 7(1):31-64.
- Wang S., 1992. Steroidal modulation of gene expression for heat shock proteins in domestic chickens. Ph.D. North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wang, S., and Edens, F.W., 1993. Stress-induced heat-shock protein synthesis in peripheral leukocytes of turkeys, *Meleagris gallopavo*. **Comp. Biochem. Physiol.**, 106B:621-628.
- Wang, S., and Edens, F.W., 1994. HSP70 mRNA expression in heat stressed chickens. **Comp. Biochem. Physiol.**, 107:33-37.

- Wang, S., and Edens, F.W. 1998. Heat conditioning induces heat shock proteins in broiler chickens and turkey poults. **Poult. Sci.**, 77:1636-1645.
- Wu, C., 1995. Heat shock transcription factors: structure and regulation. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, 11:441-469.
- Yahav, S., Shamai, A., Haberfeld, A., Horev, G., Hurwitz, S., and Einat M., 1997a. Induction of thermotolerance in chickens by temperature conditioning: heat shock protein expression. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 813: 628-636.
- Yahav, S., Straschnow, A., Plavnik, I., and Hurwitz, S., 1997b. Blood System Response of Chickens to Changes in Environmental Temperature. **Poult. Sci.**, 76:627-633.
- Yahav, S., Shamay, A., Horev, G., Bar-ilan, D., Genina, O., Friedman-Einat, M., 1997c. Effect of acquisition of improved thermotolerance on the induction of heat shock proteins in broiler chickens. **Poult. Sci.**, 76:1428-1434.
- Yahav, S., Collin, A., Shinder, D., and Picard, M., 2004. Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: Effects of timing and temperature. **Poult. Sci.**, 83:1959-1963.
- Yamamoto, H., Zheng, K., and Ariizumi, M., 2003. Influence of heat exposure on serum lipid and lipoprotein cholesterol in young male subjects. **Industrial Health**, 41:1-7.
- Yeğenoğlu, E.D., 2007. Etlik piliçlerde sıcak stresine alıştırma uygulamalarının beyin HSP70 düzeyine etkisinin araştırılması, (doktora), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zulkifli, I., Liew, P.K., Israf, D.A., Omar, A.R., Hair-Bejo, M., 2003. Effects of early age feed restriction and heat conditioning on heterophil/lymphocyte ratios, heat shock response and body temperature of heat-stressed broiler chickens. **J. Therm. Biol.**, 28:217-222.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Demir ÖZDEMİR
Doğum Yeri ve Tarihi : Mersin 24/12/1975

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, 2000
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, 2003
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

- Oğuz İ., Akşit M., Çınar M.U., **Özdemir D.**, Altan Ö., 2006. A Review of the Last Decade (1994-2004) Quail Studies in Turkey, *Hayvansal Üretim*, 47, 1, 28-35.
- Akşit, M. ve **Özdemir, D.**, 2002. Kanatlılarda korku davranışı. *Hayvansal Üretim Dergisi*, 43(2), 26 – 34
- Özdemir, D.** ve Akşit, M., 2005. Stres proteinleri (heat shock proteinleri). *Hasad Dergisi*, 21(243): 48-50.

- SCI Yayınları:

- Oğuz, İ., Akşit, M., Önenç, A., Gevrekçi, Y., **Özdemir, D.**, Altan, Ö., 2004. Genetic variability of meat quality characteristics in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Archiv Für Geflügelkunde*, 68 (4):176–181.
- Akşit, M., Göksoy, E., Kök, F., **Özdemir, D.**, Özdoğan, M., 2006. The impacts of organic acid and essential oil supplementations to diets on the microbiological quality of chicken carcasses. *Arch.Geflügelk.*, 70(4):168–173.
- Akşit, M., Yalçın, S., Özkan, S., Metin, K., **Özdemir, D.**, 2006. Effects of temperature during rearing and crating on stress parameters and meat quality of broilers. *Poultry Science* 85:1867–1874.
- Akşit, M., Altan, Ö., Büyüköztürk Karul, A., Baklaya, M., and **Özdemir, D.**, 2008. Effects of cold temperature and vitamin e supplementation on oxidative stress, troponin-t level and other ascites-related traits in broilers. *Arch.Geflügelk.*, 72(5):221-230.

b) Bildiriler:**- Uluslararası:**

Yalçın, S., M. Akşit, K. Metin, **D. Özdemir**, 2007. Effects of crating on blood stress indicators, nutrient composition and meat quality traits of broilers reared at two rearing temperatures. *XVIII. European Symposium on the Quality of Poultry Meat. September, 2-5, 2007, Prague-Czech Republic.*

Özdemir, D. and Akşit, M., 2004. Estimations of genetic parameters of some egg quality characteristics of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) at different ages. *World Poultry Congress 2004, İstanbul*

Oğuz, İ., Akşit, M., Önenç, A., Gevrekçi, Y., **Özdemir, D.**, Çınar, U., Altan, Ö., 2004. Heritability estimates of meat quality characteristics in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *World Poultry Congress 2004 İstanbul.*

- Ulusal:

Özdemir D., Akşit M., 2007. Kanatlılarda Sıcak Stresi ve HSP70. V. Ulusal Zootekni Kongresi Van ,Poster 05/09/2007 .

c) Katıldığı Projeler

Japon Bildircinlarının (*Coturnix coturnix japonica*) Değişik Yaşlardaki Yumurta Verimi ve Yumurta Kalitesine İlişkin Genetik Parametre Tahminleri Üzerine Bir Araştırma, 2003. **Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu** tarafından desteklenmiştir.

Yüksek Sıcaklıklarda Denizli Irkı Tavuklarında HSP 70 Sentezi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. **2008 TÜBİTAK Projesi**

Yüksek Sıcaklıklarda Denizli Irkı Tavuklarında HSP 70 Sentezi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. **Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu** tarafından desteklenmiştir.

İŞ DENEYİMİ

13 Ekim 2000 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak işe başladı ve bu göreve halen devam etmektedir.

İLETİŞİM

E-Posta Adresi: dozdemir@adu.edu.tr

Tarih: 14.11.2008

ERROR: syntaxerror
OFFENDING COMMAND: --nostringval--

STACK:

/Author
-mark-