

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜLHAN TÜRKAY HOŞTÜRK

ISI STRESİ OLUŞTURULAN YUMURTA TAVUKLARINDA ORAL
VİTAMİN E'NİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTE, YUMURTA VERİMİ VE
KALİTESİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Araştırma Görevlisi

HASRET DEMİRCAN YARDİBİ

İSTANBUL-2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	ii
TEŞEKKÜR	v
TABLolar	vi
ŞEKİLLER	vii
GRAFİKLER	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. VİTAMİN E	2
2.1. Vitamin E'nin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	2
2.2. Vitamin E'nin Metabolizması	3
2.3. Vitamin E'nin Fonksiyonu	4
3. SERBEST RADİKALLER	10
3.1. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Serbest Radikaller	10
3.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Sistemleri	12
4. LİPİD PEROKSİDASYONU	16
5. STRES	18
5.1. Kanatlılarda Stres ve Isı Stresi	20
5.2. Stres ve Vitamin E	23
6. GEREÇ VE YÖNTEM	26
6.1. Hayvan Gereci	26
6.2. Araştırma Dizaynı ve Uygulamaları	26
6.3. Örneklerin Toplanması	29
6.4. Eritrositlerin Analiz için Hazırlanması	29
6.5. Canlı Ağırlık Tartımları	30
6.6. Yumurtaların Toplanması	30
6.7. Yem Tüketimi	31
6.8. Biyokimyasal Analizler	31
6.8.1. Plazmada E Vitamini Düzeyi Ölçümü	31
6.8.2. Plazmada Malondialdehit (TBARS) Düzeyi Ölçümü	33
6.8.3. Eritrositlerde Malondialdehit (TBARS) Düzeyi Ölçümü	35
6.8.4. Eritrositlerde Glutatyon Peroksidaz Düzeyi Ölçümü	36

6.8.5.	Eritrositlerde Katalaz Düzeyi Ölçümü	38
6.8.6.	Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz Düzeyi Ölçümü	40
6.8.7.	Yumurta Sarısında Malondialdehit (TBARS) Düzeyi Ölçümü	42
6.8.8.	Yumurta Sarısında E Vitamini Düzeyi Ölçümü	44
6.9.	Yumurta kalitesine İlişkin Analizler	46
6.10.	İstatistiksel Analiz	46
6.11.	Malzeme ve Alet Listesi	46
7.	BULGULAR	47
7.1.	Klinik Bulgular	47
7.2.	Araştırma Süresince İncelenen Biyokimyasal Parametreler	47
7.2.1.	Plazma E Vitamini Düzeyleri	47
7.2.2.	Plazma Malondialdehit Düzeyleri	48
7.2.3.	Eritrositlerde Malondialdehit Düzeyleri	48
7.2.4.	Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz Düzeyleri	49
7.2.5.	Eritrositlerde Katalaz Düzeyleri	49
7.2.6.	Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz Düzeyleri	50
7.2.7.	Yumurta Sarısında E Vitamini Düzeyleri	50
7.2.8.	Yumurta Sarısında Malondialdehit (TBARS) Düzeyleri	53
7.3.	Araştırma Süresince İncelenen Yumurta Kalitesine ve Yumurta Verimine Ait Parametreler	56
7.3.1.	Yumurta Ak Yüksekliği Düzeyleri	56
7.3.2.	Yumurta Kabuk Kalınlığı Düzeyleri	56
7.3.3.	Yumurta Kabuk Ağırlığı Düzeyleri	57
7.3.4.	Yumurta Ağırlığı Düzeyleri	57
7.3.5.	Yumurta Özgül Ağırlığı Düzeyleri	58
7.4.	Canlı Ağırlık Düzeyleri	58
7.5.	Yumurta Verimi Düzeyleri	59
7.6.	Yem Tüketimi Düzeyleri	60
8.	TARTIŞMA	66
8.1.	Isı Stresi ve Vitamin E'nin Antioksidan Mekanizmaya Etkisi	66
8.2.	Isı Stresi ve Vitamin E'nin Yumurta Sarısında Malondialdehit Düzeylerine Etkisi	69
8.3.	Isı Stresi ve Vitamin E'nin Yumurta Kalitesine Etkisi	70

8.4.	Isı Stresi ve Vitamin E'nin Canlı Ağırlık, Yumurta Verimi ve Yem Tüketimine Etkisi	71
9.	SONUÇ	73
10.	ÖZET	74
11.	SUMMARY	76
12.	KAYNAKLAR	78
13.	ÖZGEÇMİŞ	90

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda bana yol gösteren ve bilimsel destekleri ile değerli yardımlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Gülhan TÜRKEY HOŞTÜRK'e,

Bilimsel katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyelerim Sayın Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Nezir Yaşar TOKER'e,

İ.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Elemanlarına,

Araştırmam süresince gösterdikleri sevgi ve sabır için eşim Murat Emre YARDİBİ, annem Seda DEMİRCAN ve varlığıyla daha keyifli çalışmama yardımcı olan kızım Sena YARDİBİ'ne çok teşekkür ederim.

Not: Bu çalışma İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Sekreterliğince desteklenmiştir.

Proje no : T-22/ 23072002

TABLÖLAR

		Sayfa
Tablo 1.	Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarına uygulanan yemlerin kompozisyonları	28
Tablo 2.	Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarına uygulanan yemlerin besin değerleri	29
Tablo 3.	TBARS aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.	34
Tablo 4.	GSH-Px aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.	37
Tablo 5.	CAT aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi	39
Tablo 6.	SOD aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi	41
Tablo 7.	Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Biyokimyasal parametrelerin değerleri	51
Tablo 8.	Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Biyokimyasal parametrelerin değerleri	52
Tablo 9.	Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Yumurta Sarısında Malondialdehit değerleri	54
Tablo 10.	Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Yumurta Sarısında Malondialdehit değerleri	55
Tablo 11.	Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Yumurta Kalitesine İlişkin parametrelerin değerleri	61
Tablo 12.	Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Yumurta Kalitesine İlişkin parametrelerin değerleri	62

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 1.	Alfa, beta, gama, hekza tokoferollerin yapısı	3
Şekil 2.	Hücre membranındaki çoklu doymamış fosfolipidler	5
Şekil 3.	Zincir reaksiyonu	6
Şekil 4.	Vitamin E ile serbest radikal fonksiyonlarının durdurulması	6
Şekil 5.	Oksidasyon ürünlerinin Glutasyon Peroksidaz enzimi ile olumsuz etkilerinin önlenmesi	7
Şekil 6.	Alarm safhasındaki klasik tepki zinciri	19

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 1. Araştırma süresince kontrol gruplarında canlı ağırlık değişimi	63
Grafik 2. Araştırma süresince deneme gruplarında canlı ağırlık değişimi	63
Grafik 3. Araştırma süresince kontrol gruplarında yumurta verimi	64
Grafik 4. Araştırma süresince deneme gruplarında yumurta verimi	64
Grafik 5. Araştırma süresince kontrol gruplarında yem tüketimi	65
Grafik 6. Araştırma süresince deneme gruplarında yem tüketimi	65

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vitamin ve enerji gereksiniminin yükselmesine neden olan stres günümüzün önemli konularından biridir. İyi beslenme koşullarında, stresin immun sisteme çok zarar vermediği, vitamin ve diğer vücut için gerekli besinsel faktörlerin alınımı yetersiz olduğunda ise, yoğun bir strese maruz kalmanın yan etkiler meydana getirdiği bilinmektedir (1). Organizmada strese karşı oluşan cevap; ya duruma adapte olma ya da koruyucu olma şeklindedir. Bu şekilde stres kaynaklı zararlı etkiler minimize edilmiş olmaktadır (2).

Ülkemizde yumurta üreticiliğinin yapıldığı yöreler de dahil olmak üzere bir çok bölgede en önemli çevresel faktörlerden birisi sıcaklık stresidir (3, 4). Ortam ısısının yükselmesi kanatlılarda vücut ısısını düzenleyici mekanizmayı bozmaktadır (5). Kanatlı yetiştiriciliğinde ideal ısının 20-27°C, nemin ise % 50'den düşük olması gerektiğinden (4, 6), sıcaklığın 30°C'nin üstüne çıkması halinde ısı stresinin başladığı kabul edilir. Isı stresinin kanatlılarda, yumurta verimi ve kabuk kalitesini olumsuz etkilediği, yem tüketimi ve canlı ağırlık kazancını azalttığı aynı zamanda kan asit-baz dengesini bozarak metabolizmada değişimlere neden olduğu, hücrelerde oksidatif hasara yol açtığı öne sürülmektedir (3, 7).

Çalışmada yumurta tavuklarında, ısı stresinin etkisiyle oluşan oksidatif hasara bağlı serbest radikal artışlarına karşı antioksidan savunma mekanizması incelenmiştir. Artan serbest radikal artışına karşı antioksidan yanıt oluşturmak amacıyla diyetle farklı iki dozda vitamin E katılmıştır. Bu şekilde diyetle ilave edilen vitamin E'nin;

1- Hücresel düzeyde savunma mekanizmasına ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisi,

2- Yumurta tavuklarında, yumurta verimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

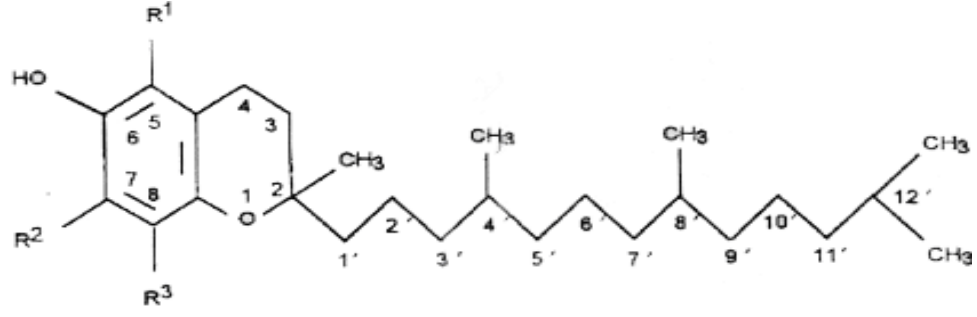
2. VİTAMİN E

2.1. Vitamin E'nin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Vitaminler, vücudun metabolizma ve fonksiyonları için gerekli besinlerle alınan organik bileşiklerdir. E vitamini; üreme, kas, sinir, dolaşım ve immun sistem gibi birçok sistemin optimal fonksiyonu için esansiyel olan bir vitamindir (8).

Vitamin E ilk olarak 1936'da Evans ve Sure tarafından birbirinden ayrı olarak izole edilmiştir. Kanseri ve kardiyovasküler sistem hastalıkları riskini azaltan Vitamin E'nin ana diyetel kaynağı sebze yağlarıdır (9). Vitamin E doğal antioksidan olan tokoferol ve tokotrienoller; alfa, beta, gama, hekza tokoferoller ve alfa, beta, gama, hekza tokotrienoller olarak bilinen sekiz alkollü bir grup maddeye verilen ortak bir terimdir (9, 10). Şekil 1'de, alfa, beta, gama, hekza tokoferollerin yapısı gösterilmiştir (11). Bunlar tokolün metil, dimetil veya trimetil deriveleridir (12). Tokoferoller doymuş bir yan zincire, tokotrienoller ise doymamış bir yan zincire sahiptir. Tokotrienoller üç adet çift bağ içeren yan zincir ile tokoferollerden yapısal olarak ayrılırlar (10). Vitamin E'nin doğal olarak bulunan formlarının içinde biyolojik olarak en aktif olanı α - tokoferol'dur (11, 12, 13). Bununla beraber α - tokoferol (5,7,8-trimetiltokol) in vivo ortamda, gama-tokoferol (7,8-dimetiltokol) ise in vitro ortamda en aktiftir (9). E vitamininin ester formları serbest tokoferollerden daha stabildir. Diyete ilave edilen formu DL- tokoferol asetatdır (13). Alfa tokoferol asetatın 1 mg'ı 1 IU E vitamini aktivitesine denktir (14).

Tokoferoller açık sarı renkte ve yapışkan kıvamda yağlardır, lipidlerde ve birçok organik eritkenlerde erirler ancak suda erimezler (8). Ergime noktası 2.5°C - 3.5°C, kaynama noktası ise 200-220°C'dir. Moleküler damıtma yoluyla saf olarak elde edilebilir, 294 mμ'de maksimum, 267 mμ'da ise minimum absorpsiyon gösterirler (15). Tokoferoller ışık ve hava karşısında kolaylıkla oksitlenirler, diğer yandan uzun süre alkali kondisyonlara maruz kalmak α - tokoferol aktivitesini azaltır (9).



Bileşik	R ¹	R ²	R ³
α -Tokoferol	CH ₃	H	CH ₃
γ -Tokoferol	H	CH ₃	CH ₃
δ -Tokoferol	H	H	CH ₃

Şekil 1. Alfa, gama, hekza tokoferollerin yapısı (11)

2.2. Vitamin E'nin Metabolizması

Vitamin E'nin emilimi yağların sindirimi ile ilgili olup, barsaklardan emilmesi safra ve pankreatik salgıların varlığına bağlıdır. Pankreas ve safra sıvıları asetat formunu hidrolize etmede önemli rol oynarlar. Ağızdan alındıktan sonra vitamin, sindirim kanalından diğer yağda çözünen vitaminlere benzer şekilde emilmektedir, şilomikronlarla taşınarak, önce lenf dolaşımına sonra kan dolaşımına girerek hücrelere taşınmaktadır (8, 13, 15). Vitamin E'nin hücre membranından membranlara transferi taşıyıcı proteinlerle gerçekleşir. Vitamin E hücrenin mitokondri ve endoplazmik retikulum membranında birikir (8).

Hayvan türlerinin çoğunda plazmada normal olarak 1-5 µg/ml arasında alfa-tokoferol bulunur (8). Vitamin E yağ dokuda ve karaciğerde diğer dokulara göre daha çok toplanır. Peroksidasyonu engellemesi ve hücre membran bütünlüğünü koruyan özelliğinden dolayı geniş bir doku dağılımı söz konusu olup spesifik olarak depolandığı bir organ bulunmamaktadır (10, 13).

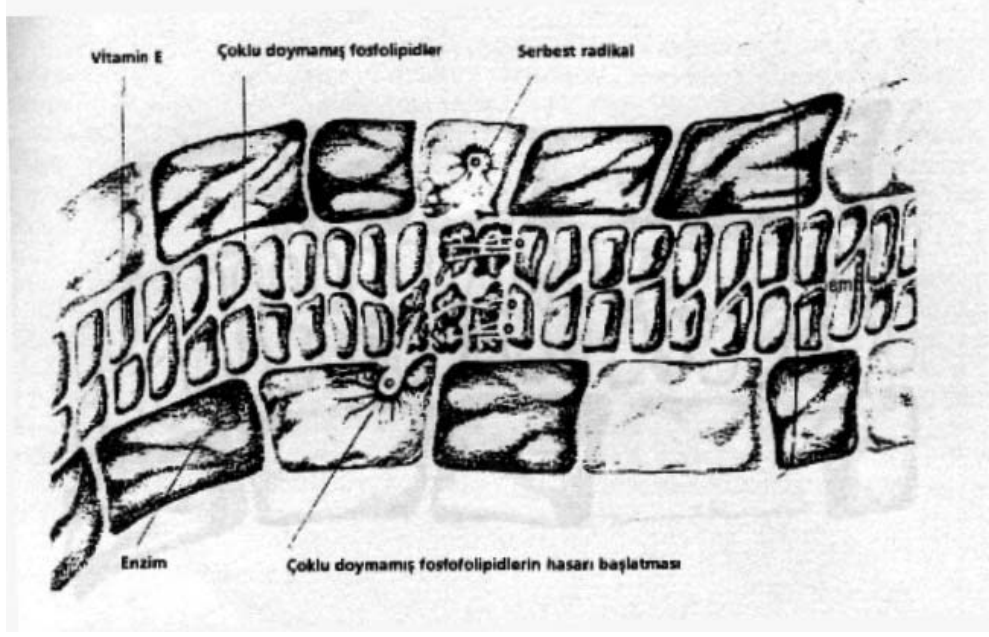
Kanatlılar yağda çözünen vitaminlerin emilimi ve lenfatik yol ile kana karışabilmesi için yağa gereksinim duyar. Cıvcıvlerde lenfatik sistem iyi gelişmemiştir. Bu yüzden yağda çözünen vitaminler kan dolaşımı yolu ile karaciğere ulaşır (16). Depolanan vitamin E çoklu doymamış yağ asitlerince hızla tüketilir (13, 17).

2.3. Vitamin E'nin Fonksiyonu

Vitamin E'nin en önemli fonksiyonu biyolojik bir antioksidan olmasıdır (18, 19, 20). Hayvanlarda vitamin E hücrelerdeki oksidatif hasardan organizmayı ve hücreyi korur (21, 22, 23).

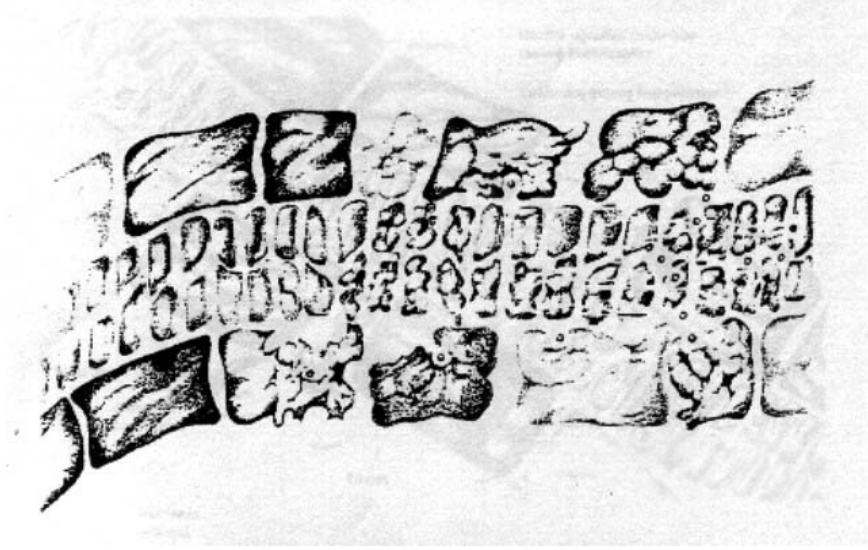
Vitamin E hayvansal hücrelerin fosfolipid yapıdaki zarlarında oluşacak peroksitleri önlemektedir. Doymamış yağ asitleri hücre içerisindeki oksijenle karşılaştığında oksidasyona uğrayıp peroksitleri oluşturabilirler ve peroksitlerde, hidroperoksitlere dönüşerek hücrede yıkıcı etkiler yaratan serbest radikalleri meydana getirirler. Hücre zarında bulunan tokoferolün yan zincirleri bu radikalleri etkisiz kılar (21, 24).

Hücre membranı çoklu doymamış fosfolipidleri içerir (Şekil 2) ve okside edici reaksiyon membranın merkezinde başlar. Serbest radikaller membran boyunca uzanır ve lipidler ile enzimleri yıkıma uğratırlar (25). Vitamin E membranlarda bulunan en büyük antioksidan olması nedeniyle, lipid peroksidasyonunun erken dönemlerinde ortamda bulunan serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırır (18, 22).



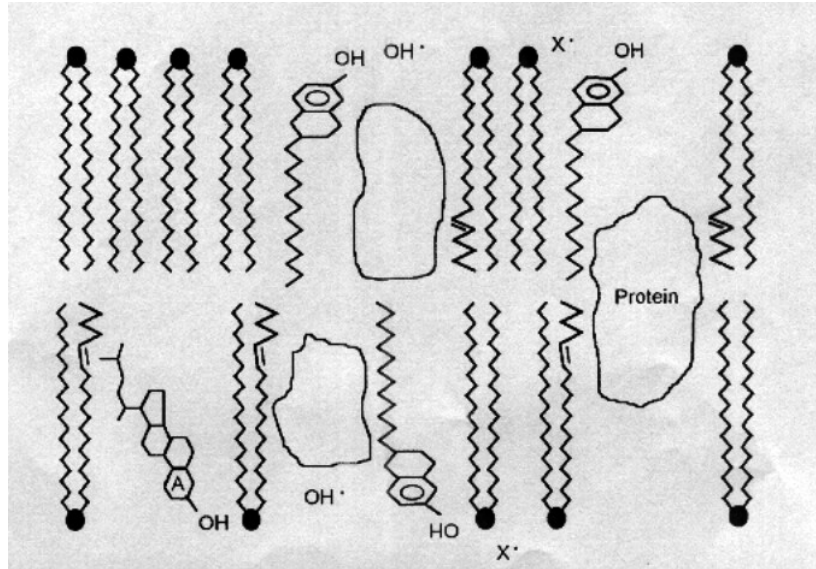
Şekil 2. Hücre membranındaki çoklu doymamış fosfolipidler (25)

Lipid peroksidasyonları ve oksijen serbest radikallerin oluşumları, hücre metabolizması, hücre bölünmesi, hücre farklılaşması ve aynı zamanda hormonların ve prostaglandinlerin biyosentezinde önemli birer fizyolojik basamaktır. Antioksidan savunma sistemindeki bozuluktan şekillenen kontrol edilemeyen lipid oksidasyonu kanatlı hastalıklarında ve toksikozlarda kritik öneme sahiptir. Lipid peroksidasyonunun en önemli nedeni beslenmeyle olan ilişkisidir. Okside olmuş yağlarla beslenmeye bağlı olarak, okside olmuş yağ asitleri barsaklardan doymamış keto bileşikler şeklinde emilir, bu durumda dokulardaki lipid peroksidasyonunu gösterir. Peroksidasyonun önemli olan diğer nedeni ise yetersiz antioksidan alınmasıdır (16). Şekil 3’de zincir reaksiyonu görülmekte olup serbest radikaller hücre membranını hasara uğratmaktadır. Diyetde vitamin E eksik düzeyde ise veya yoksa serbest radikallerin reaksiyonları doymamış yağ asitlerince korunmaktadır (26).



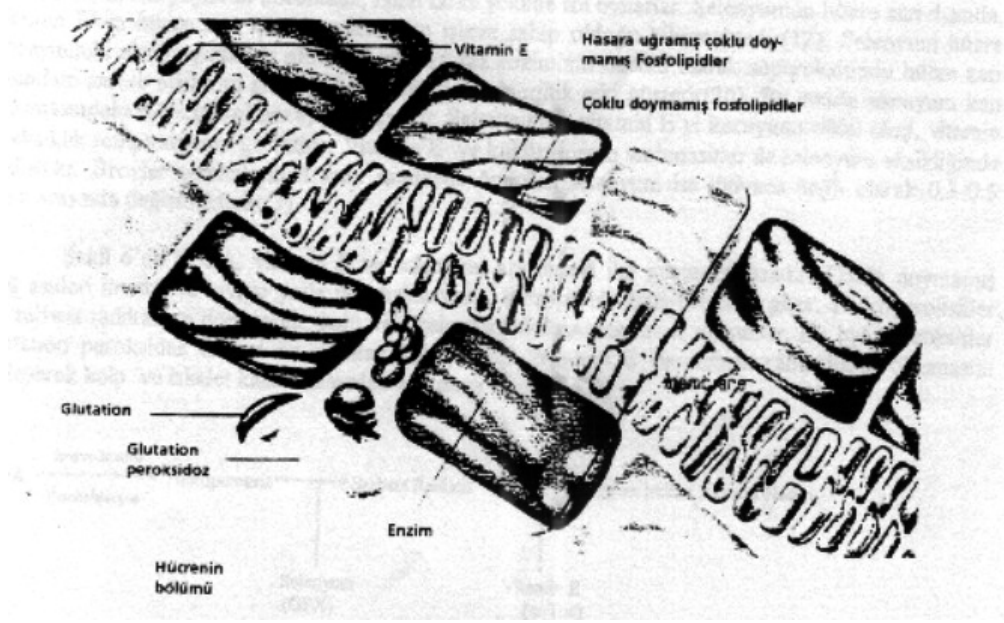
Şekil 3. Zincir reaksiyonu (26)

E vitamininin yeterli düzeyde bulunması sonucu serbest radikal fonksiyonlarının durdurulması mümkündür (Şekil 4). E vitamini, C13 olan fital zincir ile zar tabakasının yüksek hidrofobik hidrokarbon bölümüne sıkıca bağlanır. Kromonal çekirdek bir lipoprotein yüzeyinde yer alır ve bu fenolik hidroksil grup serbest radikalleri bastırır. Bu pozisyonda kromonal halka önemli derecede hareketlidir ve su-zar ara yüzeyini parçalayarak serbest radikalleri durdurur (11).



Şekil 4. Vitamin E ile serbest radikal fonksiyonlarının durdurulması (11)

Şekil 5’de ise oksidasyon ürünlerinin Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) enzimi ile olumsuz etkilerinin önlenmesi gösterilmektedir. Enzim tarafından çoklu doymamış yağ asitlerinin toksik etkisi nötralize edilir (27).



Şekil 5. Oksidasyon ürünlerinin GSH-Px enzimi ile olumsuz etkilerinin önlenmesi (27)

Gelişmekte olan tavuk embriyolarında, dokularda önemli miktarda bulunan yağlar doymamış yağlardır. Bu durum da etkili bir antioksidan savunma sistemine ihtiyaç duyar. Vitamin E, karotenler, glutasyon (GSH), askorbik asit gibi doğal antioksidanlar ve superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), GSH-Px gibi enzimleri içeren antioksidan enzim grubu tavukların dokularında bulunan antioksidan savunma oranının göstergesidir (28).

GSH-Px da E vitamini ile benzer etkiye sahiptir fakat hücrenin çözülebilir fraksiyonunda görevlidir (22). Vitamin E ile benzer etkiye sahip bir başka madde de Selenyum (Se) dir, hem vitamin E hem de Se insan ve hayvan beslenmesi için çok gereklidir (18). Se, hidrojen peroksit ve lipid peroksitleri gibi reaktif ürünlerin seviyesini düşüren GSH-Px aktivitesi için geçerli bir elementtir. GSH-Px üretimi Se eksikliğinde azalır (1, 18, 28).

E vitamini tüm hücre membranlarında yağda çözünen antioksidan olması yanında optimal immun fonksiyon içinde önemli bir besin kaynağıdır (29). Bağışıklık cevabı hücre membran düzeyinde başlar. E vitamini mitokondriyel ve çekirdek membranları da dahil olmak üzere hücrelerin içinde bulunan tüm membranların önemli bir bileşeni olması nedeniyle immun cevapta önemlidir (23). Laboratuvar hayvanlarında, çiftlik hayvanlarında ve insanlarda E vitamini, diyetle ilave edilerek ya da aşılarda bir parçası olarak immunitiyi ve hastalıklara karşı direnci yükseltir (19). Son zamanlarda vitamin E'nin antijenik stimülasyona karşı humoral immun yanıtı ve bakteriyel enfeksiyona karşı direnci artırdığı rapor edilmektedir (30).

Vitamin E'nin lökosit, lenfosit, makrofaj gibi bir çok immun sistem hücresi üzerinde etkileri vardır. Bu hücrelerin hepsi interferon (INF) üretim işlevi içinde yer alır. E vitamini özellikle T lenfosit ve makrofaj multiplikasyonu stimülasyonunda T ve B lenfositleri arasındaki kooperasyonda önemlidir (31).

Vitamin E eksikliğine bağlı olarak immun sistemde; lenfoid organ ağırlıklarında azalma, antijen spesifik antikor üretiminde azalma, antikor üreten hücre sayılarında azalma, mitojen stimülasyonuna karşı T hücre proliferasyonunda azalma, fagositik aktivitede düşme ile seyreden bir dizi olaylar gerçekleşir .

Diyete ilave edilen vitamin E'nin immun modülatör etkisinin; vitamin E'nin verilmiş dozuna, uygulama şekline, tipine, antijene, invitro immun fonksiyon analizlerinde kullanılan metoda, yaşa, hayvanın genetik yapısına ve çevreye bağlı olarak değiştiği öne sürülmektedir (14). Örneğin vitamin E gibi diyetset antioksidanlar yaşa bağlı olarak immun cevabı geliştirir (13).

Kanatlılarda diyetdeki vitamin E ve Se eksikliğine bağlı olarak, tavuklarda bursa fabrisius ağırlığının düştüğü, lenfosit sayısının azaldığı, primer lenfoid organlar ve dalakta zarar verici boyutlarda histolojik değişimlerin gerçekleştiği öne sürülmektedir (32). Nockels ve ark. (33) yaptıkları çalışmada yumurtacı tavuk diyetlerine ilave edilen E vitamininin, hastalıklara karşı direnci ve antikor titrelerini yükselttiğini ve bursal prostaglandin etkisini deprese ettiğini bildirmektedirler.

Son on yıl içinde yapılan çalışmalarda vitamin E'nin yangıda da önemli rolü olduğu ortaya çıkmıştır. Kronik yangılarda, kanda ve karaciğerde vitamin E seviyesinin büyük ölçüde düştüğü öne sürülmektedir (14).

Prostaglandinler T hücre aktivitesini ve koruyucu immun cevabı baskılar. E vitamini, arahidonik asit metabolizmasında sırasıyla siklooksijenaz ve lipooksijenaz katalizörlüğünde meydana gelen prostoglandin ve lökotrin gibi yangısal lipid kaynaklı medyatörlerin üretimini de azaltarak etkiler (14, 19, 22, 33).

Vitamin E'nin kas dejenerasyonu ve karaciğer nekrozunu engellediği bildirilmektedir (34). Vitamin E eksikliğine bağlı karaciğerde oksijen tüketimi durur. Biyosentez olaylarında bozulma ve dejeneratif bozuklukların oranında artış gözlenir. Mitokondriyal yapının şişmesi, permabilitenin bozulması gibi kas distrofinin şekillenmesinde meydana gelen olaylar gerçekleşir. Kaslarda O₂ alınımında artma oksidatif fosforilasyonda azalma olur. Mitokondriyadaki ATP sentezi de bozulur ve sonuç olarak proteinlerin biyosentezinde azalma meydana gelir. Kastaki transaminaz aktivitesi düşer. Bu yüzden vitamin E'nin enerji metabolizmasında da önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (35).

E vitamini antioksidan özelliği ile eritrosit dayanıklılığı ve kılcal damar bütünlüğünü de sağlar. Kan hücrelerinin pıhtılaşmasında tromboksan reaksiyonunu ve kan hücrelerinin çökmesini engeller (10). Vitamin E, nükleik asit metabolizmasında, DNA'nın biyosentezinde de önemli işleve sahiptir (22). E vitamini, lizozomal, asit fosfataz, beta glukoronidaz, kathepsin, beta galaktosidaz gibi spesifik enzim sistemlerinin artışına da yol açar (36).

3. SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron taşıyan, kimyasal olarak reaktiviteleri yüksek moleküllerdir (24). Kimyasal reaksiyonların bir çoğunda, molekülleri meydana getiren atomların aralarındaki bağın çözülmesiyle, farklı bir düzende yeni, kısa ömürlü ara bileşikler oluşur. Moleküllerdeki bağların parçalanması heterolitik ve homolitik olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Heterolitik parçalanmada bağın parçalanmasıyla, bağı oluşturan iki elektronda aynı atom üzerinde kalır ve sonuçta (+) ve (-) yüklü iyonlar oluşur. Bu parçalanma tipine iyonik parçalanma da denir (37).



Homolitik parçalanmada ise elektronlardan her biri farklı atom üzerinde kalır. Bu bağ parçalanmasına, eşleşmemiş elektron taşıyan moleküller meydana gelmesinden dolayı radikallik parçalanma adı verilir (38).



Radikal yapısına sahip atom veya moleküller eşleşmemiş elektronları nedeniyle ileri derecede reaksiyona girme eğilimi taşırlar. Radikal reaksiyonların en belirgin özellikleri çabuk gerçekleşmeleri ve peroksitler gibi radikallik parçalanmaya uğrayabilen bileşikler tarafından kolay bir şekilde başlatılabilmeleridir (38).

Serbest radikaller endojen veya ekzojen kaynaklı olarak oluşmaktadır. En büyük endojen üretim kaynağı elektron transport sistemidir. %2 oranında O₂ elektron transfer zincirine girerek süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olmaktadır. Eksojen serbest radikal üretim kaynağı ise radyasyon, kirli hava ve organik çözücülerdir (39).

3.1. Biyolojik Sistemlerde Oluşan Serbest Radikaller

Aerobik organizmalarda yaygın halde bulunan moleküler oksijen, radikal yapıya ara ürünlerle elektron alışverişine girerek radikal haline dönüşür ve hücre içinde serbest radikal reaksiyonları sayesinde çok miktarda oksijen türevi serbest radikaller oluşur. Bu nedenle aerobik organizmalar açısından en önemli radikaller, oksijen türevi serbest radikallerdir

(40). Bunlar arasında en önemlileri; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil (OH^{\cdot}) radikalleridir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), eşleşmemiş elektron içermediğinden radikal yapısına sahip değildir, fakat in vivo ortamda hidroksil radikaline dönüşme potansiyeline sahip olduğundan oksijen türevi radikaller ile beraber sınıflandırılır (41).

Moleküler oksijen, dış orbitalinde iki elektron bulundurmaktadır. Elektronların spinleri aynı yönde olduğundan reaktivitesi düşüktür. Biyolojik sistemlerde oksijen atomunun uyarılmasıyla singlet oksijen meydana gelmektedir ve ekstra enerji içeren oksijen olarak tanımlanmaktadır. Bu molekül çok sayıda molekülü okside etme özelliğine sahiptir. Singlet oksijenin, Glukoz 6 di fosfat'a bağlı eritrosit disfonksiyonu, membran hasarları, fagositozis, metabolik hidroksilasyon, karsinojenesiz gibi birçok biyolojik alanda etkisi olduğu bildirilmektedir (42).

Superoksit radikali, oksijenin bir elektronla indirgenmesi sonucunda oluşur. $O_2^{\cdot-}$ şeklinde gösterilir ve anyon olarak ifade edilir. $O_2^{\cdot-}$, ortamın pH'na bağlı olarak protonlanır ve kation olur ve perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) şeklini alır. Superoksit anyonunun eşleşmemiş elektronu vererek tekrar moleküler oksijene dönüşebildiği gibi bir elektron daha alarak hidrojen peroksit dönüştüğü ve biyolojik ortamlarda organik ve inorganik substratlarla reaksiyona girebildiği öne sürülmektedir (43).

Hidrojen peroksit, oksijen molekülüne iki elektron katılmasıyla oluşur (44). Kendisi bir radikal değildir fakat radikal oluşumunda öncül bir maddedir. H_2O_2 'nin hücrel hasar oluşumunda önemli rol oynadığı, protein, lipid, nükleik asit gibi makromoleküller üzerinde zararlı etkiler meydana getirdiği bildirilmektedir. H_2O_2 oluşumu daha çok süperoksit radikali üzerinden olmaktadır. Enzimatik olarak iki yol ile detoksifiye edildiği, bunlardan birinin glutatyon redoks döngüsü diğerinin ise CAT olduğu ifade edilmektedir (45). H_2O_2 , geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturmaktadır. Biyolojik sistemlerde hidroksil radikallerinin özellikle demirin katalizör olarak görev yaptığı bir reaksiyon aracılığı ile meydana geldiği düşünülmektedir (46). Hidroksil radikallerinin en fazla DNA ve membranlara hasar verdiği bildirilmektedir (39).

Serbest radikallerin, proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleotidlerdeki koruyucu sistemlerin üstesinden gelebildiklerinde kimyasal değişimler veya ciddi hasarlar

meydana getirdikleri ifade edilmektedir (36, 47, 48, 49). Serbest radikaller, hücrenin NAD^+ / $NADH$ ve $NADP^+$ / $NADPH$ redoks dengesini, nükleotidlere eklenip nükleotidlerin biyolojik özelliklerini değiştirebilirler, protein ve nonprotein tiyol gruplarını okside edebilirler, buna bağlı olarak da enzim aktivitelerinde önemli değişikliklere yol açabilirler. Serbest radikaller aynı zamanda hücrelere membran hasarı yolu ile de zarar verebilirler (49).

Son yıllarda bazı araştırmacılar; serbest radikallerin bazı hastalıklara ve doku hasarlarına neden olduğunu öne sürerlerken, başka araştırmacılar ise, serbest radikallerin hastalığın etyolojisinde değil patolojisinin şiddetini artırmada önemli rol oynadığını ileri sürmektedirler (36, 49).

3.2. Serbest Radikallere Karşı Savunma Sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri serbest oksijen radikallerine karşı üç yolla etkilerini gösterirler (50),

- 1- Radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi
- 2- Radikal oluşumunun sınırlandırılması
- 3- Meydana gelen radikallerin detoksifikasyonu

1- Radikal reaksiyonların sona erdirilmesi

Zincir reaksiyonlarında reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunun sona erdirilmesini sağlayan maddeler peroksil ($RCOO\cdot$ ve $RO\cdot$) radikallerdir. E ve C vitaminleri, ürik asit, karotenoidler gibi antioksidanlar, peroksil radikallerini ortadan kaldırarak zincir reaksiyonlarının ilerlemesini önlerler (51).

2- Radikal oluşumunun sınırlandırılması

Bu gruptaki antioksidanlar, serbest radikal üretimini, serbest radikallerin oluşumuna neden olan maddeleri durdurarak engellerler ve zincir reaksiyon başlama hızını düşürürler. Hücre dışı antioksidanlar olarak adlandırılan bu maddeler, Haber-Weiss reaksiyonlarını katalize eden metalleri bağlayan molekülerdir.

Radikal oluşumunun sınırlandırılmasında görev alan antioksidanlar metal iyonları ile şelat oluştururlar. Reaksiyon 1 ve 2'nin hızını azaltırlar. Transferrin, albumin, seruloplazmin, haptoglobulin, hemopeksin bu grupta yer alan bileşiklerdir (51).



3- Meydana gelen radikallerin detoksifikasyonu

Hücreleri serbest radikallerin hasarından koruyan üç enzim bulunur (50),

- a- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- b- Katalaz (CAT)
- c- Glutatyon Peroksidaz (GSH – Px)

a- Süperoksit Dismutaz

SOD'un ilk olarak McCord ve Fridovic tarafından eritrositlerden izole edildiği bildirilmektedir. Enzimin birçok dokuda ve organizmada bulunduğu, yüksek oranda reaktif süperoksit serbest radikallerin zararlı etkilerinden hücreleri koruduğu ve oksihemoglobinin methemoglobine okside olduğu durumlarda eritrositlerde oluştuğu belirtilmektedir (52). Enzim, süperoksit radikalının hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizler. Yapılan çalışmalarda, SOD'un, yaşlanma, kanser ve arteriyoskleroz, katarakt, amiloidozis, retinal hasar ve işemi gibi hastalıklar üzerine etkisi olduğu gösterilmektedir (53). SOD'un, hücrelerin sitozolünde, mitokondrilerinde ve plazmada bulunduğu ve prostetik grup olarak; bakır-çinko (Cu,Zn-SOD), mangan (Mn-SOD) veya demir (Fe-SOD) içerdiği ifade edilmektedir (52, 53, 54).

Bakır, Çinko Süperoksit Dismutaz

Bakır, Çinko Süperoksit Dismutaz, hayvansal hücrelerin sitozolünde yer alır (55). Enzimin eritrositlerdeki aktivitesinin karaciğer bozuklukları, böbrek yetmezlikleri, üremi gibi hastalıklarda yükseldiği, muskuler distrofi, idiyopatik pulmoner hemosiderosis gibi hastalıklarda ise düştüğü saptanmıştır (56). Çeşitli metallerin sığır SOD'un aktivitesi üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada, tek başına Cu^{+2} 'nin enzim aktivitesinin yeniden kazanılmasını sağladığı, Zn^{+2} ile birlikte enzim stabilitesinin sağlanmasına katkıda bulunduğu, Cu^{+2} 'nin etkilerinin başka bir element tarafından sağlanamadığı fakat Zn^{+2} 'nin enzim üzerindeki etkisinin Co^{+2} ve Hg^{+2} tarafından da sağlanabildiği bildirilmektedir (57).

Mangan Süperoksit Dismutaz

Beckman ve ark. (58)'nin yaptıkları çalışmada, enzimin tavuk mitokondrilerinden izole edildiği tespit edilmektedir. Mn-SOD aktivitesinin, alkole bağlı karaciğer bozukluklarında yükseldiği, romatoid artritli hastalarda düştüğü belirtilmektedir (56).

Mn-SOD'un etki mekanizması Cu, Zn-SOD ile benzer olmakla beraber yapılan çalışmalarda, Cu, Zn-SOD'ın aktivitesinin 5.5-10 arasındaki pH değişimlerinden etkilenmediği halde, Mn-SOD'ın aktivitesinin pH 7'den sonra düştüğü ifade edilmektedir (59).

Demir Süperoksit Dismutaz

Fe-SOD'un sadece, *Escherichia coli*, algler ve *Euglena gracilis* gibi prokaryotik organizmalarda bulunduğu bildirilmektedir (53).

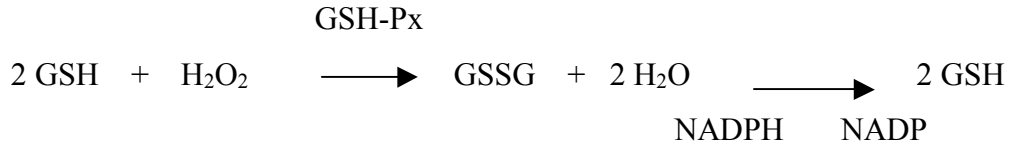
b- Katalaz

CAT'ın ilk olarak Sumner (60) tarafından sığır karaciğerinden kristalize edildiği ifade edilmektedir. 240.000 molekül ağırlığında, her biri protoporfirin halkası ve Fe atomu içeren dört adet benzer alt ünitelerden oluşmaktadır. CAT'ın hidrojen peroksiti detoksifiye ederek, hidrojen peroksitin düşük konsantrasyonlarda etanol veya fenoller gibi elektron

vericilerini oksitlediği de bildirilmektedir. Hidrojen peroksidin üretimini farklı dokularda farklı düzeyde gerçekleştirdiği ve buna bağlı olarakta CAT'ın görevinin dokudan dokuya hücre üstü bölümlerde farklılıklar gösterdiği öne sürülmektedir (61). CAT aktivitesi karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yüksektir (54). Olgun eritrositlerde CAT'ın sitoplazmada ve eritrosit membranında bulunduğu öne sürülmektedir (62).

c- Glutasyon Peroksidaz

Memeli eritrositlerinde GSH-Px varlığının ilk olarak Mills tarafından bulunduğu ifade edilmektedir (63). Enzim redüklenmiş GSH oksidasyonu ile hidrojen peroksidi detoksifiye eder. Hidrojen peroksidin redüklenmesi esnasında redüklenmiş glutasyon, oksitlenmiş hale geçer. GSH-Px'ın antioksidan etkisinin devamı için, okside glutasyonun tekrar redükte olması gereklidir. NADPH bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz tarafından bu reaksiyon gerçekleşir. NADPH'ın rejenere olması için glikoz-6-fosfat dehidrojenaz'a ihtiyaç vardır (45, 64, 65).



Yapılan bir çalışmada, koyun eritrositlerinden izole edilen GSH-Px; her enzim için 4 g Se içerdiği ve moleköl ağırlığının 88.000 olduğu bildirilmektedir (64). Tavuk ve ratlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, kan plazmasındaki GSH-Px aktivitesinin Se alınımıyla yakından ilişkisi olduğu öne sürülmektedir (66).

4. LİPİD PEROKSİDASYONU

Doymamış yağ asitleri, serbest radikal reaksiyonları ile kanser, yaşlanma, şeker hastalığı, arteriyoskleroz gibi hastalıkların oluşumunda rol oynayan lipid peroksidasyonuna neden olurlar (67). Lipid peroksidasyonu (LPO) da, doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ve oksijen kaynaklı hasarı şeklinde tanımlanır (68). Lipid peroksidasyonu bitki ve hayvanların hücrelerinde normal olarak meydana gelen bir olaydır.

Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak, doymamış lipidlerde bulunan çift bağlar yeniden düzenlenir ve sonucunda membran lipidlerinden alkoller, ketonlar, aldehidler ve eterler gibi çok sayıda yıkılım ürünleri meydana gelir. Sadece linoleik asidin peroksidasyonu sonucu en az 20 adet yıkılım ürünü oluşmaktadır (69).

Hücre membranlarının yapısında bulunan poliansatüre yağ asitleri yapılarında fazla sayıda çift bağ bulundurmaları ve oksijenden zengin metal içeren bir sıvı içinde olmaları nedeniyle serbest radikal hasarına en duyarlı yapılardır (69).

Lipid peroksidasyonu membran yapısındaki poliansatüre yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir hidrojen atomunun çıkarılmasıyla başlar. Bu durum, metilen gruplarından bir hidrojen atomunu kopartabilme yeteneğine sahip herhangi bir kimyasal madde ile başlatılabildiği gibi ısı, ışık, radyasyon gibi dış kaynakların etkisi ile de oluşabilmektedir (68, 69). Kopartılan hidrojen atomu geride eşleşmemiş elektron taşıyan bir lipid radikali ($R\cdot$) bırakır. Doymamış yağ asitlerinden oluşan karbon merkezli radikaller, konjuge dien yapısını oluştururlar ve konjuge dien yapısına oksijen eklenmesiyle peroksil radikali ($R\cdot$) meydana gelir. Meydana gelen radikaller komşu poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek zincirleme olarak devam eden peroksidasyon reaksiyonlarına yol açarlar. Reaksiyon zincirinin ancak, radikal yapıları iki ürünün etkileşerek radikal yapıya olmayan bir ürün oluşturmasıyla veya serbest radikal yok edici maddelerin etkisiyle sonlanabileceği ileri sürülmektedir (68).

Lipid peroksidasyonunun enzimatik işlemler (lipooksijenaz, siklooksijenaz) tarafından da başlatılabildiği ve lipooksijenaz enziminin trombositler ve plasenta gibi dokularda bulunduğu bildirilmektedir (48). Slater (48), düşük düzeylerde lipid

peroksidasyonunun birçok normal hücresel işlem için gerekli olduğunu ve lipid peroksidleri ile yarı stabil yıkım ürünlerinin düşük seviyelerinin, intraselüler ve ekstraselüler elçi olarak görev yaptığını öne sürmektedir .

Lipid peroksidasyonu ile ilgili çalışmalarda (67, 69, 70) geçiş metallere önemi vurgulanmaktadır. Bütün geçiş elementleri metaldir ve radikal olarak kabul edilmektedir. Fe^{+2} , Cu^{+2} iyonları ya da basit şelatları lipozomlara ya da izole edilmiş biyolojik membranlara eklendiğinde peroksidasyon şekillenmektedir. Membran yapısındaki proteinlerdeki sülfhidril gruplarının Cu^{+2} 'yi Cu^{+} 'ya indirgeyebileceğinden bazı durumlarda indirgen gücün membranın kendisinden de sağlanabileceği ve mikrozomal elektron taşıma zincirinin de NADPH varlığında Fe^{+3} 'ü, Fe^{+2} 'ye indirgeyebileceği bildirilmektedir. Bu tür reaksiyon ortamlarında genellikle hidroksil radikalının saptandığı belirtilmektedir (68). Enzimatik olarak indirgen demirin NADPH-bağımlı lipid peroksidasyonunun başlaması ve yayılmasında önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (71). Mikrozomal membran lipidleri özellikle poliansatüre yağ asitleri NADPH-bağımlı lipid peroksidasyonu sırasında yıkıma maruz kalırlar. Bu durumu hızlandıran şartlar; radyasyon, fotosensitizörlerin varlığında ışık, hiperbarik basınç, hiperoksi, ozon, nitrojen oksitler ve dialurik asitlerdir. Mikrozomal lipid peroksidasyonuna bağlı malondialdehit, lipid peroksidler ve konjuge dienerler üretilir (69). Malondialdehit, dokularda, serumda, plazmada ve eritrositlerde lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan ikincil peroksidasyon ürünüdür (71).

Lipid peroksidasyonu, hiperoksi, hipoksi, bakır veya demir toksisitesi ve antioksidan yetersizliklere bağlı olarak uyarılır. Antioksidan mekanizmalar lipid peroksidasyonunu kontrol ederler ancak koruyucu mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda peroksidasyon ürünlerinin dokulardaki düzeyi yükselir ve membran hasarı meydana gelir (70).

Lipid peroksidasyonunun arteriyoskleroz gelişmesinde de önemli olduğu bildirilmektedir. Peroksidasyon ürünlerine karşı oluşturulan antikorlar arteriyoskleroz ve şeker hastalarının serumunda saptanmıştır. E vitamini gibi antioksidanların da arteriyosklerozun ilerlemesini engellediği ve kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azalttığı bildirilmektedir (72).

5. STRES

Stres, anormal koşullar veya sıradışı talepler ile karşılaşıldığında spesifik olmayan yanıtlar ve vücudun savunma mekanizmasının toplamını tanımlayan genel bir terimdir. Çevre ve beslenme koşulları ile patolojik rahatsızlıkların dahil olduğu birçok faktör strese sebep olabilir (73).

Dobson ve ark. (74)'na göre stres; hayvanların çevrelerindeki olumsuzluklarla baş etmelerindeki başarısızlığı ifade eden bir olgu olup, ticari yetiştiricilikte üzerinde durulan büyüme oranı veya diğer verim parametreleri gibi genetik potansiyeldeki gelişmelerin, ekonomik zarar şeklindeki yansımasıdır.

Stres günümüzün önemli konularından biridir. Vitamin ve enerji gereksiniminin artmasına sebep olur (1). İyi beslenme koşullarında, yoğun olmayan stresin immun sisteme çok zarar vermediği, vitamin ve vücut için gerekli diğer besinsel faktörlerin alınımı yetersiz olduğunda ise, yoğun bir strese maruz kalmanın yan etkiler meydana getirdiği vurgulanmaktadır. Karotenler, askorbik asit ve vitamin E'nin stres giderici özellikleri olduğu ileri sürülmektedir (1).

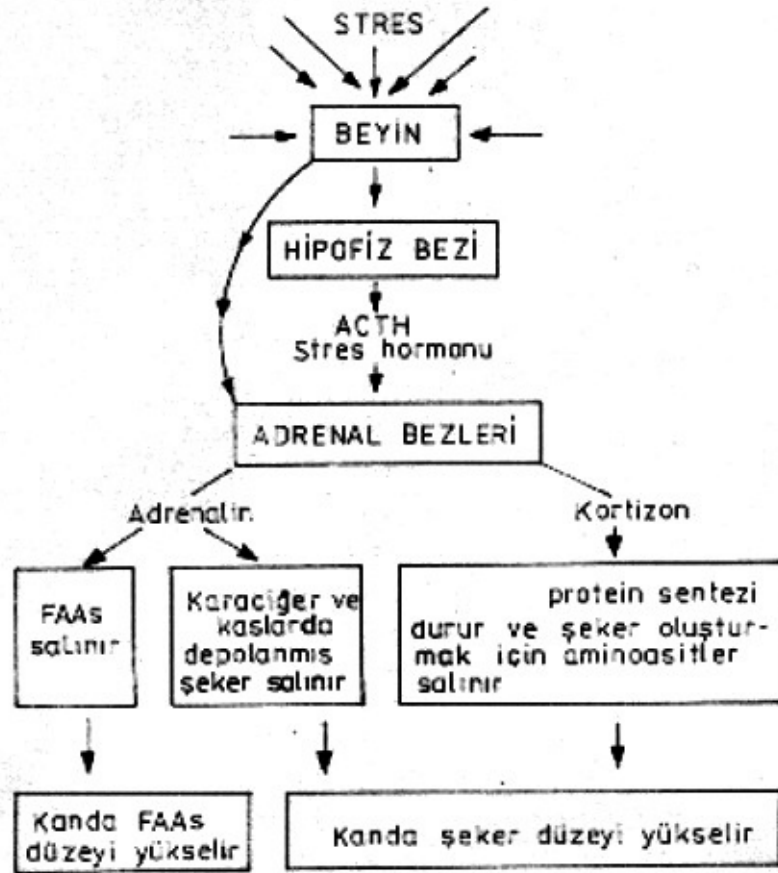
Stres yapan faktörlere "stresör" denir. Stresör'lerin çok değişik kökenli olup hayvanlar ve insanlarda farklılık gösterdiği ifade edilmektedir (75).

Hayvanlardaki stres faktörlerinin;

1. Çevresel faktörler: İklim, ani hava ve yem değişiklikleri,
2. Toplumsal faktörler: Havalandırma bozukluğu, nakil, aşılama, gaga kesimi, hayvanlar arasında saldırganlık v.s.,
3. Beslenme ile ilgili faktörler: Dengesiz beslenme, yemlerin vitamin ve minerallerden noksan oluşu,
4. Fizyolojik faktörler: Sıfat, gebelik, doğum, emzirme ve gelişme gibi durumlara bağlı olarak organizmanın yaşam ihtiyaçlarının artması,
5. Patolojik faktörler: Patojen bakteri, virüs, iç ve dış parazitler.
6. Endüstri tipi yetiştiricilik

olduğu bildirilmektedir (75).

Organizmanın tehdit edilmesi ve bu yüzden dengenin bozulması canlılığı korumaya yönelik alarm reaksiyonunun oluşmasına neden olur. Alarm reaksiyonu olarak adlandırılan dönem, organizmanın dış uyarı stres olarak algılandığı durumdur. Alarm safhasında klasik tepki zinciri oluşur (Şekil 6).



Şekil 6. Alarm safhasındaki klasik tepki zinciri (75).

Stres sonuçları, stresin doğasına bağlıdır. Bununla beraber, stresin tüm formlarında hormonal değişimler gözlemlenmektedir (1). Organizmada hipotalamus, hipofiz ve adrenal eksen (HPA); olumsuz şartlara adaptasyon mekanizması şeklinde ifade edilmektedir. Kısa dönemde, zararlı uyarana karşı artan kortizol salınımı stresin etkisiyle başa çıkabilmek için vücut depolarını yıkımladığı ve yaralanmalara karşı yangısal cevabı düzenlediği

bildirilmektedir (76). Uzun dönemde artan kortizol düzeylerinin immun sistem ve büyüme üzerine olumsuz etkileri olduğu ifade edilmektedir (76).

5.1 Kanatlılarda Stres ve Isı Stresi

Kanatlılarda, stres yaratan birçok faktörün neticesinde biyokimyasal ve fizyolojik uyumdan oluşan bir kombinasyon harekete geçer ve sonuçta kanatlı performansı azalır (77). Strese karşı oluşan cevap, ya duruma adapte olma ya da koruyucu olma şeklindedir. Bu şekilde stres kaynaklı zararlı etkiler en düşük düzeye indirgenmiş olur. Bazı büyük fizyolojik sistemler bu cevaplara arabuluculuk ederler. Kaçma veya savaşıma şeklinde sempatoadrenal sistem tarafından uyarılan savunma mekanizması ya da hipotalamo adenohipofizyel-adrenokortikal eksenin arabuluculuk yaptığı adapte olma mekanizması devreye girer. Stres faktörlerinin bu sistemler üzerindeki olası darbesi fizyolojik ve davranışsal değişimlere neden olur. Fizyolojik olarak, hormonlar, enzimler ve organ fonksiyonlarını içine alan değişimler gerçekleşir (78).

Kanatlı yetiştiriciliğinde en önemli çevresel faktörlerden birisi sıcaklık stresidir (2, 3, 4). Ortam ısısının yükselmesi kanatlılarda vücut ısısını düzenleyici mekanizmayı bozmaktadır (5). Kanatlı yetiştiriciliğinde ideal ısının 20-27 °C, nemin ise %50'den düşük olması gerektiği bilinmektedir (4, 6). Sıcaklığın 30 °C üstüne çıkması halinde ısı stresinin başladığı kabul edilir. Kanatlılarda, ter bezleri olmadığından , vücutlarının % 95'i tüylerle kaplı olduğundan ve derileri geniş oranda yağ tabakası içerdiğinden vücut ısısı düşürülemez (6). Kanatlıların bu durumda, vücutlarında oluşan ısıyı çevreye dağıtmalarındaki zorluklara bağlı olarak, yem tüketimi, canlı ağırlık kazancı, yumurta verimi ve kabuk kalitesinin düştüğü (6, 78), kan asit –baz dengesi ile besin maddelerinin sindirilme derecelerinde azalma görüldüğü bildirilmektedir (3, 5, 7).

Yaz ayları boyunca 30°C üzerindeki, her 1°C lik artışta yem tüketiminin % 4-5 oranında azaldığı ifade edilmektedir (6). Kümeslerde kullanılan soğutma ve izolasyon sistemlerinin pahalı olmasından dolayı günümüzde, meydana gelen olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için yetiştiriciler farklı yöntemler denemektedirler. Yetiştiricilerin; hayvanların geçici bir süre aç bırakılması, farklı yemleme metotlarının uygulanması, sıcak saatlerde hayvanların dinlendirilmesi, vitamin veya benzeri maddelerin rasyona fazladan

ilavesi gibi besin madde bileşiminde değişiklikler yapılması ve sıcaklık stresine dayanıklı ırklar geliştirilmesi gibi farklı yöntemleri kullandığı bildirilmektedir (3, 6, 79).

Broylerler üzerinde yapılan bir çalışmada, hayvanlar 8 saat 24 °C'de bırakıldıktan sonra ısı 2 saatte bir artırılarak sıcaklık 35 °C'ye çıkarılmıştır. Sıcaklık artışının yem tüketimini ve ağırlık artışını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir (78). Filizciler ve ark (7)'nin sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla yumurtacı tavuklarına gece yemlemesi uyguladıkları çalışmada kontrol grubunda 05.00-21.00 saatleri arasında, deneme grubunda ise 17.00-09.00 saatleri arasında yemleme yapılmıştır. Kırık-çatlak yumurta oranının kontrol grubunda denemeye kıyasla daha yüksek bulunduğu, yumurta veriminin ise deneme grubunda daha yüksek olduğu belirtilmiştir (7).

Ertaş ve Şahin (3) çalışmalarında; sıcaklık stresine maruz kalan yumurta tavuklarında, farklı yoğunlukta rasyonlar ve farklı yemleme yöntemlerinin yumurta kalitesi ve verimine etkisini incelemiştir. Kontrol grubu, günün en sıcak olduğu 14.00-18.00 saatleri arasında yemliklerin çekilip karartmanın uygulanmadığı grup, günün en sıcak olduğu saatlerde yemliklerin çekilmeyip karartmanın uygulandığı grup şeklinde 3 grup oluşturulmuş ve en yüksek ortalama canlı ağırlığının, yumurta veriminin, yumurta kabuk kalınlığının ve yumurta özgül ağırlığının karartma grubunda bulunduğunu ve bunu sırasıyla yem çekme ve kontrol gruplarının izlediği bildirilmiştir (3)

Kanatlılarda sıcaklık artışında, zor nefes almak ve nefes nefese kalmak, gaga ve ibiklerin suya batırılması, kanatların düşmesi ve yarı yarıya uzaması, susuzluk artışı ve iştah azalması, konvülzyonlar ile seyreden semptomlar görülmektedir (6).

Organizmada ise, plazma, kortikosteroid, protein, glukoz, sodyum konsantrasyonlarında ve heterofil/lenfosit (H/L) oranlarında yükselme, potasyum konsantrasyonunda ve adrenal bez, bursa fabrisius, dalak, tiroid gibi organ ağırlıklarında düşme ile seyreden değişimler gerçekleşir (2). Sıcaklık artışında hızlı solumaya bağlı olarak büyük oranda karbondioksit kaybı olur. Kan pH seviyesi düşer ve metabolik asidoz meydana gelir (6). Hızlı soluma sonunda karbondioksit ve su kaybı yeterli seviyede bikarbonat oluşumunu engeller. Bikarbonat, kalsiyum ile birlikte kabuk oluşumunda önemli bir faktördür. Sıcak ortamda yeterli bikarbonat oluşmaması ve yem tüketiminde

azalmasına baęlı olarak kalsiyum seviyesinin dūşmesiyle yumurta kabuk kalitesinin bozulduęu ifade edilmiřtir (4).

Araştırmacılar (73, 77) tarafından kanatlılarda ısı stresinin; savunma mekanizmasında azalma veya immun sistem üzerinde baskılayıcı etki oluşturma ve oksijen serbest radikallerinin (OH ve O²⁻) üretimine neden olma gibi olumsuz etkilere sebep olduğu bildirilmektedir .

Serbest radikaller metabolik rahatsızlıklara ve hücrenel zarara neden olurlar. DNA'ya yakın şekillenen reaktif serbest radikallerin hücrede mutasyon veya sitotoksitate meydana getirerek, enzim aktivitesinde de değişikliklere sebep olduğu ileri sürülmektedir. Reaktif serbest radikaller, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) lipid peroksidasyonu ile hücrelerde hasar oluştururlar. PUFA'lardan zengin yemle beslenen civcivlerde oksidatif stres ve karaciğer lipid peroksidasyonu gözleendiği ve vitamin E yönünden eksik yemlerle beslenen hayvanlarda kondüsyonun daha kötü olduğu bildirilmiştir (73). E vitamininin membran içi antioksidan özellikleri ile doku zarlarını serbest radikal saldırılarından kaynaklanan lipid peroksidasyonundan koruduğu, hücre zarı fonksiyonlarının entegrasyonu ile ilgili kayıpları azalttığı, hücrenel geçirgenliği artırdığı ve sonuç olarak yumurta tavuklarını sıcak stresinin etkisinden koruduğu ifade edilmektedir (73, 77).

Kanatlılarda stres koşulları altında salınan ana hormon steroid yapıda olan kortikosterondur. Kortikosteron konsantrasyonundaki değişimler ikincil olarak diğer hormon sistemlerini etkiler; noradrenalinin adrenaline dönüşümü, tiroid hormonların üretimi gibi. H/L oranı; hipotalamo-adenohipofizyel-adrenokortikal eksen aktivitesinin göstergesidir ve strese bağlı artar. Kanatlılarda H/L oranı fizyolojik stresin en hassas ve en kuvvetli göstergesidir (2). Kortikosteron ve kateşolaminlerin salınımının uyarılması, hücre membranında T ve B lenfosit membranlarını da içine alarak lipid peroksidasyonuna neden olur (31). T ve B lenfosit aktivitesindeki azalma yanında bursa fabrisius, dalak gibi immun sistem organ ağırlıkları da düşer (2).

5.2. Stres ve Vitamin E

E vitamini, yumurtacı tavuklarda ısı stresi esnasında 2 büyük fonksiyona sahiptir; biri antioksidan olarak, ikincisi ise immun sistem modulatörü olarak. Isı stresi sırasında fonksiyonunun zincir kıran antioksidan olduğu düşünülmektedir (25). Vitamin E oksidatif strese karşı hücreyi korur ve ısı stresi esnasında hücrelerdeki metabolik değişikliklere karşı savaşta kullanılır. E vitamininin antioksidan rolü ise tavuklarda immun cevabın gelişmesinde önemlidir. E vitamininin immun yanıtındaki önemi, lenfosit, makrofaj, plazma hücrelerinin fonksiyon ve proliferasyonunu artırarak koruyucu görev üstlenmesidir (30). Diyetlere eklenen E vitamininin tarla ve laboratuvar hayvanlarında enfeksiyonlara karşı direnci yükselttiği öne sürülmektedir (25). 1989 yılında Tengerdy (13), Vitamin E ilavesinin hayvanlar için çok etkili olduğunu, çünkü E vitamininin stres kaynaklı kortikosteronun negatif etkilerini azaltabileceğini ifade etmektedir.

Sağlıklı bir kanatlı, aktif oksijenleri uzaklaştıracak yeterli antioksidan kapasiteye sahiptir, fakat çevresel stresle karşılaşıldığında kapasitesi baskılanabilir. E vitamini membranlardaki antioksidan özelliğiyle stres sırasında artan serbest radikallerden kaynaklanan lipid peroksidasyonundan dokuları korur, bu da çevresel stresin etkisini azaltır (77). Woodall ve ark. (80) yaptıkları çalışmada oksidatif strese karşı antioksidanların koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışmada antioksidan olarak alfa-tokoferol, beta-karoten ve kantaksantin kullanıldığı, diyetle ilave edilen alfa-tokoferolün incelenen tüm dokulardaki alfa-tokoferol seviyelerini yükselttiği bildirilmekte ve ayrıca diyetle ilave edilen antioksidanların karaciğerdeki oksidan strese karşı direnci artırdığı ifade edilmektedir (80).

Yapılan başka bir çalışmada diyetle ilave edilen E vitamininin ısı stresi sırasında yumurtacı tavuklarda, performansa, lenfosit proliferasyonuna ve antioksidan aktiviteye etkisi incelenmiştir. Hayvanlara 3 farklı (25 IU, 45 IU, 65 IU) dozda E vitamini verilmiş ve hayvanlar 3 hafta süresince ısı stresine maruz (35⁰C) bırakılmışlardır. Vitamin E nin antioksidan aktivitesini değerlendirmek amacıyla lipid peroksidasyon göstergesi olan tiyobarbitürikasit (TBA) değerlerine bakılmış ve 65 IU E vitamini alan grupta yumurta sarısında ve plazmadaki TBA değerleri diğer gruplara oranla düşük bulunmuştur (81). Surai ve ark. (28)'da yaptıkları bir çalışmada diyetle ilave edilen E vitamininin, gelişmekte

olan tavukların dokularındaki E vitamini konsantrasyonunu artırdığı ve lipid peroksidasyonuna karşı duyarlılığı azalttığı ifade edilmektedir (28).

Öztürk ve ark. (82) yaptıkları bir çalışmada diyetlerinde antioksidan vitamin (E ve C) ve element (Cu, Se) bulunan tavuklarda dokulardaki SOD, CAT ve GSH_Px ve LPO seviyeleri incelenmiştir. Çalışmada kontrol, Cu, Se, vitamin E, vitamin C ve vitamin A grupları olmak üzere 6 grubun oluşturulduğu bildirilmiş, vitamin E, vitamin C ve Se alan gruplarda GSH-Px aktivitesinin belirgin ölçüde yükseldiği ve LPO seviyesinin düştüğü ifade edilmiştir. Çalışma sonucunda ise ortalama % 60 nem ve 45⁰C sıcaklıkta E ve C vitaminlerinin antioksidan enzim aktivitesini yükselttiği ve LPO seviyelerini düşürdüğü belirtilmektedir.

Avanzo ve ark. (83)'nin yaptıkları çalışmada; tavuk kasında E vitamini ve Se'un oksidatif strese karşı direnç oluşumunda etkisinin araştırıldığı ve E vitamini almayan hayvanlarda; GSH seviyesinin ve GSH-Px aktivitesinin azaldığı bildirilmektedir. Diyetlerine E vitamini ve Se ilave edilen hayvanlarda, GSH-Px / Cu, Zn SOD oranının 2,8 iken diyetlerine E vitamini ve Se ilave edilmeyenlerde oranın 0,13'e düştüğü belirtilmektedir.

Whitehead ve ark. (84)'nin yaptıkları çalışmada, diyetlere 5 farklı dozda (10, 125, 250, 375, 500 mg /kg) E vitamini ilave edilmiş ve hayvanlar 4 hafta boyunca ısı stresine (32⁰C) maruz bırakılmışlardır. Deneme boyunca hayvanların, yumurta üretimi, yem tüketimi ve canlı ağırlık artışı incelenmiştir. Diyetlerine 500 mg /kg E vitamini ilave edilen grupta sıcaklık stresinden kaynaklanan yumurta verim düşüşünün en az olduğu belirtilmiştir. Denemede en ideal sonuçların 125 mg/kg E vitamini alan grupta olduğu ifade edilmiştir.

Kirunda ve ark'nın (85) yaptıkları çalışmada yumurtacı tavuk diyetlerine 3 farklı dozda (20, 60, 120 IU /kg) E vitamini ilave edilmiştir. Deneme grubundaki hayvanlar 2 hafta boyunca ısı stresine (34⁰C) maruz bırakılmışlardır. Sıcaklık artışının etkisiyle, yem tüketiminde azalma, yumurta veriminde azalma, yumurta ağırlığında azalma olduğu ifade edilmiştir. Yem tüketiminin en çok 120 mg /kg E vitamini alan grupta olduğu belirtilmiştir.

Yumurta veriminin 20 IU E vitamini alan ve ısıya maruz kalanlarda en düşük, diğer gruplarda ise yüksek olduğu vurgulanmıştır.

Bollengier ve ark. (86)'nın yaptığı çalışmada da, farklı dozlarda (125, 250, 375, 500 mg/kg) E vitamini alan yumurtacı tavukların 4 hafta süreyle ısı stresine (32⁰C) maruz bırakıldıkları ve hayvanların yumurta verimi, yem tüketimi ve vücut ağırlığı yönünden incelendikleri bildirilmiştir. Çalışmada; diyetlerine uzun dönem E vitamini ilave edilenler ve kısa dönem E vitamini ilave edilenler olmak üzere 2 deneme grubunun kullanıldığı ifade edilmiştir Isı stresinin hayvanlarda yumurta verimini düşürdüğü ve stres sırasında en yüksek yumurta veriminin kısa dönemli olan grupta 500 mg /kg E vitamini alanlarda olduğu bildirilmiştir. Uzun dönem E vitamini ile beslenenlerde ise en yüksek verim 250 mg/kg E vitamini alanlarda olduğu vurgulanmıştır. Yumurtaların ortalama ağırlıklarının her iki uygulamada da benzer sonuçlar gösterdiği ve yem tüketiminin ısıyla beraber azaldığı belirtilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada yine farklı E vitamini (10, 500 mg/kg,) konsantrasyonlarının ısı stresi sırasında etkisini incelemek amacıyla, yumurta veriminin, plazma kalsiyum konsantrasyonunun, yumurta sarısı prokürsörlerinin stres öncesi, stres sırası ve sonrasında incelendiği bildirilmiştir. Yumurta verimi ve yumurta ağırlığının ısı stresi ve sonrasında 500 mg /kg E vitamini alanlarda en yüksek bulunduğu ifade edilmiştir (73).

Morillo ve ark. (87)'nin yaptığı bir çalışmada, ısı stresine (32-34⁰C) maruz kalan broylerlere 2 farklı dozda (50, 150 IU/kg) E vitamini uygulamasının yapıldığı ve hayvanların canlı ağırlık ve yem tüketimleri yönünden incelendikleri bildirilmiştir. 150 IU/kg E vitamini alan grupta yem tüketiminin daha iyi olduğu belirtilmiştir.

6. GEREÇ ve YÖNTEM

6.1. Hayvan Gerci

Araştırma, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı deneme kümeslerinde, toplam 150 adet 26 haftalık Leghorn hattı yumurta tavuğu kullanılarak, Temmuz 2003 ile Eylül 2003 arasında tek aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışmada; aynı ortam koşullarına sahip klimalı 2 kümes kullanılmıştır. Her kümesde 75 adet tavuk bulunmuştur.

6.2. Araştırma Dizaynı ve Uygulamaları

Araştırma Dizaynı

Çalışmaya alınan hayvanlar kontrol ve deneme olarak 2 gruba ayrılmıştır. Kontrol ve deneme gruplarındaki bulunan 75'er adet hayvan kendi içlerinde 3 alt gruba ayrılarak 25'erli gruplar halinde yumurta tavuğu kafeslerine yerleştirilmiştir. Gruplar, ısı stresi uygulanmayan (Kontrol grubu) ve ısı stresi uygulanan (Deneme grubu) şeklinde ayrılmıştır. Alt gruplar ise şu şekilde düzenlenmiştir.

Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi (30 mg /kg E vitamini) ile beslenen grup. Isı stresi uygulaması yapılmamıştır (21⁰C).

Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg /kg E vitamini ilave edilmiş grup. Isı stresi uygulaması yapılmamıştır (21⁰C).

Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg /kg E vitamini ilave edilmiş grup. Isı stresi uygulaması yapılmamıştır (21⁰C).

Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi (30 mg /kg E vitamini) ile beslenen grup. Isı stresi uygulaması yapılmıştır (3 hafta boyunca 35⁰C) .

Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg /kg E vitamini ilave edilmiş grup. Isı stresi uygulaması yapılmıştır (3 hafta boyunca 35⁰C).

Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg /kg E vitamini ilave edilmiş grup. Isı stresi uygulaması yapılmıştır (3 hafta boyunca 35⁰C).

Her bir alt grup, beşli replikasyonlu çalışılmıştır. Araştırma 9 hafta sürmüştür. Yumurta tavuklarında, kümes ideal ısısının 20-24⁰C olması gerektiği için (88), tüm hayvanların adaptasyonu açısından, ilk üç hafta süre ile % 45 bağıl nem ve 21⁰C oda ısısında tutulmuşlardır. Dördüncü hafta deneme grubunun ısısı 35⁰C'ye, nem de % 65'e yükseltilmiştir. Takip eden üç hafta boyunca hayvanlar aynı kondüsyona maruz bırakılmışlardır. Yedinci hafta ısı tekrar üç hafta süreyle 21⁰C'ye düşürülmüştür. Kontrol grubunun oda ısısı 9 hafta süresince 21⁰C, nem de % 45 olarak sabit bırakılmıştır. Deneme süresince havalandırma, kümeslerdeki havalandırma kapağından yapılmıştır. Aydınlatma, kontrol ve deneme gruplarında 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde uygulanmıştır.

Araştırmanın 13. (ısı stresi öncesinde), 34. (ısı stresi sırasında) ve 55. (ısı stresi sonrasında) günlerinde olmak üzere 3 kez kan alınmıştır. Elde edilen örneklerde plazma ve yumurta sarısı E vitamini, plazma MDA, eritrositlerde MDA, GSH-Px, CAT, SOD ve yumurta sarısında MDA spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

Araştırma süresince yumurta verimi ve yumurta kalitesine ait parametrelere (yumurta ağırlığı, yumurta özgül ağırlığı, yumurta akı yüksekliği, kabuk ağırlığı, kabuk kalınlığı) kan alım günlerinde toplanan yumurtalarda bakılmıştır.

Yem ve Su Uygulaması

Rasyonlar, Amerika Ulusal Araştırma Konseyi'nin (NRC) (National Research Council) (89) belirttiği besin maddeleri değerlerine göre hazırlanmıştır. Deneme süresince kontrol grupları standart yumurta tavuğu yemi ile beslenmişlerdir. Deneme gruplarının (D2, D3) diyetlerine ekstra E vitamini ilave edilmiştir (+50, +75 mg /kg E vitamini). Kontrol ve deneme grubundaki hayvanlara 9 hafta süresince her gün 125 g yem verilmiştir. Araştırma süresince tüm gruplara ad libitum su verilmiştir.

Tablo1. Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarına uygulanan yemlerin kompozisyonları.

İçerik	%	K1	K2	K3	D1	D2	D3
Mısır	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
Buğday	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
Tam Yağlı Soya fasülyesi	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
Ayçiçek yağı	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Küspesi							
Yağ	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Dikalsiyum Fosfat	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
DL-Metiyonin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Limestone	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50	9.50
Vitamin+mineral premix*	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Tuz	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Et ve Kemik unu	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Gluten	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
L-Lizin	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Vitamin E**	30 m/kg	30mg/kg	80mg/kg	105mg/kg	30mg/kg	80mg/kg	105mg/kg
Antioxdant	10mg/kg	10mg/kg	10mg/kg	10mg/kg	10mg/kg	10mg/kg	10mg/kg

Her 1 kg yemde bulunan vitamin miktarı: Vitamin A. 10.000.000IU; vitamin D3. 2.000.000 IU; vitamin K3. 3 mg /kg; vitamin B1. 3 mg; vitamin B2. 6 mg; vitamin B6. 4 mg; vitamin B1. 2; 15 mg; Ca pantotenat. 10 mg; Niasin 25 mg; Folik asit. 1mg; D Biotin; 25 mg . Her 1 kg yemde bulunan mineral miktarı: Mn. 80 mg; Fe .60 mg; Zn. 60 mg; Cu. 5 mg; Co 500 mg; Se. 150 mg.

Tablo2. Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarına uygulanan yemlerin besin değerleri.

	%	K1	K2	K3	D1	D2	D3
Kuru Madde	89.00	89.00	89.00	89.00	89.00	89.00	89.00
Kuru Protein	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
Kuru Lif	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Kül	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
HamYağ	5.20	5.20	5.20	5.20	5.20	5.20	5.20
Ca	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
P	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Metabolize Edilebilir Enerji (ME Kcal/kg)	2750	2750	2750	2750	2750	2750	2750

6.3. Örneklerin Toplanması

Kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanların kanat altı venalarından (V. Subcutanea ulnaris), araştırmanın 13. (ısı stresi öncesinde), 34. (ısı stresi sırasında) ve 55. (ısı stresi sonrasında) günlerinde olmak üzere 3 kez kan alınmıştır. Kan alınımına sabah 08.30'da başlanmıştır. Kan alınımında her hayvan için 2'şer heparinli tüp kullanılmıştır. Tüplerden biri ile plazma, diğeriyle eritrosit paketi hazırlanmıştır. Alınan kanlardan 3000 rpm' de 10 dakika santrifüje edilerek plazmalar elde edilmiştir. Plazma örneklerinin hepsi numaralandırılarak -25⁰C'de analizlerin yapıldığı güne kadar saklanmıştır.

6.4. Eritrositlerin Analiz için Hazırlanması

Çalışmanın deneysel bölümünde kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanlardan alınan heparinli kanlarda plazma ve eritrositler arasında kalan lökosit ve trombosit tabakası otomatik pipetle alınıp atıldıktan sonra dibe

çökmüş olan eritrositler , Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) çözeltisi ile yıkanarak santrifüj edilmiştir. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Son santrifüj sonrası tüpün dibinde kalan eritrosit sedimentinden, distile su ilave edilerek 0.4 ml alınarak 0.4 ml PBS ile küçük plastik tüpe aktarılmış, enzim tayinleri için analizler yapılincaya kadar derin dondurucuda saklanmıştır. Eritrositler, analizler yapılmadan önce saklanan karışımın üzerine 3.2 ml buz soğukluğunda tridistile su eklenerek hemoliz edilmiştir. Daha sonra 1 ml hemolizat üzerine 1ml 3/5 oranında hazırlanmış kloroform /etanol karışımı ilave edilerek, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Enzim tayini için üstte kalan berrak kısım kullanılmıştır (90).

Ayıraçlar

PBS : 8.06g NaCl (138 mM), 0,201g KCL (2.7 mM), 1.15 g Na₂HPO₂ (8.1 mM) ve 0.2 g KH₂PO₄ (1.47mM) bir beherde çözüldükten sonra litrelik balon jöjeye aktarılarak hacim tridistile su ile 1 litreye tamamlanmıştır (90).

6.5. Canlı Ağırlık Tartımları

Kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında ; araştırmanın 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56., 63. günlerinde hayvanlar tartılarak ortalama canlı ağırlıklar saptanmıştır.

6.6. Yumurtaların Toplanması

Araştırma süresince Kontrol (K1, K2, ve K3) ve Deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanların günlük yumurta verimlerini kontrol etmek amacıyla her gün yumurtalar toplanmış ve sayımı yapılmıştır. Kan alım günü toplanan yumurtalarda, yumurta kalitesine ait parametrelere (yumurta ağırlığı, yumurta özgül ağırlığı, yumurta akı yüksekliği, kabuk ağırlığı, kabuk kalınlığı) günlük olarak bakılmıştır. Yumurta sarısında E vitamini ve Malondialdehit miktarlarını saptamak için ayrılan yumurtalar analiz gününe kadar -25 °C'de saklanmıştır.

6.7 Yem Tüketimi

Kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanlara günlük her hayvan için 125 gr yem verilmiştir. Yem tüketimleri haftalık olarak takip edilmiştir. Araştırmanın 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56., 63. günlerinde kafeslerin yemlik bölmelerinde kalan yemler tartılmış ve kaydedilmiştir.

6.8. Biyokimyasal Analizler

6.8.1. Plazmada E Vitamini Düzeyi Ölçümü:

Prensip

E vitamininin plazma içindeki oranlarını belirlemede kullanılan yöntem, belirli dalga boyunda UV-visible absorbanları saptayan HPLC esasına dayanır (91).

Kromatografik Şartlar

Akış Hızı	: 1ml /dak. (izookratik akış)
Mobil Faz	: Metanol-Butanol- Su (89.5 : 5 : 5.5 , v/v)
Sıcaklık	: Ortam Sıcaklığı
Kolon	: Hyberbond C 18 (150 mm x 3.9 mm iç çaplı)
Dalga Boyu	: 292 nm

Ayır a lar

- 1- Asetonitril (%99.9)
- 2- Vitamin E Standartı (%98)
- 3- Etanol (%98)
- 4- Butanol-Etil Asetat Karışımı 1:1 v/v oranında hazırlanmıştır.
- 5- Sodyum Sülfat
- 6- Metanol (%99.8)

Yöntem

Standart Hazırlama

- 1- **Stok Standart:** Vitamin E standartından 84.2 mg alınıp 25 ml asetonitril'de üzülmüştür. Hazırlanan stok standart 1 ay boyunca soğukta saklanabilir (4⁰C) .
- 2- **Standart:** Stok standart dan 5 ml alınmış ve metanol ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Numune Hazırlama

- 1- 500  l etanol, 500  l plazmaya katılmış ve çalkalanmıştır.
- 2- Bu karışım 1 ml butanol–etil asetat karışımı ilave edilmiştir ve 50 mg sodyum sülfat eklenmiştir.
- 3- -20⁰C'de 20 dakika bekletilmiştir ve 4000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.
- 4- Hazırlanan numuneler viallere alınmıştır ve HPLC'de enjeksiyon edilmiştir.

Hesaplama

$$\text{Vitamin E Miktarı } (\mu\text{g} / \text{ml}) = (\text{Npik} \times \text{Stw} \times \text{St} \% \times 3) / (\text{St pik} \times \text{M vit E}) \times 500$$

Npik : Numunenin pik alanı

Stw : Standartın tartımı (mg)

St % : Standartın yüzde saflığı

St pik : Standartın pik alanı

M vit E : Vitamin E mol kütlesi

3,500 : Seyreltme Faktörü

6.8.2. Plazmada Malondialdehit (tiyobarbitürik asit reaktif substans) (TBARS) Düzeyi Ölçümü

Prensip

İki molekül tiyobarbitürik asidin, bir molekül MDA ile asit ortamda reaksiyona girmesiyle pembe renk oluşturması esasına dayanmaktadır. Meydana gelen bileşik 532-535 nm'de maksimum absorbanı vermektedir (92).

Ayırıcılar

1- Triklorasetik asit (%20) : 200 g triklorasetik asit (TCAA) tridistile suda çözülerek hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

2- Tiyobarbitürik asit (%0.67) : 1.675 g tiyobarbitürik asit tridistile suda çözülerek hacim 250 litreye tamamlanmış ve +4°C'de saklanmıştır.

3- n- Butanol

4- 1.1.3.3. Tetraetoksipropan standartı ($C_{11}H_{24}O_4$) : 1.1.3.3. tetraetoksipropandan 0.494 ml alınarak etanol ile 100 ml'ye tamamlanmıştır . Hazırlanan karışımdan 0.1 ml alınarak triditle su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır (= 20 μ mol /l).

Yöntem

Tablo 3. TBARS aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.

Kullanılan Maddeler	Kör Tüpü	Örnek Tüpü
Plazma	-	0.5 ml
TCAA çözeltisi	3.0 ml	2.5 ml
TBA çözeltisi	1.0 ml	1.0 ml
30 dakika kaynar su banyosunda inkubasyon ve soğutma		
n-Butanol	4.0 ml	4.0 ml

3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra butanol tabakası başka bir tüpe aktarılmış ve 535 nm'de absorbanlar okunmuştur.

Hesaplama

$N \text{ mol/ml} = \frac{\text{Testin Absorbansı} \times \text{Standartın Konsantrasyonu}}{\text{Standartın Absorbansı}}$

Standartın Absorbansı

şeklinde hesaplanmıştır.

6.8.3. Eritrositlerde Malondialdehit (TBARS) Düzeyi Ölçümü :

Prensip

Lipid peroksidinin ikincil yıkım ürünü olan malondialdehidin oksidatif stres altında üretilmesine dayanır (93)

Ayırıcılar

- 1- Tamponlanmış tuzlu su : 1.76 ml 0.5 M KH_2PO_4 ile 6.08 ml 0.5 M K_2HPO_4 'den karışım hazırlanarak hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır ve pH : 7.4'e ayarlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden 100 ml alınmış ve üzerine 1 litre 0.15 m NaCl ilave edilmiştir. Tekrar pH kontrolü yapılmıştır.
- 2- Azid tampon (taze olarak hazırlanır) : 1 litre tamponlanmış tuzlu su, 10 ml 0.4 M sodyum azid ile karıştırılmıştır.
- 3- TCA-Arsenit : 3.25 g NaAsO_2 125 ml suda çözdürülmüştür. Üzerine %100'lük TCA'dan 70 ml ilave edilmiştir ve 250 ml'ye tamamlanmıştır.
- 4- H_2O_2 (%35) : 0.425 ml H_2O_2 'den alınıp 10 ml'ye tridistile su ile tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2 ml alıp tamponlanmış tuzlu su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 5- TBA çözeltisi : 100 mg TBA, 4 ml su ve 0.5 ml 1N NaOH içinde ısıtılarak çözdürülmüştür ve tridistile su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Yöntem

- 1- Kanlar heparinli tüplere alınmıştır ve satrifüjlenmiştir.
- 2- Eritrositler %0.9 NaCl ile yıkanarak satrifüjlenmiştir.
- 3- Hemoglobin tayini : Eritrosit süspansiyonuna eşit hacimde azidli tampon konmuş ve karıştırılmıştır ve her numunenin hemoglobin tayini yapılmıştır. 20 μl süspansiyon, 5 ml Drabkin ayırıcına konmuştur ve 540 nm'de suya karşı absorbansı okunmuştur (93).
- 4- $\text{Hb g}/100 \text{ ml} = \text{Absorbans} \times 36.8$ şeklinde hesaplanmıştır.

- 5- Bu süspansiyon tam olarak 3 g/100 ml Hb içerecek şekilde tamponlanmış tuzla dilue edilmiştir.
- 6- Bu süspansiyonun 5 ml'si 10 dakika 37⁰C'de çalkalayıcı su banyosunda tutulmuştur.
- 7- 0. zamanda 5 ml H₂O₂ tüpün kenarından sızdırılarak tüpe eklenmiştir.
- 8- Karışım 37⁰C'de tüplerin ağızları açık olacak şekilde 2 saat inkübe edilmiştir ve inkubasyon sonunda tüpler soğutulmuştur.
- 9- Eritrositlerde TBARS tayini için hazırlanan hücre süspansiyonundan 3 ml alınıp, üzerine 2 ml TCA-Arsenit solusyonu ilave edilmiştir ve santrifüje edilmiştir.
- 10- 3 ml süpernatant alınıp üzerine 1ml TBA eklenmiştir.
- 11- Karışım tüplerin ağızı kapalı olacak şekilde 15 dakikada kaynar suda tutulmuştur.
- 12- Tüpler daha sonra soğutulmuştur.
- 13- Numuneler 532 nm'de okunmuştur.

Hesaplama

$N \text{ mol/gHb} = \text{Absorbans} \times 950$ şeklinde hesaplama yapılmıştır.

6.8.4. Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz (GSH-PX) Düzeyi Ölçümü

Ticari test kiti (Ransel- Randox) kullanılarak tayin edilmiştir (63).

Prensip

Peroksidaz kullanılarak GSH, okside form olan GSSG'ye dönüştürülür. Reaksiyonun geriye çevrilmesi Glutasyon Redüktaz (GR) enzimi tarafından katalizlenebilen ve NADPH⁺H⁺ kullanan bir reaksiyonla gerçekleştirilir ve bu reaksiyonda GSH miktarı sabit kalmaktadır (63).

Ayıraçlar

1- Glutatyon	4mmol/L
2- Glutatyon Redüktaz	≥ 0.5 U/L
3- NADPH	0.28 mmol/L
4- Fosfat tamponu	0.05 mol/L ; pH 7.2
5- EDTA	4.3 mmol/L
6- Kümen Hidroperoksit	0.18 mmol/L
7- Dilusyon Ayıracı	

Yöntem

Tablo 4. GSH-Px aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.

Kullanılan Maddeler	Sulandırılmış örnek	Reaktif Körü
Dilue Örnek	0.05 ml	-
Distile Su	-	0.05 ml
Ayıraç	2.50 ml	2.50 ml
Kümen	0.10 ml	0.10 ml

Numuneler 340 nm dalga boyunda havaya karşı okunmuştur. Her numune ve kör ayıracı için sırasıyla 1., 2. ve 3., dakikalarda okumalar yapılmıştır. Kör ayıracı için bulunan absorpsiyon, örneğin absorpsiyonundan çıkarılmıştır.

Hesaplama

U/L Hemolizat = $\frac{8412 \times \Delta A_{340 \text{ nm}}}{\text{dakika}}$ şeklinde hesaplanmıştır.

6.8.5. Eritrositlerde Katalaz (CAT) Düzeyi Ölçümü

Prensip

240 nm'de H₂O₂ absorbansındaki düşme esas alınmıştır (94).

Ayırıcılar

- 1-Tampon I : Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) : KH₂PO₄'den 1.7011 g alınmış ve hacim tridistile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.
- 2- Tampon II : Dipotasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄) : K₂HPO₄'den 4.3545 g alınmış ve hacim tridistile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.
- 3- pH 7 Tampon : Tampon I'den 39.2 ml alınmış ve hacim Tampon II ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu karışımdan 2 adet hazırlanmıştır. Bu karışım buzdolabında saklanabilir, tamponun her kullanımında pH kontrol edilmiştir.
- 4- H₂O₂ (38 mmol /l) : 0.3267 ml H₂O₂ alınmış ve hacim pH 7 tampon ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Taze olarak hazırlanmıştır.

Yöntem

Tablo 5. CAT aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.

Kullanılan Maddeler	Örnek Tüpü
Örnek	10 µl
PH 7 Tampon	790 µl
H ₂ O ₂	400 µl

Analize başlamadan tampon ve H₂O₂ çözeltisi, 30⁰C'de bekletilip ısıtılmış ve daha sonra yukarıdaki işlemler yapılmıştır.

Örnek tüpüne tüm ayıraçlar konduktan sonra örnek 30⁰C'de 5 dakika bekletilmiş, 240 nm'de ilk okuma yapılmıştır. Örnek tekrar 30⁰C'de 5 dakika bekletilmiş ve ikinci okumalar yapılmıştır. Okumalarda quartz küvetler kullanılmıştır.

Hesaplama

$$= \frac{\Delta A / \text{min} \times 600 \times 1}{5 \times 0.04} \quad \text{şeklinde hesaplanmıştır.}$$

6.8.6. Eritrositlerde Superoksit Dismutaz (SOD) Düzeyi Ölçümü

Prensip

Metot, ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile oluşan süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan Nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesinin numunede bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesi esasına dayanır. Renksiz NBT iyonu, süperoksit radikali ile indirgendiğinde maksimum absorbandsını 560 nm'de veren mavi renkli formazona dönüşür. Bu reaksiyon esnasında, numunedeki SOD aktivitesi ile orantılı olan bir absorbands düşmesi gözlenir (56).

Ayırıcılar

- 1- Ksantin Stok Çözeltisi (3 mmmol/L) : 23 mg ksantin, 50 ml'lik balon joje içinde 5 ml 0.1 N NaOH ile hafifçe ısıtılıp çözülerek, tridistile su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltisi 10 kat seyreltilerek çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti +4 °C'de 1 hafta dayanıklıdır.
- 2- Disodyum EDTA çözeltisi (0.6 mmol/l): 0.2233 g EDTA tridistile su ile çözülerek hacim 1 litreye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.
- 3- NBT çözeltisi (0.15 mmol/L) : 30.75 mg NBT tridistile su ile çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.
- 4- Na₂CO₃ çözeltisi (400 mmol/l) : 10.599 g Na₂CO₃, tridistile su ile çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.
- 5- Sığır Serum Albumini (1.0 g/L) : 100 mg sığır albumini tridistile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.
- 6- Amonyum Sülfat (NH₄)₂SO₄ çözeltisi (2 mol/L) : 26.428 g (NH₄)₂SO₄ tridistile suda hacim çözülerek hacim 100ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.
- 7- Bakır Klorür (CuCl₂) çözeltisi (0.8 mmol) : 26.75 mg CuCl₂ tridistile suda çözülerek hacim 250 ml'ye tamamlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

8- Ksantin Oksidaz çözeltisi : 16.66 U / ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 20 µl alınarak, daha önce hazırlanmış olan 2M amonyum sülfat çözeltisinden 2 ml alınarak karıştırılmıştır.

9- SOD deney reaktifi (20 testlik) : 20 ml ksantin çalışma çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na₂CO₃ çözeltisi ve 3ml sığır albumini çözeltisi 100 ml'lik bir erlende karıştırılmıştır.

Yöntem

Tablo 6. SOD aktivitesinin ölçümü için çalışma çizelgesi.

Kullanılan maddeler	Kör Tüpü	Örnek Tüpü
Reaktif Karışımı	2.45 ml	2.45 ml
Örnek	-	0.50 ml
Tridistile Su	0.50 ml	-
Ksantin Oksidaz çözeltisi	50 µl	50 µl
20 dk. 25 °C 2lik su banyosunda inkubasyon		
CuCl ₂ Çözeltisi	1.0 ml	1.0 ml

İnkübasyon süresi sonunda CuCl₂ eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Kör ve numune tüplerinde oluşan rengin absorbansı deney reaktifine karşı 560 nm'de okunmuştur.

Hesaplama

% İnhibisyon : $\frac{\text{Körün Absorbansı} - \text{Örneğin Absorbansı}}{\text{Körün Absorbansı}} \times 100$

Körün Absorbansı

şeklinde hesaplanmıştır.

Bir SOD ünitesi, NBT'nin indirgenmesini % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesi olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar, eritrosit hemolizatındaki gram hemoglobin başına ünite (U/g-Hb) şeklinde verilmiştir.

6.8.7. Yumurta Sarısında Malondialdehit (TBARS) Düzeyi Ölçümü :

Prensip

Yumurta sarısının TBARS değerinin 535 nm dalga boyunda malondialdehit olarak hesaplanması esasına dayanır (95).

Ayırıcılar

- 1- Potasyum Klorür (KCL) (% 1.15) : 1.15 g KCL alınmış ve distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti su ile ısıtılarak hazırlanmıştır.
- 2- Tris-Malat Tamponu (80 mM) : 9.69 g tris (hydroxymethyl) – aminometan, 1 M maleik asit içinde çözdürülerek hacim bidistile su ile 1 litreye tamamlanmıştır.
- 3- Demir Sülfat (5 mM) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) : 0.139 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ alınmış, bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 4- Askorbik asit (2mM) : 0.0352 g askorbik asit alınmış, bidistile su ile hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 5- TBA-TCA çözeltisi : 150g TCAA ve 3.75g TBA alınmış, 1 litre 0.25N Hidroklorik asit içinde çözdürülmüş ve çözeltinin rengi açılıncaya kadar ısıtılmıştır.

Yöntem

- 1- Yumurta sarısı örnekleri 0.1 mg tartılmış ve 10 ml'lik vidalı tüplere alınmıştır. Yumurta sarısı örneği üzerine 9 ml KCL ilave edilmiştir.
- 2- Buz içeren bir kaptaki tüpte bulunan örnek homojenizatör yardımı ile 900 devirde 45-60 sn. homojenize edilmiştir.

- 3- Elde edilen homojenattan vidalı kapaklı cam tüp içerisine 0.1 ml alınarak, üzerine 0.5 ml 80 mM tris-malat-buffer (pH 7.4), 0.2 ml 5 mM demir sülfat ve 0.2 ml 2 mM askorbik asit çözeltileri ilave edilmiş ve bu karışım vortekste 3000 devirde 10 sn karıştırılmıştır.
- 4- Kör değer içinde 0.1 ml % 1.15'lik KCL üzerine 0.5 ml 80 mM tris-malat-buffer (pH 7.4), 0.2 ml 5 mM demir sülfat ve 0.2 ml 2 mM askorbik asit çözeltileri ilave edilmiş ve benzer işlemler yürütülmüştür.
- 5- Tüpler içerisindeki karışım 37⁰C'ye ayarlanmış hareketli su banyosunda 15 rpm'de ve 0., 30., 60 ile 90 dakikalık farklı zamanlarda inkübasyona bırakılmıştır.
- 6- İnkübasyon sonrası örneklere 2ml TBA-TCA-HCl solüsyonu katılmıştır.
- 7- Tüplerin ağzı kapatılarak 30 sn yavaş devirde vorteksde yeniden homojen hale getirilmiştir.
- 8- Kapaklı tüpler 15 dk sıcak su banyosunda bekletilmiş ve daha sonra sonra buz içerisinde 10 dk tutularak soğutulmuştur.
- 9- Soğutma işleminden sonra tüpler 4⁰C ve 2200 rpm'de 20 dk süreyle santrifüje edilmiş ve üstte kalan kısım pipet yardımı ile kristal küvete yavaşça aktarılmıştır.
- 10- Son olarak elde edilen örnekler 535 nm dalga boyundaki absorbans değerleri spektrofotometrede köre karşı okunmuştur.

Hesaplama

Yumurta sarısının tiyobarbiturik reaktif substans (TBARS) değeri malondialdehit olarak hesaplanmıştır.

Malondialdehit (MDA, nmol/mg) = 1,92306' ekstinksiyon katsayısı x okunan absorbans değer şeklinde hesaplanmıştır.

6.8.8. Yumurta Sarısında E Vitamini Düzeyi Ölçümü:

Prensip

E vitamininin yumurta sarısı içindeki oranlarını belirlemede kullanılan yöntem, belirli dalga boyunda UV-visible absorbanları saptayan HPLC esasına dayanır (91).

Ayırıcılar

- 1- Asetonitril (%99.9)
- 2- Vitamin E Standartı (%98)
- 3- Etanol (%98)
- 4- Butanol-Etil Asetat Karışımı 1:1 v/v oranında hazırlanmıştır.
- 5- Sodyum Sülfat
- 6- Metanol (%99.8)

Yöntem

Kromatografik Şartlar

- Akış Hızı : 1ml /dak. (izookratik akış)
- Mobil Faz : Metanol-Butanol- Su (89.5 : 5 : 5.5 , v/v)
- Sıcaklık : Ortam Sıcaklığı (18⁰C - 21)
- Kolon : Hyberbond C 18 (150 mm x 3.9 mm iç çaplı)
- Dalga Boyu : 292 nm

Standart Hazırlama

- 1- **Stok Standart:** Vitamin E standartından 84.2 mg alınıp 25 ml asetonitril’de çözülmüştür. Hazırlanan stok standart 1 ay boyunca soğukta saklanabilir (4⁰C) .
- 2- **Standart :** Stok standart dan 5 ml alınmış ve metanol ile 100 ml’ye tamamlanmıştır.

Numune Hazırlama

- 1- 500 µl etanol, 500 µl yumurta sarısına katılmış ve çalkalanmıştır.
- 2- Bu karışıma 1 ml butanol -etil asetat karışımı ilave edilmiştir ve 50 mg sodyum sülfat eklenmiştir.
- 3- 20⁰C’de 20 dakika bekletilmiştir ve 4000 rpm’de santrifüj yapılmıştır.
- 4- Hazırlanan numuneler viallere alınmıştır ve HPLC’de enjeksiyon edilmiştir.

Hesaplama

$$\text{Vitamin E Miktarı } (\mu\text{g} / \text{ml}) = (\text{Npik} \times \text{Stw} \times \text{St} \% \times 3) / (\text{St pik} \times \text{M vit E}) \times 500$$

Npik : Numunenin pik alanı

Stw : Standartın tartımı (mg)

St % : Standartın yüzde saflığı

St pik : Standartın pik alanı

M vit E : Vitamin E mol kütlesi

3,500 : Seyreltme Faktörü

6.9. Yumurta Kalitesine İlişkin Analizler

Yumurta kalitesine ilişkin analizlerde, yumurta ak yüksekliği, yumurta kabuk kalınlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta ağırlığı, yumurta özgül ağırlığı saptanmıştır. Kan alındığı günlerde numaralandırılıp toplanan yumurtaların analizleri aynı gün içinde yapılmıştır. Yumurta kabuk tartımları için dijital terazi, kabuk kalınlığı için mikrometre kullanılmıştır.

Toplanan yumurtalar yıkanıp kurulandıktan sonra, tartılarak ağırlıkları belirlenmiş ve özgül ağırlıkları hesaplanmıştır (96). Daha sonra yumurtalar düz bir zeminde kırılıp ak yükseklikleri ölçülmüştür. Kırılan yumurtalar kabuk zarlarından arındırılmış ve kabuklar 103⁰C'de 24 saat kurutulmuşlardır. Kabuk ağırlıkları tartılarak saptanmıştır. Kabuk kalınlıkları yumurtanın sivri ve küt uçları ile orta kısmın karşılıklı iki yüzünden olmak üzere alınan toplam 4 parçanın kalınlıkları ölçülerek ve ortalamaları alınarak değerlendirilmiştir (97).

6.10. İstatistiksel Analiz

Veriler, istatistiki olarak gruplar arası ve gruplar içi karşılaştırmalar yapılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ortalama ve standart hata ($\bar{x} \pm SE$) olarak verilmiştir. Önemlilik derecesi $p \leq 0.05$ ile ifade edilmiştir.

Gruplar arasında verilerin istatistiki analizi two-way ANOVA (SPSS, 11.5) kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Gruplara ait veri ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan testi ile karşılaştırılmıştır.

6.11. Malzeme ve Alet Listesi

- 1- Ransel-Randox (Glutasyon Peroksidaz Kiti)
- 2- HPLC
- 3- Seac Spektrofotometre
- 4- Beckmann su banyosu
- 5- Vortex
- 6- Homojenizatör

7. BULGULAR

7.1. Klinik Bulgular

Kontrol grubu hayvanlarında araştırma süresince herhangi bir hastalık gözlenmemiştir. Bu hayvanların kafeslerdeki hareketlilikleri, canlı ağırlık artışları ve yem tüketimleri ve yumurta verimleri normal olmuştur.

Deneme grubu hayvanlarında ilk 3 haftalık adaptasyon periyodu boyunca herhangi bir anormal durumla karşılaşılmamıştır. Isı stresinin uygulanmaya başladığı 4. haftayla beraber bu grupta bulunan hayvanlarda bazı değişiklikler meydana gelmiştir. Canlı ağırlık artışları, yumurta verimleri ve yem tüketimleri azalmıştır (Grafik 2, 4, 6). Isı stresinin 7. gününden (35⁰C) itibaren hayvanların % 70'inin ağızları açık durumda olduğu ve hızlı soluma yaptıkları görülmüştür. Hayvanların çoğunda periferik anemiye bağlı ibiklerin çok açık pembe olduğu gözlemlenmiştir. Su tüketimi çok artmıştır ve hayvanlarda tüy dökümü başlamıştır. Hayvanlar kafeslerinde yatar vaziyette, kanatlar yanlara açık halde bulunmuşlardır. Sıcaklık stresinin 7. gününden itibaren ölümler başlamış ve deneme boyunca 5 hayvan ölü bulunmuştur. Ölen hayvanların ibikleri morarmış ve konjesyon gözlemlenmiştir.

7.2. Araştırma Süresince İncelenen Biyokimyasal Parametreler

7.2.1. Plazma E Vitamini Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların plazma E vitamini düzeyleri Tablo 7'de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında K2 ve K3 gruplarının ortalama plazma E vitamini konsantrasyonunun, K1 grubuna göre istatistiki anlamda yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). Aynı dönemlerde K2 ve K3 grupları arasında da ortalama plazma E vitamini konsantrasyonu açısından, istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p \leq 0.05$).

Deneme gruplarına ait plazma E vitamini düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesinde D2 ve D3 gruplarının ortalama plazma E vitamini konsantrasyonunun, D1 grubundan istatistiki anlamda yüksek olduğu tespit edilmiştir. Stres sırasında ve sonrasında da D2 ve D3 gruplarının plazma E vitamini konsantrasyonunun D1 grubuna göre istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D1 grubunda , stres sırasında en düşük ortalama plazma E vitamini konsantrasyonu saptanmıştır. D1 grubu ile D2 ve D3 grupları arası farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.2. Plazma Malondialdehit Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların plazma malondialdehit düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında K3 grubunun ortalama plazma malondialdehit konsantrasyonunun, diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$).

Deneme grubunda bulunan hayvanların plazma malondialdehit düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası farklılık saptanmamıştır. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; ortalama plazma malondialdehit konsantrasyonu D1, D2 ve D3 gruplarının içinde, en yüksek değere, stres sırasında ulaşmıştır. Her üç grupta da stres döneminde saptanan farklılığın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.3. Eritrositlerde Malondialdehit Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde malondialdehit düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde malondialdehit düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres sırasında, D3 grubuna ait eritrosit malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi yapılan karşılaştırmalarda, D1, D2 ve D3

grupları içinde, en yüksek ortalama eritrosit malondialdehit konsantrasyonu, stres sırasında saptanmıştır ($p \leq 0.05$). Her üç grupta da stres döneminde saptanan farklılığın, istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.4. Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde GSH-Px düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesinde, stres sırasında ve stres sonrasında K2 ve K3 gruplarının eritrositlerde GSH-Px konsantrasyonunun K1 grubuna göre istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi karşılaştırmalarda bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde GSH-Px düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi ve sonrasında, D3 grubunun eritrositlerde GSH-Px konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D1, D2 ve D3 gruplarında stres sırasında, ortalama eritrositlerde GSH-Px konsantrasyonu en yüksek değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.5. Eritrositlerde Katalaz Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde CAT düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesinde, stres sırasında ve stres sonrasında, K3 grubuna ait eritrositlerde CAT konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi karşılaştırmalarda bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların eritrosit CAT düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesinde ve stres sonrasında, D3 grubunun eritrositlerde CAT konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D1, D2 ve D3

gruplarında stres sırasında, ortalama eritrositlerde CAT konsantrasyonu en yüksek değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.6. Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde SOD düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların eritrositlerde SOD düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres sırasında, D1, D2 ve D3 grupları arasında istatistiki anlamda farklılıklar saptanmıştır ($p \leq 0.05$). En yüksek ortalama eritrosit SOD konsantrasyonu D3 grubunda bulunmuştur. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda, D1, D2 ve D3 gruplarında stres sırasında, ortalama eritrositlerde SOD konsantrasyonu en yüksek değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.2.7. Yumurta Sarısında E Vitamini Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta sarısında E vitamini düzeyleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta sarısında E vitamini düzeyleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi ve sonrasında D1 grubunun yumurta sarısında E vitamini konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tablo 7. Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Biyokimyasal parametrelerin değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanmayan Gruplar		
		K1	K2	K3
Plazma E Vitamin ($\mu\text{g/ml}$)	Stres Öncesi	3,71 \pm 0,23 ^C	6,67 \pm 0,52 ^B	9,35 \pm 0,86 ^A
	Stres Sırası	3,55 \pm 0,33 ^C	7,65 \pm 0,48 ^B	9,41 \pm 0,87 ^A
	Stres Sonrası	3,13 \pm 0,14 ^C	6,66 \pm 0,63 ^B	9,30 \pm 0,88 ^A
Plazma Malondialdehit (nmol/ml)	Stres Öncesi	8,60 \pm 1,05 ^A	7,40 \pm 0,60 ^A	5,10 \pm 0,42 ^B
	Stres Sırası	8,86 \pm 1,09 ^A	7,57 \pm 0,44 ^A	5,17 \pm 0,43 ^B
	Stres Sonrası	9,00 \pm 0,94 ^A	7,36 \pm 0,48 ^A	5,04 \pm 0,44 ^B
Eritrositlerde Malondialdehit (n-mol/g Hb)	Stres Öncesi	167,24 \pm 8,91	164,06 \pm 12,94	159,80 \pm 14,32
	Stres Sırası	169,59 \pm 8,70	168,92 \pm 12,31	153,32 \pm 0,17
	Stres Sonrası	168,79 \pm 8,33	166,58 \pm 11,72	153,43 \pm 5,78
Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz (U/Hemolizat)	Stres Öncesi	393,25 \pm 19,10 ^B	548,70 \pm 37,99 ^A	644,57 \pm 64,32 ^A
	Stres Sırası	394,06 \pm 18,73 ^B	621,65 \pm 53,37 ^A	657,45 \pm 43,79 ^A
	Stres Sonrası	395,18 \pm 17,62 ^B	548,71 \pm 37,10 ^A	657,00 \pm 66,72 ^A
Eritrositlerde Katalaz (k/g-Hb)	Stres Öncesi	9,83 \pm 0,97 ^B	13,00 \pm 1,04 ^B	17,27 \pm 1,66 ^A
	Stres Sırası	9,85 \pm 0,94 ^B	12,18 \pm 0,97 ^B	17,11 \pm 1,15 ^A
	Stres Sonrası	9,77 \pm 0,96 ^B	12,82 \pm 1,10 ^B	20,05 \pm 0,92 ^A
Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (U/g-Hb)	Stres Öncesi	49,46 \pm 4,64	58,51 \pm 4,36	57,24 \pm 2,54
	Stres Sırası	51,88 \pm 1,87	52,40 \pm 2,29	57,83 \pm 1,84
	Stres Sonrası	49,42 \pm 4,66	58,51 \pm 17,47	54,98 \pm 1,98
Yumurta Sarısında E Vitamini ($\mu\text{g/ml}$)	Stres Öncesi	24,99 \pm 1,81	30,82 \pm 1,95	40,32 \pm 3,47
	Stres Sırası	26,20 \pm 2,39	32,81 \pm 2,13	36,74 \pm 3,14
	Stres Sonrası	24,95 \pm 1,83	30,82 \pm 1,95	40,32 \pm 3,47

Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p < 0,05$.

Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Tablo 8. Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Biyokimyasal parametrelerin değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanan Gruplar		
		D1	D2	D3
Plazma E Vitamini ($\mu\text{g/ml}$)	Stres Öncesi	3,32 \pm 0,12 ^{ac}	4,78 \pm 0,19 ^B	7,73 \pm 0,73 ^{aa}
	Stres Sırası	2,10 \pm 0,10 ^{bb}	4,44 \pm 0,27 ^A	4,53 \pm 0,13 ^{ba}
	Stres Sonrası	3,25 \pm 0,02 ^{ab}	4,93 \pm 0,53 ^A	6,21 \pm 0,76 ^{abA}
Plazma Malondialdehit (nmol/ml)	Stres Öncesi	7,05 \pm 0,97 ^b	6,35 \pm 0,61 ^b	5,47 \pm 0,25 ^b
	Stres Sırası	15,40 \pm 1,13 ^a	13,58 \pm 0,44 ^a	13,77 \pm 0,43 ^a
	Stres Sonrası	7,06 \pm 0,97 ^b	6,33 \pm 0,64 ^b	5,47 \pm 0,25 ^b
Eritrositlerde Malondialdehit (n-mol/g Hb)	Stres Öncesi	164,07 \pm 9,11 ^b	153,85 \pm 13,55 ^b	154,48 \pm 15,96 ^b
	Stres Sırası	219,87 \pm 6,58 ^{aa}	212,28 \pm 6,81 ^{baA}	189,53 \pm 4,95 ^{abB}
	Stres Sonrası	167,83 \pm 11,59 ^b	160,17 \pm 8,60 ^b	154,39 \pm 5,55 ^b
Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz (U/Hemolizat)	Stres Öncesi	406,05 \pm 42,57 ^{bb}	466,78 \pm 53,18 ^{bb}	677,86 \pm 89,50 ^{ba}
	Stres Sırası	843,48 \pm 108,59 ^a	1096,60 \pm 147,53 ^a	1145,20 \pm 156,76 ^a
	Stres Sonrası	405,79 \pm 42,65 ^{bb}	466,78 \pm 58,13 ^{bb}	677,86 \pm 89,50 ^{ba}
Eritrositlerde Katalaz (k/g-Hb)	Stres Öncesi	8,94 \pm 0,52 ^{bb}	9,38 \pm 1,40 ^{bb}	14,35 \pm 0,85 ^{ba}
	Stres Sırası	50,93 \pm 5,22 ^a	55,94 \pm 3,12 ^a	58,58 \pm 4,58 ^a
	Stres Sonrası	8,00 \pm 0,85 ^{bb}	9,38 \pm 1,40 ^{ba}	12,11 \pm 0,76 ^{ba}
Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (U/g-Hb)	Stres Öncesi	45,36 \pm 5,08 ^b	54,82 \pm 5,73 ^b	56,81 \pm 5,64 ^b
	Stres Sırası	74,70 \pm 4,98 ^{ac}	94,90 \pm 2,28 ^{ab}	165,00 \pm 6,28 ^{aa}
	Stres Sonrası	45,28 \pm 5,11 ^b	54,82 \pm 5,73 ^b	56,81 \pm 5,63 ^b
Yumurta Sarısında E Vitamini ($\mu\text{g/ml}$)	Stres Öncesi	21,90 \pm 3,14 ^B	28,63 \pm 3,19 ^{AB}	33,20 \pm 2,90 ^A
	Stres Sırası	21,10 \pm 2,76	24,57 \pm 4,10	30,64 \pm 2,95
	Stres Sonrası	21,88 \pm 3,14 ^B	28,63 \pm 4,10 ^{AB}	33,20 \pm 2,90 ^A

Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p < 0,05$.

^{abc} : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir $p < 0,05$.

Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

7.2.8. Yumurta Sarısında Malondialdehit Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta sarısında malondialdehit düzeyleri Tablo 9’da gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; yumurta sarısında 30.dakikadaki malondialdehit değerleri için ; stres öncesi ve sonrasında K1 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Stres sırasında K3 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Yumurta sarısında 60. ve 90. dakikalardaki malondialdehit değerleri için ; stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında K3 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta sarısında malondialdehit düzeyleri Tablo 10’da gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; yumurta sarısında 0. dakikadaki malondialdehit değerleri için; stres öncesinde D3 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Stres sırasında, D1 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). Yumurta sarısında 30.dakikadaki malondialdehit değerleri için; stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında D3 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Yumurta sarısında 60.dakikadaki malondialdehit değerleri için; stres öncesi ve sonrasında, D1 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$). Yumurta sarısında 90.dakikadaki malondialdehit değerleri için; stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında D3 grubunun yumurta sarısında malondialdehit konsantrasyonunun diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Gruplar içi yapılan karşılaştırmada, yumurta sarısında malondialdehit düzeyleri 0., 30., 60., 90., dakikalarda stres sırasında her üç grupta stres öncesi ve stres sonrasında göre en yüksek değerlere ulaşmıştır. Gruplar içi karşılaştırmada stres sırasında saptanan bu farklılık istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 9. Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Yumurta Sarısında Malondialdehit değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanmayan Gruplar		
		K1	K2	K3
Yumurta Sarısında Malondialdehit 0.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	298,04±7,71	292,41±13,46	294,08±10,74
	Stres Sırası	286,24±20,19	288,54±12,41	295,40±10,49
	Stres Sonrası	277,26±18,60	279,86±11,80	286,30±10,14
Yumurta Sarısında Malondialdehit 30.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	502,12±8,00 ^A	457,76±7,72 ^B	420,79±5,97 ^C
	Stres Sırası	474,64±11,54 ^A	457,81±8,80 ^A	420,41±6,45 ^B
	Stres Sonrası	500,33±4,40 ^A	461,57±8,10 ^B	421,66±5,99 ^C
Yumurta Sarısında Malondialdehit 60.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	544,83±10,11 ^A	534,37±2,71 ^A	515,32±3,70 ^B
	Stres Sırası	549,45±10,78 ^A	536,04±2,85 ^A	496,13±12,40 ^B
	Stres Sonrası	536,70±12,06 ^A	536,66±3,59 ^A	503,18±9,98 ^B
Yumurta Sarısında Malondialdehit 90.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	745,60±2,46 ^A	725,50±6,26 ^B	692,95±8,85 ^C
	Stres Sırası	751,20±4,79 ^A	717,50±6,55 ^B	687,25±7,22 ^C
	Stres Sonrası	753,95±4,81 ^A	711,00±6,20 ^B	692,95±8,85 ^C

Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir p< 0,05.

Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Tablo 10. Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Yumurta Sarısında Malondialdehit değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanan Gruplar		
		D1	D2	D3
Yumurta Sarısında Malondialdehit 0.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	254,21±6,29 ^{bA}	263,04±5,14 ^{bA}	228,08±5,89 ^{bB}
	Stres Sırası	399,05±24,54 ^{aA}	312,80±8,49 ^{aB}	318,32±20,43 ^{aB}
	Stres Sonrası	226,27±27,67 ^b	272,40±29,81 ^{ab}	270,24±20,05 ^{ab}
Yumurta Sarısında Malondialdehit 30.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	494,45±3,50 ^{bA}	453,68±5,44 ^{cB}	428,94±6,86 ^{cC}
	Stres Sırası	583,40±4,38 ^{aA}	550,22±3,02 ^{aB}	531,36±4,50 ^{aC}
	Stres Sonrası	494,45±3,50 ^{bA}	473,50±2,73 ^{bB}	455,75±4,23 ^{bC}
Yumurta Sarısında Malondialdehit 60.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	655,29±38,42 ^{abA}	601,24±20,23 ^{bAB}	534,60±12,80 ^{bB}
	Stres Sırası	725,54±39,70 ^a	732,14±14,54 ^a	698,50±38,02 ^a
	Stres Sonrası	580,36±23,17 ^{bA}	557,13±19,14 ^{bAB}	533,40±13,31 ^{bB}
Yumurta Sarısında Malondialdehit 90.dak (nmol/mg)	Stres Öncesi	730,50±2,63 ^{bA}	708,50±1,97 ^{bB}	694,00±2,44 ^{bC}
	Stres Sırası	839,50±3,11 ^{aA}	756,50±4,53 ^{aB}	731,50±3,73 ^{aC}
	Stres Sonrası	736,90±3,56 ^{bA}	703,00±1,44 ^{bB}	692,27±1,94 ^{bC}

Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiki fark önemlidir p< 0,05.

^{abc} : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiki fark önemlidir p< 0,05.

Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

7.3. Araştırma Süresince İncelenen Yumurta kalitesine ait Parametreler

7.3.1. Yumurta Ak Yüksekliği Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta ak yüksekliği düzeyleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta ak yüksekliği düzeyleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi ve sonrasında D1 grubunun yumurta ak yüksekliği diğer gruplardan istatistiki anlamda yüksek olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D2 grubunun stres sırasında, ortalama yumurta ak yüksekliği en yüksek değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görölmüştür.

7.3.2. Yumurta Kabuk Kalınlığı Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta kabuk kalınlığı düzeyleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta kabuk kalınlığı düzeyleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda, D1, D2 ve D3 gruplarıda stres sırasında, ortalama yumurta kabuk kalınlığı düzeyleri en düşük değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görölmüştür.

7.3.3. Yumurta Kabuk Ağırlığı Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta kabuk ağırlığı düzeyleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; K3 grubunun stres sırasında, ortalama yumurta kabuk ağırlığı düzeyleri en düşük değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta kabuk ağırlığı düzeyleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

7.3.4. Yumurta Ağırlığı Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta ağırlığı düzeyleri Tablo 11’de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta ağırlığı düzeyleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada; stres öncesi ve sonrasında, D3 grubunun yumurta ağırlığı düzeyleri diğer gruplardan istatistiki anlamda düşük olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D1 ve D2 gruplarında stres sırasında, ortalama yumurta ağırlığı düzeyleri en düşük değere ulaşmıştır. Farkın istatistiki olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) olduğu görülmüştür.

7.3.5. Yumurta Özgöl Ağırlığı Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta özgöl ağırlığı düzeyleri Tablo 11'de gösterilmiştir. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta özgöl ağırlığı düzeyleri Tablo 12'de gösterilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda; D1 ve D2 gruplarında stres sırasında, ortalama yumurta özgöl ağırlığı düzeyleri en düşük değere ulaşmıştır.

7.4. Canlı Ağırlık Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların canlı ağırlık düzeyleri grafik 1'de gösterilmiştir. Araştırma süresince K1, K2 ve K3'e ait ortalama haftalık canlı ağırlık düzeyleri sırasıyla 1520 g, 1520 g, 1510 g olarak saptanmıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların canlı ağırlık düzeyleri grafik 2'de gösterilmiştir. D1'in ilk 3 hafta ortalama canlı ağırlık düzeyleri 1560 g iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, canlı ağırlık 1360 g'a düşmüştür. Son üç hafta tekrar 1481 g'a yükselmiştir. D2'nin ilk 3 hafta canlı ağırlık düzeyleri ortalama 1500 g iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, 1320 g'a düşmüştür. Son üç hafta tekrar 1412 g'a yükselmiştir. D3'ün ilk 3 hafta canlı ağırlık düzeyleri ortalama 1580 g iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta , 1400 g'a düşmüştür. Son üç hafta tekrar canlı ağırlık düzeyleri 1515 g'a yükselmiştir.

Kontrol grubunda bulunan hayvanların araştırma süresince ortalama canlı ağırlık düzeylerinde değişim gözlenmemiştir. D1 grubunda bulunan hayvanlar stres süresince %9, D2 grubundakiler % 8.8, D3 grubunda bulunan hayvanlar % 8.9 oranında canlı ağırlık

kaybına uğramışlardır. Stres sonrasında her üç grupta canlı ağırlık artışının sağlandığı görülmüştür.

7.5. Yumurta Verimi Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yumurta verimi düzeyleri grafik 3’de gösterilmiştir. Araştırma süresince K1, K2 ve K3’e ait ortalama haftalık yumurta verimleri sırasıyla 160, 170, 175 olarak saptanmıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yumurta verimi düzeyleri grafik 4’de gösterilmiştir. D1’in ilk 3 hafta ortalama yumurta verimi 160 iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta , haftalık yumurta verimi 150’ye düşmüştür. Son üç hafta tekrar yumurta verimi 160’a yükselmiştir. D2’nin ilk 3 hafta ortalama yumurta verimi 170 iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, haftalık yumurta verimi 160’a düşmüştür. Son üç hafta tekrar yumurta verimi 170’e yükselmiştir. D3’ün ilk 3 hafta ortalama yumurta verimi 176 iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta , haftalık yumurta verimi 166’ya düşmüştür. Son üç hafta tekrar yumurta verimi 178’e yükselmiştir.

Stres öncesi yumurta verimi K1 grubunda % 15.80, K2 grubunda % 16.80, K3 grubunda %17.30 olarak saptanmıştır. Aynı dönemde D1 grubunda yumurta verimi % 15.70, D2 grubunda %16.90, D3 grubunda % 17.50 olarak belirlenmiştir.

Stres sırasında verim K1 grubunda % 16.40, K2 grubunda % 17.40, K3 grubunda %17.90 olarak saptanmıştır. Aynı dönemde D1 grubunda ise yumurta verimi % 15.10’a, D2 grubunda %16.20’ye, D3 grubunda % 16.80’e düşmüştür.

Stres sonrasında yumurta verimi K1 grubunda % 15.60, K2 grubunda % 16.80, K3 grubunda %17.20 olarak belirlenmiştir. Yumurta verimi D1 grubunda % 15.90’a, D2 grubunda %16.80’e, D3 grubunda % 17.60’e yükselmiştir.

7.6. Yem Tüketimi Düzeyleri

Kontrol grubunda bulunan hayvanların yem tüketimi düzeyleri grafik 5’de gösterilmiştir. Araştırma süresince K1, K2 ve K3’e ait ortalama haftalık yem tüketimi düzeyleri sırasıyla 19,00 kg, 19,50 kg, 19,50 kg olarak saptanmıştır.

Deneme grubunda bulunan hayvanların yem tüketimi düzeyleri grafik 6’da gösterilmiştir. D1’in ilk 3 hafta ortalama yem tüketimi 18.50 kg iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, haftalık yem tüketimi 14,00 kg’a düşmüştür. Son üç hafta tekrar yem tüketimi 16,00 kg’a yükselmiştir. D2’nin ilk 3 hafta ortalama yem tüketimi 20,00 kg iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, haftalık yem tüketimi 15.70 kg’a düşmüştür. Son üç hafta tekrar yumurta verimi 17,00 kg’a yükselmiştir. D3’ün ilk 3 hafta ortalama yem tüketimi 20,00 kg iken ısı stresi uygulaması yapılmış olan sonraki 3 hafta, haftalık yem tüketimi 17,00 kg’a düşmüştür. Son üç hafta tekrar yumurta verimi 18,00 kg’a yükselmiştir.

Stres öncesinde yem tüketimi K1 grubunda % 16.20, K2 grubunda % 16.60, K3 grubunda %16.60 olarak saptanmıştır. D1 grubunda % 15.80, D2 grubunda %17.00, D3 grubunda % 17.00 olarak tespit edilmiştir.

Stres sırasında yem tüketimi K1 grubunda % 18.20, K2 grubunda % 18.70, K3 grubunda %18.60 olarak saptanmıştır. Aynı dönemde yem tüketimi D1 grubunda % 13.40’a, D2 grubunda %15.20’ye, D3 grubunda % 16.20’ye düşmüştür.

Yem tüketimi stres sonrasında K1 grubunda % 17.40, K2 grubunda % 17.80’e, K3 grubunda %17.70 olarak saptanmıştır. Aynı dönemde yem tüketimi D1 grubunda % 14.70’e, D2 grubunda %15.60’a, D3 grubunda % 16.50’ye yükselmiştir.

Tablo 11. Araştırma süresince kontrol gruplarında incelenen Yumurta kalitesine ilişkin parametrelerin değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanmayan Gruplar		
		K1	K2	K3
Yumurta Ak Yüksekliği (mm)	Stres Öncesi	4,00±0,23	3,86±0,14	3,83±0,24
	Stres Sırası	3,70±0,09	3,50±0,12	3,55±0,09
	Stres Sonrası	3,91±0,22	3,79±0,13	3,83±0,24
Yumurta Kabuk Kalınlığı (mm)	Stres Öncesi	36,86±0,51	40,70±0,59	40,52±0,72
	Stres Sırası	40,09±0,38	39,80±0,40	39,43±0,39
	Stres Sonrası	39,75±0,53	40,64±0,61	40,52±0,71
Yumurta Kabuk Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	5,85±0,18 ^B	6,95±0,15 ^A	7,03±0,11 ^{Aa}
	Stres Sırası	5,61±0,16 ^B	6,60±0,12 ^A	6,60±0,12 ^{Ab}
	Stres Sonrası	5,84±0,17 ^B	6,94±0,16 ^A	7,12±0,12 ^{Aa}
Yumurta Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	62,65±1,18	63,27±1,01	62,87±0,89
	Stres Sırası	60,66±1,06	61,10±0,75	60,89±0,77
	Stres Sonrası	62,64±1,17	63,25±1,02	62,87±0,89
Yumurta Özgül Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	58,47±1,20	58,79±0,95	57,21±0,72
	Stres Sırası	57,50±1,04	57,91±0,73	55,90±0,39
	Stres Sonrası	58,92±1,17	57,61±0,70	57,21±0,72

Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir p< 0,05.
^{abc} : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir p< 0,05.

Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Tablo 12. Araştırma süresince deneme gruplarında incelenen Yumurta kalitesine İlişkin parametrelerin değerleri

Parametre	Zaman	Isı Uygulanan Gruplar		
		D1	D2	D3
Yumurta Ak Yüksekliği (mm)	Stres Öncesi	4,25±0,26 ^A	3,42±0,15 ^{bB}	3,84±0,22 ^{AB}
	Stres Sırası	4,20±0,17	4,14±0,18 ^a	4,22±0,18
	Stres Sonrası	4,25±0,26 ^A	3,42±0,15 ^{bB}	3,84±0,23 ^{AB}
Yumurta Kabuk Kalınlığı (mm)	Stres Öncesi	40,94±0,66 ^a	40,32±0,84 ^a	40,13±0,60 ^a
	Stres Sırası	32,52±0,96 ^b	34,28±0,84 ^b	34,70±0,63 ^b
	Stres Sonrası	40,91±0,69 ^a	40,35±0,82 ^a	40,13±0,60 ^a
Yumurta Kabuk Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	5,77±0,26	5,95±0,19	6,04±0,19
	Stres Sırası	5,24±0,27	5,61±0,14	5,09±0,25
	Stres Sonrası	6,35±0,15	6,32±0,008	6,17±0,13
Yumurta Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	61,41±1,02 ^{aAB}	63,99±1,28 ^{aA}	59,11±1,70 ^B
	Stres Sırası	55,00±1,46 ^b	52,12±1,96 ^b	54,72±0,99
	Stres Sonrası	61,46±0,99 ^{aAB}	60,31±1,31 ^{aA}	59,11±1,70 ^B
Yumurta Özgül Ağırlığı (g)	Stres Öncesi	58,77±0,96 ^a	56,86±0,85 ^a	56,03±1,54
	Stres Sırası	52,62±1,32 ^b	52,43±1,16 ^b	52,48±0,99
	Stres Sonrası	58,63±0,99 ^a	56,83±0,86 ^a	56,03±1,54

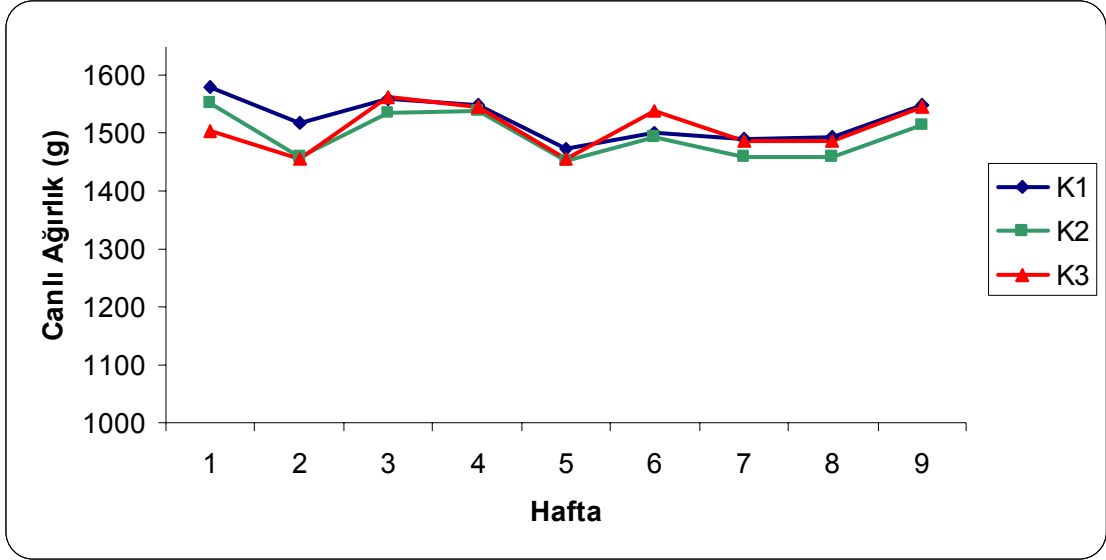
Her bir parametre için; ^{ABC} : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir p< 0,05.
^{abc} : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark önemlidir p< 0,05.

Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).

Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

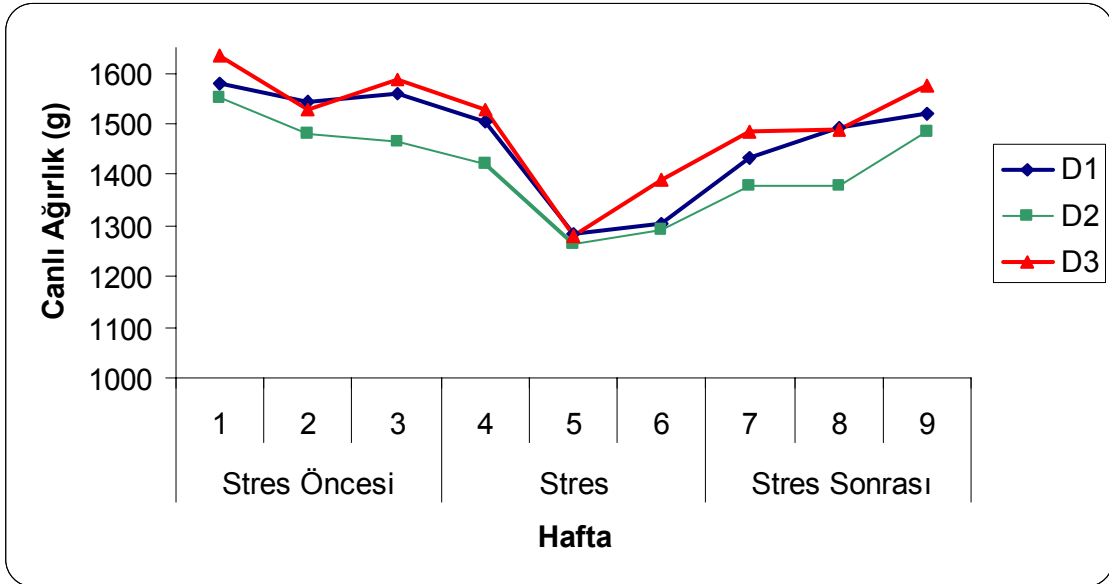
Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 1. Araştırma süresince kontrol gruplarında canlı ağırlık değişimi



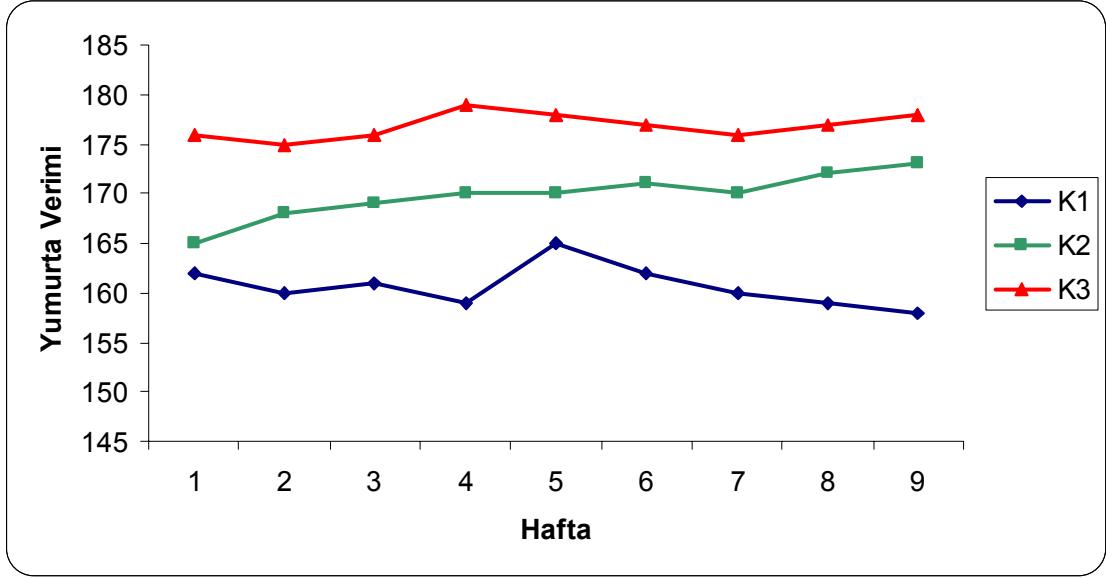
Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 2. Araştırma süresince deneme gruplarında canlı ağırlık değişimi



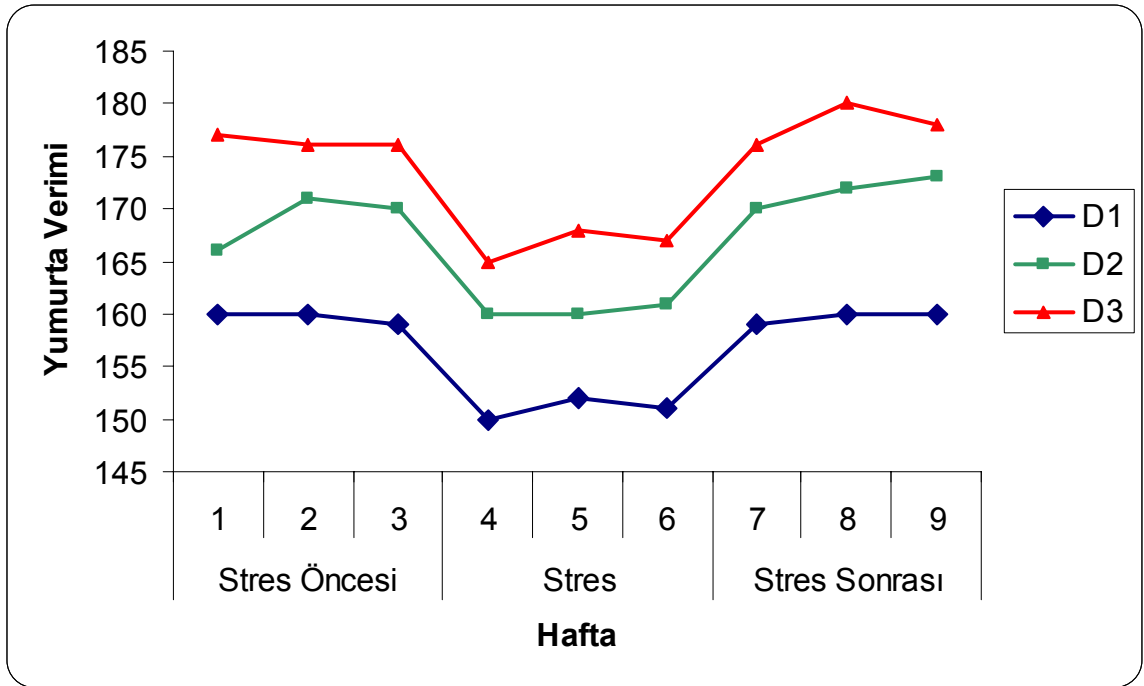
Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 3. Araştırma süresince kontrol gruplarında yumurta verimi



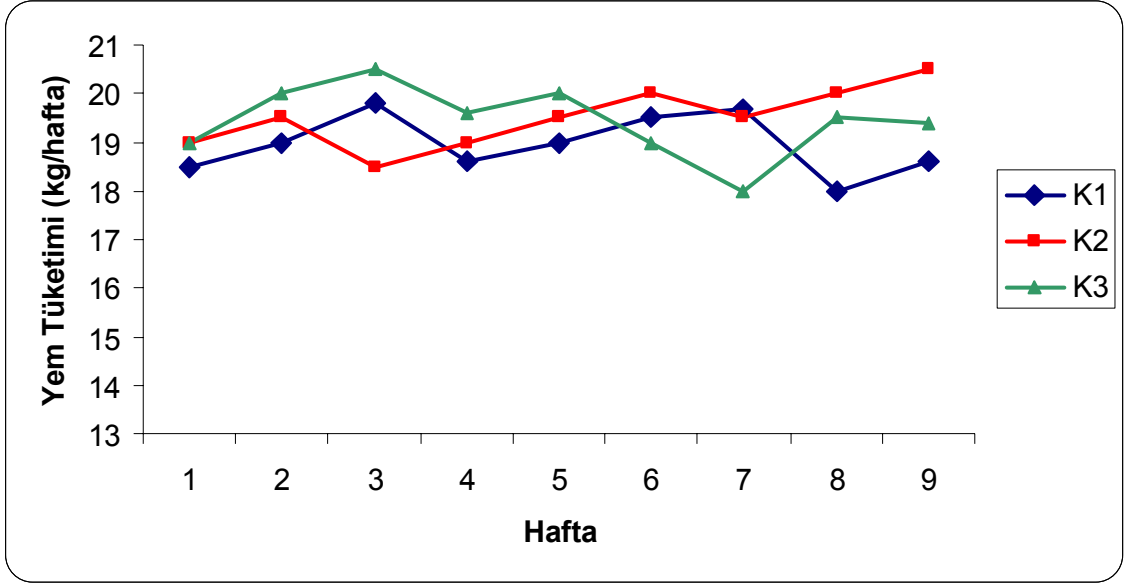
Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 4. Araştırma süresince deneme gruplarında yumurta verimi



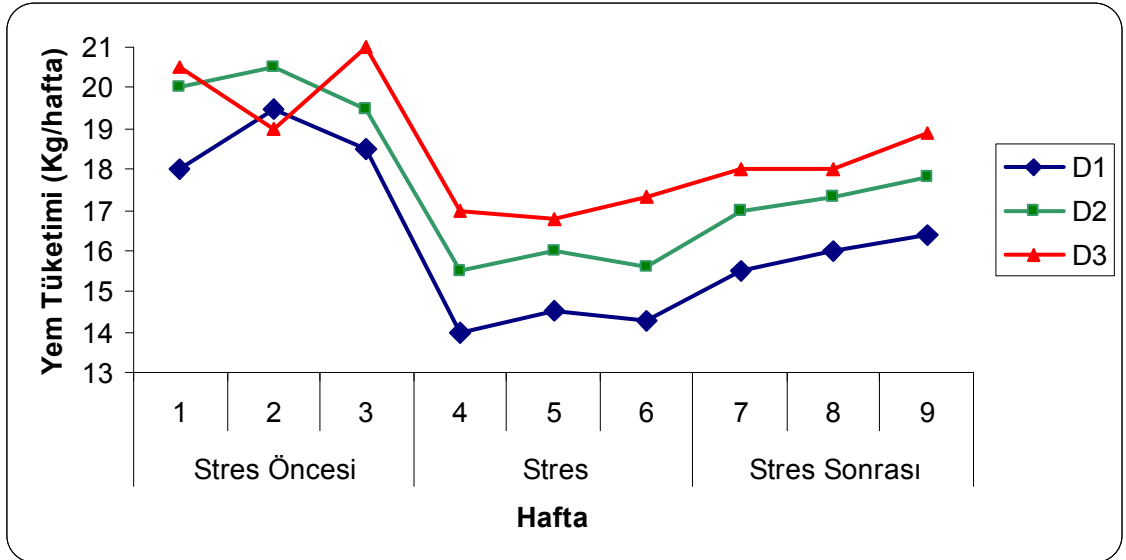
Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 5. Araştırma süresince kontrol gruplarında yem tüketimi



Kontrol 1 (K1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Kontrol 2 (K2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Kontrol 3 (K3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

Grafik 6. Araştırma süresince deneme gruplarında yem tüketimi



Deneme 1 (D1) : Standart yumurta tavuğu yemi ile beslenen grup (30 mg / kg).
Deneme 2 (D2) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 50 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.
Deneme 3 (D3) : Standart yumurta tavuğu yemine ekstra 75 mg/kg E vitamini ilave edilmiş grup.

8. TARTIŞMA

Isı stresinin kanatlılarda, savunma mekanizmasını azaltması, immun sistem üzerinde baskılayıcı etki oluşturması ve oksijen serbest radikallerinin üretimine neden olması gibi olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (73, 77). Çalışmada, ısı stresine bağlı azalan savunma mekanizmasını desteklemek amacıyla antioksidan bir ajan olan E vitaminini farklı dozlarda yumurtacı diyetlerine ilave edilerek, E vitamininin ısı stresi sonucu gelişen olumsuzluklar üzerine etkisi araştırılmıştır.

8.1. Isı Stresi ve Vitamin E'nin Antioksidan Mekanizmaya Etkisi

Yapılan çalışmada K1 grubuna ait normal yumurta tavuğu yemi (30 IU E Vitamini) ile beslenen hayvanların deneme süresince (stres öncesi, stres sırası ve stres sonrasında) plazma E vitamini ortalama düzeyleri 3,46 µg/ml saptanmış olup, bu değer yumurta tavukları ile yapılan çalışma değerlerine benzerlik göstermektedir (86, 73, 98). Diyetlerine ekstra 50 IU ve 75 IU E vitamini ilave edilen K2 ve K3 gruplarının plazma E vitamini düzeyleri ortalaması K1 grubundan farklı olarak ($p \leq 0.05$) deneme süresince sırasıyla 7.00 µg/ml ve 9,35 µg/ml bulunmuştur (Tablo 7). Gruplar arası farklılık diyeteye ilave edilen E vitamini miktarına bağlı olarak gelişmiş olabilir (86). Deneme gruplarında (D1, D2, D3) stres sırasında plazma E vitamini düzeyleri kontrol gruplarına göre (K1, K2, K3) düşme göstermiş ve sırasıyla 2,10 µg/ml, 4,44 µg/ml, 4,53 µg/ml olarak saptanmıştır (Tablo 8). Isı stresi sırasında yem tüketiminin azalmasına bağlı olarak plazma E vitamini düzeyleri azalmış ($p \leq 0.05$) (99, 100, 101) ve elde edilen bulgular Bollengier ve ark. (86) yaptıkları, plazma Vitamin E konsantrasyonunun ısı stresi uygulamasından önce diyetdeki miktarla doğru orantılı olduğu fakat stres süresince vitamin E konsantrasyonunun düştüğünü ifade ettiği çalışmayla paralellik göstermektedir. Bazı araştırmacılar (99, 100, 101) ısı stresi uygulaması yaptıkları araştırmalarda, yapılan çalışmaya benzer şekilde kanatlıların stres süresince yem tüketimlerinde ve plazma E vitamini konsantrasyonlarında dikkat çekici bir düşüş meydana geldiğini ifade etmişlerdir. (99, 100, 101, 102).

Çalışmada K1 grubuna ait normal yumurta tavuğu yemi ile beslenen hayvanların ortalama plazma malondialdehit düzeyleri deneme süresince 8,82 nmol/ml bulunmuştur.

Yüksek dozda E vitamini verilmesine bağlı olarak (81, 82, 98) K3 grubuna ait plazma malondialdehit düzeyleri deneme süresince K1 ve K2 gruplarına göre daha düşük bulunmuştur (Tablo 7) ($p \leq 0.05$). Deneme gruplarında stres sırasında plazma malondialdehit düzeyleri kontrol gruplarına göre yükselme göstermiş ($p \leq 0.05$) ve sırasıyla 15.40 nmol/ml, 13,58 nmol/ml, 13,77 nmol/ml olarak saptanmıştır (Tablo 8). Diyetlerine ekstra E vitamini ilave edilen D2 ve D3 gruplarında MDA seviyesindeki yükselmenin D1 grubu ile karşılaştırıldığında daha az olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmaya benzer olarak, Puthongsiriporn ve ark. (81) yaptıkları araştırmada, ısı stresi (32 °C) uyguladıkları tavuklarda, plazma MDA değerinin stres süresince artmış olduğu ve yemlerine en yüksek doz (65 IU) vitamin E katılan alan yumurtacı tavuklarda en düşük plazma MDA değerini gördüklerini belirtmişlerdir. Yine, Öztürk ve ark. (82) yaptıkları çalışmada, diyetlerine 70 mg E vitamini ve 500 mg C vitamini ilave edilen grupların MDA seviyelerinin kontrol gruplarına kıyasla daha düşük bulduklarını ifade etmişlerdir. Şahin ve ark. (103) da ısı stresi altında diyetlere ilave edilen vitamin A ve E'nin broylerlerde serum MDA seviyelerindeki artışın kontrol gruplarına göre düşük olduğunu öne sürmüşlerdir. Yapılan tüm bu araştırmalar çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir. Çevre ısısının yükselmesine paralel olarak vücut ısılarını optimal seviyede tutmaya çalışan kanatlılarda solunum ve eveparasyon artmakta, bu da kanatlı metabolizmasını ve enerji tüketimini arttırmaktadır (104). Artan enerji ihtiyacı yemle karşılanamadığı durumlarda depo yağlardan lipidlerin mobilizasyonu meydana gelmektedir. Lipid mobilizasyonuna bağlı olarak da lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit seviyesi yükselmektedir (105). Bu çalışmada da ısı stresine bağlı olarak yem tüketimi azalmıştır ve hayvanların artan enerji ihtiyacı yemle karşılanamadığından stres süresince yağların mobilizasyonu sonucu artan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak MDA seviyesi yüksek bulunmuştur. Kontrol gruplarına göre yüksek dozda E vitamini alan hayvanlarda plazma malondialdehit seviyelerindeki yükselmenin daha az olması, E vitamininin antioksidan bir ajan olmasına bağlı olarak (20, 28, 106) ısı stresıyla oluşan lipid peroksidasyonunu azaltmasından (20) kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada K1 grubuna ait hayvanların ortalama eritrosit malondialdehit düzeyleri deneme süresince 168,54 n-mol/g Hb bulunmuştur (Tablo 7). Stres sırasında deneme gruplarına ait eritrosit malondialdehit düzeyleri kontrol gruplarına göre yükselme göstermiş ($p \leq 0.05$) ve sırasıyla 219,87 n-mol/g Hb, 212,28 n-mol/g Hb, 189,53 n-mol/g Hb

olarak saptanmıştır (Tablo 8). En yüksek dozda E vitamini alan D3 grubunda eritrosit MDA seviyesindeki artış D1 ve D2 gruplarına göre en az olmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 8). Yapılan çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde Öztürk ve ark. (82) yaptıkları çalışmada diyetlerine 0.07 mg Se, 70 mg E vitamini, 500 mg C vitamini ilave edilen grupların eritrosit MDA seviyelerindeki artışın kontrol gruplarına kıyasla bariz miktarda düşük olduğunu ifade etmektedirler. Eritrosit MDA seviyelerindeki artışın E vitamini alan gruplarda D1 grubuna kıyasla düşük olması E vitamininin antioksidan etkisine bağlı olarak eritrosit membranlarında oluşan lipid peroksidasyonunu engellemesinden ileri gelebilir.

Yapılan çalışmada K1 grubuna ait tavukların ortalama eritrosit GSH-Px enzim düzeyleri deneme süresince 394,16 U/ I Hemolizat olarak saptanmıştır (Tablo 7). Diyetlerinde ekstra E vitamini alan K2 ve K3 gruplarının eritrosit GSH-Px aktivitesi K1 grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 7). Deneme gruplarında stres sırasında eritrositlerde GSH-Px düzeyleri kontrol gruplarına göre yükselme göstermiş, ($p \leq 0.05$) sırasıyla D1, D2 ve D3 gruplarında 843,48 U/I Hemolizat, 1096,60 U/I Hemolizat, 1145,20 U/I Hemolizat olarak saptanmıştır (Tablo 8). Çalışmada diyetlerine E vitamini ilave edilen gruplarda GSH-Px aktivitesi stres sırasında yüksek bulunmuş ve elde edilen bulgular Öztürk ve ark. (82) yaptıkları, 0,07mg Se ve 70 mg E vitamini alan tavukların eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla yükseldiğini gösteren çalışmayla paralellik göstermektedir. Diğer bir araştırmada çalışmaya benzer şekilde vitamin E ve Se oksidatif strese direnci incelenmiş GSH-Px / Cu Zn SOD oranının vitamin E ve Se ile beslenen hayvanlarda 2,8 iken vitamin E ve Se eksik diyetle beslenenlerde 0,13 e düştüğü belirtilmektedir (83).

K1 grubuna ait hayvanların ortalama eritrosit CAT enzim düzeyleri deneme süresince 9,81 k/g-Hb olarak saptanmıştır. Yüksek dozda E vitamini alan K3 grubunun eritrosit CAT aktivitesi K1 grubuna kıyasla yüksek ($p \leq 0.05$) bulunmuştur (Tablo 7). Deneme gruplarında stres sırasında eritrosit CAT düzeyleri de kontrol gruplarına göre yükselme göstermiştir ($p \leq 0.05$). D1, D2 ve D3 gruplarında sırasıyla 50,93 k/g-Hb, 55,94 k/g-Hb, 58,58 k/g-Hb olarak saptanmıştır (Tablo 8). Avanzo ve ark. (83) ise vitamin E ve Se, oksidatif strese karşı etkilerini inceledikleri çalışmada, E vitamini ve Selenyumdan eksik diyetle beslenen hayvanların kaslarında CAT aktivitesinin arttığını öne sürmüşlerdir .

Normal yumurta tavuğu yemi ile beslenen K1 grubu hayvanlarının ortalama eritrosit SOD enzim düzeyleri deneme süresince 50,25 U/g-Hb olarak belirlenmiştir (Tablo 7). Deneme gruplarında stres sırasında eritrosit SOD düzeyleri kontrol gruplarına göre yükselme göstermiş ($p \leq 0.05$) ve sırasıyla D1, D2 ve D3 gruplarında 74,70 U/g-Hb, 94,90 U/g-Hb, 165,00 U/g-Hb olarak saptanmıştır (Tablo 8). Çalışmada diyetlerine E vitamini ilave edilen gruplarda SOD aktivitesi stres sırasında yüksek bulunmuş ve elde edilen bulgular Öztürk ve ark.(82) yaptıkları diyetlerine vitamin E ve C ilave edilen gruplarda eritrosit SOD aktivitesinde yükselme olduğunu ifade eden çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Yapılan çalışma savunma mekanizması açısından değerlendirildiğinde, incelenen antioksidan enzim grubuna ait; GSH-Px, CAT, SOD enzim düzeylerinin stres süresince kontrol gruplarına göre yükselme gösterdiği belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). Kanatlılarda ısı stresine bağlı gelişen serbest radikaller lipid peroksidasyonu ile hücrelerde hasar oluşturmaktadır (77). Serbest radikaller, membran boyunca uzanarak lipidleri ve enzimleri yıkıma uğratmaktadır (25). Vitamin E'nin membranlarda bulunan en büyük antioksidan olması nedeniyle, stres sırasında antioksidan enzim aktivitelerini de artırarak lipid peroksidasyonunun erken döneminde gelişen serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırdığı belirtilmektedir (73). Yapılan çalışmada ekstra vitamin E verilen D2 ve D3 gruplarında antioksidan enzim aktivitelerinin yüksek olması bu durumun bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

8.2. Isı Stresi ve Vitamin E'nin Yumurta Sarısında Malondialdehit Düzeylerine Etkisi

Çalışmada K1 grubuna ait tavukların ortalama yumurta sarısı E vitamini düzeyleri deneme süresince 25,38 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur (Tablo 7). K1 grubunun bu değeri yumurta tavukları ile yapılan çalışma değerlerine benzerlik göstermektedir (73, 86). Diyetlerine ekstra 50 IU ve 75 IU E vitamini ilave edilen K2 ve K3 gruplarının ortalama yumurta sarısı E vitamini düzeyleri farklı dozlarda E vitamini ilavesine bağlı olarak, deneme süresince sırasıyla 31,48 $\mu\text{g/ml}$ ve 39,12 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur (Tablo 8). Deneme gruplarında stres sırasında yumurta sarısı E vitamini düzeyleri kontrol gruplarına göre düşme göstermiş ve sırasıyla 21,10 $\mu\text{g/ml}$, 24,57 $\mu\text{g/ml}$, 30,64 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. Yapılan bir

araştırmada ısı stresi uygulanan ve diyetlerine farklı dozlarda E vitamini (65 IU, 45IU) katılan tavuklarda yumurta sarısı E vitamini konsantrasyonunu yükselttiği fakat stres periyodunda konsantrasyonu düşürdüğü bildirilmektedir (81). Isı stresi sırasında yumurta sarısı E vitamini düzeylerinin kontrol gruplarına göre düşme göstermesi strese bağlı yem tüketimindeki azalmadan (99, 100, 101) kaynaklandığını düşündürmektedir.

Çalışmada K1 grubuna ait tavukların ortalama yumurta sarısı malondialdehit düzeyleri (30.dak, 60.dak, 90.dak) deneme süresince yüksek dozda E vitamini alan K2 ve K3 gruplarından yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 9). Bu fark diyetlere ilave edilen E vitamininden kaynaklanmış olabilir (81). Deneme gruplarında stres sırasında yumurta sarısı malondialdehit düzeyleri (0.dak, 30.dak, 60.dak, 90.dak) kontrol gruplarına göre yükselme göstermiş ($p \leq 0.05$) ve diyetlerine ekstra E vitamini ilave edilen D2 ve D3 gruplarında MDA seviyesindeki yükselmenin D1 grubu ile karşılaştırıldığında daha az olduğu görülmüştür (Tablo 10). Yapılan çalışmaya paralel olarak, Puthongsiriporn ve ark. (81) yaptıkları araştırmada, ısı stresi (32 °C) uyguladıkları tavuklarda, yumurta sarısı MDA değerinin stres süresince artmış olduğu ve yemlerine en yüksek doz (65 IU) vitamin E katılan alan yumurtacı tavuklarda en düşük plazma MDA değerini gördüklerini ileri sürmüşlerdir.

8.3. Isı Stresi ve Vitamin E'nin Yumurta Kalitesine Etkisi

Deneme gruplarında ısı stresi sırasında yumurta kalitesini belirleyen parametreler; yumurta kabuk kalınlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta ağırlığı, yumurta özgül ağırlığı kontrol gruplarına göre düşme göstermiştir ($p \leq 0.01$) (Tablo 12). Çalışmada yumurta kabuk ağırlığı düzeyleri yumurta kalitesini belirleyen diğer parametrelerden farklı olarak K1 grubuna ait hayvanlarda diyetlerine ekstra E vitamini ilave edilen K2 ve K3 gruplarından düşük ($p \leq 0.05$) bulunmuştur (Tablo 11). Bu farklılığın diyete ilave edilen E vitamininden kaynaklandığını ileri sürebilir (85). Isı stresine bağlı yem tüketiminin azalması nedeniyle yumurta kabuk yapısında yer alan başta kalsiyum olmak üzere mineral maddelerin tavuklar tarafından yeterli miktarda alınmaması yumurta kalitesini düşürmektedir. Kandaki bikarbonat iyon konsantrasyonunun yükselmesi ve ısı stresinin kanın kalsiyum taşıma kapasitesini azaltmasının kalsiyum kaybına neden olduğu öne sürülmektedir (3, 7). Bununla birlikte ısı stresine maruz kalan hayvanlarda hızlı solunumla beraber artan

karbondioksit kaybına bağılı olarak da yumurta kabuk kalınlığı incelmeye dolayısıyla yumurta kabuk ağırlığının da düşmesi söz konusu olabilir (107, 108). Yumurta tavuklarında ısı stresinin farklı yemleme yöntemleri ile önlenmesi konulu bir araştırmada, çalışmaya benzer şekilde, günün en sıcak olduğu saatlerde ısıya maruz kalan hayvanlarda, yumurta kabuk kalınlığı, yumurta kabuk ağırlığı, yumurta ağırlığı ve yumurta özgül ağırlığı düzeylerinde düşme olduğu ileri sürülmektedir (3). Çalışmada yumurta ağırlıklarına ilişkin elde edilen bulgular, ısı stresi (32°C) uygulanan tavuklarda farklı dozlarda E vitamini alan hayvanlarda yumurta ağırlıklarının düştüğünü ifade eden araştırmayla benzerlik göstermektedir (73). Buna karşın elde edilen bulgulardan farklı olarak, ısı stresinin uygulandığı ve farklı dozlarda E Vitamini uygulamasının (20 IU, 60 IU, 120 IU) yapıldığı başka bir çalışmada; 60 IU ve 120 IU E vitamini alanlarda yumurta ağırlıklarının 20 IU E vitamini alana kıyasla daha yüksek olduğu belirtilmektedir (81). Bollengier ve ark.(86) yaptıkları araştırmada ise, ısı stresinin uygulandığı ve farklı dozlarda E vitamini (65 IU, 45 IU) uygulamasının yapıldığı çalışmada 65 IU E vitamini alan gruba ait yumurta ağırlıklarının E vitamini dozuna bağılı olarak daha yüksek olduğu ifade edilmektedir. Aynı araştırmada ısı stresi süresince yumurta özgül ağırlıklarının da çalışmaya benzer şekilde düştüğü belirtilmektedir.

8.4. Isı Stresi ve Vitamin E'nin Canlı Ağırlığa, Yumurta Verimi ve Yem Tüketimine Etkisi

Çalışmada K1, K2 ve K3 gruplarına ait grubuna ait hayvanların canlı ağırlıkları haftalık sırasıyla 1520 g, 1520 g ve 1510 g olarak bulunmuştur (Grafik 1). Deneme gruplarında stres sırasında canlı ağırlık haftalık düzeyleri kontrol gruplarına göre düşme göstermiş ve sırasıyla 1360 g, 1320 g, 1400 g olarak saptanmıştır (Grafik 2). Çalışmadaki bulgulara paralel şekilde Deaton ve ark.(109) yaptıkları çalışmada ısı artışının 35°C'ye çıktığı broylerlerde 21°C ısıya maruz kalanlara kıyasla canlı ağırlık kaybının daha fazla olduğu bildirilmektedir. Yapılan araştırmalarda (110, 111) çalışmaya benzer şekilde ısı stresi uygulanan gruplarda canlı ağırlık kaybının arttığını ifade etmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde yapılan başka bir araştırmada ısının 35°C'den 29°C'ye düşürülmesi sonucunda broylerlerde canlı ağırlıkların 6 günlük periyotta %1.2 oranında yükseldiği ifade edilmektedir (112). Sekiz saat süreyle 24 °C ısı uygulandığı ve 2 saatde bir

sıcaklığın artırılarak ısının 35°C'ye yükseltildiği başka bir çalışmada, broylerde mortalitenin arttığı ve büyüme oranının düştüğü öne sürülmektedir (78).

Yapılan çalışmada K1 grubuna ait hayvanların yumurta verimleri haftalık 160 tane olarak saptanmıştır. K2 ve K3 gruplarının sırasıyla haftalık yumurta verimleri 170 ve 175 tane olarak bulunmuştur (Grafik 3). Deneme gruplarında stres sırasında yumurta verimleri haftalık düzeyleri kontrol gruplarına göre düşme göstermiş ve sırasıyla 150, 160, 166 olarak saptanmıştır (Grafik 4). Yüksek dozda E vitamini alan hayvanlarda yumurta verimindeki düşme daha az olmuştur. Yapılan çalışmaya benzer şekilde, diyetlerine 10 mg Vitamin E ilave edilmiş olan hayvanlarda ısı stresi süresince yumurta veriminde belirgin düşmeler olurken 500 mg E vitamini alan grupta kontrol grubuna göre yumurta veriminde %9.20 oranında artış bulunduğu ifade edilmektedir (73). Buna karşın ısının etkisiyle yumurta veriminde düşmenin meydana geldiğini anlatan başka bir çalışmada ısıya maruz bırakılan ve en düşük doz olan 20 IU E vitamini alan hayvanlarda yumurta veriminin en az olduğu bildirilmektedir (85). Bollengier ve ark.(84) yaptıkları çalışmada ise, ısının 22°C olduğu ilk 4 hafta yumurta veriminin araştırmadaki tüm gruplarda benzer olduğu ve yumurta veriminin vitamin E uygulamasından etkilenmediği öne sürülmektedir. Isının uygulanmasıyla beraber kontrol diyetleriyle beslenenlerde verimin düştüğü ve optimum verimin 250 mg/kg E vitamini alanlarda olduğu belirtilmektedir. Schedeler ve ark. (106) E vitamininin yumurta verimi üzerine olan etkisini araştırdıkları bir çalışmada 50 IU E vitamini alan hayvanlarda yumurta veriminin 27 IU E vitamini alanlara kıyasla daha geliştiğini bildirmektedir. Yapılan bir başka araştırmada, yumurtacı sürülerde rasyonlarına 500 mg/kg a kadar vitamin E ilavesinin sürekli ısı stresi altındaki hayvanlarda yumurta üretimindeki düşmeyi bir miktar azalttığı öne sürülmektedir (84). Isı stresi altındaki beyaz yumurtacı tavuklarda gece yememesinin etkilerini inceleyen bir araştırmada kontrol grubunda bulunan ve ısıya maruz kalan hayvanlarda yumurta verimi % 68.46 iken gece yememesi yapılan deneme grubunda ise verimin % 76.79 olduğu ifade edilmektedir (7).

Yapılan araştırmalarda ısı stresinin (73, 85) yumurta sarısı proteinlerinin dolaşımdaki sentezini engellediği ve buna bağlı olarak da yumurta verimini olumsuz etkilediği ifade edilmektedir. Vitamin E'nin, yumurta sarısı protein sentezinde önemli olan karaciğer hücrelerinin hasarını engelleyerek yumurta verimini arttırdığı belirtilmektedir.

Çalışmada stres süresince yüksek dozda E vitamini alan hayvanlarda yumurta verimindeki düşmenin daha az olmasının bu sebeplerden kaynaklandığı ileri sürebilir.

Yem tüketimi kontrol gruplarında (K1, K2, K3) sırasıyla 19,00 kg, 19,50 kg ve 19,50 kg olarak saptanmıştır (Grafik 5). Deneme gruplarında stres sırasında yem tüketimleri haftalık düzeyleri kontrol gruplarına göre düşme göstermiş ve sırasıyla 14,00 kg, 15,70 kg, 17,00 kg olarak bulunmuştur (Grafik 6). Yüksek dozda E vitamini alan hayvanlarda yem tüketimindeki düşme daha az olmuştur. Elde edilen bulgulara paralel olarak, ısı stresinin uygulandığı ve farklı dozlarda E Vitamini uygulamasının (20 IU, 60 IU, 120 IU) yapıldığı bir çalışmada; ekstra E vitamini alan hayvanlarda yem tüketiminin 20 IU E vitamini alana kıyasla daha iyi olduğu, ısı stresine maruz kalmayanlarda aynı dozlarda vitamin E alınımının yem tüketimini etkilemediği bildirilmektedir (85). Çalışmadaki bulgulardan farklı olarak, ısı stresinin uygulandığı ve farklı dozlarda E vitamini uygulamasının (10 IU, 125 IU, 250 IU) yapıldığı bir başka çalışmada yem tüketimi açısından gruplar arasında çok az fark bulunduğu ifade edilmektedir (73). Bir diğer araştırmada da diyetle E vitamini ile birlikte ilave edilen Se'un ısı uygulaması sırasında yemin sindirilebilirliğini arttırdığı belirtilmektedir (102).

9. SONUÇ

Sonuç olarak, ısı stresinin kanatlılarda hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna bağlı oksidatif hasara neden olduğu ve antioksidan savunma sistemini olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Diyetlere ilave edilen ekstra E vitamininin (50 IU ve 75 IU) ısı stresinden kaynaklanan olumsuzlukları azalttığı gözlemlenmiştir.

Kanatlılarda ısı stresinin, yem tüketimi ve yumurta verimini düşürdüğü belirlenmiştir. Yem tüketimi düşmesinin canlı ağırlık kaybının artmasına neden olduğu saptanmıştır. Özellikle ticari yetiştiriciler için yüksek çevre ısısının yumurta verimi ve kalitesini etkileyen önemli bir etken olduğu ve diyetlere ilave edilen E vitamininin yumurta parametreleri üzerinde de olumlu etkileri olduğu görülmüştür.

10. ÖZET

Isı stresi oluşturulan yumurta tavuklarında oral Vitamin E'nin antioksidan aktivite, yumurta verimi ve kalitesine etkisi

Ülkemizde kanatlı yetiştiriciliğinde en önemli çevresel faktörlerden birisi ısı stresidir . Ortam ısısının yükselmesi kanatlılarda vücut ısısını düzenleyici mekanizmayı bozmaktadır. Çalışmada ısı stresine bağlı azalan savunma mekanizmasını desteklemek amacıyla antioksidan bir ajan olan E vitamini farklı dozlarda yumurtacı diyetlerine ilave edilerek, ısı stresi sonucu gelişen olumsuzluklar üzerine etkisi araştırılmıştır.

Araştırma, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı deneme kümeslerinde, toplam 150 adet Leghorn hattı yumurta tavuğu kullanılarak, Temmuz 2003 ile Eylül 2003 arasında tek aşamada gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada; aynı ortam koşullarına sahip 2 kümes kullanılmıştır. Her kümesde 75 adet tavuk bulunmuştur. Kümeslerden birine yüksek ısı uygulanmıştır. Gruplar kendi aralarında, ısı stresi uygulanmayan (Kontrol grubu) ve ısı stresi uygulanan (Deneme grubu) şeklinde ayrılmıştır. Kontrol ve Deneme grubunda bulunan her bir alt grup, beşli replikasyonlu çalışılmıştır. Araştırma 9 hafta sürmüştür. Tüm hayvanlar adaptasyon açısından, üç hafta süre ile % 45 bağıl nem ve 21⁰C oda ısısında tutulmuşlardır. Dördüncü hafta deneme grubunun ısı 35⁰C'ye, nem de % 65'e yükseltilmiştir. Takip eden üç hafta boyunca hayvanlar aynı kondüsyona maruz bırakılmışlardır. Yedinci hafta ısı tekrar üç hafta süreyle 21⁰C'ye düşürülmüştür. Kontrol grubunun oda ısısı 9 hafta süresince 21⁰C, nem de % 45 olarak sabit bırakılmıştır. Kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanların kanat altı venalarından (V. Subcutanea ulnaris), araştırmanın 13. (ısı stresi öncesinde), 34. (ısı stresi sırasında) ve 55. (ısı stresi sonrasında) günlerinde olmak üzere 3 kez kan alınmıştır. Plazma ve yumurta sarısı E vitamini HPLC yöntemi ile saptanmıştır. Plazma MDA, eritrositlerde MDA, GSH-Px, CAT , SOD ve yumurta sarısında MDA spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

Deneme gruplarında stres sırasında plazma MDA, eritrosit MDA, GSH-Px, CAT , SOD ve yumurta sarısı MDA konsantrasyonlarındaki artış ve plazma E vitaminindeki düşüş istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

Araştırma süresince kontrol (K1, K2, ve K3) ve deneme (D1, D2 ve D3) gruplarında bulunan hayvanların günlük yumurta verimlerini kontrol etmek amacıyla her gün yumurtalar toplanmış ve sayımı yapılmıştır. Yumurta verimi ve yumurta kalitesine ait parametrelere de (yumurta ağırlığı, yumurta özgül ağırlığı, yumurta akı yüksekliği, kabuk ağırlığı, kabuk kalınlığı) ve ayrıca yumurta sarısında E vitamini ve Malondialdehit miktarlarına da kan alım günlerinde toplanan yumurtalarda bakılmıştır.

Yumurta kabuk kalınlığı, yumurta ağırlığı ve yumurta özgül ağırlıkları deneme gruplarında stres periyodunda düşmüş ve istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Canlı ağırlık artışları, yumurta verimi ve yem tüketiminde stres periyodunda azalmalar meydana gelmiştir

Sonuç olarak, ısı stresinin kanatlılarda antioksidan savunma sistemini olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Isı stresinin , yem tüketimi ve yumurta verimini azalttığı görülmüştür. Yem tüketimi azalmasının canlı ağırlık kaybının artmasına neden olduğu belirlenmiştir. Diyetlere ilave edilen ekstra E vitamininin ısı stresinden kaynaklanan olumsuzlukları azalttığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: E Vitamini, yumurtacı tavuklar, antioksidan savunma sistemi, sıcaklık stresi.

11. SUMMARY

The Effects of Vitamin E on antioxidant system and egg quality in heat stressed laying hens

One of the most important environmental factor is heat stress in poultry production in our country. Increasing the environmental temperature disturbs the body heat regulatory mechanism in poultry . In this trial, to support the reduced defense mechanism by heat stress, the efficacy of vitamin E, an antioxidant agent, on negative impacts due to heat stress examined by adding at different levels into laying hen diets.

Trial has been carried out by using 150 Leghorn laying hen in experimental cages of Biochemistry Department of Veterinary Faculty in Istanbul University at single phase between July 2003 and September 2003.

There were two cages have been used which had same environmental conditions. There were 75 animal in each cage. One cage has been exposed to high temperature. Groups have been divided into to 2 among them as non heat stressed (control group) and heat stressed (experimental group). Each group had 5 replications. Trial has taken 9 weeks. All animals have kept in 45 % relative humidity and 21⁰C room temperature for first 3 weeks for adaptation. In the 4th week the temperature has been increased to 35⁰C and RH to 65 % in experimental group. Following 3 weeks those animals exposed to the same condition. At day13 (before heat stress), day 34 (during heat stress) and day 55 (after heat stress) blood samples have been taken from wing vein (V. Subcutanea ulnaris) of animals in control (K1, K2, and K3) and experimental (D1, D2 and D3) groups.

Vitamin E in plasma and egg yolk were analysed by HPLC. Plasma MDA, erythrocyte MDA, GSH-Px, CAT, SOD, egg yolk MDA were analyzed by spectrophotometric method.

The increase of plasma MDA, erythrocyte MDA, GSH-Px, CAT, SOD and egg yolk MDA concentrations and decrease of plasma vitamin E were found statistically important in experimental group ($p \leq 0.05$).

To find out the daily egg production, eggs were collected from control (K1, K2, and K3) and experimental (D1, D2, and D3) groups and results were recorded during the trial. Parameters indicated the egg production and the egg quality (egg weight, specific gravity, haugh unit, shell weight, shell thickness) and vitamin E and MDA in egg yolk were measured at the day when blood samples were taken.

Egg shell thickness, egg weight and egg specific gravity decreased in experimental group during heat stress and found statistically important ($p \leq 0.05$). There were some decrease on egg production, feed intake and live weight gain during heat stress period.

As consequence, it was determined that heat stress affects the antioxidant defense mechanism in negative way in poultry. It was observed that heat stress has decreased the feed intake and egg production. It was determined that feed intake loss caused to live weight gain loss. It was observed that additional vitamin E into the feed decreased the negative impacts of heat stress.

Key Words: Vitamine E, laying hens, antioxidant defeanse system, heat stress.

12. KAYNAKLAR

- 1- **Kolb E.** Vitamins and the Immune System. Hoffmann-La Roche Ltd. Vitamins and Fine Chemicals Division, Basel. 1997; 22-27.
- 2- **Whitehead C, Keller T.** An update on ascorbic acid in poultry. World's Poult. Sci. J. 2003 ; **59**: 161-167.
- 3- **Ertaş NO, Şahin K.** Yumurta Tavuklarında Sıcaklık Stresinin Farklı Yemleme Yöntemleriyle Önlenmesi. Türk J.Vet Anim. Sci 2002; **26**: 453-462.
- 4- **Salah Esmail H.** Thermal influences on poultry. World Poult.-Elsev. 2001; **17-3**: 27-28.
- 5- **Harmeyer J, Grabe C.** Deutsche Tierartliche Wochen Schrift. 1981; **88**: 414-404
- 6- **Ahmad I.** Battling the heat in the summer months. World Poult.-Elsev. 2001; **17-5**: 21-23.
- 7- **Filizciler M, Çerçi H, Tath P.** Sıcak Stresi Altındaki SPF Beyaz Yumurtacı Tavuklarda Gece Yemlemesinin Etkileri. Türk J.Vet Anim. 2002; **26**: 439-446.
- 8- **Aras K, Erşen G, Karahan S.** Vitaminler Tıbbi Biyokimya Ankara Ü. Basımevi Ankara 1976.
- 9- **Sarath Sirimanne R, Donald G, Ma L, Joseph Justice B.** A preliminary study of the extraction and quantification of vitamins A and E in human serum and whole blood. J. Chromato. B 1998 ;**716** : 129-137
- 10- **Mc. Dowell L.R.** Vitamins in Animal Nutrition. Academic Pres Inc.London 1990; 93-131.

- 11- **Mezes M, Surai P, Salyi G, Speake B., Gaal T, Maldjian A.** Nutritional Metabolic Diseases of Poultry and Disorders of the Biological Antioxidant Defence System. *Acta Vet. Hung.* 1991; **45-4**: 349-360.
- 12- **Coates ME.** The Role of Vitamins in Metabolic Processes. *Nature.* 1979; **14**: 380-381.
- 13- **Tengerdy RP.** Vitamin E, immune response, and disease resistance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1989; **570** : 335-344.
- 14- **Gisela F.** Anti-inflammatory and Immunoregulatory Effects of Vitamin E in Poultry. Department of Poultry Science, Center of Excellence for Poultry Science, University of Arkansas, Fayetteville, Arkansas, USA. 2000.
- 15- **Scott ML, Nesheim MC, Young RJ.** Nutrition of the Chicken. 3rd Ed. W.F. Humphrey Pres Inc., New York. 1982; 159-176.
- 16- **Decker E, Faustman C, Lopez- Bote C.** Antioxidants in Muscle Foods. Copyright by John Wiley and Sons, Inc. 2000.
- 17- **Goodman and Gilman's.** The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th Ed., Mc Graw Hill, Inc. Singapore 1992; 1566-1571.
- 18- **Lessard M, Yang W, Elliott G, Rebar A, Van Vleet J, Deslauriers N, Brisson G, Schultz R.** Cellular immune responses in pigs fed A vitamin E and selenium deficient diet. *J. Anim. Sci.* 1991; **69**: 1575- 1582.
- 19- **Rice D, Kennedy K.** Vitamin E : Function and Effects of Deficiency. *Br. Vet.* 1988; **144** : 482
- 20- **Robert T.** The effect of vitamin E on egg production, hatchability and humoral immune response of chickens. *Poult. Sci.* 1973; **52** : 778-783.

- 21- **Bendich A.** Antioksidan Vitaminler ve Başışıklık Cevapları. Edr Limited Çeviri, İstanbul. 1995; 9-8
- 22- **Frederick V.** Free Radicals. Analytical Chem. 1993; **65-12** : 374-378.
- 23- **Swain BK, Johri TS, Majumdar S.** Effect of supplementation of Vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. Br. Poult. Sci. 2000; **41-3**: 287-292.
- 24- **Hendriks T.** Assmann RFTA: On the Fluorometric Assay of Circulating Lipoperoxides. Clin. Chim. Acta. 1974 ; **174** : 263- 270
- 25- **Booth NH, Mc Donald E.** Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6.th Ed. Iowa State University Pres, USA, 1991; 693-695.
- 26- **Anonim.** On feed Additives. Technical Information. Ed. BASF, Aktiengesellschaft. Ludwingschafen. Germany, 1997.
- 27- **Biesalski HK.** Vitamins and Carotenoids as Biological Antioxidants. Ed. BASF, Aktiengesellschaft. Ludwingschafen. Germany, 1992.
- 28- **Surai P.** Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and developing chick. Br. Poult. Sci. 2000; **41**: 235- 243.
- 29- **Bendich A.** Vitamin E and immune functions. Basic Life Sci. 1998; **49**: 615-620.
- 30- **Tanaka J, Fujiwara H, Torisu M.** Enhancement of Hepler T cell activity by dietary supplementation of vitamin E in Mice. Immun. 1979; **38**: 727
- 31- **Franchini A, Bertuzzi S, Manfreda G, Meluzzi A.** High Dose of vitamin E on production of interferons in broilers. Arch. Geflügelk 1998 ; **54-4**: 143-146.

- 32- **Turkmen G, Öztabak K, Demircan H, Toker N, Matur E.** Effects of Vitamin E on Cellular Immune Responses in Laying Hens Forced-Moulted by Different Methods. Arch. Geflügelk, Yayına kabul edildi, Baskıda.
- 33- **Nockels CF, Slota SJ, Mathians MM.** Effects of Dietary Vitamin E Level and Unsaturation of Fatty Acids on Chick Immune Responses. J. Nut. Immun. 1 1992; 4: 83-100.
- 34- **Jordan FTW.** Poultry Diseases.3rd Ed.The University Pres, Cambridge. London1990; 299-302.
- 35- **Anonim (-).** Vitamin E in Animal Nutrition. Ed.; BASF, Aktiengesellschaft. Ludwigshafen. Germany.
- 36- **El Boushy AR.** Structure, absorption, role of vitamin E in poultry explored. Feedstuffs 1988a ; 60-35:16-19.
- 37- **Uyar T.** Organik Kimya, Ankara İktisadi ve Ticari İlimler Akademisi Yayını, Ankara 1981; 223-268.
- 38- **Akpoyraz M.** Organik Kimya, Optimal Yayınevi, Ankara 1990; 15-16.
- 39- **Nader F.** Emerging role of antioxidant nutrients in disease prevention: Mode of action and epidemiology. Proceedings of the Meeting Arkansas Nutrition Conference. Clarion Inn Fayetteville Arkansas, 1994; 1-17.
- 40- **Lunec J.** Free radicals: Their involvement in diseases processes. Ann Clin. Biochem. 1990; 27: 173-182.
- 41- **Chance B, Sies H, Boveris A.** Hydroxide metabolism in mammalian organism. Phys.Rev. 1979; 59: 527-605.

- 42- **Luo J.** Singlet Oxygen. B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program. The University of Iowa. 2001;77: 222
- 43- **Bielsky BHJ, Allen AO.** Mechanism of disproportionation of superoxide radicals. J. Phys. Chem. 1977 ; **81**: 1048-1050
- 44- **Nilsson R, Pick FM, Bray RC.** EPR studies on reduction of oxygen to superoxide by some biochemical systems. Biochem. Biophys. Acta. 1969 ; **192**: 145-148.
- 45- **Stephanie L, Diana A, Averill B.** Heat Shock inactivates cellular antioxidant defenses against hydrogen peroxide: Protection by glucose. Free radical Biol. Med. 2002; **32-8**: 752-765.
- 46- **Mc Cord JM.** Oxygen derived free radicals in post ischaemic tissue injury. Engl. Med. 1985; **312**:159-163.
- 47- **Southorn PA, Powis G.** Free Radicals in Medicine.I. Chemical Nature and Biological Reactions. Mayo Clin.Proc. 1988; **63** : 381-389.
- 48- **Slater TF.** Free radicals and tissue injury. Biochem. J. 1984 ; **222**: 1-15
- 49- **Halliwell B, Slater T.** Current status review: Free Radicals, Reactive Oxygen Species and Human Disease: Critical Evaluation with Special Reference to Atherosclerosis. Free radical Mechanisms in Tissue Injury. Biochem. J. 1984; **222**: 1-15.
- 50- **Poul JL, Sall ND, Som T.** Lipid peroxidation abnormalities, Nephron 1993 ; **64**:106-109.
- 51- **Niki E.** Antioxidant in relation to lipid peroxidation, Chem. Phys. Lip. 1987; **44**: 227-253
- 52- **Christine C, Rosemary E, Maureen B, Carrell RW.** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J.Lab.Clin.Med. 1975 ; **85-2**: 337-341.

- 53- **Öztürk R, Bozkaya A, Atav E, Sağlam N, Tahran L.** Purification and characterization of superoxide dismutase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme and Microbial Tec.* 1999; **25**:392-399.
- 54- **Clifford A.** Total Nutrition feeding animals for health and growth. Nottingham University Pres 2001;183-190.
- 55- **Frodovich I.** Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharm. Toxic.* 1983; **23**: 239-257
- 56- **Sun Y, Larry W, Ying L.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinic. Chem.* 1988; **34-3**: 497-500.
- 57- **Forman HJ, Fridovich I.** Superoxide dismutase: A comparison of rate constants, *Arch. Biochem. Biophys.* 1973;**158**: 396-400.
- 58- **Beckman G, Lundgren E, Tarnvik A.** Superoxide dismutase isozymes in different human tissues, their genetic control and intracellular localization. *J.Biol.Chem.* 1973; **23**: 338-345.
- 59- **Frodovich I.** Quantative aspect of production of superoxide anion radical by milk xantine oxidase . *J.Biol.Chem.* 1970 ; **245**: 4053- 4057
- 60- **Iman A.** Catalase. B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program . The University of Iowa.2001;**77**: 222.
- 61- **Percy ME.** Catalase: an old enzyme with a new role, *Can J. Biochem. Cell. Biol.* 1970; **62**:1006-1014.
- 62- **Aviram I, Shaklai N.** The association of human erythrocytes catalase with the cell membrane. *Arch. Biochem. Biophysy.* 1981; **212**: 329-337.

- 63- **Paglie DE, Valentie WN.** Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathion peroxidase. *J.Lab.Clin.Med.* 1967; **70-1**: 158-169.
- 64- **Wilson PS, Judson GJ.** Glutathion Peroxidase Activity in Bovine and Ovine Erythrocytes in Relation to Blood Selenium Concentration. *Br.Vet.J.* 1976 ; **132**: 428-434.
- 65- **Thell GB, Charles B, Doolan P, Calif O.** Red Cell glutathione content and stability in renal insufficiency. *J.Lab.Clin. Med.* 1961; **58-5**: 737-742
- 66- **Thompson RH, McMurray CH, Blanchflower WJ.** The levels of Selenium and glutathion peroxidase activity in blood of ar, cows and pigs. *Res. Vet. Sci.* 1976; **20**: 229-231.
- 67- **Gökçe R, Akkuş İ, Yöntem M, Ay M, Gürel A, Çağlayan O, Bodur S, Ergun S.** Effects of Dietary oils on lipoproteins, lipid peroxidation and thromboxane A2 production in chicks. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 2000; **24**: 473-478.
- 68- **Draper H, Hadley M.** Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. *Met. Enzym.*1990 ; **186**: 421-431.
- 69- **John A, Steven D.** Microsomal Lipid Peroxidation. *Met. Enzym.* 1978; 302-310.
- 70- **Carl A, James R, Robert T, Thomas J, George M, Margaret K.** Lipid peroxidation in pregnancy; New perspectives on preeclampsia. *Am. J. Obs. Gynecol* 1989; **161** :1025-1034.
- 71- **Srouf M, Bilto Y, Juma M.** Evaluation of different methods used to measure malondialdehyde in human erythrocytes. *Clinic. Haem. Microcircu.* 2000; **23**: 23-30.
- 72- **Oranje W, Wolffenbuttel H.** Lipid Peroxidation and atherosclerosis in type II diabetes. *J Lab. Clin. Med.* 1999; **134**: 19-32.

- 73- **Bollengier Lee S, Mitchell MA, Utomo DB, Williams PEV, Whitehead CC.** Influence of high dietary vitamin E supplementation on egg production and plasma characteristics in hens subjected to heat stress. *Br. Poult. Sci.* 1998; **39**: 106-112.
- 74- **Dobson H, Smith RF.** What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim. Reprod.Sci.* 2000; **60-61**: 743-752.
- 75 – **Mengi A.** Organzima Direncinin Stres ve Beslenmeyle Değişimi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1989; **15-1**: 81-92
- 76- **Fisher AD, Verkerk GA, Morrow CJ, Matthews LR.** The effects of feed restriction and lying deprivation on pituitary- adrenal axis regulation in lactating cows. *Livestock Product. Sci.* 2002;**73**: 255-263
- 77- **Smith A.** Vitamin E Helps Layers overcome Stres. *Feed Mix* 1991;**7-5**: 16-18 .
- 78- **Stilborn HL, Haris GC, Bottje WG, Waldroup PW.** Ascorbic Acid and Acetylsalicylic Acid in the Diet of Broilers Maintained Under Heat Stres Conditions. *Poult. Sci.* 1988; **67**: 1183-1187.
- 79- **Church DC, Pond, WG.** *Basic Animal Nutrition and Feeding.* 2 nd Ed. United States Copyright Act. USA 1982; 206-210.
- 80- **Woodall AA., Britton G, Jackson MJ.** Dietary supplementation with carotenoids: effects of on alpha-tocopherol levels and susceptibility of tissues to oxidative stres. *Br.J. Nutr.* 1996; **76-2**: 307-317
- 81- **Puthongsiriporn U, Scheideler SE, Sell JL, Beck M.** Effects of Vitamin E and C Supplementation on Performance, In Vitro Lymphocyte Proliferation and Antinoxidant Status of Laying Hens during Heat Stress. *Poult. Sci.* 2001; **80**: 1190-1200.

82- **Öztürk R, Bozkaya A, Tahran L.** The effects of some antioxidant Vitamin and Trace Element- supplemented Diets on Activities of SOD, CAT, GSH-Px and LPO Levels in Chicken Tissues. *Cell Biochem. Funct.* 2001; **19**: 125-132.

83- **Avanzo LJ, Mendonça CX, Pugine Piccoli SM, Cesar Cerqueira M.** Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoralis muscle. *Comp. Biochem. Phys. Part C* 2001; **129**: 163-173

84- **Whitehead CC, Bollengier S, Mitchell MA, Williams PEV.** Alleviation of Depression in egg production in heat stressed laying hens by vitamin E .Roslin Institute, Roslin, Midlothian EH259PS, Scotland and Rhone-Poulenc Animal Nutrition, 42 Avenue aristide Briand 92164 Antony France, 2000.

85- **Kirunda DFK, Scheideler SE, Mc Kee SR.** The Efficacy of Vitamin E (DL- α -tocopheryl acetat) Supplementation in Hen Diets to Alleviate Egg Quality Seterioration Associated with High Temperature Exposure. *Poult. Sci.* 2001; **80**: 1378-1383.

86- **Bollengier Lee S, Williams PEV, Whitehead CC.** Optimal dietary concentration of vitamin E for alleviating the effects of heat stress on egg production in laying hens. *Br. Poult. Sci.* 1999; **40**: 102-107.

87- **Morillo TAB, Lim IPO, Endaya BB.** Preliminary study on the effects of Vitamin E supplementation on the production performance of heat stressed broilers. *J. Vet. Med.* 2000; **37-2** : 66-71

88- **Şenköylü N.** Modern Tavuk Üretimi.Trakya Üniv. Ziraat Fakültesi, Tekirdağ, 1991; 143-158.

89- **NRC:** Nutrient requirements of chicken. 6 th ed., National Academy Pres, Washington D.C. 1965

90- **Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W.** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J.Lab.Clin.Med.* 1975; **55** :337-341

- 91- **Bieri JG, Tolliver TJ, Catignani GL.** Simultaneous determination of alfa-tocopherol and retinol in plasma or red cell by high pressure liquid chromatography. *Am.J.Clin.Nutr* 1979; **32**: 2143- 2149
- 92-**Yoshoiko T, Kawada K, Shimada T.** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against actived-oxygen toxicity in the blood. *Am.J.Obset.Gynecol* 1979; **135**: 372-376.
- 93- **Stocks J, Dormondy T.** Autoxidation of Human Red Cell Lipids Induced by Hydrojen Peroxide. *J. Haem.* 1971; **20**: 95-111.
- 94- **Walid Yasmineh G, Kaur Tripat P, Blazar B, Theologides A.** Serum Catalase as Marker of Graft-vs-Host Disease in Allogeneic Bone Marrow Transplant recipients: Pilot Study. *Clin.Chem.* 1995; **41-11** :1574-1580
- 95- **Folch J, Lees M, Stanley S.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J.Biol. Chem.* 1957; **226**: 497-509
- 96- **Hamilton RMG.** Methods and factors that effect the measurement of eggs shell quality. *Poult. Sci.* 1982; **57**: 1192-1197
- 97- **Mill AD, Faure JM, Williams JB.** Feather loss and egg production in broiler breeders and layers. *Ann. Zootech.* 1988; **37-3**: 133-142
- 98- **Sahin K, Sahin N, Yarahoglu S, Onderci M.** Protective Role of Supplemental Vitamin E and Selenium on Lipid Peroxidation, Vitamin E, Vitamin A and Some Mineral Concentrations of Japanese Quails Reared Under Heat Stress. *Biol. Trace Element Res.* 2001; **85** :1-12.
- 99- **Simith AJ, Oliver O.** Some nutritional problems associated with egg production at high environmental temperatures. I. The effect of environmental temperature and rationing

treatments in the productivity of pullets feed on diets of differing energy content. Rhod. J. Agri. Res. 1972;**10**: 3-20.

100- **Donkoh, A.** Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of chickens. Int. Biomeseoral : 1989; **33**: 259-265.

101- **Ensminger ME, Oldfield JE, Heineman WW.** In feeds and nutrition. The Ensminger publishing company, USA. 1990; 8-110.

102- **Sahin K, Kucuk O.** Effect of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress. J.Anim. Physiol.Anim.Nutr. 2001; **85**: 342-348.

103- **Sahin K, Sahin N, Sari M, Gursu MF.** Effects of vitamins E and A supplementation on lipid peroxidation and concentration of some mineral in broilers reared under heat stres (32 °C). Nut. Res. 2002; **22**:723- 731.

104- **Gomez E, Duque P, Diaz E, Fecal I, Antolin C, Hidlago C, Diez C.** Effects of acetoacetate and D-β-hydrixybutyrate on bovine in vitro embryo development in serum-free medium. Theriogen. 2002; **57**, 1551-1562.

105- **Whittow GC.** Sturkre's avian physiology. In: regulation of body temperature, Academic Press, San Diego California, 1994: 344-379.

106- **Scheideler S, Puthongsiripon U, Sell J.** Vitamin E and Heat Stress in Layers. Nutrition. 1999: 40-43.

107- **Türkmen G.** Zorlamalı Tüy Değişirmenin Yumurta Tavuklarında serum LDH, ALP, Ca, İP, Glikoz Düzeylerine Etkisi. İ.Ü.Vet. Fak., İstanbul, Doktora Tezi 1992.

108- **Özpınar A.** Kafeste Beslenen Yumurta Tavuklarında Serum Ca, P ve Mg Düzeyleri ile Yumurta Kabuğu Oluşumu Arasındaki İlişkiler. İ.Ü.Vet. Fak., İstanbul, Doktora Tezi 1986.

109- **Deaton J, Reece FN, May JD.** High Environmental Temperature and Broiler Livability. Poul. Sci. 1986; **65**: 1268- 1269.

110- **Teeter RG, Smith MO.** High chronic Ambient temperature Stres Effects on Broiler Acid _Base balance and their response to Supplemental Ammonium Chloride, Potassium Chloride and Potassium Carbonate. Poul. Sci. 1986; **65**: 1777-1781.

111- **Kampen Van M.** Effects of Drinking water Temperature and Leg Cooling on Heat Stres of Laying Hens. J. Therm.Biol. 1988 ; **13-1**: 43-47.

112- **Deaton J, Reece FN, May JD.** Temperature and Light and Broiler Growth 2. Rad. Tel. 1970; 1593-1596.

13. ÖZGEÇMİŞ

04.02.1977 tarihinde İstanbul'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Amasya'da tamamladım. 1994 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandım ve 1995 yılında yatay geçişle İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde eğitimime devam ettim. 1999 yılında mezun oldum. 1999-2000 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Doktora eğitimime başladım.

Halen İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak doktora eğitimime devam etmekteyim.

Evliyim ve bir kız çocuk annesiyim.