

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2023-YL-065

PROPOLİSİN, OĞLAKLARDA, FARKLI MEVSİMLERDE
HSP27 ve HSP70 GEN EKSPRESYON PROFİLİ ve BAZI
FİZYOLOJİK STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hasan ÇOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat YILMAZ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
ZRF- 21030 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

KABUL ve ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hasan ÇOĞAN tarafından hazırlanan “PROPOLİSİN, OĞLAKLARDA, FARKLI MEVSİMLERDE HSP27 ve HSP70 GEN EKSPRESYON PROFİLİ ve BAZI FİZYOLOJİK STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/07/2023

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Murat YILMAZ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Funda KIRAL Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Turgay TAŞKIN Ege Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Fen Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa SÜRMEN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışma kapsamında değerli destek ve birikimlilerini paylaşmaktan çekinmeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Murat YILMAZ' a, çalışmamda yanımda olan Yüksek Ziraat Mühendisi Alkan ÇAĞLI' ya, tüm laboratuvar çalışmalarında desteğini eksik etmeyen Dr. Öğr. Üyesi Gamze Sevri EKREN AŞICI' ya ve Veterinerlik Fakültesi Biyokimya Anabilim dalına, tezimin savunma jürisinde bulunan ve görüşleri ile beni aydınlatan Prof. Dr. Funda KIRAL' a ve Prof. Dr. Turgay TAŞKIN' a, oğlakların beslenmesi konusundaki yardımları için sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Hulusi AKÇAY' a, proje süresince oğlakların tüm ihtiyaçlarında ve kan alımlarında destek olan Vet. Hek. Sedat TURGUT' a ve projenin gerçekleşmesi için maddi destek sağlayan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (Proje No: ZRF-21030) şükranlarımı sunarım.

Eğitim hayatım boyunca benim yanımda olup sabırla destekleyen sevgili babam Ali ÇOĞAN' a, annem Fadime ÇOĞAN' a ve kardeşim Fatih ÇOĞAN' a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Saanen Keçisi	4
2.2. Sıcaklık ve İklim Değişikliği.....	4
2.3. Propolis.....	7
2.4. Propolisin Kimyasal Bileşikleri.....	9
2.5. Propolisin Etkileri.....	12
2.6. Şaperonlar.....	15
2.7. HSP Nedir?	16
2.8. HSP Tarihçesi.....	16
2.9. HSP’lerin Sınıflandırılması	17
2.10. HSP 90.....	19
2.11. HSP 70.....	23
2.12. HSP 60.....	25
2.13. HSP27.....	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal.....	29

3.1.1. Hayvan materyali.....	29
3.1.2. Deneme alanı materyali	29
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Senkronizasyon.....	29
3.2.2. Doğum	30
3.2.3. Gruplandırma.....	30
3.2.4. Çevre sıcaklığı ve nem değerleri	30
3.2.5. Beslenme düzeni.....	31
3.2.6. Nabız ve solunum sayısı	32
3.2.7. Rektal sıcaklık değeri	33
3.2.8. Canlı ağırlık tartımı	33
3.2.9. Kan alımı	33
3.2.10. Gen ekspresyonu	34
3.2.11. Total RNA izolasyonu	35
3.2.12. cDNA sentezi.....	36
3.2.13. Real-Time PCR	37
3.2.14. Gen ekspresyonunun rölatif kantitasyonunun hesaplanması.....	38
3.2.15. İstatistik analizi.....	38
4. BULGULAR	40
4.1. Sıcaklık Nem İndeksi	40
4.2. Canlı Ağırlık.....	40
4.3. Rektal Sıcaklık, Nabız ve Solunum Sayıları	43
4.4. Genlerin Kantitatif Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi	48
4.5. Melting Point Analizi	48
4.6. HSP70 Geni Ekspresyon Düzeyleri.....	50
4.7. HSP27 Geni Ekspresyon Düzeyleri.....	51
5. TARTIŞMA.....	53

5.1. Canlı Ağırlık.....	53
5.2. Rektal Sıcaklık, Nabız ve Solunum Sayısı	55
5.3. HSP27 ve HSP70 Ekspresyonları.....	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKÇA	67
EKLER	88
Ek.1.....	88
BİLİMSEL ETİK BEYANI	89
ÖZ GEÇMİŞ.....	90



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat
µL	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
ACTHR	: Adrenocorticotropic Hormone Receptor- Adrenokortikotropik hormon reseptörü
ATP	: Adenosine Triphosphate- Adenozin Trifosfat
ATPaz	: Adenosine Triphosphatase.- Adenozin Trifosfataz
BAX	: Bcl-2-associated X protein
Bcl-2	: B-cell lymphoma 2- B hücreli lenfoma 2
Ca	: Kalsiyum
Cc	: Cubic Centimeter- Santimetre Küp
cDNA	: complementary DNA- komplementer DNA
CH₃	: Metil grubu
CO₂	: Karbondioksit
CORT	: Corticosterone- Kortikosteron
CRYA	: Crytallin alpha
Ct	: Cycle Threshold- Döngü Eşiği
CTD	: C terminal domain- C-terminal alanı
Cu	: Bakır
D	: Doğru
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
<i>E. Coli</i> O157: H7	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
eNOS	: Endothelial nitric oxide synthase- Endotelial nitrik oksit sentaz
ER	: Endoplazmik Retikulum
F	: Forward
Fe	: Demir
FY	: Fonksiyonel Yağlar

GPx	: Glutathione Peroxidase- Glutasyon Peroksidaz
G	: gram
GTPaz	: Guanozin Trifosfataz
H³C	: Alkoller
HDL	: High Density Lipoprotein -Yüksek Yoğunlukta Lipoprotein
HO (OH)	: Hidroksil
HSF1	: Heat shock factor 1- Isı Şoku Faktörü 1
HSP	: Heat Shock Protein- Isı Şok Protein
IL2	: Interleukin-2 – İnterlökin 2
IL6	: Interleukin-6 – İnterlökin 6
iNOS	: Inducible nitric oxide synthase- İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K	: Kuzey
kDa	: kilodaltons
LTL	: Longissimus thoracis et lumborum
MD	: Middle domain: Orta alan
MDA	: malondialdehit
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
Mn	: Manganez
MON	: Monensin
mRNA	: Messenger RNA- mesajcı RNA
MSTN	: Myostatin
Na	: Sodyum
NTD	: N-terminal domain- N-terminal alanı
O	: Oksijen
OH (HO)	: Hidroksil
p53	: tümör protein 53
PCNA	: Proliferating cell nuclear antigen -Proliferatif hücre nükleer antijeni
PMBC	: Peripheral blood mononuclear cells
qRT-PCR	: Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR- Gerçek Zamanlı Kantitatif Ters Transkripsiyon PCR

R	: Revers
RNA	: Ribonucleic Acid- Ribonükleik asid
ROS	: Reactive Oxygen Types- Reaktif Oksijen Türleri
Se	: Selenyum
sHsp	: Small Heat Shock Protein- Küçük Isı Şok Protein
Si	: Silisyum
SOCS1	: Suppressor of cytokine signaling 1- Sitokin sinyalleme sinin baskılayıcısı 1
SOD	: Superoxide Dismutase- Süperoksit Dismutaz
TAC	: Total Antioxidant Capacity- Toplam Antioksidan Kapasite
THI	: Temperature-Humidity Index- Sıcaklık-Nem İndeksi
TLR	: Toll-like receptor- Toll benzeri reseptör
TLR2	: Toll-like receptor 2- Toll benzeri reseptör 2
TLR4	: Toll-like receptor 4- Toll benzeri reseptör 4
Tm	: Temperature Melting- Erime Noktası
TP1	: Transition protein 1- Geçiş proteini 1
TP2	: Transition protein 2- Geçiş proteini 2
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UBO	: U-Boot Mutation- U-Boot Mutasyonu
UYA	: Uçucu Yağ Asidi
VCL	: Varikosel
Zn	: Çinko
A	: Alpha
β	: Beta
Δ	: Delta

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Küresel ortalama sıcaklık değişimi.....	5
Şekil 2: İklim değişikliği ve hayvansal üretim etkileşimi.....	6
Şekil 3: İklim değişikliği, bulaşıcı hastalıklar ve metan emisyonları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan sorunların potansiyel döngüsü.....	6
Şekil 4: Propolis içeriği.....	8
Şekil 5: Propolisin genel bileşimi	9
Şekil 6: Propoliste bulunan flavonoidler	10
Şekil 7: Propoliste bulunan aromatik asitler	11
Şekil 8: Propolisin karakteristik kokusundan sorumlu maddeler.....	12
Şekil 9: Propolis alımı.....	13
Şekil 10: HSP70 nükleotidinin filogenetik ilişkisi.....	25
Şekil 11: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi canlı ağırlık ortalamaları.....	41
Şekil 12: Yaz mevsimi haftalık grup içi canlı ağırlık ortalamaları	42
Şekil 13: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi rektal sıcaklık ortalamaları.....	43
Şekil 14: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi rektal sıcaklık ortalamaları.....	43
Şekil 15: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi nabız sayısı ortalamaları	44
Şekil 16: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi nabız sayısı ortalamaları.....	44
Şekil 17: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi solunum sayısı ortalamaları	45
Şekil 18: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi solunum sayısı ortalamaları.....	45
Şekil 19: Genlerin qRT-PCR analizinin amplifikasyon eğrileri.	48
Şekil 20: qRT-PCR analizi sonrası β -aktin genine ait melting point (T_m) grafiği	49
Şekil 21: mRNA ekspresyonlarının belirlenmesinde qRT-PCR analizi sonrası HSP 27 melting point (T_m) grafiği.....	49
Şekil 22: mRNA ekspresyonlarının belirlenmesinde qRT-PCR analizi sonrası HSP 70 melting point (T_m) grafiği.....	49
Şekil 23: Hsp70 geninin normalize edilmiş ekspresyon düzeyleri- ΔC_t değerleri (HSP70/ β -aktin).....	51
Şekil 24: HSP27 geninin normalize edilmiş ekspresyon düzeyleri- ΔC_t değerleri (HSP70/ β -aktin).....	52

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: HSP 90 dimerleri	20
Resim 2: Keçi HSP70 Proteinini.....	24
Resim 3: Oğlağa propolis verilmesi.....	31



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1: Türkiye hayvan sayıları ve değişim oranları 2021 -2022	1
Çizelge 2: HSP'lerin bazı özelliklere göre sınıflandırılması.....	18
Çizelge 3: Oğlaklara verilen günlük süt, kaba yem ve kesif yem miktarları	32
Çizelge 4: Keçi spesifik HSP27, HSP70 ve β -aktin genlerine ait primer dizileri.....	34
Çizelge 5: cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon içeriği	36
Çizelge 6: cDNA sentezi için kullanılan revers transkripsiyon reaksiyonunun koşulları.....	37
Çizelge 7: q-RT PCR reaksiyon içeriği.....	37
Çizelge 8: q-RT PCR için kullanılan reaksiyon koşulları	38
Çizelge 9: Aydın ili 2022 yılı aylara göre en yüksek ve en düşük sıcaklık değerleri (°C) ve nem (%) değerleri ortalamaları	40
Çizelge 10: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık canlı ağırlık (kg) değişimine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları	42
Çizelge 11: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık canlı ağırlık (kg) değişimine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları	42
Çizelge 12: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık rektal sıcaklık değerine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları	46
Çizelge 13: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık rektal sıcaklık değerine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları	46
Çizelge 14: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık nabız sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	46
Çizelge 15: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık nabız sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	47
Çizelge 16: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık ortalama solunum sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	47
Çizelge 17: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık ortalama solunum sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	47
Çizelge 18: İlkbahar ve yaz mevsimlerinde kontrol ve deneme grubu HSP70 geninin normalize edilmiş düzeyleri	50
Çizelge 19: Kontrol ve Deneme grubu HSP27 geninin ilkbahar ve yaz mevsimlerinde kat değişimleri.....	52

ÖZET

PROPOLİSİN, OĞLAKLARDA, FARKLI MEVSİMLERDE HSP27 ve HSP70 GEN EKSPRESYON PROFİLİ ve BAZI FİZYOLOJİK STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Çoğan H. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Bu çalışmada propolis verilen ve verilmeyen oğlakların farklı mevsimlerde HSP 27 ve HSP70 gen ekspresyonları ve bazı stres parametreleri karşılaştırılarak, oğlaklarda sıcaklık stresine karşı propolisin hücresel düzeydeki etkisi ve sıcaklık stresine karşı fizyolojik yanıtının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Ortalama bir haftalık yaşta 20 baş oğlak, kolostrumlarını aldıktan sonra bireysel bölmelere alınarak, sadece ana sütü verilen kontrol grubu ve ana sütü + 0.4 cc propolis takviyesi yapılan deneme grup şeklinde iki gruba ayrılmıştır. Oğlakların beslenmesinde, tüm analardan sağılan sütler homojen olarak karıştırılarak, vücut sıcaklığında günde iki defa biberonla oğlaklara verilmiştir. Verilen günlük süt miktarı oğlak canlı ağırlığının %10'nuna tekabül edecek şekilde ayarlanmıştır. Oğlakların önüne denemenin ikinci haftasında 50 g kesif yem konulmuş ve süttten kesimden sonraki süreçte de oğlakların canlı ağırlık artışlarına paralel olarak yem miktarı arttırılmıştır. Tüm gruplarda toplamda 16 hafta süresince her hafta oğlak canlı ağırlıkları, sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa hayvanların rektal sıcaklık ölçümleri, nabız ve solunum sayısı belirlenmiştir. Deneme başlangıcından sonra Nisan ve Temmuz aylarında, ayda iki defa, toplamda 4 kez oğlaklardan kan örnekleri alınıp analiz edilerek, deneme ve kontrol grubunun HSP27 ve HSP70 genlerinin ekspresyon düzeyleri qRT-PCR ile belirlenmiş ve elde edilen Ct değerleri ile gruplar arası gen ekspresyonları karşılaştırılarak kat değişimleri ($2^{-\Delta\Delta CT}$) hesaplanmıştır. Çalışmanın sonunda tüm veriler toplanıp istatistiksel analizleri yapılarak, sonuçlar yorumlanmıştır.

Bulgular: Deneme süresince yem tüketim miktarı olarak her iki grubun aralarında önemli bir fark görülmemiştir, ancak grup içi ortalamalarına bakıldığında deneme grubunun eşit miktarda yem tüketimine rağmen canlı ağırlık artışı kontrol grubuna göre daha fazla

bulunmuştur (Deneme sürecinde kontrol grubunda ortalama 9,49 kg, deneme grubunda ortalama 12,24 kg canlı ağırlık artışı olmuştur). Gruplar arası rektal sıcaklık değerleri kıyaslandığında deneme grubunun rektal sıcaklık değerleri kontrol grubundan yüksek olduğu görülmektedir. Gruplar arası nabız ve solunum sayıları deneme grubunun nabız ve solunum sayıları kontrol grubuna göre daha düşüktür. Aktine göre normalize edilen değerler incelendiğinde kontrol grubunda HSP70 geninin ekspresyon seviyesi sıcaklığın artmasıyla artış göstermiştir ancak deneme grubunun HSP70 ekspresyon seviyeleri yüksek sıcaklıklarda da sabit kalmıştır. Kontrol grubunda HSP27 geni ilkbahar alımlarında deneme grubuna göre daha az eksprese olmuştur ancak sıcaklığın artış gösterdiği Temmuz ayında deneme grubu kontrol grubuna göre daha az eksprese olmuştur.

Sonuç: Hava sıcaklığının artmaya başladığı haftalarda deneme grubunda canlı ağırlık artışı gözlemlendi ve rektal sıcaklık değerleri deneme grubunda daha yüksek bulunmasına rağmen deneme grubunun nabız ve solunum sayısı kontrole göre daha düşük bulundu. Propolis oğlakların vücut sıcaklığını artırmıştır ancak oğlakların sıcaklık stresine yanıtını olumlu etkilemiştir. Propolis HSP70 değerlerini sabitleyerek sıcak olan yaz ayındaki ekspresyon değerlerinin ilkbahar ekspresyon değerleri ile aynı seviyede olmasını sağlamıştır. HSP27 ekspresyonları kontrole kıyasla deneme grubunda ilkbahar döneminde fazladır ancak yaz döneminde kontrole kıyasla daha az eksprese olmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda propolisin, oğlakların sıcaklık stresine yanıtını olumlu etkilediğini, hayvanlarda sıcak havalarda gözlemlenen iştah seviyelerinde azalmayı olumlu önleyerek, özellikle yemden yararlanmayı olumlu etkilediğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Oğlak, Propolis, Sıcaklık Stresi, HSP, Gen Ekspresyonu

ABSTRACT

THE EFFECT OF PROPOLIS ON HSP27 and HSP70 GENE EXPRESSION PROFILE AND SOME PHYSIOLOGICAL STRESS PARAMETERS IN GOAT KIDS IN DIFFERENT SEASONS

Cogan H. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Zootchnics Programme, Master Thesis, Aydın, 2023.

Objective: This study, it was aimed to determine the effect of propolis at the cellular level against temperature stress and physiological response to temperature stress by comparing HSP27 and HSP70 gene expressions and some stress parameters in different seasons in goat kids with and without propolis treatment.

Material and Methods: After receiving colostrum, 20 goat kids at an average age of one week were divided into two groups the control group which was given only mother's milk, and the experimental group which was given mother's milk + 0.4 cc propolis supplementation. In the feeding of the goat kids, milk from all mothers was mixed homogeneously and given to t twice a day at body temperature by the bottle. The daily amount of milk given was adjusted to correspond to 10% of the live weight of the goat kid. In the second week of the experiment, 50 g of concentrate feed was given to the goat kids and the amount of feed was increased in parallel with the live weight gain of the goat kids after weaning. In all groups, the live weights of the kids, rectal temperature measurements, pulse rate, and respiratory rate of the animals were determined twice a day, in the morning and the evening, for a total of 16 weeks. After the beginning of the experiment, blood samples were taken and analyzed twice a month in April and July, 4 times in total, and the expression levels of HSP27 and HSP70 genes of the experimental and control groups were determined by qRT-PCR and the fold changes ($2^{-\Delta\Delta CT}$) were calculated by comparing the Ct values obtained with the gene expressions between the groups. At the end of the study, all data were collected and statistically analysed and the results were interpreted.

Results: During the experiment, there was no significant difference between the two groups in terms of feed consumption, but when the intra-group averages were analyzed, it was found that the live weight gain of the experimental group was higher than that of the control group despite the equal amount of feed consumption (average live weight gain was 9.49 kg in the control group and 12.24 kg in the experimental group during the experiment). When the rectal temperature values between the groups were compared, it was observed that the rectal temperature values of the experimental group were higher than the control group. The pulse and respiration rates of the experimental group were lower than the control group. When the values normalised according to actin were examined, the expression level of the HSP70 gene in the control group increased with the increase in temperature, but the HSP70 expression levels of the experimental group remained constant at high temperatures. While the HSP27 gene was expressed less in the control group compared to the experimental group in the spring, the HSP27 gene was expressed less in the experimental group compared to the control group in July when the temperature increased.

Conclusion: In the weeks when the air temperature started to increase, body weight gain was observed in the experimental group and although rectal temperature values were higher in the experimental group, pulse and respiratory rate of the experimental group were lower than the control group. Propolis increased the body temperature of the goat kids but positively affected the response of the goat kids to heat stress. Propolis, stabilised HSP70 values and ensured that the expression values in the hot summer months were at the same level as the spring expression values. HSP27 expressions were higher in the spring period in the experimental group compared to the control but were less expressed in the summer period compared to the control. In line with these results, we can say that propolis positively affects the response of goat kids to heat stress, prevents the decrease in appetite levels observed in animals in hot weather, and especially positively affects feed utilization.

Keywords:Goat Kid, Propolis, Heat Stress, HSP, Gene Expression

1. GİRİŞ

Türkiye’de büyükbaş hayvan kategorisinde Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2022 verilerine göre, sığır sayısı bir önceki yıla göre %5,6 azalmış ve 16 milyon 852 bin baştır. Manda sayısı ise bir önceki yıla göre %7,4 azalarak 171 bin 835 baş olarak bildirilmiştir.

Küçükbaş hayvan kategorisinde ise koyun sayısı bir önceki yıla göre %1,1 oranında azalarak 44 milyon 688 bin baştır. Keçi sayısı ise bir önceki yıla göre %6,2 oranında azalarak 11 milyon 578 bin baş olarak bildirilmiştir.

Çizelge 1: Türkiye hayvan sayıları ve değişim oranları 2021 -2022 (TÜİK, 2022)

(Baş)	2021	2022	Değişim (%)
Büyükbaş	18.036.117	17.023.791	-5,6
Sığır	17.850.543	16.851.956	-5,6
Manda	185.574	171.835	-7,4
Küçükbaş	57.519.204	56.265.750	-2,2
Koyun	45.177.690	44.687.888	-1,1
Keçi	12.341.514	11.577.862	-6,2

Stres, bir hayvanın çevresiyle baş edememesiyle ortaya çıkar ve genellikle üretim özellikleri için genetik potansiyele ulaşamama olarak yansıtılan bir fenomendir (Dobson ve Smith 2000). Farklı tarımsal iklim bölgelerindeki hayvanlar, kendi iklimlerindeki herhangi bir değişikliğe kendilerini alıştırmak için doğal olarak farklı mekanizmalarla donatılmıştır (Marai vd., 2007).

Hipotermi ve/veya hipertermi gibi çevresel stresörler hayvanların davranışsal, fizyolojik ve moleküler mekanizmalarını olumsuz etkiler. Çevresel sıcaklık, bağıl nem, yağış, radyan ısı,

atmosferik basınç, rüzgâr hızı ve toz, hayvan sağlığı ve üretkenliği ile ilgili temel fiziksel faktörlerdir. Küresel ısınmanın, süt ve et üretiminin yarısından fazlasını oluşturan tropikal ve subtropikal ülkelerde hayvan verimliliğini %25 oranında azalttığı tahmin edilmektedir (Seguin, 2008).

Çeşitli iklim koşullarında hayatta kalma potansiyeli, kuraklığa tolerans, sınırlı merada hayatta kalma yeteneği, sınırlı mera arayışında uzun mesafeler yürüme yeteneği, kendilerine tüketime uygun olmayan herhangi bir yemi tüketme potansiyeli veren benzersiz besleme davranışına sahip olma değişen iklim senaryosunda keçileri hayatta kalmak ve en iyi şekilde üretmek için ideal tür yapmaktadır (Reshma Nair vd., 2021).

Son yıllarda giderek artan üretim ve tüketimde doğala dönüş eğilimi yem katkı maddeleri konusunda yeni arayışlara neden olmuştur. Ayrıca yoğun antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkan sorunlar nedeniyle, hayvan sağaltımı üzerinde etkili, ekonomik ve doğal olan alternatif yem katkısı arayışına girilmiştir. Bu alternatif arayışlar çerçevesinde, gelişmeyi teşvik edici maddelerin kullanımı yerine hem etkili hem de ekonomik olan doğal ürünlerin kullanımı önem kazanmıştır. Propolis arılar tarafından kovanda yer alan deliklerin ve çatlakların kapatılması, kovan iç yüzeyin yumuşatılması ve iç sıcaklığının korunması ile çıkış deliğinin boyutunun azaltılması amacıyla kullanılmaktadır (Sun vd., 2015; Pasupuleti vd., 2017; Kocot vd., 2018). Propolisin kimyasal yapısı oldukça komplekstir. İçeriğinde bulunan maddeler; fenolik (flavanoidler, flavonlar, flavanononlar, flavanonler) ve benzeri bileşikler (fenolik asit ve esterleri, kumarinler, ketonlar vb.), kafeik asit esterleri oluşturmaktadır. Propolis genel olarak; %45-55 reçine, %23-35 mumlar ve yağ asitleri, %10 esansiyel yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddeler ve mineraller içermektedir. Yapılan araştırmalarda, propolisin miristik asit, benzoik asit, benzil alkol, vanilin, sinamik asit, pinocembrin, pinobanksin, kuersetin, galangin, apigenin, krisin, kafeik asit, acacetin, kamferide ve izovanilin gibi kimyasal bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Farklı propolis örnekleriyle yapılan çalışmalarda, propoliste yer alan bileşiklerin suda ve hidrokarbon çözücülerde zayıf çözünürken alkolde iyi çözündükleri ortaya konulmuştur (Hepşen vd., 1996; Silici, 2015; Yonar, 2017).

Termal stres, hücrenin hayatta kalmasında temel olan karmaşık tepkileri uyarır (Sonna vd., 2002). Isı ve diğer stresörler, yalnızca doğal aktiviteden yoksun değildir, aynı zamanda hücresel membranlarda doğrudan hasara neden olabilen protein agregatlarının oluşumuna neden olur (Rochet vd., 2004). HSP'ler (Heat Shock Protein- Isı Şok Protein), çeşitli stres

türleri altında ifade edilen ve hayvan adaptasyonu için potansiyel gösterge olarak kabul edilen, evrimsel çizgiler boyunca yüksek oranda korunmuş protein gruplarıdır (Lindquist ve Craig 1988; Parsell ve Lindquist 1993).

Isı şok proteinleri (HSP), moleküler boyutlarına ve aminoasit dizisi benzerliğine göre birkaç aileye sınıflandırılan büyük bir şaperon proteinleri grubunu oluşturur. HSP'ler, strese alışmak için organizmalarda hayatta kalma ve etkili bir bağışıklık sistemi arasındaki dengenin korunmasından sorumludur (Morange, 2006). HSP'ler, yeni sentezlenmiş hücrel proteinlerin doğru katlanmasını ve hücrel bölmelere translokasyonu kolaylaştıran moleküler şaperonlar olarak işlev görür. Tüm ısı şoku proteinleri, karboksil uçlarındaki karakteristik ısı şoku domaininin varlığıyla karakterize edilir. Moleküler ağırlıkları 10 kDa'dan 200 kDa' a kadar değişen ısı şoku proteinleri; moleküler ağırlıklarına ve fonksiyon gösterme mekanizmalarına göre sınıflandırılırlar. Isı şoku proteinleri bu kriterlere göre sHSP (small heat shock protein-küçük ısı şoku proteinleri), HSP40 (J-proteinleri), HSP60 (şaperoninler), HSP70, HSP90 ve HSP100 olmak üzere kabaca altı sınıfa ayrılabilirler. Bu altı sınıf birbiri ile etkileşim içinde çalışarak hücredeki protein dengesini sağlarlar. HSP ifadesi, hayvanın zorlu çevresel strese adaptasyonunun potansiyel bir göstergesi olarak tanımlanmaktadır (Hansen 2004; Dangi vd., 2014).

Yarı kurak çevre koşullarında yetiştirilen keçiler, yıl boyunca yem kalitesi ve miktarındaki değişimler nedeniyle çok sayıda stres etkeniyle yüzleşmek zorundadır (Sejian vd., 2012; Sejian vd., 2013). Keçiler zorlu çevreye uyum sağlayabilir ve diğer büyük evcil geviş getirenlerden daha iyi performans gösterebilir. Ancak keçilerin toleranslarına rağmen termal stres altında yetiştirilirken optimal verim elde edilememiştir. HSP70 ailesi ve HSP27 altındaki genlerin sayısı insan ve sığırlarda bir dereceye kadar çalışılmış olsa da keçilerde, özellikle in vitro sıcak ve soğuk mücadelesi sırasında termal stres yanıtı ile ilgili çalışmalar yetersizdir (Mohanarao vd., 2014). Bu çalışmada oğlakların zorlu çevresel stres faktörlerinden olan sıcaklık stresine adaptasyonunda propolis verilen ve verilmeyen oğlakların HSP27 ve HSP70 gen ekspresyonları ve bazı stres parametreleri karşılaştırılarak, propolisin oğlaklardaki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

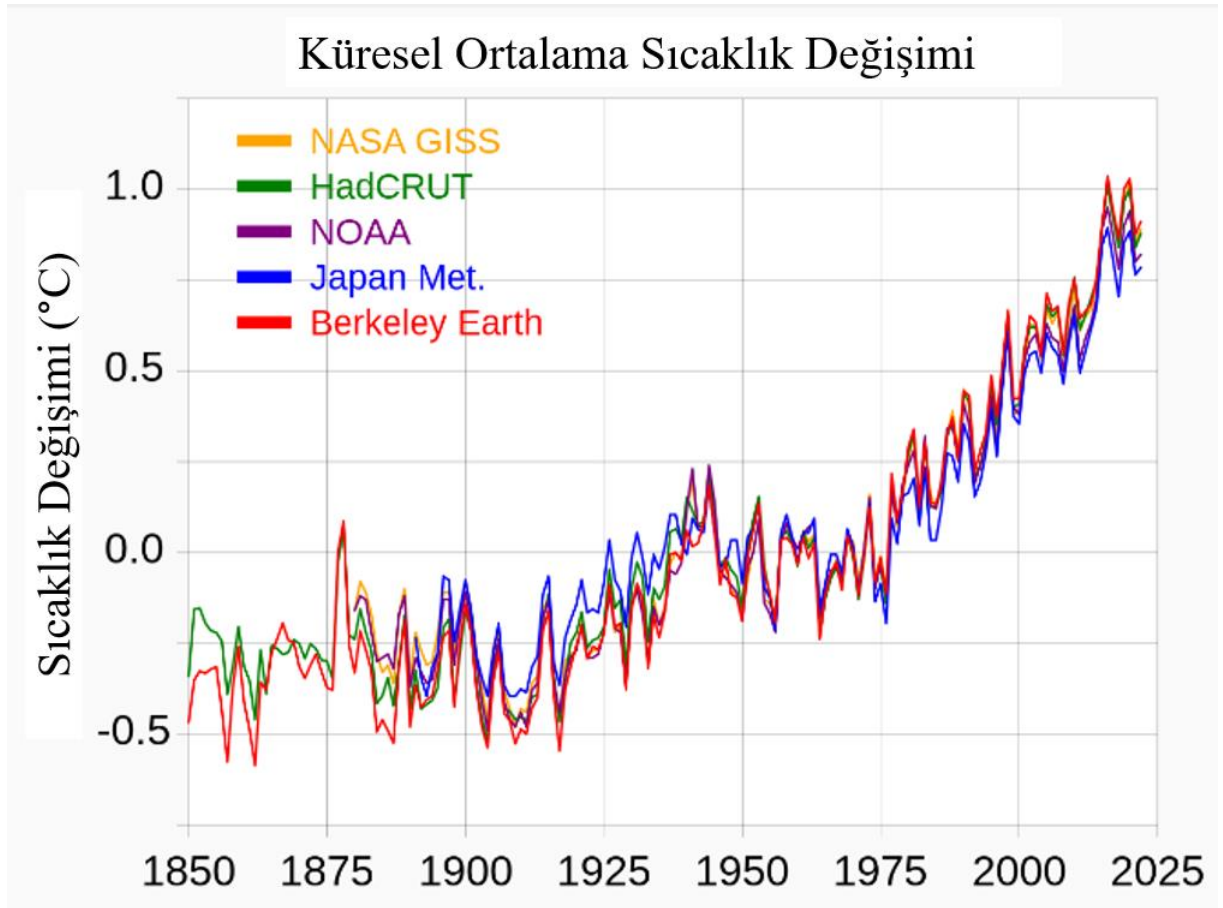
2.1. Saanen Keçisi

Keçi yetiştiriciliği, dünya genelinde özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde girdi maliyetlerinin diğer yetiştiriciliklere kıyasla daha az olduğundan hayvansal üretimde değerli bir kaynaktır. Ülkemizin doğal bitki örtüsü, toprak yapısı, ekolojisi ve sosyoekonomik yapısı ile keçi yetiştiriciliğine elverişli olmaktadır. Günümüzde özellikle Batı Anadolu Bölgesi'nde İzmir, Manisa, Balıkesir, Çanakkale ve Bursa gibi illerde keçi işletmeciliği yaygındır. Süt tipi melez keçi yetiştiriciliği yaygınlaştırılmasında önemli gelişmeler yapılmakta ve yetiştirici potansiyelleri her geçen gün artmaktadır (Koyuncu vd., 2005).

Saanen keçisi en çok bilinen ırklardan birisi olmakla birlikte orijini İsviçre'nin Saanen bölgesidir. Süt ve döl verimi yüksek olan bu ırk, sahip olduğu yüksek adaptasyon kabiliyeti sebebiyle dünyanın hemen hemen her yerinde yetiştirilmektedir. Erkek ve dişiler boynuzsuz ya da boynuzlu olabilmektedir. Genel özellikleri kulakları kısa, bazen boyun altı küpeli, kısa kıllı vücut rengi beyazdır (Harris vd., 1996; Özder, 2006).

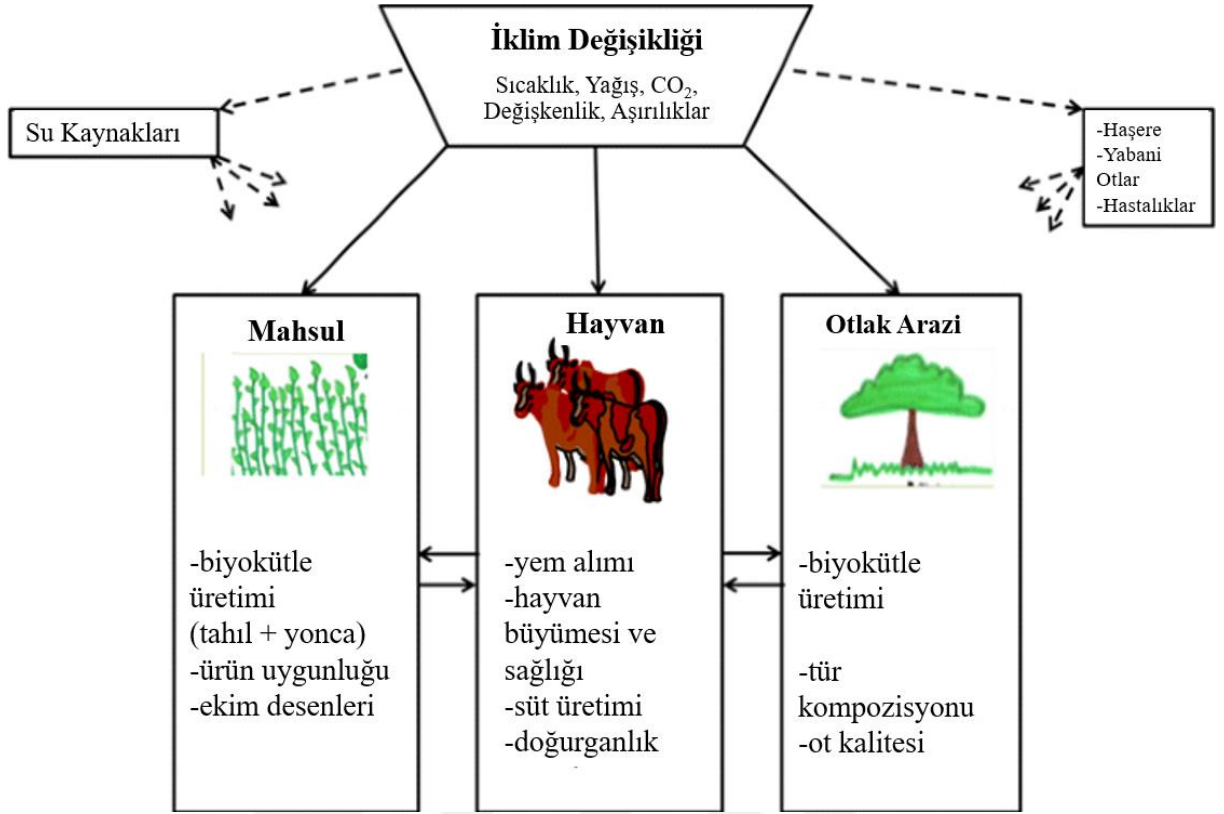
2.2. Sıcaklık ve İklim Değişikliği

Dünyanın genelinde iklim değişikliği etkilerinin tarımsal üretime olan zararları artık net bir şekilde fark edilmektedir (Şekil 1). Küresel ısınmanın etkisiyle dünyada bazı bölgelerde değişime uğrayan iklim yapıları, su kaynaklarının azalması, tarımsal üretim ihtiyacında ve hayvancılık için gerekli yem bitkilerinde, azalmaya sebep olmuştur. Enerji ve endüstri gibi sektörlerle oranla tarımsal faaliyetlerin dünya genelinde sera gazlarının artışına az oranda olsa da katkısı olmuştur (Gökkür ve Uysal, 2020).

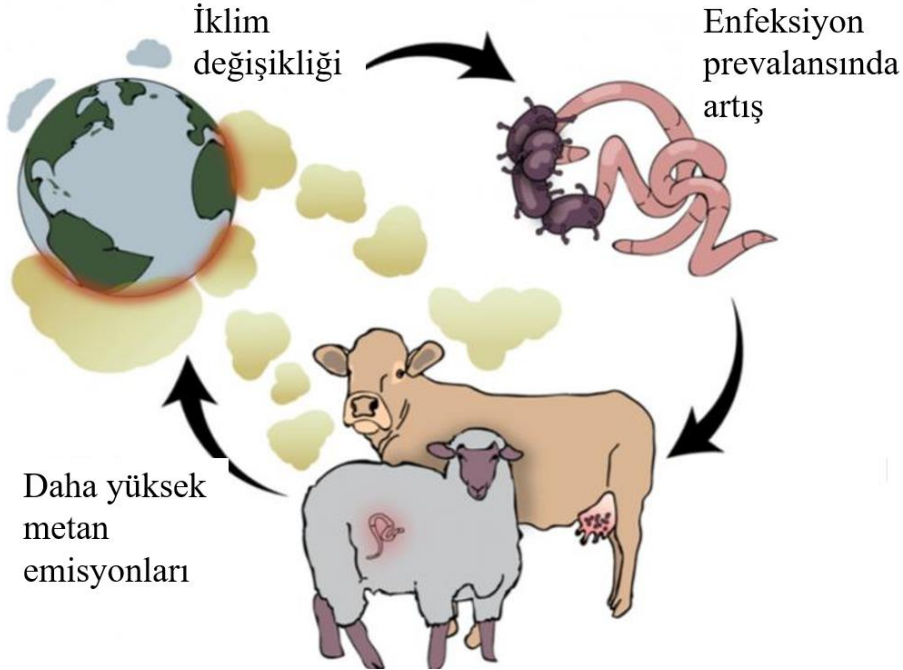


Şekil 1: Küresel ortalama sıcaklık değişimi (Wikipedia)

Zaman içerisinde iklim değişkenliğinin etkileri görülmeye başlanmış ve yüksek sıcaklıkların oluşmaya başladığı bölgelerde kuraklık nedeniyle yem bitkisi üretimindeki azalma tehdit oluşturmaya başlamıştır (Şekil 2). Hava sıcaklığındaki artışlar nedeniyle oluşacak sıcaklık stresi, hayvanların yem alımını düşüreceği gibi verim kayıplarına neden olacağı öngörülmektedir (Demir ve Cevger, 2007; Koyuncu ve Akgün, 2018). İklim değişikliğinin hayvanlar üzerine etkileri doğrudan fizyolojik etkilere sahiptir. Yüksek sıcaklık düzeyleri, üretim performansını (büyüme, et, süt, yumurta verimi), üreme fizyolojisini, metabolizmayı ve bağışıklık sistemini (Şekil 3) olumsuz etkilemeye başlamıştır (Koyuncu ve Akgün, 2018). Yağışların miktarı ve yoğunluğundaki değişiklikler mera ve yem bitkilerinin büyüme zamanını etkilemiştir. Yem ihtiyacının verimli düzeyde karşılanmaması gibi etkiler, hayvanlarda canlı ağırlıkta ve süt veriminde kayıplara neden olmaktadır (Malik vd., 2015; Koç vd., 2016).



Şekil 2: İklim değişikliği ve hayvansal üretim etkileşimi (Descheemaeker vd., 2016)



Şekil 3: İklim değişikliği, bulaşıcı hastalıklar ve metan emisyonları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan sorunların potansiyel döngüsü (Trends in Ecology & Evolution, 2004)

Sera gazı salınımının %65'inin sığırcılık işletmelerinden kaynaklı olduğu bildirilmektedir. Küresel tarım ve gıda üretiminin sürdürülebilirliğinin sağlanması için;

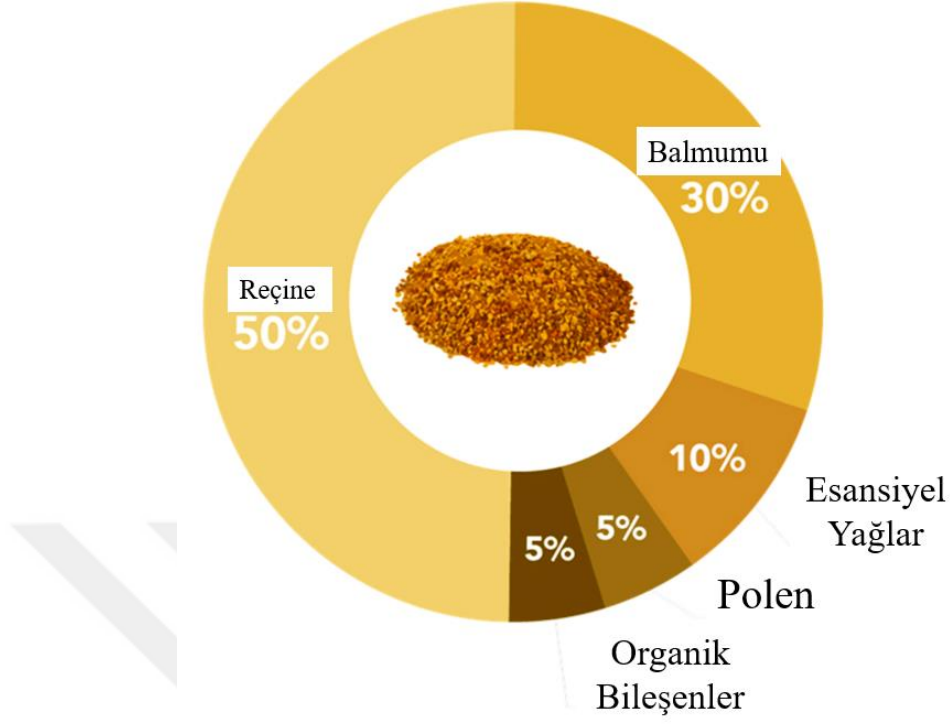
hayvansal üretimin imkanlarının geliştirilmesi ve çevresel zarar faktörünün azaltılması gerekmektedir. Bununla birlikte, iklim değişikliğine olan katkısı azaltılmalı, iklim değişikliğinin hayvancılık verimine etkileri en aza indirilmeli ve nüfusun gıda ihtiyacının karşılanabilmesi amacıyla sektörün geleceğinin planlanması önemlidir (Herrero ve Thornton, 2013; Koç vd., 2016). Tüm bu olumsuz etkilerin minimuma indirildiğinde hayvansal üretimin iklim değişikliğine adaptasyonu rahatlıkla sağlanabilir (Gökkür ve Uysal, 2020).

2.3. Propolis

Arılar, bitki tomurcukları, eksüda ve bitkinin diğer bölgelerinden reçine toplar, kendisinde bulunan tükürük enzimlerini balmumu ile karıştırır ve propolisi oluşturur (Sforcin ve Bankova, 2011; Silva vd., 2012). Propolis, arıların kovani korumak için kullandıkları maddelerin karışımıdır. Bu koruma, kovan duvarlarındaki boşlukların doldurulması, petek gözlerinin temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi, soğuk günlerde girişin azaltılması ve talep edilen davetsiz misafirlerin mumyalanması ve böylece çürümelerinin önlenmesi ile ilgilidir (Kedzia, 2008). Bu tanımlama, propolisin neden arı tutkalı olarak da bilindiğini açıklar (Zabaiou vd., 2017). Propolis kelimesi etimolojik açıdan Yunanca olup şehrin girişinde anlamına gelir (Wagh, 2013; Toreti vd., 2013). Propolisin kökeni ile ilgili tartışmalar eski çağlardan beri devam etmektedir. Kökeni bitkilerden mi yoksa arılardan mı geldiği konusunda tartışmalar ortaya atılmıştır. Günümüzde analitik tekniklerin gelişmesiyle birlikte propolisin yaklaşık bileşimi ve onu etkileyen faktörler bilinmektedir (Şekil 4) (Kedzia, 2008).

Propolis kıtalar, bölgeler ve bitki türleri bileşimlerine göre içeriğini de farklı kılmaktadır. Propolis farklı kimyasal bileşime sahiptir ancak antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiparaziter, antiinflamatuvar, antiproliferatif ve antioksidan gibi benzer aktivitelerde bulunmaktadır (Schnitzler vd., 2010; Ramanauskiene ve Inkeniene, 2011; Franchin vd., 2016; De Freitas vd., 2017).

Propolis İçeriği

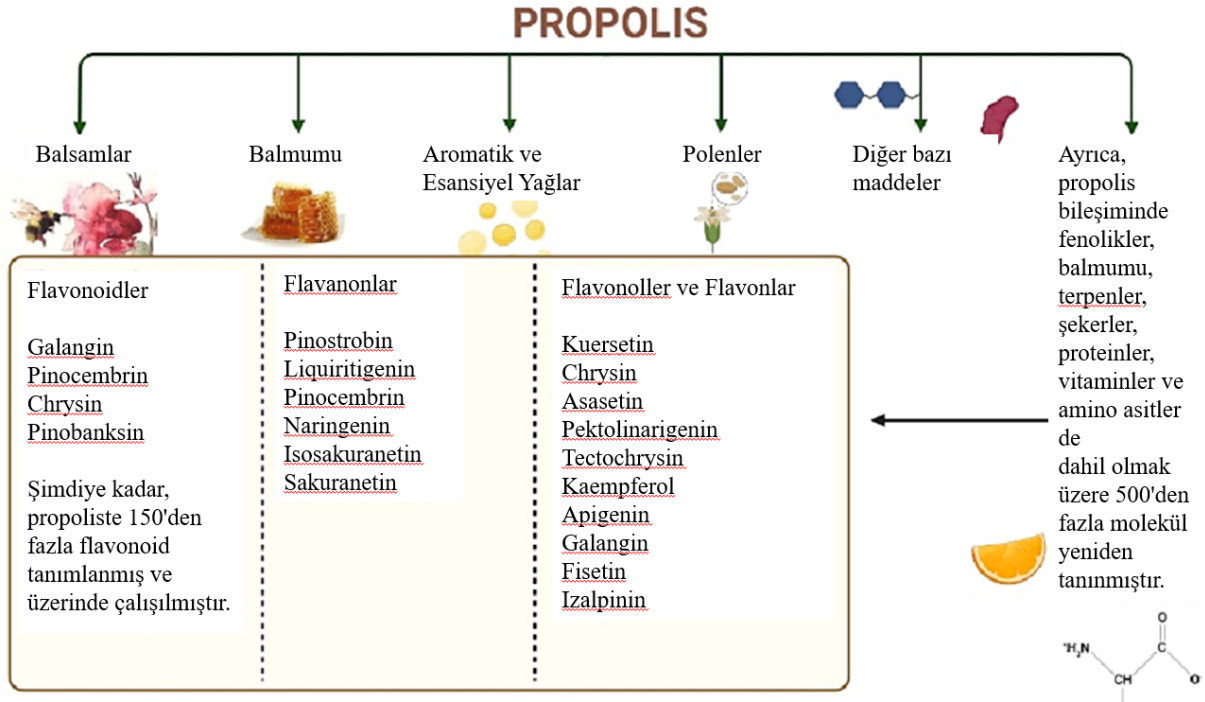


Şekil 4: Propolis içeriği (Easton-Calabria vd., 2019)

Ham propolis doğrudan tedavide kullanılamaz. İlk olarak, en aktif bileğenlerin özölmesi ve salınması için özü çıkarılmalıdır. Etanol, metanol, su, hekzan, aseton, diklorometan ve kloroform gibi çözücüler özümleyici olarak kullanılır. Ekstraktlar yaklaşık %70 konsantrasyonda propolis içerir (Gomez-Caravaca vd., 2006; Miguel vd., 2010). Antibakteriyel aktivite açısından flavonoidler ve fenolik bileğikler gibi maddelerin içeriği önemlidir (Inui vd., 2014; Brodowska, 2017; Gorniak vd, 2019). Ancak kullanılan solvente bağlı olarak farklı biyolojik aktiviteler de gösterebilir. Devequi-Nunes vd. (2018) kahverengi, yeŐil ve kırmızı propolisin etanolik ekstraktlarında süperkritik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlardan yaklaşık iki kat daha yüksek fenolik bileğik konsantrasyonları bulmuŐtur. Aynı zamanda, süperkritik ekstraksiyona kıyasla flavonoid seviyeleri yeŐil ve kırmızı propolisin etanolik ekstraktlarında daha yüksek ve kahverengi propoliste daha düşük çıkmıştır (Devequi-Nunes vd., 2018). Wieczynska vd. (2017) alışmalarında Polonya propolisinden elde edilen etanolik ekstraktların heksan ekstraktlarından daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

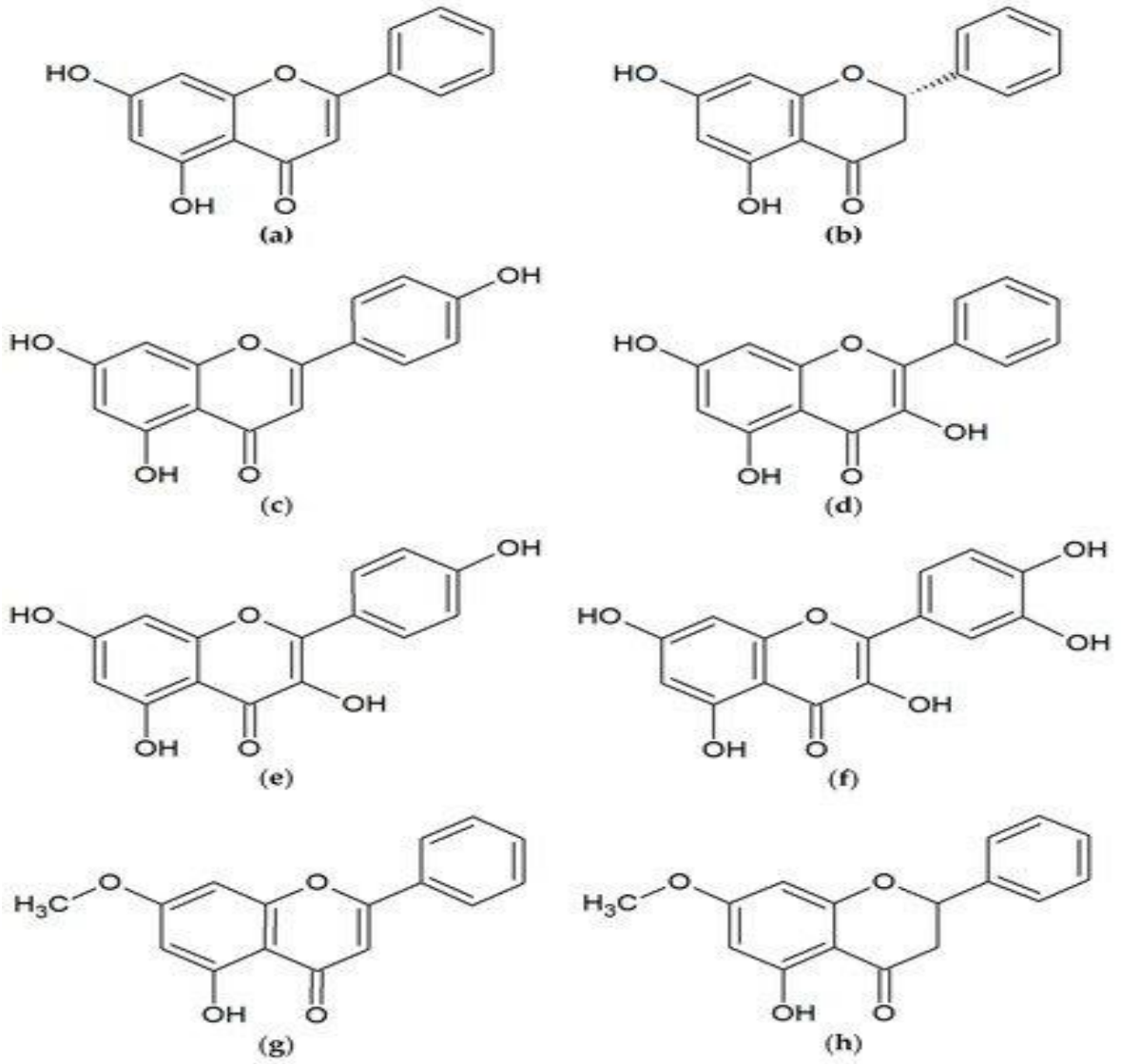
2.4. Propolisin Kimyasal Bileşikleri

Propolis kimyasal bileşimleri, üretilmek için kullanılan bitki kaynakları, reçine ve balsamlarıyla yakından ilişkilidir. Araştırmaların ilerlemesiyle birlikte propolisin 300'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır. Propolis içeriğinde reçineler dışında (Şekil 5) bulunan ana kimyasal bileşiklerinin grupları mumlar, terpenoidler ve polifenollerdir (fenolik asitler, flavonoidler) (Przybylek ve Karpinski, 2019).



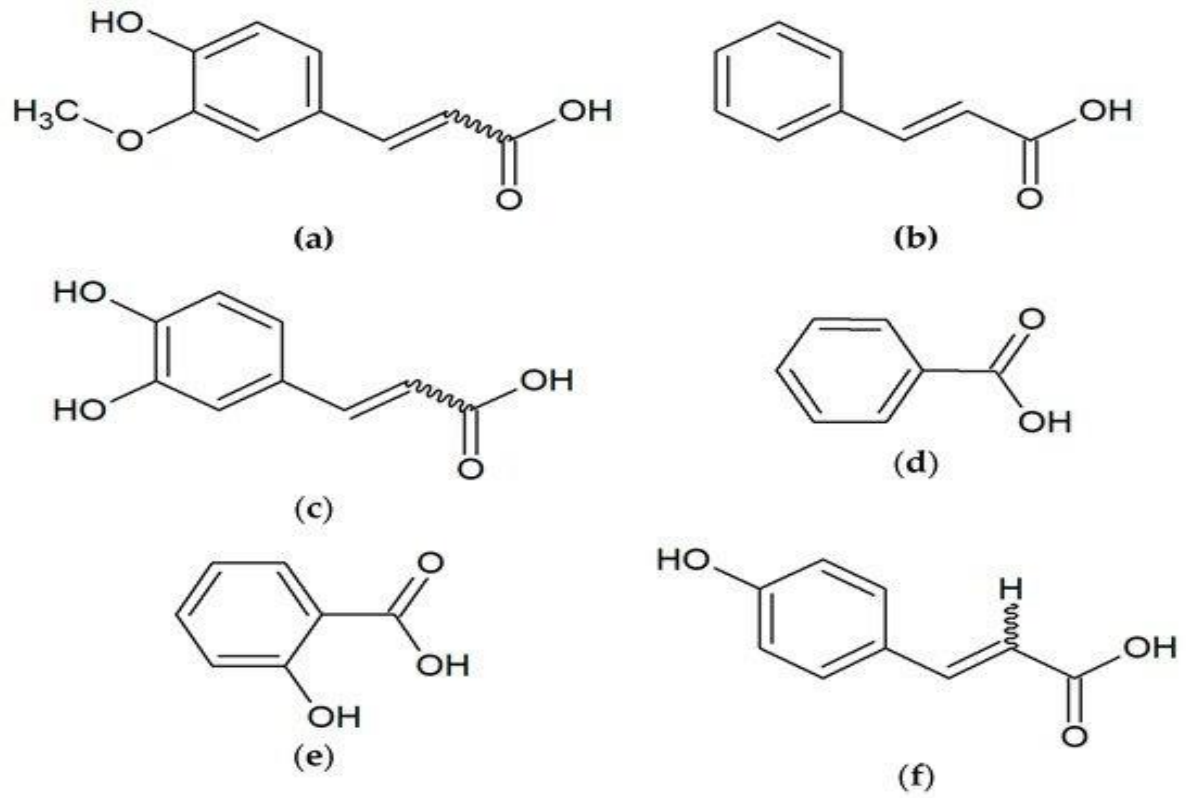
Şekil 5: Propolisin genel bileşimi (Asma vd., 2022)

Polifenoller ve terpenoidler de en aktif yapıda kabul edilir (Pimenta vd., 2015). Flavonoid grubu, chrysin, pinosembrin, apigenin, galangin, kaempferol, kuersetin, tektokrisin, pinostrobin ve diğerlerini içerir (Şekil 5). Propolisin diğer bir kritik bileşik grubu, aromatik asitlerdir ve bunların arasında en sık olarak ferulik, sinnamik, kafeik, benzoik, salisilik ve p-kumarik asitlerde bulunur (Kedzia vd., 2017).



Şekil 6: Propoliste bulunan flavonoidler

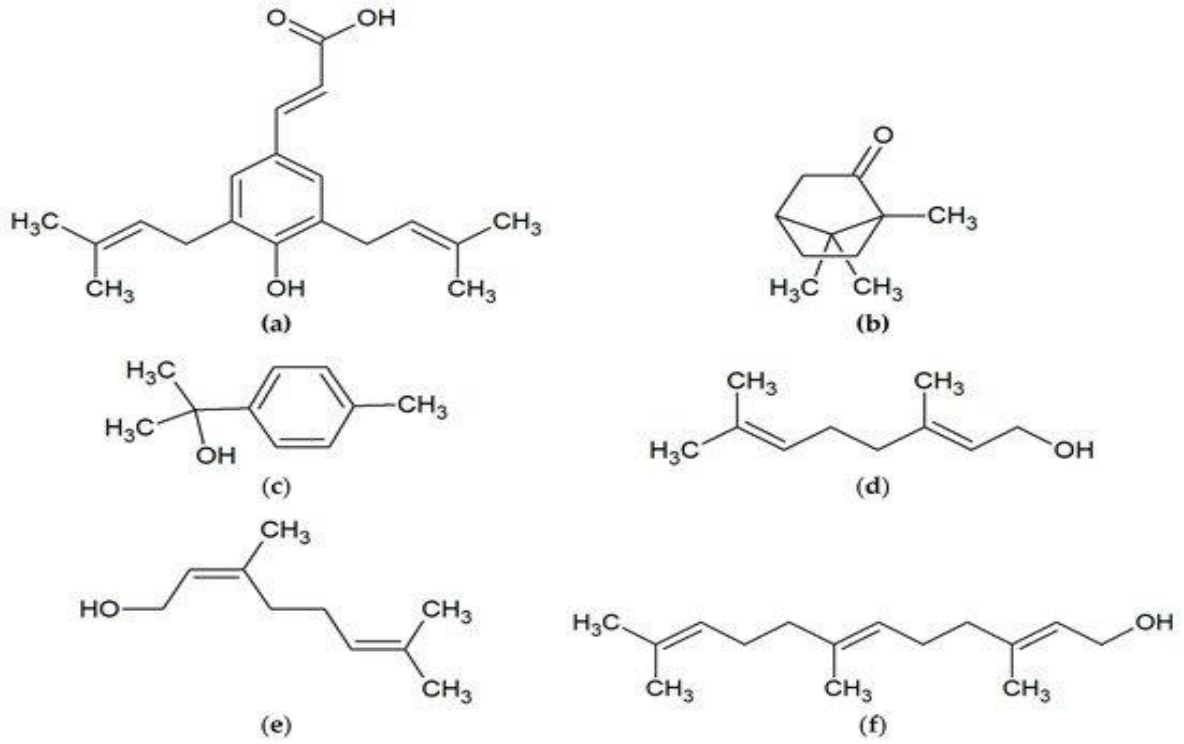
(a) chrysin; (b) pinocembrin; (c) apigenin; (d) havlıcan; (e) kaempferol; (f) kuersetin; (g) tektokrisin; (h) pinostrobin (Przybyłek ve Karpinski, 2019).



Şekil 7: Propoliste bulunan aromatik asitler

(a) ferulik asit; (b) sinnamik asit; (c) kafeik asit; (d) benzoik asit; (e) salisilik asit; (f) p - kumarik asit (Przybylek ve Karpinski, 2019).

Ek olarak propolis, karakteristik kokusunda (Şekil 5) diğer fenolik bileşikleri (örn., artepilin C) ve terpenleri (terpineol, kafur, geraniol, nerol, farnesol) etki göstermektedir. Propoliste mikro, makro elementler (Mn, Fe, Si, Mg, Zn, Se, Ca, K, Na, Cu) ve B1, B2, B6, C ve E vitaminleri bulunmaktadır (Pasupuleti vd., 2017).



Şekil 8: Propolisin karakteristik kokusundan sorumlu maddeler

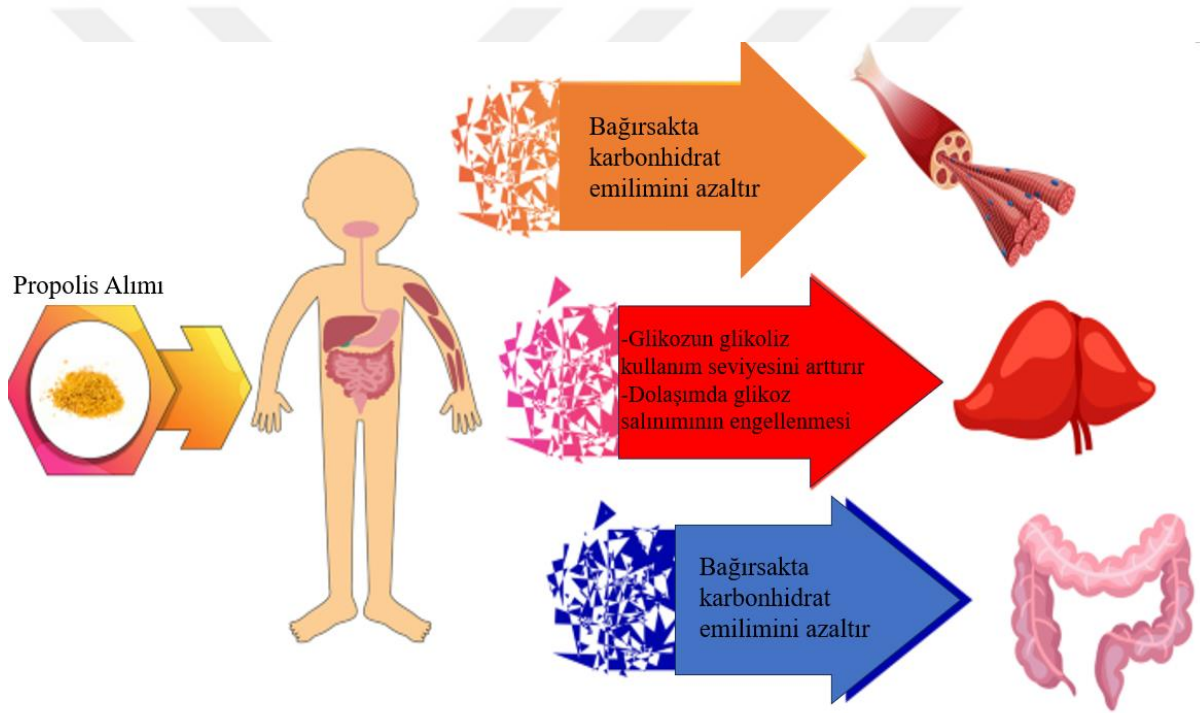
(a) fenolik bileşik artemillin C; terpenler; (b) kafur; (c) terpineol; (d) geraniol; (e) nerol; (f) farnesol. (Przybyłek ve Karpinski, 2019)

Kimyasal bileşimin bu çeşitliliği, propolise antibakteriyel bir ajan olarak avantaj sağlar. Birçok aktif bileşenin kombinasyonu ve çeşitli oranlarda bulunmaları, bakteri direncinin oluşmasını engeller (Pamplona-Zomenhan vd., 2011).

2.5. Propolisin Etkileri

Propolis antioksidan ve antimikrobiyal, lipid oksidasyonu geciktirme özelliği ile gıda ürünlerinin raf ömürlerini artırma potansiyeli nedeniyle gıda endüstrisinde önemlidir. Bu tür özellikler, etki mekanizmasını muhtemelen bakteriyel RNA polimerazı inhibe ederek uygulayan kafeik asit feniletil, flavanol, ester flavonoid, pinocembrin ve galangin gibi kimyasal maddelerin varlığına atfedilir (Funari 2006). Kavak propolisinin çoklu ilaca dirençli bakteriler örneğin Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* gibi hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmalara karşı etkinliğini bildirmiştir. Türk propolisinin tüberküloza karşı etkinliği değerlendirilmiş ve sonuçlar doğrultusunda çeşitli mikobakteri türlerine karşı potansiyel koruma görevi olduğu görülmüştür (Yıldırım vd., 2004).

Diğer çalışmalar, propolisin parazitler, bakteriler, virüsler ve mayalar dahil olmak üzere farklı türdeki mikroorganizmalara karşı yüksek orandaki aktivitesine odaklanmıştır (Saeed vd., 2016). Çok sayıda çalışma, propolisin hayvan modellerinde veya insanlarda hiçbir toksisite ve yan etkisinin olmadığını göstermiştir (Sawicka vd., 2012; Vit vd., 2015; Demir vd., 2016). Propolisin sinerjik anti-mikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan in vitro ve in vivo denemelerin çoğunda geleneksel antimikrobiyal ajana karşı bakteriyel direnç önemli ölçüde azalmıştır (Przybyłek ve Karpiński 2019). Propolisin klinik antibakteriyel potansiyelinin, içinde bulunan çok sayıda aktif bileşik ile ilişkili olduğu da kanıtlanmıştır (Sforzin ve Bankova 2011). Bu nedenle propolis, çeşitli insan enfeksiyonlarının tedavisi için büyük ilgi görmüştür (Şekil 8). Ayrıca biyoteknolojik ürünlerin yeni ilaçlarının geliştirilmesinde de kullanılmıştır (Przybyłek ve Karpiński, 2019).



Şekil 9: Propolis alımı (Pahlavani vd., 2020)

Propolisle ilgili yapılan bir çalışmada propolisin 600 farklı bakteri suşuna karşı antibakteriyel potansiyeli ile ilgili veriler analiz edilmiştir. Çeşitli araştırma çıktıları, propolisin gram negatif bakterilere kıyasla gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğunu göstermiştir. Propolisin toplandığı coğrafi konum, antibakteriyel potansiyelini etkilemiştir. En iyi propolis aktivitesi, hem gram pozitif (*Staphylococcus aureus*) hem de gram negatif (*Escherichia coli*) bakterilere karşı son derece etkili olan Orta Doğu propolisi kullanılarak kaydedilmiştir. Aksine, Alman, İrlanda ve Kore propolisi minimum aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Przybyłek ve Karpiński 2019).

Hashem vd. (2013) propolis etanolik ekstraktının, hematokrit değeri, eritrosit sayısı ve hemoglobin konsantrasyonunda dolayısıyla hematopoezisi (kan hücrelerinin üretilmesi) artırdığını bulmuşlardır. Ayrıca, propolis takviyesinin dokularda antioksidan kapasitesi, kan plazma kolesterolü ve trigliserit konsantrasyonu azalırken, glikoz ve yüksek yoğunlukta lipoprotein (HDL) düzeyleri artmıştır.

Morsy vd. (2013) tarafından propolisin Santa Inês koyunlarındaki antiparaziter etkisi incelediği çalışmada *Trichuris sp.*, *Trichostrongylus sp.* ve *Ascaris sp.* ile doğal olarak enfekte olan koyunlarda %33'lük propolis ekstraktları kullanılmıştır. Denemede propolis uygulanan hayvanların toplam dışkıdaki parazit sayısının ortalama %59.7 azaldığı ve kontrol grubunda ortalama %63.6 artış gözlemlenmiştir. Ismael vd. (2019) çalışmasında ise listeriosis şüphesi olan koyun ve keçilerde antibiyotiklerin propolisle birlikte daha yüksek düzeyde klinik iyileşme sağladığını belirlemişlerdir.

Sarker vd. (2010) süten kesilen Hanwoo Kore buzağılarında propolisin alternatif ve doğal bir yem katkı maddesi yönünden etkisini, antibiyotik olan neomisinle karşılaştırmıştır ve propolis uygulanan grupta immünoglobulin G, A ve M konsantrasyonlarında, büyüme potansiyeli, yem tüketimi ve kanın biyokimyasal özelliklerinde artışlar olduğunu bulmuşlardır. Propolis uygulaması, mastitise karşı olumlu sonuçlar vermektedir. Çeşitli araştırmalarda keçi ve inek mastitis patojenlerine karşı tedavide düşük maliyeti ve yüksek antibakteriyal etkisi ile propolisin kullanılabileceği ifade edilmiştir (Silva vd., 2012).

Zawadzki vd. (2011) besi sığırlarının rasyonlarına propolis ekstraktı ilavesinin besi sonu canlı ağırlığı artışı, ortalama günlük canlı ağırlık artışı, sıcak karkas ağırlığı ve yemden yararlanmanın monensin ve kontrol grubuna göre önemli düzeyde olumlu etkilendiğini rapor etmişlerdir. Aguiar vd. (2014) tarafından propolisin süt verimi ve kalitesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışma, propolis takviyesi ile beslenen ineklerde sütte protein içeriğinin daha yüksek olduğunu ve aynı zamanda ineklerin daha yüksek süt verimine sahip olduğunu göstermektedir. Yüksek flavonoid içeriği nedeniyle propolis hayvanların üreme performansını da olumlu yönde etkileyebilmektedir. Hashem vd. (2013), propolisin etanol ekstraktının (150 mg/kg rasyonda) rasyona ilavesinin, subtropik sıcak mevsimlerde cinsel aktiviteyi, yüksek sperm konsantrasyonu, semen kalitesini ve testosteron konsantrasyonunu iyileştirdiğini tespit etmişlerdir.

Yeni doğan buzağılarda görülen ishaller üzerine propolisin etkilerini incelemek amacıyla yürütülen bir araştırmada buzağılara 2 cc %96'lık etil alkol çözeltisi ile hazırlanan propolis verilmiştir. Bir aylık deneme süresi sonunda propolis grubu buzağılarda neonatal ishal görülmemiş ve ortalama dışkı puantajı 3 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu buzağılarda ise dışkı puantajı 5 düzeyinde bulunmuştur (Tolon vd., 2002). Yücel vd. (2015) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, propolis uygulanan buzağılarda hiçbir yeni doğan ishalinin gözlenmediği ve ortalama dışkı skorunun 2'den az olduğu sonucuna varılmıştır. Kontrol grubu buzağılarında 4 skoru kaydedilmiştir. Yeni doğan buzağılara günde 4 ml etanol ekstrakt propolis uygulamasının kandaki demir içeriğini artırdığı gözlenmiştir (Kupczyński vd., 2012).

2.6. Şaperonlar

Moleküler şaperonlar, proteinlerin katlanmasını kolaylaştırmaya yardımcı veya polipeptitleri stabilize ederek hatalı katlanmaları önleyen proteinlerdir (Aufrecht, 2005). Katlanma hataları çok yüksek sıcaklıklarda daha fazla meydana geldiği için, moleküler şaperon olarak adlandırılan proteinlerin çoğu başta yüksek sıcaklığa maruz kaldıktan sonra hücresel koşullarda sentezlenen ve ısı şok proteinleri (HSP) olarak adlandırılan bir grup proteini tanımlar (Hubbard ve Sander, 1991; Hartl, 1996).

Uzun süren açlık, hipoksi, dehidratasyon, inflamatuvar süreçler, alkol, ultraviyole ışınlarına maruziyet ve bazı toksik bileşenler ile iz elementlerin alımı stres yanıtını başlatabilmektedir (Petrof vd., 2004). Neredeyse tüm ökaryot ve prokaryot hücrelerde normal düzeylerde bulunup birçok stres koşuluna bağlı olarak stres yanıtında artış gösterdiği için bu proteinlere “stres proteinleri (HSP)” ismi de verilmektedir. Hücrede sinyal iletiminde, nörodejeneratif hastalıklarda, neoplastik süreçlerde ve immünolojik gelişimde stres yanıtının bir bileşeni olarak devreye girdikleri belirtilmiştir (Öztürk vd., 2009).

HSP'ler çok sayıda proteinin stres etmeni süresince kümelenerek çökmesini engelleyen, denatüre olmuş proteinleri tanıyarak tekrar düzgün katlanmalarına yardımcı olan ve tüm bu işlemleri yapmak için gerekli zamanı sağlamak üzere apoptozu engelleyen güçlü düzenleyici moleküler şaperonlar olarak diğer tüm proteinler gibi hücresel stres etkenlerine maruz kalırlar (Hut vd., 2005). Ancak sağlam moleküler yapıları, kuvvetli hidrojen bağları ve hücre içi lipofilik paketlenmeleri dolayısıyla diğer proteinlere kıyasla daha düşük hasara maruz kalarak stresten etkilenmeleri daha azdır (Liang ve MacRae, 1997). Bu özellikleriyle neoplastik

hücrelerin korunarak malignitelerinin devam ettirilmesine de yardımcı olur (Ciocca ve Calderwood, 2005).

2.7. HSP Nedir?

Termal toleransı etkileyebilecek çeşitli faktörler vardır. Bunlar arasında, ısı şoku tepkisi ve ısıya alışma, sıcaklık stresıyla mücadele etmek için doğrudan uyarılır. Isı şoku yanıtı, akut sıcaklık stresini takiben hızlı geçici termotoleransın gelişimi ile uyumludur. Termal stres altında, "ısı şok proteinleri" adı verilen bir dizi proteinin transkripsiyonel aktivasyonu ve birikimi iyi bilinmektedir (Kregel 2002). HSP'ler, moleküler boyutlarına ve aminoasit dizisi benzerliğine göre birkaç aileye sınıflandırılan büyük bir şaperon proteinleri grubunu oluşturur. HSP'ler, strese alışmak için organizmalarda hayatta kalma ve etkili bir bağışıklık sistemi arasındaki dengenin korunmasından sorumludur (Morange, 2006). HSP'ler, yeni sentezlenmiş hücrel proteinlerin doğru katlanmasını ve hücrel bölmelere translokasyonu kolaylaştıran moleküler şaperonlar olarak işlev görür. HSP ifadesi, canlının zorlu çevresel strese adaptasyonunun potansiyel bir göstergesi olarak işlev görür (Dangi vd., 2014).

Isı şok proteinleri organizmayı çevresel stresten korur ve stres esnasında organizmalarda yüksek miktarda sentezlenir. Yapılan çalışmalarda memeli embriyo gelişimi erken döneminde ve döl verimi üzerinde etkisi olduğu görülmüştür (Matwee vd., 2000). Isı şok proteinleri hücrede; ısı ile UV ışınları, aşırı açlığa maruz kalma, inflamasyon, enfeksiyon, toksin, etanol, arsenik, pH değişimi, iskemia, enerji eksikliği, oksidatif fosforilasyon, iz elementlerin eksikliği, reaktif oksijen metabolitleri, glukoz düzeylerinde değişiklik gibi çevresel faktörlere maruz kaldıkları zaman ve dehidratasyon durumunda üretilmektedirler (Öztürk vd., 2009). Isı şok proteinleri, hücrel streste protein yıkımına veya onarımına karar vermektedir. Proteinin yıkımını önleyen moleküler şaperon olarak protein katlanmasını ve birleşimini sağlar. HSP'ler hücrede proteinin korunması, (Dobson ve Ellis, 1998) proteinin katlanmasında ve şaperon (Beckmann vd., 1990) ve protein yıkımının onarılması (Chiang vd., 1989) gibi sitoprotektan fonksiyonları bulunmaktadır (Bener vd., 2018).

2.8. HSP Tarihçesi

Isı şoku proteinleri ilk olarak, 1962'de İtalyan bilimci Ferruccio Ritossa'nın yüksek ısıya maruz kalan meyve sineğinin (*Drosophila melanogaster*) tükürük bezi kromozomlarındaki şişkinliğin gen ifadesi üzerindeki gözlemi ile keşfedilmiştir. Bunun

üzerine bu proteinler ısı şoku proteini (heat-shock protein, HSP) olarak adlandırılmıştır (Al-Whaibi, 2011). Ancak ısı şoku proteinleri, sıcaklık dışında biyolojik ve kimyasal birçok stres faktörü tarafından da transkripsiyonel olarak düzenlenir. Bu nedenle stres proteinleri olarak da bilinirler (Ulusal, 2015). Sonrasında araştırmacılar, HSP'lerin prokaryotlar, mayalar ve bitkilerden ökaryotlara kadar organizmalarda bulunan yüksek derecede korunmuş bir protein ailesi olduğunu belirlemiştir (Koçoğlu, 2020).

2.9. HSP'lerin Sınıflandırılması

Isı şok proteinleri; kuvvetli hidrojen bağları, güçlü hidrofobik etkileşimleri ve çift kutuplu heliks stabilitesinden dolayı denatüre olmazlar. Proteinlerin stabilitesinde ve denatüre olmuş proteinlerin katlanmalarında gereklidirler (Moseley, 2006). Isı şok proteinlerin molekül ağırlıkları, yapıları ve fonksiyonlarına göre 5 gruba ayrılırlar (Çizelge 2). Bunlar HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 ve küçük ısı şok proteinleridir (Henle vd., 1998). Bu aile üyelerinden bazıları hücrede sürekli olarak sentezlenirken, bazılarının stres koşullarında sentezleri artmaktadır. Diğer aile üyeleri ise yalnızca stres etkisi sonucunda sentezlenmektedir (Samali ve Orrenius,1998). Büyük moleküler ağırlıklı HSP'ler ATP bağımlı şaperonlardır. Kendi konformasyonlarının düzenlenmesi ve ATP bağlanması için ko-şaperonlara gereksinim duyarlar (Kaykı, 2017).

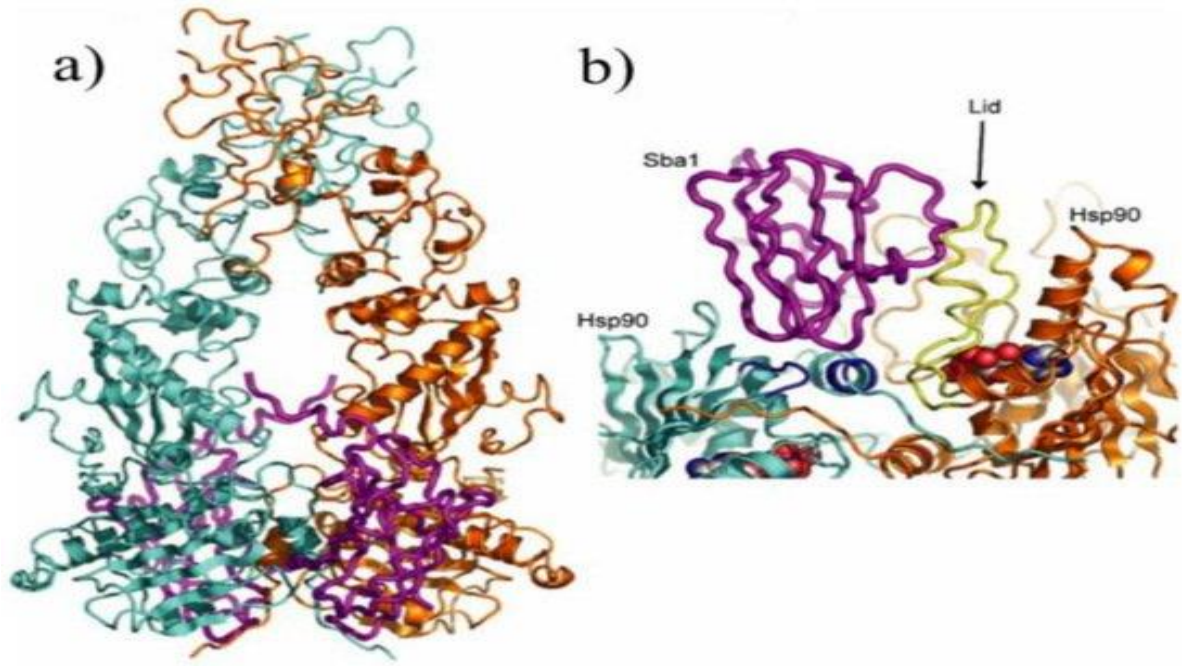
Çizelge 2: HSP'lerin bazı özelliklere göre sınıflandırılması

	HSP	Moleküler Ağırlığı	Fizyolojik Yeri	Streste Yeri	İşlev	Kaynak
HSP90	HSP100	100	Endoplazmik Retikulum	Endoplazmik Retikulum	Glukoz metabolizması	Birbo vd., 2021
	HSP90 α	86	Sitoplazma	Sitoplazma	Steroid reseptör	
	HSP90 β	64	Sitoplazma	Sitoplazma	Aktin	
HSP70	HSP80	80	Endoplazmik Retikulum	Endoplazmik Retikulum	İmmünglobulin	Rosenweig vd., 2019
	HSP75	75	Mitokondri	Mitokondri	Glukoz metabolizması	
	HSP73	73	Sitoplazma	Nükleus	Protein katlanması	
	HSP72	72	Sitoplazma, Nükleus	Nükleus	Protein katlanması	
HSP60	HSP60	58,60	Sitoplazma, Mitokondri	Mitokondri	Protein katlanması	
Küçük HSP Ailesi	HSP47	47	Sitoplazma, Mitokondri	Sitoplazma, Mitokondri	Kollajene özgü	Taghavizade h vd., 2021
	HSP32	32	Sitoplazma	Sitoplazma, Nükleus	Heme oksijenaz-1	
	HSP27	27	Sitoplazma/çekirdek	Sitoplazma/çekirdek	Sitoproteksiyon, embriyogenez.	
	HSP25	25	Sitoplazma	Sitoplazma	α -kristallin	
	HSP8	8	Sitoplazma, Membran	Sitoplazma, Membran	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü.	

2.10. HSP 90

HSP90, çeşitli alıcı proteinlerinin geç evre olgunlaşmasını, aktivasyonunu ve stabilitesini düzenleyen ATP'ye bağımlı bir moleküler şaperondur (Pearl vd., 2008). HSP90 proteinleri, apoptoz, hücre döngüsü kontrolü, hücre sinyalizasyonu, hücre canlılığı, protein katlanması ve taşıma proteinleri ve yardımcı şaperonlar ile etkileşime girerken bozulma gibi temel hücresel süreçlerde ve düzenleyici yollarda önemli bir rol oynar. Öne çıkan rolleri proteostaz, hücre farklılaşması ve gelişiminde yer almaktır. Ayrıca, antijenik peptitlerle birleşerek ve onları antijen sunan hücrelere ileterek adaptif bağışıklığın uyarılmasında rol oynarlar, böylece dendritik hücrelerin yanı sıra antijen sunan hücreleri de aktive ederler (Hoter vd., 2018).

HSP90, NTD (N-terminal domain), CTD (C-terminal domain) ve MD (Middle Domain) olarak bilinen üç ana korunmuş alandan oluşan genel bir yapıya sahip monomerlere sahip bir dimerdir (Lavery vd., 2014). Bu alanlar, HSP90 konformasyonel değişikliklere uğrarken alanların yeniden düzenlenmesine izin veren bağlayıcılarla bağlanır (Jahn vd., 2014). Ökaryotlarda, N-terminal ve orta alanları (Tsutsumi vd., 2012) bağlayan yüklü bir bağlayıcı yapı vardır. Bu yüklü bağlayıcı alan, uzunluk ve aminoasit dizisi bileşimi açısından değişir (Tsutsumi vd., 2009). Bu alanların her biri belirli bir işlev üstlenir ve özellikle yaşlanmada hasarlı veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini önlemek için gereklidir (Calderwood ve Murshid, 2009). NTD, ATP'nin bağlanma bölgesidir ve bu nedenle nükleotid bağlama bölgesi olarak adlandırılır (Hoter vd., 2018). Bu nedenle, şaperon döngüsü ve alıcı proteinlerinin HSP90 şaperonuna bağlanması için gerekli olan HSP90 ATPaz aktivitesi için NTD'ye ihtiyaç vardır (Dutta ve Inouye, 2000; Panaretou vd., 1998). CTD, protein dimerizasyonunda önemli bir rol oynar. İki ana bölgesi vardır: biri kalmodulin bağlanması ve diğeri HSP90'ın homodimerizasyonu için (Minami vd., 1993). CTD ayrıca, NTD işgal edildiğinde açılan bir nükleotid bağlama bölgesine sahiptir ve böylece N-terminal ATPaz aktivitesinin allosterik düzenleyicisi olarak görev yapar (Soti vd., 2003). MD, substratların bağlanmasında işlev görür. MD ayrıca, substrat MD'ye bağlandığında görüldüğü gibi HSP90 ATPaz aktivitesini de düzenler ve ATPaz aktivitesinde bir artışa neden olur (Meyer vd., 2003; Panaretou., 2002). Yalnızca ökaryotik HSP90'da mevcut olduğu bilinmesine rağmen, yüklü bağlayıcı alan, HSP90 şaperonunun işlevi, etkileşimi ve esnekliği için esastır (Tsutsumi vd., 2009).



Resim 1: HSP 90 dimerleri

a) HSP90'ın p23/Sba1 ile kompleks içindeki kristal yapısı. HSP90'ın dimerleri ayrı ayrı renklendirilmiş deniz mavisi ve turuncudur ve p23/Sba1 menekşe ile gösterilmiştir.

(b) HSP90'ın ATP'ye bağlı, kapalı kapaklı konformasyonu ile etkileşime giren p23/Sba1'in yakın plan görüntüsü (Birbo vd., 2021).

HSP90'ın düzgün çalışması için dimerizasyon gereklidir. Spesifik olarak, memeli HSP90, her biri 2-3 kovalent bağlı fosfat molekülü içeren monomerlere sahip fosforile edilmiş bir dimerdir. Ek olarak, NTD'de bir ATP bağlanma bölgesine sahip olmasına rağmen, HSP90 sadece ATPaz aktivitesine değil, aynı zamanda guanozin trifosfataz (GTPaz) aktivitesine de sahiptir (Hoter vd., 2018).

Memelilerde, kopyalanmış genlerden kaynaklanabilecek iki ana HSP90 izoformu vardır (Sreedhar vd., 2004; Gupta, 1995). Bu iki izoform, indüklenebilir form HSP90 α ve yapıcı form HSP90 β 'dir. Homolojiyi %80 oranında paylaşırlar ve her ikisi de sitoplazmada bulunur (Johnson, 2012). İzoform olmalarına rağmen, HSP90 α ve HSP90 β , protein dizilerinin spesifik bölümlerinde bazı varyasyonlara sahiptir. HSP90 α 732 aminoasitten oluşurken HSP90 β 724 aminoasitten oluşur. Ek olarak, HSP90 α , HSP90 β ile karşılaştırıldığında daha sık dimerleşme eğilimindedir. İki izoform arasında bazı farklılıklar olmasına rağmen, HSP90 genellikle yapı ve işlev açısından benzer oldukları için HSP90 α ve HSP90 β izoformlarının her ikisini de belirtmek için kullanılır (Hoter vd., 2018). Bu izoformlar arasındaki benzerlikler, alıcı

proteinlerinin çoğunun bu izoformlardan herhangi birine bağlanmasına izin verir (Birbo vd., 2021).

Sahu vd. (2022) kültürlenmiş keçi kardiyak hücrelerinde ısı şokunun protein 90 (HSP90) mRNA'nın ekspresyon dinamikleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla bir çalışma yapmıştır. Kültür çalışması için farklı keçilerden alınan kalp dokuları (n = 6) kullanmışlardır. Farklı kalp dokularından elde edilen kalp hücreleri, 24 oyuklu hücre kültürü plakalarında kültürlenilmiş ve nemlendirilmiş inkübatör 39°C'de bir CO₂ içinde inkübe etmişlerdir (%5). 72 saatlik inkübasyondan sonra kalp hücrelerinin %75-80 konfluent hale gelmesine izin verilmiş, daha sonra kalp hücreleri 42°C'de 0, 20, 60 ve 100 dakika boyunca ısı tehdidinde tabi tutulmuştur. 0 dakika boyunca 42°C'de ısı tehdidinde maruz bırakılan kalp hücreleri kontrol olarak alınmıştır. HSP90 mRNA'nın nispi bolluğu, nicel gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) ile değerlendirilmişler ve HSP90 mRNA'nın nispi bolluğu, kontrole kıyasla 20 dakikalık ısı tehdidinde değişmemiştir. Ancak HSP90 mRNA'nın nispi bolluğu, 60 ve 100 dakikalık ısı tehdidinde önemli ölçüde artmıştır (p <0.05). Bununla birlikte, HSP90 mRNA'nın nispi bolluğu, 100 dakikalık ısı tehdidinde en yüksek (p <0.05) olarak kaydetmişlerdir.

Devapriya vd. (2021) tarafından yapılmış bir çalışmada dişi Kodi Aadu ırkında sıcaklık stresinin çeşitli karkas özellikleri, et kalitesi değişkenleri ve et kalitesini yöneten gen ekspresyon kalıpları üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Çalışma 45 gün boyunca iklim odasında, her biri kontrol (n = 6; Dişi), sıcaklık stresi (n = 6; Dişi) olmak üzere her biri altı hayvandan oluşan iki gruba rastgele ayrılan 12 hayvan ile yürütülmüştür. Ana karkas özellikleri, sakatatlar, ilk kesimler, doğrusal karkas ölçümleri, fizik-kimyasal özellikler, organoleptik nitelikler, et rengi ve LTL (*Longissimus thoracis et lumborum*) çözünür proteinler, kalite ile ilişkili gen ekspresyon paternleri ve çok yüksek büyüklükteki sıcaklık stresinin et kalite özelliklerinde etkisine rastlanmamışlardır. Karkas özellikleri ve et kalitesi ile ilgili çeşitli değişkenlerin çoğu, sıcaklık stresine maruz kaldıktan sonra bu ırkta bozulmadan kalmıştır, bu ırkın aşırı stresli ortamla başa çıktıktan sonra en iyi şekilde üretme potansiyelinin çok yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, çalışma da MSTN (Myostatin), HSP27, CRYA (Crytallin alpha) ve HSP90 genlerinin tropik iklimde keçilerin et üretme kapasitesini yansıtmak için biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

Periferik kan mononükleer hücrelerde (Peripheral blood mononuclear cells- PMBC) yapılmış bir deneyde, in vitro kültürde yüksek sıcaklığa (42°C) maruz bırakılan PBMC'lerde

HSP70, HSP90, HSP110, HSF1 (Heat shock factor 1- Isı Şoku Faktörü 1), SOD (Süperoksit dismutaz), SOCS1 (Suppressor of cytokine signaling 1- Sitokin sinyalleşmesinin baskılayıcısı 1), TLR2 (Toll-like receptor 2- Toll benzeri reseptör 2), TLR4 (Toll-like receptor 4- Toll benzeri reseptör 4), IL2 (Interleukin-2 – İnterlökin 2), IL6 (Interleukin-6 – İnterlökin 6), iNOS (Inducible nitric oxide synthase- İndüklenebilir nitrik oksit sentazları) ve eNOS (Endothelial nitric oxide synthase- Endotelial nitrik oksit sentaz) ekspresyon kinetiğini belirlemek için bir çalışma yapılmıştır. PBMC'leri 0, 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 saat aralıklarla 42°C'lik yüksek sıcaklığa ve 37°C'de geri kazanıma maruz bırakılmışlardır. Sıcaklık stresini uyaran genlerin zaman süreci ifade modeli incelenmiş ve göreceli mRNA ekspresyonu, iHSP70, HSP90 ve HSF1 için ($p<0.05$) 4. ve 16. saatte, HSP110 için 8. saatte, SOCS için 12 ve 24 saatte yüksek bulunurken, IL2, IL6, TLR2, TLR4, iNOS ve eNOS'un genel önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. 4 saatlik sıcaklığa maruz kalmada önemli ölçüde daha yüksek ekspresyon gösterdiği kaydedilmiştir. Sıcaklık uygulamasında, HSP70 ve HSP90, HSF1, eNOS, iNOS, TLR2 kontrole kıyasla 2 saatte önemli ölçüde daha yüksek ekspresyon göstermiştir ($p < 0.05$). HSP70 ile tüm inflamatuvar sitokinler arasında negatif bir korelasyon bulunmuşlardır. Sonuç olarak, daha yüksek çevre sıcaklığında, HSP'ler, TLR'ler (Toll-like receptor- Toll benzeri reseptör) ve sitokinler arasındaki etkileşimin, hayvanı termal stresin zararlı etkisinden korumak için sağlam, içsel iyileştirme mekanizması olarak önemli bir rol oynadığını göstermişlerdir (Mondal vd., 2020).

Liu, (2019) Çin'in Jiangxi bölgesinde 12 Ganxi keçisi rastgele kontrol grubuna, 2 ve 6 saatlik taşıma stresi gruplarına ayırmıştır ve 3 ısı şok proteininin (HSP27, HSP70 ve HSP90) konsantrasyonunu belirlemek için çift antikor (keçi serumu ve jejunum) ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi kullanmışlardır. Serumdaki HSP70 ve HSP90, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 2 saatlik taşımadan sonra önemli ölçüde artmıştır ($p<0.01$). 2 saatlik taşımanın jejunumunda HSP70 ve HSP90 artmış ($p<0.05$), jejunum ve serumdaki HSP27 artmış ancak anlamlı bir fark belirtmemişlerdir. Serumdaki HSP70 ve HSP90, 6 saatlik taşımadan sonra önemli ölçüde artmış ($p<0.05$ ve $p<0.01$), ancak HSP27, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermemiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 6 saatlik taşımadan sonra jejunumdaki 3 ısı şoku proteininde önemli bir değişiklik olmadığı ve 3 ısı şoku protein içeriği, 2 saatlik taşımaya kıyasla 6 saatlik taşımadan sonra önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Hücre seviyesindeki stres, serumdaki HSP70 ve HSP90 protein seviyelerinin artışı ile yakından ilişkili ve keçinin, HSP70 ve HSP90'ı yukarı

regüle ederek jejunum yaralanmasını uyaran 2 saatlik taşıma stresi üzerinde hücrel koruyucu bir etkisi olduğu araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

2.11. HSP 70

Adaptasyon, hayvanların zorlu iklim koşullarıyla baş etmelerinin farklı mekanizmalarını ifade eder (Ratnakaran vd., 2017). Çevresel bir zorlukla karşılaştıklarında, hayvanlar duruma davranışsal, fizyolojik, biyokimyasal, nöroendokrin ve moleküler mekanizmalarını değiştirerek tepki verir. Davranışsal tepkiler, yem alımının azalması, idrara çıkma ve dışkılama sıklığının azalması, su alımının artması, yatma süresinin uzaması, ayakta durma süresinin azalması, içme sıklığının artması ve gölge arama davranışını içermektedir (Alam vd., 2013). Ayrıca hayvanlar, solunum hızı , rektal sıcaklık ve cilt sıcaklığı gibi fizyolojik mekanizmalarını değiştirerek sıcaklık stresinin olumsuz etkisine dayanır (Manjari vd., 2015; Shilja vd., 2016). Hayvanların farklı fenotipik özelliklere dayalı adaptasyonu, öncelikle onların stresten kurtulmalarına yardımcı olan ve onlara bu tür sonraki zorluklarla başa çıkma yeteneği veren davranışsal veya metabolik tepkilerini değiştirir (Al-Haidary vd., 2012). Bu fenotipik özelliklerin yanı sıra hayvanlar, genotipik özelliklerini değiştirerek sıcaklık stresi zorluklarına da uyum sağlar ve HSP70 geni, sıcaklık stresi altındaki keçilerde sıcaklık stresiyle ilişkili klasik genetik belirteçtir (Banerjee vd., 2014).

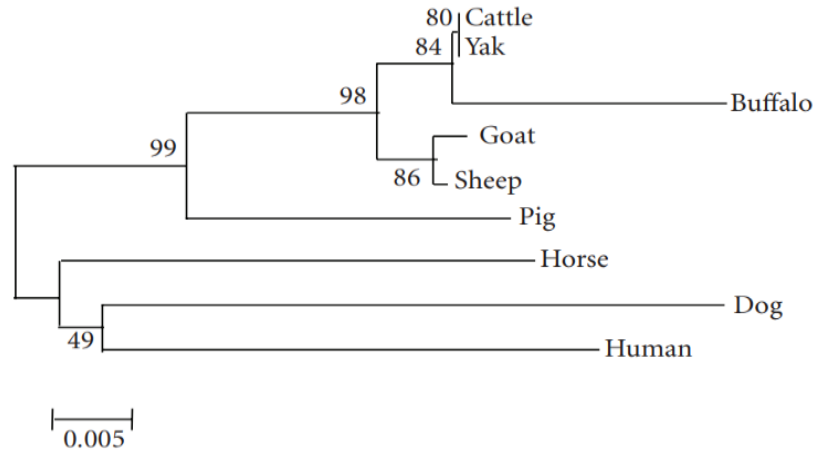
HSP70 şaperonları, yeni sentezlenmiş proteinlerin katlanması (Resim 2), polipeptitlerin mitokondriye, kloroplastlara ve endoplazmik retikuluma (ER) translokasyonu, protein komplekslerinin parçalanması ve protein aktivitesinin düzenlenmesi dahil olmak üzere çok çeşitli hücrel temizlik faaliyetlerinde işlev görür (Balchin vd., 2016).



Resim 2: Keçi HSP70 Proteinini (ATPase Hidrolitik Döngüde yer alan aminoasitler) (Gade vd., 2010)

Ayrıca, HSP70'ler kümeleşmeyi önler ve yanlış katlanmış denatüre proteinlerin yeniden katlanmasını teşvik eder, kümelenmiş proteinleri çözündürür ve anormal proteinleri ve protein kümelerini temizlemek için hücrel bozunma makineleri ile iş birliği yapar. Böylece, HSP70'ler, hücreleri homeostaz dengesizliğine neden olan patofizyolojik koşullar (Qu vd., 2015) ve organizma yaşlanması (Walther vd., 2015) gibi çok çeşitli proteotoksik streslerin zararlı etkilerinden koruyan sentinel şaperonlar gibi davranırlar (Rosenzweig vd., 2019).

Bakterilerden insanlara genomlar, çoklu HSP70'leri kodlar (Şekil 10). İnsanlarda, 13 HSP70 homologu, farklı hücrel bölmelerde (sitosol, çekirdek, ER ve mitokondri) eksprese edilir ve izoform seviyeleri hücrel ihtiyaçlara (örneğin, büyüme ve dokuya özgü aktiviteler) göre düzenlenir (Rosenzweig vd., 2019).



Şekil 10: HSP70 nükleotidinin filogenetik ilişkisi (Gade vd., 2010)

2.12. HSP 60

HSP60 ağırlıklı olarak mitokondride bulunur ancak son veriler sitozolde, çekirdekte, hücre yüzeyinde, hücreler arası veziküllerde ve hücre dışı ortamlarda (kan dolaşımı gibi) lokalize olabildiğini düşündürmektedir (Meng vd., 2018). HSP60, endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı yoluyla ya da eksozomlar ve lipid kanalları ile bağlanma yoluyla hücrelerden hücre dışı ortama salgılanır (Nativel vd., 2019). Mitokondri stres altındayken, HSP60 yukarı doğru düzenlenir ve hücresel membrana ve golgi aygıtına taşınır (Meng vd., 2018). Hücre zarında, HSP60, zar lipid aracılı endositozu yoluyla endozomlara içselleştirir (Henderson ve Martin, 2014). HSP60 ayrıca multiveziküler gövdeler yoluyla eksozomlar içinde kapsüllenebilir ve komşu hücrelere taşınabilir (Rashed vd. 2017). Ek olarak, serbest çözünür HSP60 molekülleri, golgi vezikülleri yoluyla hücre dışı ortama yer değiştirebilir (Campanella vd., 2012). Kan, tükürük ve idrar gibi vücut sıvılarının yanı sıra hedef dokularda artan hücre dışı HSP60 ekspresyonu, kanser, diyabet, ateroskleroz, romatoid artrit, insülit ve nöroinflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklarda belgelenmiştir (Taha vd., 2019). Bu nedenle, serbest veya eksozomal bağlı HSP60, beyin hücrelerinde iltihaplanma teşhisi için umut verici bir biyobelirteç olabilir. Son çalışmalarda, hücre dışı HSP60 ekspresyonları ile dokuların bağışıklık tepkileri arasında açık bir bağlantı keşfetmişlerdir. Bununla birlikte, hücre dışı HSP60'ın salgılanma mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Hücre içi HSP60 ve hücre dışı HSP60'ın yapısal ve işlevsel karşılaştırması üzerine tanımlayıcı bir çalışmanın da oluşturulması gerekmektedir (Liyanağamage ve Martinus, 2020).

Sahu ve Mishra, (2021) alışmalarında, keçinin kültürlenmiş kardiyak fibroblast hücrelerinde termal stresin HSP60 mRNA'nın ekspresyon dinamikleri üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Kültür alışması için farklı keçilerden alınan kalp dokuları (n = 6) kullanmışlardır. Kardiyak fibroblast hücreleri kültürlendirilmiş ve 0, 20, 60 ve 100 dakika boyunca 42 °C'de termal strese maruz bırakılmıştır. HSP60 mRNA'nın nispi bolluğu, qRT-PCR ile değerlendirilmiştir. 42 °C'de 0 dakika termal strese maruz kalan kalp hücreleri kontrol olarak alınmıştır. HSP60 mRNA'nın nispi bolluğu, kontrole kıyasla 20 dakikalık sıcaklık stresinde değışme olmamış ancak bundan sonra, 60 dakika ve 100 dakika termal streste HSP60 mRNA'nın nispi bolluğu önemli ölçüde yukarı regüle edildiğı rapor edilmiştir (p <0.05). Bununla birlikte, HSP60'ın en yüksek mRNA ifadesi, 100 dakikalık termal streste fark edilmiştir. Mevcut alışma, sıcaklık stresinin kültürlenmiş keçi kardiyak fibroblast hücrelerinde mRNA ekspresyonunu HSP60 modüle ettiğini göstermektedir.

Dangi vd. (2012) HSP60, HSP70, HSP90 ve UBQ'nun (U-Boot Mutation- U-Boot Mutasyonu) periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC'ler) farklı mevsimlerde tropikal ve ılıman bölgelerin keçilerinde üç farklı yaş grubunda (Grup I, II ve III, 0-2, 2-5 yaş arası ve >5 yıl, sırasıyla) ekspresyonunu göstermeyi amaçlamışlardır. İncelenen faktörlerin mRNA ekspresyonunu araştırmak için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu uygulanmıştır. İstenen sonuçların özgünlüğü, transkriptlerin tam olarak tahmin edilen moleküler boyutta olduğunu doğrulamak için erime sıcaklığı analizi ve yüksek çözünürlüklü jel elektroforezi kullanılarak belgelemişlerdir. HSP60, HSP90 ve UBQ'nun mRNA ifadesi önemli ölçüde daha yüksek (p<0.05) bulmuşlar. Hem tropikal hem de ılıman bölge keçilerinde kış mevsimi ile karşılaştırıldığında tüm yaş gruplarında en yoğun yaz mevsiminde olduğu görülmüştür. Tropikal bölge keçilerinde HSP70 mRNA ekspresyonu, yaz mevsiminde kış mevsimine oranla önemli ölçüde daha yüksek kaydedilmiştir (p<0.05). Bununla birlikte, ılıman bölgede, incelenen her üç yaş grubundan keçilerde, yaz ve kış mevsimleri arasında HSP70 ekspresyonunda önemli olmayan bir fark gösterilmiştir. Sonuç olarak, HSP genlerinin keçi PBMC'lerinde eksprese edildiğini ve sıcaklık stresi sırasında HSP'lerin daha yüksek ekspresyonunun, keçilerde hücresel bütünlüğü ve homeostazı korumak için termal stresin zararlı etkisini iyileştirmek için bunların olası katılımını iyileştirdiğini göstermişler.

Sıcaklığa uzun süre maruz kalma, özellikle sıcaklık stresi gebelikle ilişkili olduğunda, hayvanların performansını ve üretkenliğini olumsuz yönde değıştirdiğini bildirmiştir. Uzun süreli sıcaklık stresinin süt keçilerinin son gebeliğı üzerindeki olumsuz etkileri hakkında çok

az şey bilinmektedir. Bu kapsamda, sıcaklık stresine (37°C 10:00-16:00 arası) maruz kalan Saanen keçilerinin doğum öncesi 60. günden doğum sonrası 60. güne kadar fizyolojik ve hücrel tepkileri araştırılmıştır. Son gebelikte, 46 gebe Saanen keçisi denemeye rastgele almışlardır Doğumdan sonra, tüm deney keçileri termal nötr koşullarda tutulmuştur. Rektal, dorsal, meme sıcaklıkları ve solunum frekansı, kortizol salınımı, süt verimi, süt kalitesi ve HSP60, HSP70, HSP90 genleri, Glukokortikoid reseptörü ve ACTHR (Adrenokortikotropik hormon reseptörü) genlerine bakmışlardır. Sıcaklık stresi uygulaması, doğum öncesi 15. günden doğum sonrası 15. güne kadar kortizol salınımını önemli ölçüde artırmıştır. Kontrol keçileri, laktasyonun 4. haftasından 10. haftasına kadar sıcaklık stresi grubundan daha fazla süt üretmiş ($p<0.001$) ancak süt kalitesinde hiçbir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte, doğumdan sonraki 15. günde, sıcaklık stresi uygulamasının HSP70 ve ACTHR ekspresyonu üzerinde önemli etkisi görmüşlerdir. Sonuç olarak, çalışılan fizyolojik parametreler, sıcaklık stresi altındaki keçiler için doğum öncesi en sıcak saatte artmış ve kortizolün doğum öncesi 15. günde zirve yaptığı bildirilmiştir. Doğum sonrası 15. günde tüm keçiler termal konforda ve fizyolojik parametreler normal aralıkta olmasına rağmen, sıcaklık stresine maruz kalan keçilerde kortizol konsantrasyonu önemli ölçüde daha yüksek olmaya devam etmiştir. Doğum öncesi normal sıcaklıkta olan keçilerde süt verimi daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca, periferik kan mononükleer hücreleri üzerindeki HSP70 ve ACTHR genlerinin ekspresyonu, sıcaklık stresinin Saanen keçileri üzerindeki uzun vadeli etkisini incelemek için biyobelirteç görevi gördüğünü belirtmişler (Hooper vd., 2021).

2.13. HSP27

Isı şoku proteinleri, çok çeşitli fizyolojik ve çevresel streslere yanıt olarak indüklenen birkaç farklı protein ailesini içerir. Stres yanıtı sırasında yüksek oranda indüklenen bu tür bir protein, ekspresyonunun sitotoksik uyarılara yanıt olarak artan hayatta kalma ile ilişkili olduğu görülen HSP27 olarak adlandırılan 27 kDa'lık bir proteindir. Apoptoza neden olan çok çeşitli ajanlar tarafından hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir. HSP27, çok sayıda protein ile etkileşime girme kabiliyetine sahip moleküler bir şaperondur. Son kanıtlar, HSP27'nin, apoptotik sinyal yolunun kilit bileşenleri, özellikle kaspaz aktivasyonu ve apoptozda yer alanlar ile etkileşime girme yeteneği yoluyla apoptozu düzenlediğini göstermiştir (Taghavizadeh vd., 2021).

HSP aileleri arasında, HSP27 alt ailesinin, sıçan, fare ve tavukta sıcaklık stresine yanıt olarak kardiyomiyositlerde spesifik olarak eksprese edildiği bilinmektedir (Tang vd., 2013;

Chen vd., 2015; Cheng vd., .2016). Parida vd. (2020) kültürlenmiş keçilerin kalp hücrelerinde HSP27 mRNA'nın ekspresyon kinetiği üzerinde sıcaklık stresinin etkisini araştırmıştır. Kültür çalışması için farklı keçilerden alınan kalp dokuları (n = 6) kullanmışlardır. Farklı kalp dokularından elde edilen kalp hücreleri, 24 oyuklu kültür plakalarında kültürlendirmiş ve 37°C'de nemlendirilmiş bir CO₂ (%5) inkübatöründe inkübe etmişlerdir. Kalp hücreleri, 0, 20, 60 ve 100 dakika boyunca 42°C'de ısıya maruz bırakmışlardır. HSP27 mRNA'nın ekspresyonu, kontrole kıyasla 20 dakikalık ısıya maruz kalmada değişim olmadığını ve 60 ve 100 dakikalık ısıya maruz kalmada arttığını (p<0.05) belirtmişlerdir. Bununla birlikte, HSP27 mRNA'nın en yüksek (p<0.05) ekspresyonu, 100 dakikalık ısıya maruz kalmada kaydetmişler. HSP27'nin sıcaklık stresinin zararlı etkisinden kalp hücrelerinde termo-korumayı destekleyebileceğini göstermişler.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvancılık Araştırma Uygulama Merkezindeki Keçicilik ünitesinde 2021 yılında kızgınlıkları senkronize edilen 23 adet anaç Saanen keçilerinin 2022 yılı Mart ayı sonunda doğan oğlaklar çalışmanın hayvan materyalini oluşturmuştur. Her bir gruba 10 baş oğlak (5 dişi 5 erkek), toplamda 20 baş oğlak seçilmiştir. Deneme sonunda kontrol grubundan iki oğlak, deneme grubundan da 1 oğlak ölmüştür. Oğlakların ölüm nedeni pnömoni olarak belirlenmiştir.

3.1.2. Deneme alanı materyali

İşletme koordinatları 37°45'03.31" K ve 27°45'27.16 "D, denizden yüksekliği 52 m'dir. Bölgede Akdeniz iklimi hâkimdir. Deneme grubundaki oğlaklar üzeri sundurma tipi eternit malzemeden yapılmış çatıyla kapalı, dört tarafı açık 20 adet 1.5x1.5 m ölçülerinde metalden yapılmış bireysel bölmelerde barındırılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Senkronizasyon

Ziraat Fakültesi Hayvancılık Araştırma Uygulama Merkezindeki Keçicilik ünitesinde bulunan 23 keçinin kızgınlıklarının senkronizasyonu için 08.10.2021 tarihinde progesteron emdirilmiş süngerler (Esponjavet, İspanya) intravajinal yöntemle takılmıştır. 22.10.2021 tarihinde süngerler çıkarılmış ve her bir anaç keçiye 0,5 ml PMSG (Gonadotropin hormonu) hormonu verilmiştir. Hormon uygulamasından kırk sekiz saat sonra 23 baş anaç keçi üç gruba ayrılmış ve üç adet teke anaçların arasına bırakılmıştır. Tekeler anaçların yanında üç gün durduktan sonra 27.10.2021 tarihinde ayrılmıştır. Gebelik kontrolleri çiftleşmeden bir ay sonra 25.11.2021 tarihinde rektal problu ultrason cihazı (Welld Veteriner Ultrason Tarayıcı, Çin) kullanılarak yapılmıştır.

3.2.2. Doğum

Doğumlar 21.03.2022 tarihinde başlamıştır. İlk birkaç gün içerisinde doğan toplam 20 baş oğlak proje için gerekli olan hayvan materyali olarak belirlenmiştir. Doğan yavruların aç canlı ağırlıkları 50 grama duyarlı hassas tartı kullanılarak tartılmıştır. Canlı ağırlık alındıktan sonra çiftlik kulak küpeleri takıldı ve kayıt altına alınmıştır. Tüm yavrulara doğduktan sonra fakülte veteriner hekimi tarafından çiftliğin rutin uygulaması olan veteriner vitamin mineral enjeksiyonu yapılmıştır. Doğum sonrası yavruların göbek bağına antiseptik solüsyon dökülmüştür. Denemeye alınacak 20 baş oğlak bir hafta anneleriyle kalarak kolostrum almaları sağlanmıştır.

3.2.3. Gruplandırma

Deneme başlamadan 48 saat önce oğlakların yerleştirileceği 1.5x1.5 m ebatındaki yarı açık bireysel bölmeler temizlenmiş ve bakımları yapılmıştır. Deneme alanı temizliğinden sonra dezenfektan kireci uygulanarak ve altlıklar saman ile hazırlanmıştır. Oğlaklar kontrol ve deneme (0,4 cc propolis takviyesi) grubu olarak iki gruba ayrılmıştır. Kontrol ve deneme gruplarını oluşturmak için analarından ayrı tutulan tüm oğlakların deneme başlangıç ağırlıkları alınarak, canlı ağırlıkları, ikizlik durumları ve cinsiyetleri dikkate alınarak her iki grubun birbirine benzer özelliklere sahip olacak şekilde oğlak dağılımı yapılarak iki grup oluşturulmuştur (kontrol ve deneme grupları).

3.2.4. Çevre sıcaklığı ve nem değerleri

Sıcaklık-Nem İndeksi (SNİ-THI), sıcaklık stresi şiddetinin belirlenmeyi amaçlamaktadır. Çevre sıcaklığı ve nispi nemin birlikte hesaplandığı bir değerdir. Farklı ırklar için farklı sıcaklık stresi belirleme formülleri üretilmiştir.

Koyun ve keçiler için belirlenen formül;

$$THI = db\text{ }^{\circ}C - \{(0.31 - 0.31 RH/100) (db\text{ }^{\circ}C - 14.4)\} \text{ 'dir.}$$

Formülde THI sıcaklık-nem indeks değerini, db°C °C cinsinden kuru termometre değerini, RH ise nispi nem değerini ifade etmektedir. Değerlendirmede ise sonuç $SNİ \leq 22.2$ ise sıcaklık stresi yok, 22.2-23.3 arasında orta düzeyde, 23.3-25.6 arasında şiddetli, 25.6'dan yüksekse aşırı şiddetli olarak açıklanmaktadır (Marai vd., 2007).

3.2.5. Beslenme düzeni

Denemeye alınacak 20 baş oğlak bir hafta anneleriyle birlikte aynı yerde tutularak kolostrum almaları sağlanmıştır. Oğlaklar deneme alanına alınmadan önce iki gün annelerinden ayrı bölmeye alınarak biberona alıştırmıştır. Oğlaklara, anaç keçilerden sağılan sütler karıştırılarak verilmiştir.

Deneme başlangıcında belirlenen canlı ağırlıkların ortalamaları alınarak oğlaklara verilecek günlük süt miktarı canlı ağırlığın %10'una denk gelecek şekilde arttırılmıştır. Deneme grubuna iğnesiz şırınga kullanılarak (Resim 3), oral yolla oğlaklara 16 haftalık süreçte günde oğlaklarda en ekonomik ve etkili doz olarak denenmiş bir kez 0.4 cc propolis (Manav ve Yılmaz, 2023) verilmiştir. Propolis ekstraktı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Teknoparkı bünyesindeki İdapolis isimli şirketten temin edilmiştir.



Resim 3: Oğlağa propolis verilmesi

Haftalık canlı ağırlıkların ortalamaları baz alınarak periyodik olarak süt miktarı arttırılmıştır. Deneme alanına alındıktan 1 hafta sonra oğlaklara, oğlak büyütme yeminden 100 gr verilmiştir. Canlı ağırlık artışlarına bakılarak kesif yem periyodik olarak arttırılmış ve kaba yem (yonca kuru otu) ile takviyesi yapılmıştır. Oğlaklara verilen süt denemenin beşinci haftasından sonra süttten kesimde stres oluşturmamak adına kademeli olarak azaltılmıştır. Denemenin yedinci haftasında (oğlaklar 8 haftalık yaşta) fizyolojik parametrelerinin ölçümü yapıldıktan sonra süttten kesilmiştir. Denemedeki hayvanların beslenmesinde yapılan kademeli

artırma ve azalmalar (süt, kesif yem ve kaba yem) haftalık olarak hayvanların ölçümleri alındıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Her iki gruba da eşit miktarda süt, kaba yem ve kesif yem verilmiştir. Haftalık ölçümler yapıldıktan sonra kalan yemler tartılmıştır. Deneme süresince bir oğlak için verilen süt, kaba yem ve kesif yem miktarları (Çizelge 3) verilmiştir. Deneme süresince (16 hafta) toplamda 756 kg süt, 595 kg kaba yem ve 546 kg kesif yem verilmiştir.

Çizelge 3: Oğlaklara verilen günlük süt, kaba yem ve kesif yem miktarları

Hafta	Süt (kg)	Kaba yem (kg)	Kesif Yem (kg)
1	0,7	-	-
2	0,7	-	0,1
3	0,8	0,1	0,1
4	0,9	0,2	0,2
5	1	0,25	0,25
6	0,8	0,3	0,3
7	0,5	0,4	0,4
8	-	0,5	0,45
9	-	0,55	0,45
10	-	0,6	0,5
11	-	0,65	0,55
12	-	0,7	0,6
13	-	0,75	0,65
14	-	0,8	0,7
15	-	0,85	0,75
16	-	0,9	0,8

3.2.6. Nabız ve solunum sayısı

Wijffels vd. (2021) solunum hızını ölçmek için iki yöntemin kullanılabilir olduğunu belirtmiştir. İlk yöntemde belirli sayıda yan hareketi (örn. 10–20) zamanlayıp ve ardından bu

sayıyı dakika başına nefese (bpm) dönüştürmeyi veya yan hareketlerini 15 saniye saydıktan sonra dört ile çarparak dakikada alınan solunum sayısının ölçülebileceğini belirtmiştir.

Oğlaklar hareketli ve meraklı canlılar olduğundan yanlış veri almamak için nabız ve solunum sayısı, stetoskop kullanılarak nabız sayısı sol bacak koltuk altından, solunum sayısı da sağ bacak koltuk altından 15 saniye dinlendi. Sayılan nabız ve solunum altta bulunan formül kullanılarak bir dakikadaki solunum ve nabız sayısı hesaplandı.

(15 saniyedeki nabız ve solunum sayısı x 4 = 1 dakikadaki nabız ve solunum değeri)

Gaughan vd. (2000) günün en sıcak saatlerinden iki – üç saat önce solunum hızlarının gözlenmesi gerektiğini önermiştir. Nabız ve solunum sayıları öğleden önce ve öğleden sonra olmak üzere günde iki defa alınmış ve gün ortalaması çıkarılmıştır.

Rektal ve solunum sayıları, ölüm oranının yüksek olduğu kritik dönem olan sütten kesim öncesi ve sıcaklığın en yüksek olduğu yaz ayında (Haziran ve Temmuz) ölçülmüştür.

Ortalama değer:

(Sabah + Akşam) /2=Günlük Değer

3.2.7. Rektal sıcaklık değeri

Rektal sıcaklığın belirlenmesinde dijital termometre kullanılmıştır. Dijital termometre kullanılarak oğlakların rektal bölgesinden termometrenin sabitlenmesi beklenerek sıcaklık değerleri alınmıştır.

3.2.8. Canlı ağırlık tartımı

Hayvanların haftalık olarak nabız ve solunum sayısı ile rektal sıcaklık gibi fizyolojik parametreleri alındıktan sonra bireysel olarak tartılarak canlı ağırlıkları belirlenmiştir.

3.2.9. Kan alımı

Oğlaklardan alınan kanlar ölüm oranının yüksek olduğu kritik dönem olan sütten kesim öncesi ve Temmuz ayında sıcaklığın en yüksek olduğu iki dönemde alınmıştır. Mevsim ortalamalarına (Nisan ve Temmuz aylarında) göre meteorolojik gündem takip edilerek, oğlaklardan Nisan, Temmuz aylarında her ayın 2. ve 4. haftalarında ortalama sıcaklık değerine sahip günde saat 11:00'da fakülte veteriner hekiminden yardım alınarak kan örnekleri alınmıştır.

Gen ekspresyonu kantitasyonunu için kan örnekleri hayvanların boyun toplardamarlarından (*vena jugularis*) EDTA'lı tüplere yaklaşık 5 ml olacak şekilde alınmıştır. Kanlar alındıktan sonra yarım saat içerisinde soğuk zincir ile Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı laboratuvarlarına götürülmüş ve gen ekspresyonları yapılmıştır.

3.2.10. Gen ekspresyonu

Keçilere uyguladığımız propolisin sıcaklık stresi üzerindeki etkilerini gen düzeyinde belirlemek amacıyla öncelikle EDTA'lı tüpe alınan tam kandan RNA izole edilmiştir. Ardından RNA'ya komplementer DNA sentezlenmiştir. Keçiye özgü HSP27, HSP70 ve β -aktin genlerine spesifik primerler kullanılarak gen ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Referans gen β -aktin ve HSP27 genine ait primerler Primer 3 programı kullanılarak tasarlanmıştır. HSP70 genine ait primer dizileri ise Dangi vd. (2012) çalışmasında belirttiği şekilde kullanılmıştır. Primerlerin keçiye özgü spesifiklikleri ve çalışmaya uygunluğu internet ortamındaki gen bankasından (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ve OligoAnalyzer™ Tool programları ile kontrol edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan keçi spesifik HSP27, HSP70 ve β -aktin genlerine ait bilgiler çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 4: Keçi spesifik HSP27, HSP70 ve β -aktin genlerine ait primer dizileri

Gen Bölgesi	Forward ve Revers Primer (5'→3')	Gen Erişim Numarası	Referans
HSP70	F 5'- GACGACGGCATCTTCAAG -3' R 5'- GTTCTGGCTGATGTCCTTC- 3'	NM_001285703.1	Dangi vd., 2012
HSP27 (HSPB1)	F 5'- TCACTCGCAAATACACGCTG-3' R 5'- AAGGTGACGGGAATGGTGAT-3'	XM_018040903.1	Primer 3 programı kullanılarak tasarlandı.
β-aktin	F 5'- AGTTCGCCATGGATGATGA -3' R 5'- TGCCGGAGCCGTTGT -3'	NM_001314342.1	Primer 3 programı kullanılarak tasarlandı.

3.2.11. Total RNA izolasyonu

Total RNA izolasyonu PCR için özel yapılmış kabinde gerçekleştirilmiş ve tek kullanımlık filtreli RNase free pipet uçları kullanılmıştır. Deneye başlamadan önce RNase enzimini inhibe etmek amacıyla RNase inhibitörü içeren özel bir solüsyon ile kabin temizlenmiştir. Total RNA izolasyonu tam kandan RNA izolasyon ticari kiti (RiboEX (GeneAll), Kore) kullanılarak aşağıda belirtilen protokole göre gerçekleştirilmiş ve elde edilen RNA'lar cDNA sentezine kadar -80°C'de saklanmıştır. Saflaştırılan RNA örneklerinin konsantrasyonu, mikroparka okuyucusunda (Multiskan™ FC Microplate Photometer, Thermo Fisher, Fillandiya) 260 nm dalga boyunda ölçülerek, µg/µl düzeyinde belirlenmiştir. qRT-PCR aşamasında sonuçların daha güvenilir olması için RNA kalitesini gösteren A260/280 oranı belirlenerek kalitesi uygun örnekler ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

RNA izolasyon protokolü aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Çalışılacak RNA'ları elde etmek için; 200 µl kan örneği üzerine 1 mL RiboEX eklenerek vortekslenmiştir.
2. Oda ısısında 5 dk inkübe edilmiştir.
3. Karışım 11.000 rpm, 10 dk, 4°C koşullarında santrifüj edildi ve süpernatant başka bir tüpe aktarılmıştır.
4. Karışım üzerine 200 µL kloroform eklendi karıştırıldı, 2 dk inkübe edilmiştir.
5. +4°C de 12.000×g'de 15 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant temiz bir tüpe alınmıştır.
6. Süpernatantın hacmi kadar kitin içerisinde çıkan RB1 tamponu eklenmiş, Pipetaj yapılarak karıştırılmıştır.
7. Karışımından 700 µL kolona aktarıldı ve ardından, 10.000×g'de 30 sn santrifüj edilmiştir. Toplama (Collection) tüp yenisi ile değiştirilmiştir.
9. Kolon üzerine 500 µL kitin içerisinde çıkan SW1 tamponu eklenerek 10.000×g de 30 sn santrifüj yapılmıştır. Collection tüp yenisi ile değiştirilmiştir.
11. Kolon üzerine 500 µL RNW tamponu eklenmiştir.
12. 10.000×g de 30 sn santrifüj yapılmıştır. Collection tüp yenisi ile değiştirilmiştir.
13. Kolon içinde kalan yıkama solüsyonlarını uzaklaştırmak için 10.000×g de 1 dk santrifüj yapılmıştır. Daha sonra kolon temiz bir tüpe alınmıştır.

14. Kolon üzerine 50 µL RNase-free su eklenmiş ve 1dk oda sıcaklığında bekletilmiştir.

15. Sonra 10.000×g de 1 dk santrifüj yapılarak elde edilen RNA örnekleri -80°C’de dondurulmuştur.

3.2.12. cDNA sentezi

RNA’nın stabil bir yapıya sahip olmamasından dolayı mRNA’lar ile analizlerin yapılması oldukça güçtür, bu nedenle revers transkriptaz enzimi ile komplementer DNA’ya (cDNA) dönüştürülerek analizlere devam edilmektedir. cDNA sentez kiti (ABT cDNA Synthesis Kit with Rnase Inhibitör, Türkiye) kullanılarak prosedürüne uygun olarak Light Cycler Nano Real Time PCR cihazında RNA örnekleri cDNA’ya dönüştürülmüştür.

RNA örnekleri 2 µg olacak şekilde DNaz/RNaz içermeyen su ile uygun seyreltmeleri yapılarak, eklenmiştir. Elde edilen cDNA örnekleri Real-Time PCR aşamasına kadar -20°C sıcaklıkta dondurulmuştur. cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon içeriği ve PCR koşulları tabloda özetlenmiştir (Çizelge 6 ve Çizelge 7).

Çizelge 5: cDNA sentezi için kullanılan reaksiyon içeriği

Bileşen	Hacim
10X Reaksiyon tamponu	2 µl
dNTP karışımı	1 µl
Random Hekzamer	2 µl
Revers Transkriptaz enzim (200 U/µl)	1 µl
RNase inhibitör	0.5 µl
RNase içermeyen su	3.5 µl
RNA örneği (2000 ng)	10 µl
TOTAL	20 µl

Çizelge 6: cDNA sentezi için kullanılan revers transkripsiyon reaksiyonunun koşulları

cDNA Sentez Reaksiyon Koşulları				
	Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4
Sıcaklık (°C)	25	37	85	8
Süre	10 dk	120 dk	5 dk	∞

3.2.13. Real-Time PCR

HSP27 ve HSP70 genlerinin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için her bir örnekten uygun seyreltmelerde hazırlanan 100 ng cDNA alınmıştır. cDNA'ların üzerine gen bölgelerine spesifik primerlerden 10 pmol/μL Primer F, 10 pmol/μL Primer R ve 10 μL SYBR Green qPCR Master mix (ABT SYBR Green Mastermix, Türkiye) ilave edilerek, son hacim 20 μL'ye RNaz/DNaz içermeyen steril su ile tamamlanmıştır (Çizelge 8). Her bir cDNA örneği üç kez test edildi ve eşik döngü değeri (cycle threshold, Ct) belirlenmiştir. Reaksiyon ortamında sudan bir girişim olmadığını ya da primer dimerinin meydana gelmediği belirleyebilmek amacıyla her gen bölgesi için negatif kontrol hazırlanmıştır. Ekspresyon için uygulanan sıcaklık ve süreler Çizelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 7: q-RT PCR reaksiyon içeriği

q-RT PCR İçin Kullanılan MasterMix Bilgileri	
MasterMix Bileşenleri	Hacim
2X MasterMix (with SYBR-Green)	10 μl
Forward Primer (10 μM)	1 μl
Reverse Primer (10 μM)	1 μl
Kalıp cDNA	5 μl
RNase içermeyen distile su	3 μl
TOPLAM	20 μl

Çizelge 8: q-RT PCR için kullanılan reaksiyon koşulları

q-RT PCR Reaksiyonu Koşulları			
PCR basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95	300 sn	1
Denaturasyon	95	15 sn	40
Bağlanma	60	30 sn	
Uzama	60	30 sn	

3.2.14. Gen ekspresyonunun rölatif kantitasyonunun hesaplanması

qRT-PCR sonucunda elde edilen Ct değerleri kullanılmadan önce melting point analizi gerçekleştirilmiştir. Melting point analizi ile herhangi bir girişim yapan unsurların olup olmadığı, örneklerde hedeflenen gen bölgesinin amplifikasyonun gerçekleştiği, primer dimeri oluşturup oluşturmadığı belirlenir. Bu nedenle her analiz sonucunda örneklerin uygun melting pointe sahip olduğu kontrol edilerek Ct değerleri hesaplamaya dahil edilmiştir. Kontrol ve deneme grubunun her alım için elde edilen Ct değerlerinin ortalaması alındı. RNA miktarlarının ve cDNA sentez aşamasında reaksiyon etkinliğinin farklı olmasından dolayı örneklerdeki başlangıç miktarlarının etkisini kaldırmak amacıyla herbir örnek ifade düzeyi etkilere rağmen değişmeyen referans gene göre normalize edilmiştir.

Gen ekspresyonunun rölatif kantitasyonunun hesaplanmasında hedeflenen genler için sonuçlar ise Pfaffl metodu kullanılarak $2^{-\Delta\Delta C_q}$ formülü ile ifade edilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001).

$$\Delta C_t (\text{deneme grubu/kontrol grubu}) = C_t (\text{hedef gen}) - C_t (\beta \text{ aktin})$$

$$2^{-\Delta\Delta C_t} = 2^{-\Delta C_t(\text{deneme grubu}) - \Delta C_t(\text{kontrol grubu})}$$

3.2.15. İstatistik analizi

Elde edilen bazı verilerin istatistiksel analizleri SPSS© 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Oğlaklarda alınan canlı ağırlık, rektal sıcaklık, solunum ve nabız sayılarının grup ortalamaları ve standart hata değerleri (Tanımlayıcı İstatistik) birlikte sunulmuştur. Kontrol ve

deneme grubunun ortalamaları arası farkın belirlenmesi için yaz ve kış ayları ayrı ayrı analize alınmış ve istatistiksel anlamda fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ile belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi en küçük karelerin ortalaması alınarak ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Sıcaklık ve nem değerleri aylara göre değiştiğinden mevsim etkisi kendi içinde değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Sıcaklık Nem İndeksi

İlkbahar (Nisan ve Mayıs) ve Yaz (Haziran ve Temmuz) aylarına ait sıcaklık ve ortalama nem değerleri Çizelge 9’da verilmiştir. Deneme sürecinde kaydedilen en düşük sıcaklık 10°C, en yüksek sıcaklık 40°C’dir. Deneme sürecinde havadaki en yüksek nem oranı %50, en düşük nem oranı da %38 olarak kaydedilmiştir. Sıcaklık ve nem indeksi hesaplandığında Nisan ayı değerinin Marai vd., (2007) belirttiği (25,6>aşırı şiddetli) en yüksek değerden daha yüksek bulunmuştur. Özellikle Temmuz ayında bu değer 35,08 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 9: Aydın ili 2022 yılı aylara göre en yüksek ve en düşük sıcaklık değerleri (°C) ve nem (%) değerleri ortalamaları

Sıcaklık değerleri (°C)	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz
En Yüksek Sıcaklık	30	38	38	40
En Düşük Sıcaklık	10	15	20	22
Ortalama Nem (%)	50	43	42	38
Sıcaklık Nem İndeksi	27,582	33,83	33,76	35,08

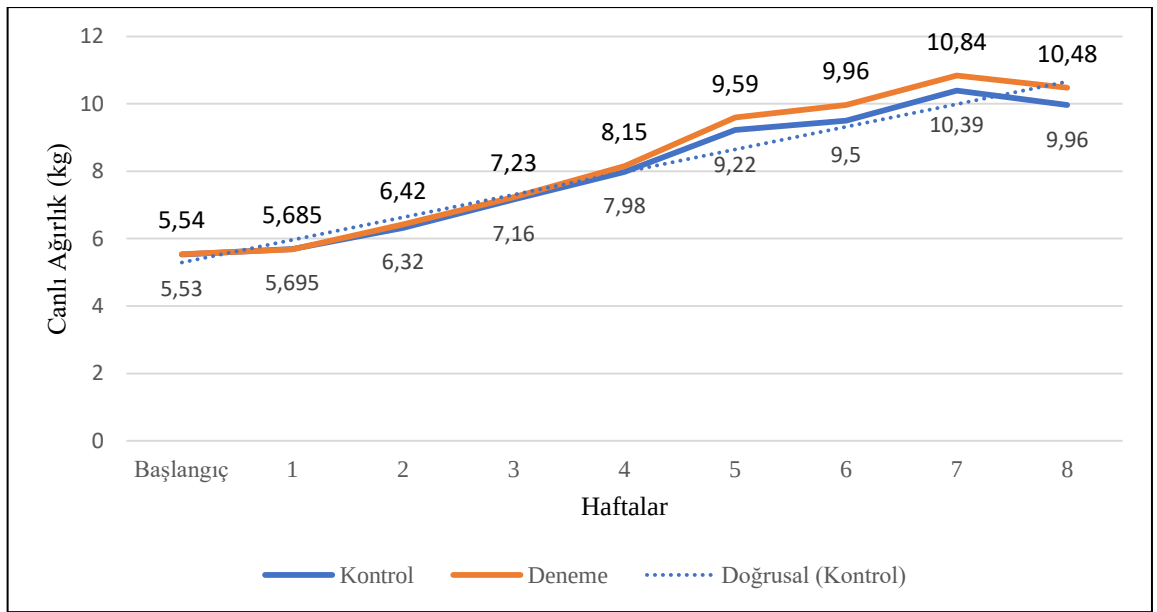
4.2. Canlı Ağırlık

İki grupta da haftalık canlı ağırlık tartımları yapılmıştır. Her iki gruba da eşit miktarda süt, kaba yem ve kesif yem verilmiştir. Haftalık ölçümler yapıldıktan sonra kalan yemler tartılmıştır. Haftalık olarak tartılan yemlerde iki grup arasında farklılıklar gözlemlenmemiştir. Denemenin başlangıcından iki hafta sonra, deneme grubundaki oğlakların, kontrol grubundaki oğlakların kıyasla daha fazla iştahlı olduğu görülmüştür. Deneme grubu süt emzirmesinden sonra fazla süt için çabalarken kontrol grubu doygunluk davranışı sergilemiştir. Grup içi ortalamalarına (Şekil 11, Şekil 12) bakıldığında her iki grupta eşit miktarda yem tüketimine rağmen deneme grubunun canlı ağırlık artışı kontrol grubuna göre daha fazladır.

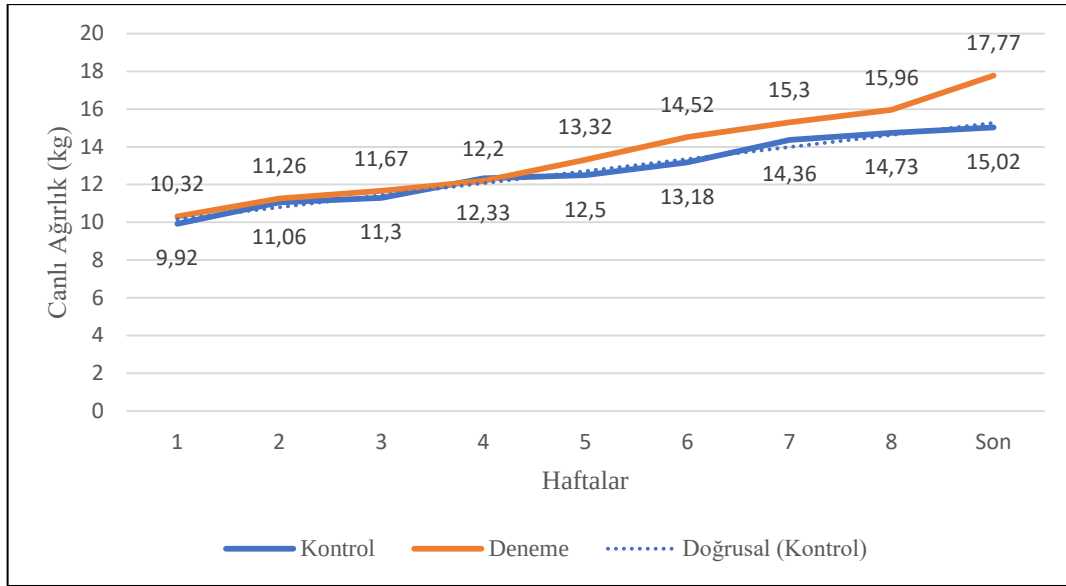
Kontrol grubu ilk tartımda 5,53 ±0.20 kg, 16. haftada 15,02 ±1.94 kg canlı ağırlık ortalamasına ulaşmıştır. Deneme sürecinde kontrol grubunda ortalama 9,49 kg canlı ağırlık

artışı olmuştur. Deneme grubu ilk tartımda $5,54 \pm 0,21$ kg, 16. haftada $17,78 \pm 0,88$ canlı ağırlık ortalamasına ulaşmıştır. Deneme grubunda ortalama 12,24 kg canlı ağırlık artışı olmuştur (Çizelge 10, Çizelge 11).

Gruplar arası canlı ağırlık kıyaslandığında yaz mevsimi 4. haftadan itibaren grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). Deneme grubu hava sıcaklığının arttığı yaz mevsiminde kontrol grubuna göre daha fazla kilo almış ve canlı ağırlığı daha fazla artırmıştır (Çizelge 11). Şekil 11 ve Şekil 12 incelendiğinde deneme ve kontrol grubunun canlı ağırlık artış eğrisi arasındaki farkın ilerleyen haftalarda değiştiği görülmektedir.



Şekil 11: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi canlı ağırlık ortalamaları



Şekil 12: Yaz mevsimi haftalık grup içi canlı ağırlık ortalamaları

Çizelge 10: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık canlı ağırlık (kg) değişimine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	5.53±0.20	5.54±0.21	10	Ö.D.
1	10	5.70±0.20	5.69±0.15	10	Ö.D.
2	10	6.32±0.18	6.42±0.14	10	Ö.D.
3	10	7.16±0.17	7.23±0.13	10	Ö.D.
4	10	7.98±0.25	8.15±0.20	10	Ö.D.
5	10	9.22±0.35	9.59±0.28	10	Ö.D.
6	10	9.50±0.40	9.96±0.43	10	Ö.D.
7	10	10.39±0.45	10.84±0.55	10	Ö.D.
8	10	9.96±0.53	10.48±0.53	10	Ö.D.

Ö.D.: Önemli Değil

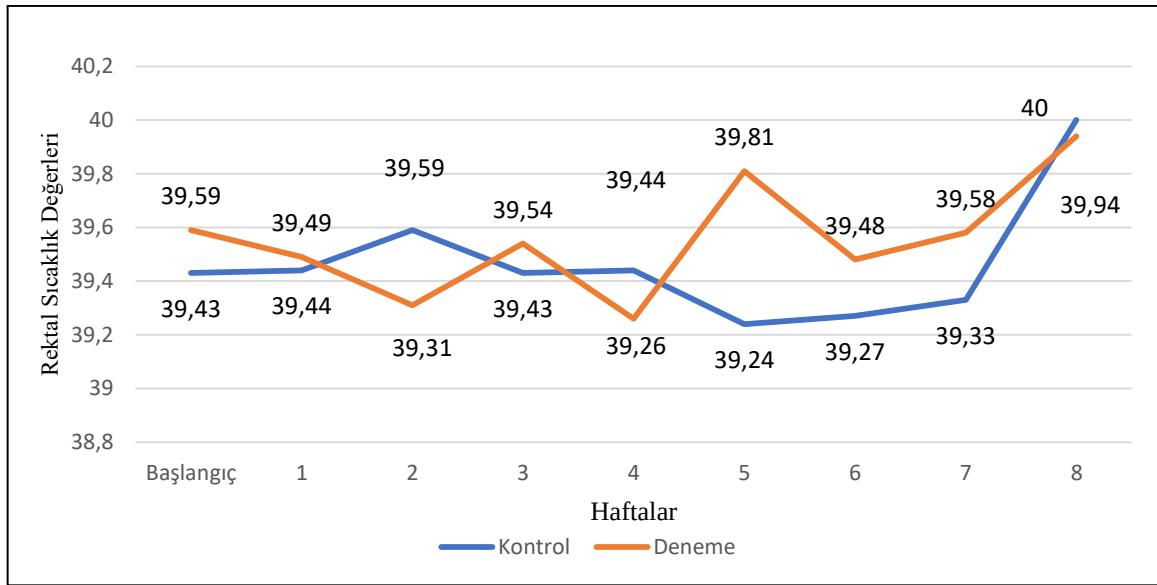
Çizelge 11: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık canlı ağırlık (kg) değişimine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	9.92±0.57	10.32±0.63	10	Ö.D.
1	10	11.07±0.68	11.26±0.68	10	Ö.D.
2	9	11.30±0.74	11.67±0.71	10	Ö.D.
3	9	12.33±1.18	12.20±0.64	10	Ö.D.
4	9	12.50±0.87	13.32±0.70	10	Ö.D.
5	9	13.19±0.79	14.52±0.58	10	*
6	9	14.36±0.52	15.30±0.58	10	*
7	8	14.74±0.55	15.97±0.58	9	*
8	8	15.02±1.94	17.78±0.88	9	*

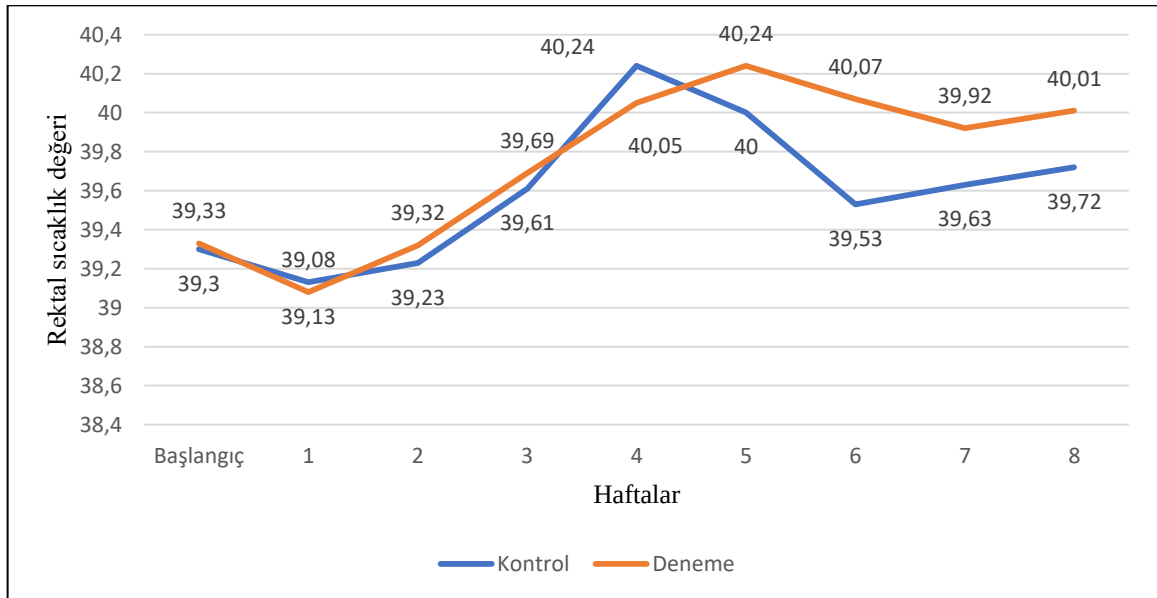
Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

4.3. Rektal Sıcaklık, Nabız ve Solunum Sayıları

Grup içi rektal sıcaklık değerleri ölçülüp kontrol ve deneme grubu karşılaştırıldı. Deneme grubunun rektal sıcaklık değeri genel olarak daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 13, Şekil 14). Gruplar arası rektal sıcaklık değerleri kıyaslandığında grup ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). İlkbahar mevsimi 2. haftada deneme grubunun rektal sıcaklık değeri kontrole göre düşüktür ancak ilkbahar mevsimi 3, 5, 6 ve 7. haftalarla birlikte Yaz mevsimi 6 ve 7. haftalarda deneme grubunun rektal sıcaklık değeri kontrol grubundan yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 13, Çizelge 14).

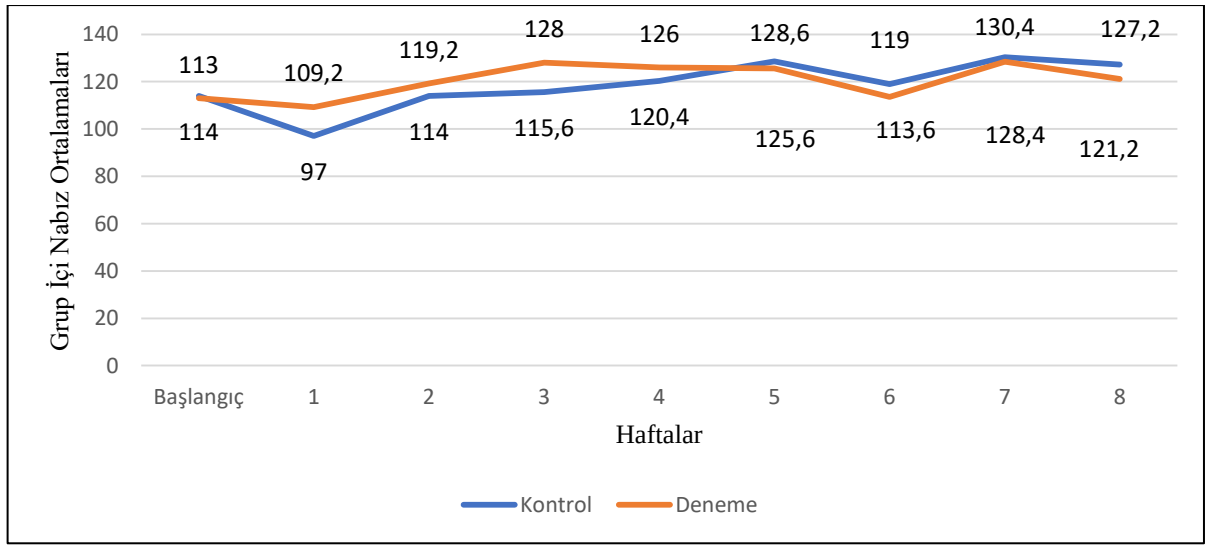


Şekil 13: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi rektal sıcaklık ortalamaları

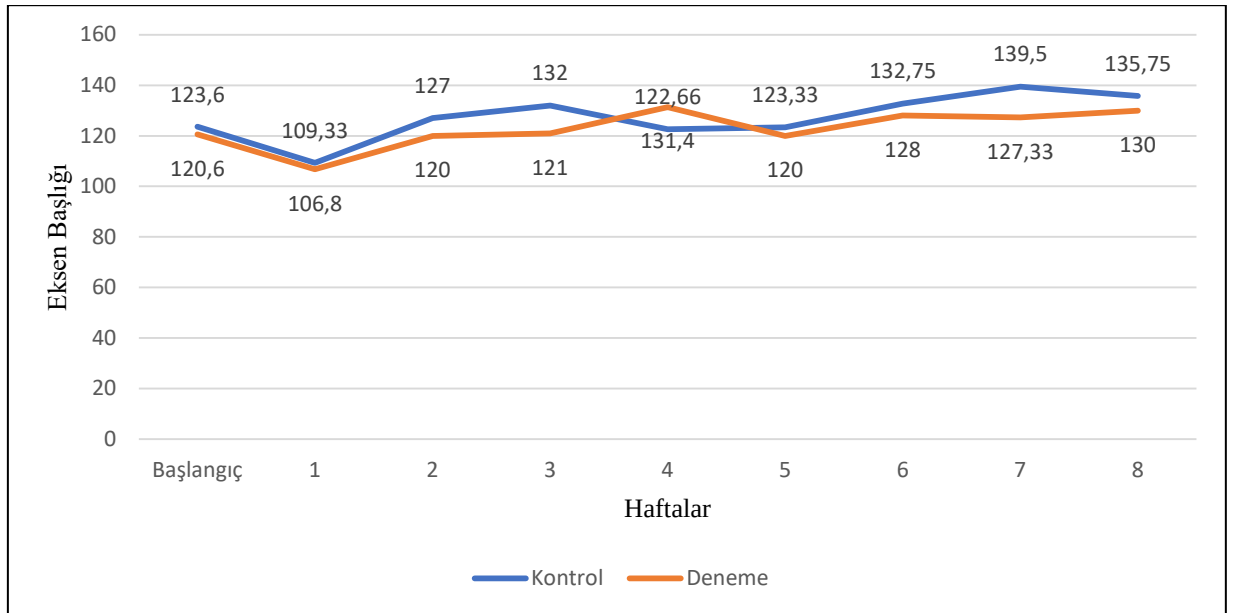


Şekil 14: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi rektal sıcaklık ortalamaları

Rektal sıcaklık değerleri deneme grubunda daha yüksektir ancak nabız sayısına bakıldığında deneme grubunun nabız sayıları kontrol grubuna göre daha az olduğu Şekil 15 ve Şekil 16'da görülmektedir. Gruplar arası nabız sayılarının ortalamaları kıyaslandığında ilkbahar mevsimi 1 ve 6. haftalarla birlikte yaz mevsimi 2, 3, 4, 7 ve 8. haftalarda grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Farkın önemli olduğu ilkbahar mevsimi 1. haftada ve yaz mevsimi 4. haftada deneme grubunun nabız sayıları kontrol grubunun nabız sayılarına göre daha yüksektir. Farkın önemli olduğu ilkbahar mevsimi 6. haftada ve yaz mevsimi 2, 3, 7 ve 8. haftada ise deneme grubunun nabız sayıları kontrol grubundan daha düşüktür (Çizelge 15, Çizelge 16).

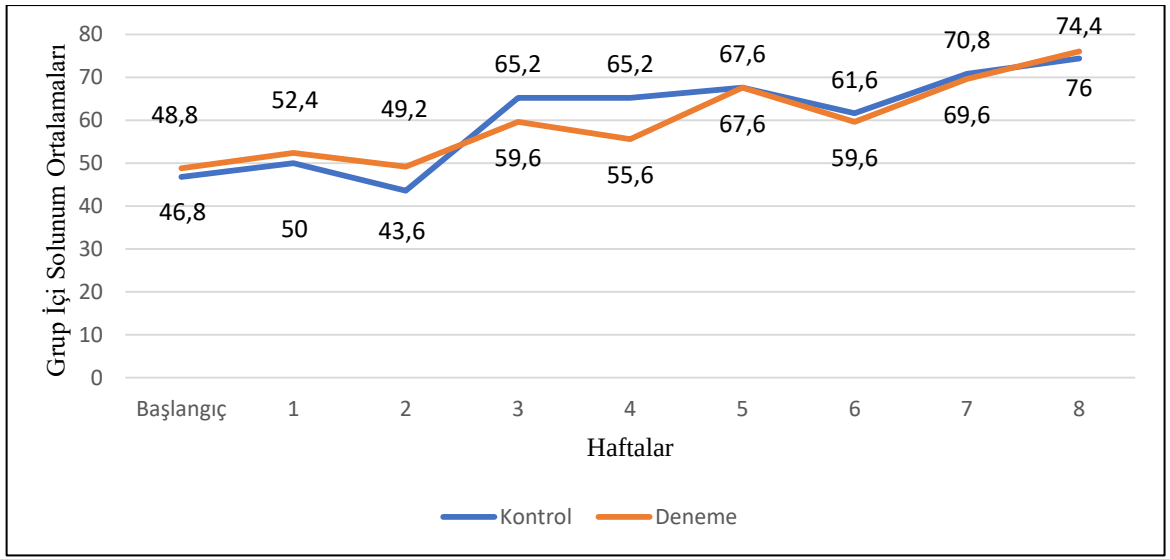


Şekil 15: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi nabız sayısı ortalamaları

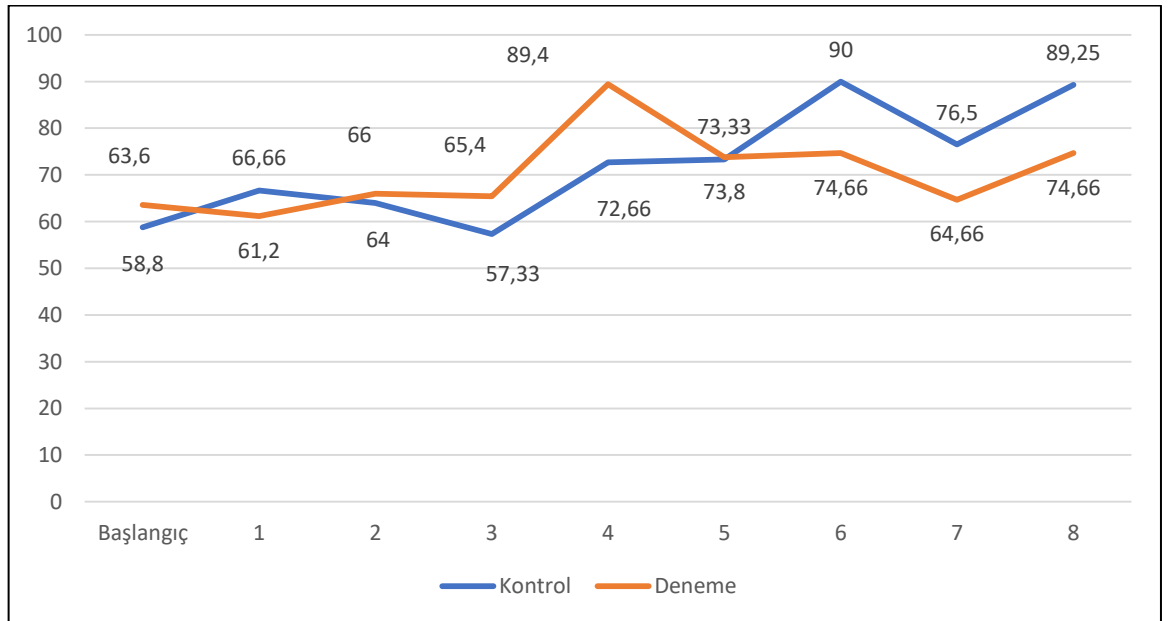


Şekil 16: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi nabız sayısı ortalamaları

Solunum sayılarının ortalamaları de nabız değerleri ile aynı sonuçları göstermiştir ve deneme grubunun dakikada solunum sayıları kontrol grubuna göre daha düşük kaydedilmiştir (Şekil 17 ve Şekil 18). Gruplar arası dakikadaki solunum sayıları kıyaslandığında ilkbahar mevsimi 2, 3, 4 ve 5. haftalarla birlikte yaz mevsimi 2, 4, 5, 7 ve 8. haftalarda grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Farkın önemli olduğu ilkbahar mevsimi 2. haftada ve yaz mevsimi 4 ve 5. haftalarda deneme grubunun solunum sayıları kontrol grubunun solunum sayılarına göre daha yüksektir. Farkın önemli olduğu ilkbahar mevsimi 3, 4 ve 5. haftalarla birlikte yaz mevsimi 2, 7 ve 8. haftalarda ise deneme grubunun nabız sayıları kontrol grubundan daha düşüktür (Çizelge 17, Çizelge 18).



Şekil 17: İlkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık grup içi solunum sayısı ortalamaları



Şekil 18: Yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık grup içi solunum sayısı ortalamaları

Çizelge 12: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık rektal sıcaklık değerine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	39.43±0.07	39.59±0.05	10	Ö.D.
1	10	39.44±0.11	39.49±0.05	10	Ö.D.
2	10	39.56±0.09	39.31±0.10	10	*
3	10	39.43±0.08	39.54±0.05	10	*
4	10	39.44±0.12	39.26±0.14	10	Ö.D.
5	10	39.24±0.08	39.81±0.07	10	*
6	10	39.27±0.06	39.48±0.10	10	*
7	10	39.33±0.12	39.58±0.10	10	*
8	10	40±0.12	39.94±0.08	10	Ö.D.

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

Çizelge 13: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık rektal sıcaklık değerine ait en küçük kareler ortalamaları ile standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	39.30±0.18	39.33±0.10	10	Ö.D.
1	10	39.13±0.10	39.08±0.09	10	Ö.D.
2	9	39.23±0.09	39.32±0.22	10	Ö.D.
3	9	39.61±0.08	39.68±0.15	10	Ö.D.
4	9	40.24±0.21	40.05±0.09	10	Ö.D.
5	9	40±0.19	40.24±0.14	10	Ö.D.
6	9	39.53±0.09	40.07±0.15	10	*
7	8	39.63±0.04	39.92±0.03	9	*
8	8	39.72±0.03	40.01±0.20	9	Ö.D.

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

Çizelge 14: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık nabız sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	114±4.67	113±5.57	10	Ö.D.
1	10	97±10.46	109.20±4.30	10	*
2	10	114±4.77	119.20±4.61	10	Ö.D.
3	10	115.60±4.27	120.80±5.45	10	Ö.D.
4	10	120.40±6.15	126±4.70	10	Ö.D.
5	10	128.60±5.43	125.60±4.50	10	Ö.D.
6	10	119±5.58	113.60±4.30	10	*
7	10	130.40±5.15	128.40±4.30	10	Ö.D.
8	10	127.20±3.87	121.20±4.71	10	Ö.D.

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

Çizelge 15: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık nabız sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	123.60±5.67	120.60±5.32	10	Ö.D.
1	10	109.33±4.33	106.80±4.07	10	Ö.D.
2	9	127.11±3.59	120±5.36	10	*
3	9	132.66±5.42	121.20±4.88	10	*
4	9	122.66±2.26	131.40±3.51	10	*
5	9	123.33±2.02	120±4.28	10	Ö.D.
6	9	132.75±4.15	128±3.46	10	Ö.D.
7	8	139.50±5.75	127.33±5.63	9	*
8	8	135.75±4.07	130±4.00	9	*

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

Çizelge 16: Oğlakların ilkbahar mevsimi (Nisan-Mayıs) haftalık ortalama solunum sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	46.80±3.37	48.80±3.08	10	Ö.D.
1	10	50±2.74	52.40±2.56	10	Ö.D.
2	10	43.60±2.26	49.20±3.72	10	*
3	10	65.20±2.06	59.60±2.76	10	*
4	10	65.20±2.98	59.60±2.76	10	*
5	10	65.20±2.98	55.60±3.34	10	*
6	10	67.60±3.69	67.60±3.93	10	Ö.D.
7	10	61.40±3.65	59.60±2.76	10	Ö.D.
8	10	70.80±8.38	69.60±4.66	10	Ö.D.

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

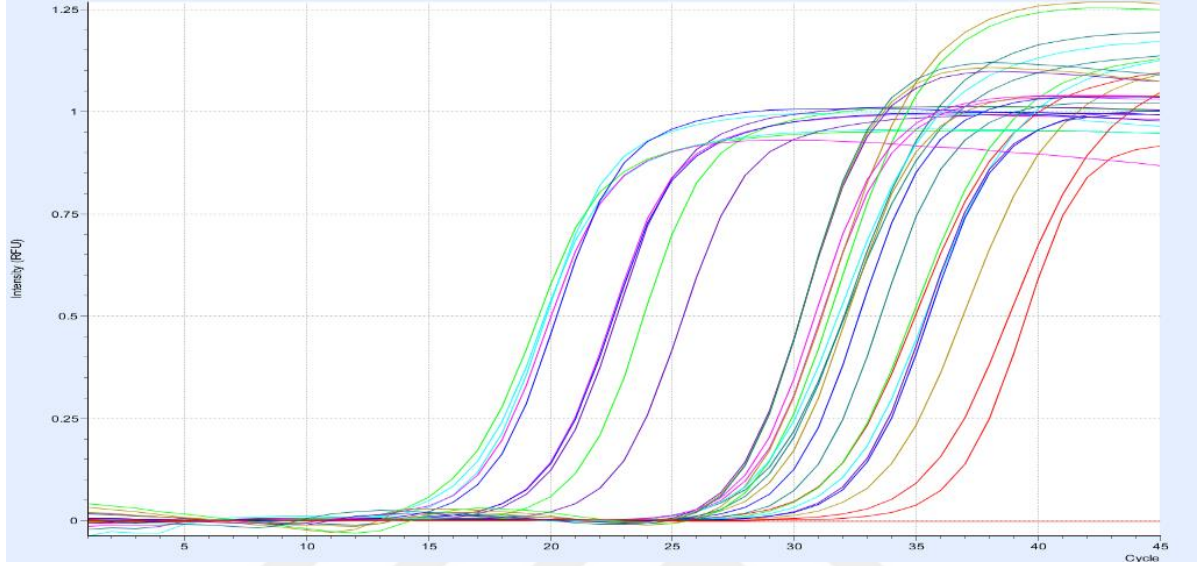
Çizelge 17: Oğlakların yaz mevsimi (Haziran-Temmuz) haftalık ortalama solunum sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

Haftalar	n	Kontrol grubu	Deneme grubu	n	p (p<0.05)
Başlangıç	10	74.40±4.83	76±3.98	10	Ö.D.
1	10	58.80±5.35	63.60±3.60	10	Ö.D.
2	9	66.66±2.53	61.20±2.49	10	*
3	9	64±5.65	66±4.47	10	Ö.D.
4	9	57.33±4.59	65.40±2.60	10	*
5	9	72.66±4.84	89.40±5.89	10	*
6	9	73.33±3.43	74.66±3.17	10	Ö.D.
7	8	76.50±4.64	64.66±4.09	9	*
8	8	89.25±4.99	74.66±3.62	9	*

Ö.D.: Önemli Değil, *: Önemli (p<0.05)

4.4. Genlerin Kantitatif Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

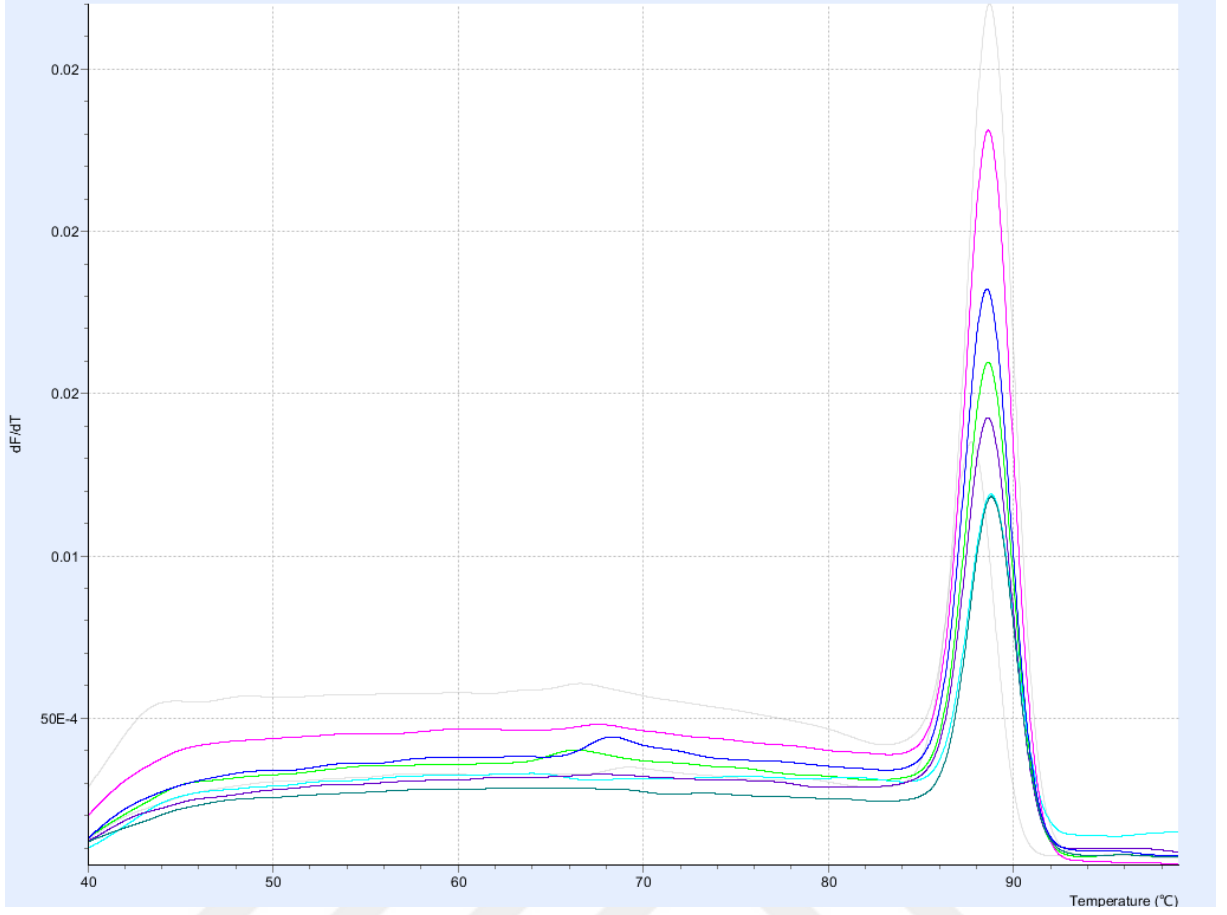
Propolis verilen oğlaklar ile kontrol grubunun HSP27 ve HSP70 genlerinin ekspresyon düzeyleri qRT-PCR ile belirlenmiştir (Şekil 10). Analiz sonucu elde edilen Ct değerleri ile gruplar arası gen ekspresyonları karşılaştırılarak kat değişimleri ($2^{-\Delta\Delta CT}$) hesaplanmıştır.



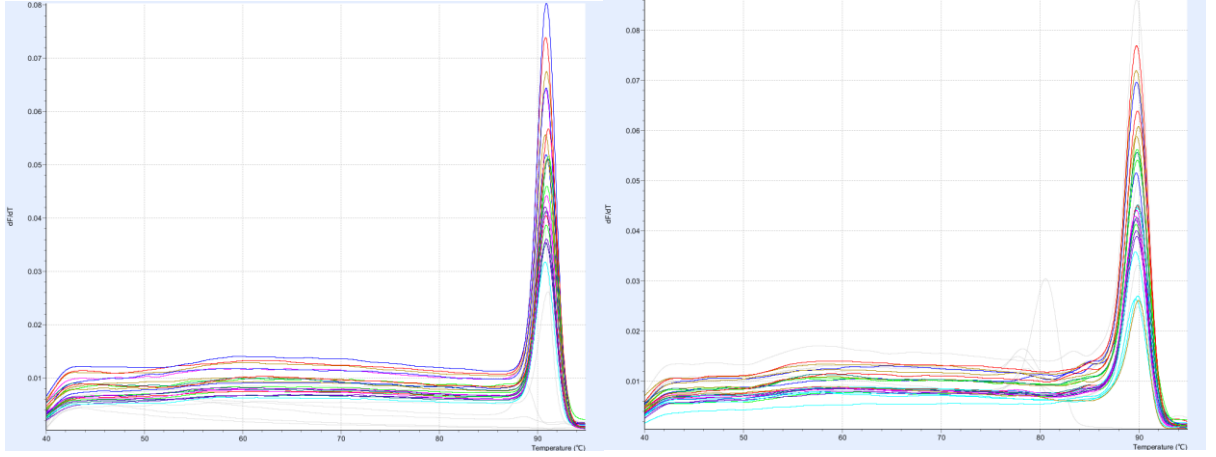
Şekil 19: Genlerin qRT-PCR analizinin amplifikasyon eğrileri (yatay ekseninde genlerin Real Time PCR tepkimesindeki Ct değerleri, dikey ekseninde de floresan sinyaller yer almaktadır).

4.5. Melting Point Analizi

qRT-PCR analizi sonucunda elde edilen Ct değerlerinin hedeflenen bölgeye aitliği melting point analizi ile belirlendi. Melting point analizinde aynı yerde piklerin oluşması her örnekte aynı bölgenin çoğaltıldığını, hedef bölgenin dışında istenmeyen amplifikasyonların veya primer dimerinin gerçekleşmediğini göstermektedir. Bu nedenle her örnek için qRT-PCR analizleri sonunda β -aktin, HSP27 ve HSP70 gen bölgeleri için melting point analizi gerçekleştirildi (Şekil 20, 21, 22). Piklerin boyutlarında oluşan değişimler ise örneklerde hedeflenen genin ekspresyon düzeyine göre değişmektedir.



Şekil 20: qRT-PCR analizi sonrası β -aktin genine ait melting point (Tm) grafiği



Şekil 21: mRNA ekspresyonlarının belirlenmesinde qRT-PCR analizi sonrası HSP 27 melting point (Tm) grafiği

Şekil 22: mRNA ekspresyonlarının belirlenmesinde qRT-PCR analizi sonrası HSP 70 melting point (Tm) grafiği

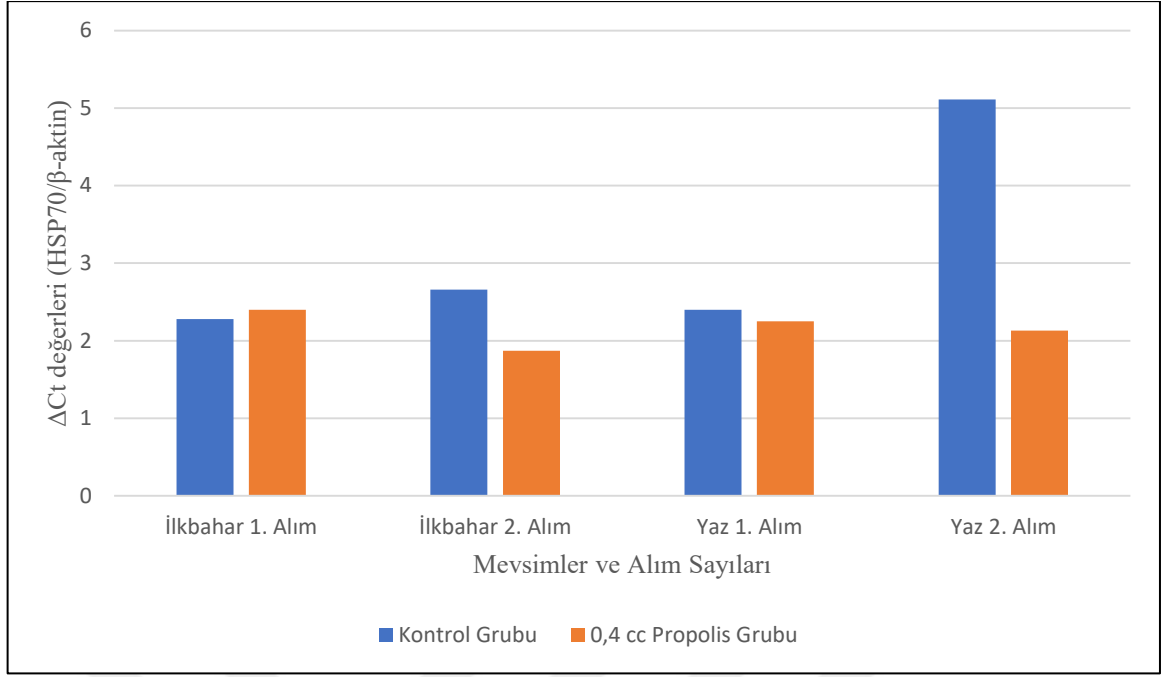
4.6. HSP70 Geni Ekspresyon Düzeyleri

Oğlaklara verilen 0,4 cc propolisin HSP70 geninin ekspresyon düzeyi üzerine etkisini kontrol etmek amacıyla ilkbahar ve yaz mevsimlerin 2'şer alım gerçekleştirilmiştir. Aktine göre normalize edilen değerler incelendiğinde kontrol grubunda HSP70 geninin ilkbahar alımlarında sırasıyla 2,28 ve 2,66 kat ifade düzeyi değişti, yaz alımlarında ise bu değişimin sırasıyla 2,4 ve 5,11 kat olduğu belirlenmiştir. Deneme grubunda ise HSP70 geninin ifade düzeyi aktine göre normalize edildiğinde ilkbahar alımlarında sırasıyla 2,4 ve 1,87 kat, yaz alımlarında ise 2,25 ve 2,13 kat bulunmuştur.

Deneme grubu, kontrol grubuna kıyaslandığında ise ilkbahar döneminin 1. alımda 1,05 kat, ilkbahar döneminin 2. alımda 0,70 kat değişim göstermiştir. Gen ifadesindeki bu farklılık anlamsız kabul edildi. İlkbahar döneminde alımlar sırasında hava sıcaklığındaki değişimi ortalama olarak 5 derece fark etmektedir. Bu sıcaklık farkı dikkate alındığında kontrol grubunda HSP70 ekspresyon düzeyinde anlamlı bir değişim görülmedi. Fakat propolis verilen grupta HSP70 ekspresyon düzeyinde anlamlı olmasa da bir azalış elde edildi. Yaz dönemi sonuçları dikkate alındığında deneme grubu, kontrol grubuna kıyaslandığında 1. alımda 0,93 kat, ilkbahar döneminin 2. alımda 0,41 kat değişim gösterdi. Yaz döneminde iki alım arasında kontrol grubunda ekspresyon düzeyinde yaklaşık 2,13 artış tespit edildi. Deneme grubunda ise yaz dönemindeki alım arasında herhangi bir değişim elde edilmemiştir.

Çizelge 18: İlkbahar ve yaz mevsimlerinde kontrol ve deneme grubu HSP70 geninin normalize edilmiş düzeyleri

HSP70	Kontrol grubu kat değişimi	Deneme grubu kat değişimi
İlkbahar 1. Alım	2,28	2,4
İlkbahar 2. Alım	2,66	1,87
Yaz 1. Alım	2,4	2,25
Yaz 2. Alım	5,11	2,13



Şekil 23: Hsp70 geninin normalize edilmiş ekspresyon düzeyleri- ΔCt değerleri (HSP70/ β -aktin)

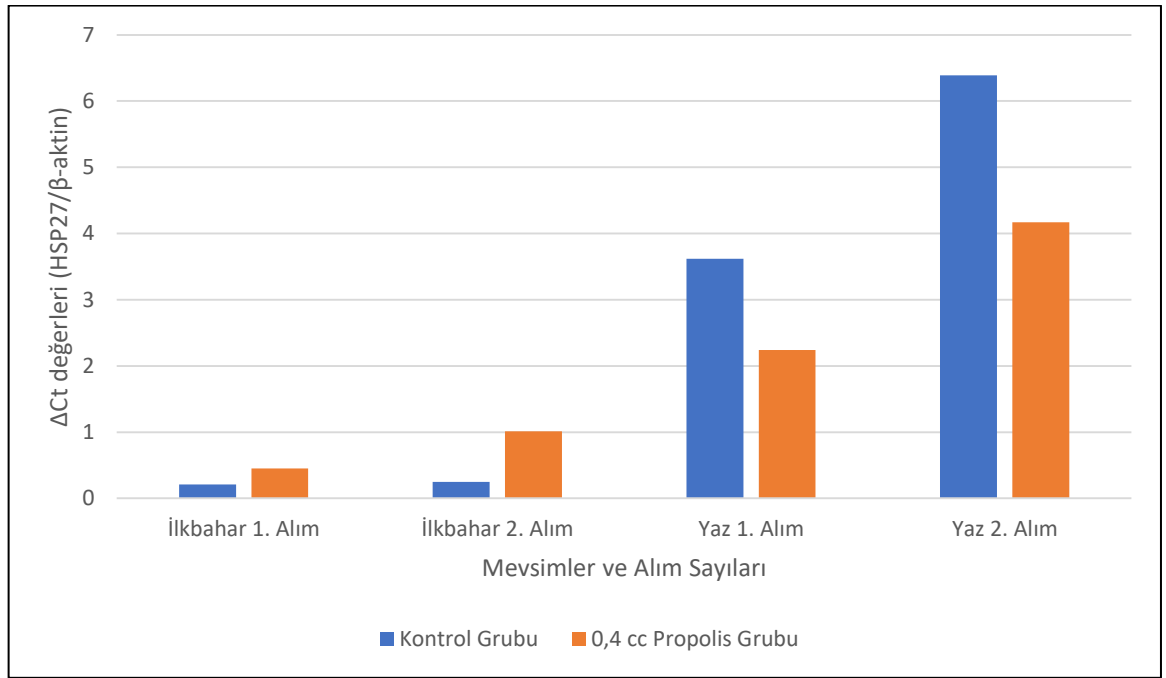
4.7. HSP27 Geni Ekspresyon Düzeyleri

Oğlaklara verilen 0,4 cc propolisin HSP27 geninin ekspresyon düzeyi üzerine etkisini kontrol etmek amacıyla ilkbahar ve yaz mevsimlerin 2'ser alım gerçekleştirilmiştir. Aktine göre normalize edilen değerler incelendiğinde kontrol grubunda HSP27 geninin ilkbahar alımlarında sırasıyla 0,21 ve 0,25 kat ifade düzeyinin değişti, yaz alımlarında ise bu değişimin sırasıyla 3,62 ve 6,39 kat olduğu belirlenmiştir. Deneme grubunda ise HSP27 geninin ifade düzeyi aktine göre normalize edildiğinde ilkbahar alımlarında sırasıyla 0,45 ve 1,01 kat, yaz alımlarında ise 2,24 ve 4,17 kat bulunmuştur.

Deneme grubu, kontrol grubuna kıyaslandığında ise ilkbahar döneminin 1. alımda 1,8 kat, ilkbahar döneminin 2. alımda 4,04 kat değişim göstermiştir. İlkbahar döneminde alımlar sırasında hava sıcaklığındaki değişimi ortalama olarak 5 derece fark etmektedir. Bu sıcaklık farkı dikkate alındığında kontrol grubunda HSP27 ekspresyon düzeyinde sıcaklığa bağlı artış görülmektedir. Fakat deneme grubunda HSP27 ekspresyon düzeyinde kontrol grubundan farklı bir artış gözlenmektedir. Yaz dönemi sonuçları dikkate alındığında deneme grubu, kontrol grubuna kıyaslandığında 1. alımda 1,8 kat, ilkbahar döneminin 2. alımda 4,04 kat değişim gösterdi. Yaz döneminde iki alım arasında kontrol grubunda ekspresyon düzeyinde yaklaşık 0,62 kat azalış tespit edildi (Çizelge 10).

Çizelge 19: Kontrol ve Deneme grubu HSP27 geninin ilkbahar ve yaz mevsimlerinde kat değişimleri

HSP27	Kontrol grubu kat değişimi	Deneme grubu kat değişimi
İlkbahar 1. Alım	0,21	0,45
İlkbahar 2. Alım	0,25	1,01
Yaz 1. Alım	3,62	2,24
Yaz 2. Alım	6,39	4,17



Şekil 24: HSP27 geninin normalize edilmiş ekspresyon düzeyleri- ΔCt değerleri (HSP70/β-aktin)

5. TARTIŞMA

Özelikle bu çalışmada oğlak ölümlerinin yoğunlaştığı, doğumdan 10 gün sonraki süreç ile süttten kesime kadar olan sürede sıcaklık stresine karşı oğlakların korunması, sıcaklık stresi nedeniyle, beslenme, oğlak büyüme ve gelişimlerinin olumsuz etkilenmesini önlenerek, oğlak kayıplarının azaltılmasına yönelik, propolis takviyesinin olumlu etkisinin olup olmayacağı araştırılmak istenmiştir. Oğlaklarda sıcaklık stresine karşı propolisin kullanımının hücresel düzeydeki etkisi ve sıcaklık stresine karşı fizyolojik yanıtına yönelik az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada bulunan canlı ağırlık, rektal sıcaklık değeri, nabız ve solunum sayıları, HSP27 ve HSP70 ekspresyon değerleri daha önce yapılmış çalışmalar ile karşılaştırılmıştır.

5.1. Canlı Ağırlık

Yapılan çalışmalara bakıldığında propolisin ruminantlarda canlı ağırlık üzerine olumlu etkilerinin olduğu görülmektedir (Gubicza ve Molnar, 1987; İtavo vd., 2011; Morsy vd., 2011; Sadek vd., 2020). Manav ve Yılmaz (2023) çalışmalarında, oğlak yetiştiriciliğinde inek sütüne peynir altı suyu tozu ve propolis katılarak keçi sütüne alternatif, daha ekonomik ve daha sağlıklı mama ya da süt ikame yemi elde etmeyi amaçlamıştır. Çalışmalarında propolisin ishale karşı etkili olduğu görülmüş ve oğlak yetiştirmede süt ikame yemleri ve mamalara katılarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Badawy (2021) geç gebelik döneminde 3-4 yaşlarında dişi Abu-duleik koyunlarını ve onlardan doğan kuzuları, gebeliğin son döneminde ve doğum sonrası dönemde iki farklı seviye propolis takviyesinin beslenme ve üretkenlik performansı üzerindeki etkisini incelemek üzere seçmiştir. Çalışma sonucunda propolis uygulamaları, tüm besinlerin sindirilebilirliğinde önemli artışlara yol açtığını bildirmiştir. Propolis, pH, amonyak-N ve uçucu yağ asitleri konsantrasyonlarında önemli düzeyde azalma ($p<0.05$) ruminal durumu iyileştirmiştir. Çalışmamızla benzer olarak propolis takviyesi yapılan gruplara ait kuzular, kontrol grubuna ait kuzulara kıyasla ortalama günlük canlı ağırlık, toplam canlı ağırlıkta önemli ($p<0.05$) artış kaydetmiştir. Genel olarak propolisin, kurak alan mera koşullarında, hamile koyunların ve onların kuzularının beslenme ve üretkenlik performansının yanı sıra, ekonomik etkinliği de iyileştirdiğini belirtmiştir.

Koyunlarda yapılan başka bir çalışmada doğumdan 21 gün sonra Brezilya kırmızı propolis özü (3 g/hayvan/gün) takviyesi yapılan Santa Ines koyunlarının, sütteki yağ, laktoz, protein verimi artmış, sütü önemli ölçüde artırırken somatik hücre sayısını azalttığını belirtmişlerdir. Sonuçlarımızla benzer şekilde propolis verilen grupta canlı ağırlık artışı gözlemlenmiştir (Morsy vd., 2016). Shedeed vd. (2019) propolisin sıcaklık stresine maruz kalan koyunlar ve kuzular üzerindeki etkilerini araştırmış ve propolis takviyesinin büyüme hızlarını, besin sindirilebilirliklerini ve bağışıklık tepkilerini iyileştirdiğini bildirmiştir. Takviye edilmiş propolisin, kurak koşullarda sıcaklık stresi altındaki Barki koyun ve kuzularının oksidatif stresi azalttığını ve antioksidan kapasitesini ve bağışıklık tepkisini geliştirdiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da propolis, oğlakların sıcaklık stresi yanıtını iyileştirmiş ve canlı ağırlık artışını olumlu etkilemiştir. Benzer şekilde Abdlaez ve Saleh (2016) propolis takviyesinin sıcaklık stresine maruz kalan İvesi kuzularının büyüme hızını, besin kullanım etkinliğini ve antioksidan durumunu iyileştirdiğini bildirmiştir.

Propolis takviyesi, kuzuların kanındaki malondialdehit (MDA) ve ROS (Reactive Oxygen Types- Reaktif Oksijen Türleri) gibi oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerini azaltmış ve SOD ve GPx (Glutathione Peroxidase- Glutasyon Peroksidaz) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini ve ayrıca TAC (Total Antioxidant Capacity- Toplam Antioksidan Kapasite) gibi konsantrasyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Propolis oksidatif durum ve HDL (high density lipoprotein- yüksek yoğunluklu lipoprotein) iyileştirme üzerindeki etkilerinin yanında, kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılmasına, enzimatik parametrelerin geri yüklenmesine ve reaktif oksijen türleri üzerinde güçlü nötralize etme etkisine sahip olan bir katkı maddesi olarak alternatif takviye olarak önerilmektedir (Mujica vd. 2017).

Buzağılarda yapılmış bir çalışmada, propolisin buzağların büyüme performansı ve yenidoğan ishali üzerindeki etkilerini belirlemek amaçlanmıştır. Çalışmada kontrol ve propolis uygulama grubundan 20 adet Holstein buzağı olmak üzere toplam beş dişi ve beş erkek buzağı kullanılmışlardır. 35 gün süren çalışma sonuçlarına göre kontrol ve propolis gruplarında dişilerin günlük kilo alımı 312,8 g/gün ve 392,83 g/gün, her iki gruptaki erkeklerin günlük kilo artışı 458.31 gr/gün ve 470.50 gr/gün olarak bulmuşlardır. Dişilerde günlük kilo alımının anlamlı olduğunu ($p < 0.05$), dişilerin kontrol ve propolis grupları arasında hem vücut hem de cıdago parametrelerinde önemli farklılıklar elde etmişlerdir ($p < 0.05$). Propolis uygulama grubunda neonatal diyare görülmediği de sonuçlar arasında belirtilmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, propolis uygulamasının buzağların büyümesi üzerindeki etkisinin önemli olduğunu göstermişlerdir (Yücel vd., 2015).

Mohamed vd. (2018) etlik piliçlerde 6 hafta boyunca 0, 1, 2 ve 3 mg/kg oranında propolis ile desteklenmiş 4 gruptan oluşan bir çalışma gerçekleştirmiştir. Sonuçlar, propolisli kuş yemlerinin deney sırasında canlı ağırlığını arttırdığını ($p<0.05$), yem alımını azalttığını ve yem verimini iyileştirdiğini göstermiştir.

Yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde çalışmamızda benzer sonuçlar görülmüş, kontrol ve propolis verilen deneme grubu aynı miktarda yem tüketmelerine rağmen propolis verilen deneme grubunda yemden yararlanma oranlarının yükseldiği ve canlı ağırlık artışının daha yüksek olduğu görülmüştür. Propolis oğlaklarda yemden yararlanma oranını olumlu etkilemiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, oğlaklara propolis takviyesinin, sıcaklık stresinden kaynaklı iştahsızlığın önlenmesi ve yemden yararlanma oranının artışı için kullanılabilir bir ürün olduğu söylenebilir.

5.2. Rektal Sıcaklık, Nabız ve Solunum Sayısı

Sıcaklık mücadelesinin keçilerin rumen fermantasyonu, kan parametreleri ve büyüme performansı üzerinde olumsuz etkileri vardır. Cai vd. (2019) yaptıkları çalışmada Çin melez keçilerinin ruminal, kan ve fizyolojik parametrelerinin yanı sıra büyüme performansı üzerindeki ısı zorlamasının etkilerini değerlendirmişlerdir. Sıcaklık stresi altındaki keçilerin, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek cilt sıcaklıkları, nabız hızları ve solunum hızları sergilediklerini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, sıcaklık stresinin keçiler üzerindeki etkisinin sistemik olduğunu göstermişlerdir. Keçi yetiştiriciliği uygulamalarında sıcaklık stresinin olumsuz etkileri göz ardı edilmemesi gerektiğini vurgulamışlardır. Çalışmamızda sıcaklık stresindeki oğlaklara propolis takviyesin sistemik ve fizyolojik yanıtı iyileştirdiği görülmüştür.

Abdel Hady vd. (2019) mevsimsel değişikliklerin bazı termoregülasyon ve kan parametreleri üzerindeki etkisini, on erkek keçide (beş Zarabi ve beş Damascene) incelemişlerdir. Her mevsimin orta ayı boyunca rektal ısı, nabız ve solunum hızları çalışmamızdan farklı olarak günde üç kez, saat 7:00, 12:00 ve 19:00'da saymışlardır. Sonuçlar doğrultusunda, yıl içerisinde mevsim değişiminin, Damascene ve Zraibi keçilerinin erkeklerinde tahmin edilen termoregülasyon parametrelerini ve eritrosit indekslerini önemli ölçüde etkilediğini belirtmişlerdir.

Fadare vd. (2012) yağışlı mevsimden kurak mevsime kadar koyunların fizyolojik ve kan parametrelerindeki değişiklikleri kontrol etmiş ve sadece rektal sıcaklık, solunum hızı ve nabız hızında değil, aynı zamanda kırmızı ve beyaz kan hücresi sayımlarında, plazma

sodyumunda (Na) ve plazma potasyumu (K +), tümü yaz aylarında sıcaklık stresine maruz kalan hayvanların değişimlerini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, hayvanların sıcaklık stresine maruz kalmasının, yem alımında azalma, su, protein, enerji ve mineral dengelerinde bozulmalar, enzimatik reaksiyonlar, hormonal salgılar ve kan metabolizması dahil olmak üzere biyolojik fonksiyonlarda bir dizi şiddetli değişikliği tetiklediğini öne sürmüşlerdir.

Bulduğumuz coğrafyaya benzerlik gösteren Brezilya'nın yarı kurak bir bölgesinde üreme için hangi koyun genetik kaynaklarının en uygun olduğunu belirlemek için Correa vd. (2013) fiziksel, fizyolojik ve üretken özellikleri içeren bir analiz gerçekleştirmiştir. Grupları ayırmada deri ve yün özelliklerinin önemli olduğunu gözlemlemişlerdir. Daha kalın ve daha yoğun yünleri olan hayvanların, ısıyı serbest bırakmakta daha fazla güçlük çektiklerini ve daha yüksek korpüsküler hemoglobin ve daha düşük eritrositler gösterdiğini, bunun da streslerinin fazla olduğunu belirtmişlerdir. Aydın bölgesinin iklimine bakıldığında Saanen keçilerinin deri yapısı, yün kalınlığı ve yün sıklığının bölgeye adapte olmasında avantaj sağlamaktadır.

Ghizzi vd. (2018) çalışmalarında, sıcaklık stresi altındaki süt ineklerinin besin alımı ve toplam sistem sindirimi, rumen fermentasyonu, kandaki glikoz ve üre konsantrasyonları, kalp hızı, rektal sıcaklık ve süt verimi ve bileşimi üzerindeki FY (fonksiyonel yağların) ve MON (monensin) karışımının etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Çalışma sonuçlarına göre hem MON hem de FY, serum glukoz seviyelerini etkilemeden serum üre konsantrasyonunu arttırmıştır ($p = 0.006$). Yaptığımız çalışmada, propolis, sıcak stresindeki fizyolojik tepkileri iyileştirmiştir ancak uygulamalarındaki maddelerin kalp hızı, solunum hızı ve rektal sıcaklık üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Çalışmalarında uyguladıkları bileşimlerin vücut ısısını azaltabileceğine dair kanıt göstermemişlerdir ancak FY, kuru madde alımını ve sıcaklık stresi altındaki ineklerin süt verimini etkilemeden süt yağı konsantrasyonunu korumak için diyetlerde MON'un yerini alabileceğini önermişlerdir.

Yapılan diğer çalışmalardan da anlaşılabileceği üzere sıcaklık stresinin hayvanlarda olumsuz etkilerinin fazla olduğu görülmektedir. Hayvan yetiştiricileri ve araştırmacılar stres ile mücadelede farklı ajanların etkisine odaklanmışlardır. Örneğin, tesis modifikasyonu (gölgeleme, fiskekiler ve evaporatif soğutma hizmetlerinin sağlanması), sürü genetiğindeki değişiklikler ve *Bos indicus* etkisine sahip ırkların seçilmesi gelişmiş ülkelerde tercih edilirken, gelişmekte olan ülkelerde daha çok sığır üretiminden küçük geviş getiren bir hayvana geçişin tercih edildiği belirtilmiştir (Zhang vd., 2017). Bunun nedeni, yerel koyun ve keçi ırklarının sığırlara kıyasla ısıya nispeten dayanıklı adaptif kapasiteleri, küçük boyutları,

marjinal arazilerde daha iyi yiyecek arama yetenekleri ve üretim birimi başına daha düşük maliyetleri gösterilmektedir. Ek olarak, koyun ve keçiler zorlu ortamlara ve aşırı beslenmeye daha iyi uyum sağlar ve endemik hastalıklara karşı toleranslıdır (FAO, 2015), bu da gelişmekte olan ülkelerdeki çiftçilerin onları tercih etmesini kolaylaştırır.

Batista vd. (2020) *Parkia platycephala* bakla küspesinin (PP) sağmal keçilerde beslenme davranışı, rumen etkinliği, kan belirteçleri ve fizyolojik tepkiler üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Ölçülen dönemler için rektal sıcaklık, solunum ve nabız sayılarının öğleden sonra daha yüksek bulmuşlardır. PP kullanımı ile kan belirteçlerinde veya rumen etkinliğinde olumsuz bir değişiklik olmamıştır. Mevcut bulgularda, PP'nin, hayvan sağlığı, beslenme davranışı veya fizyolojik parametrelerde önemli değişikliklere neden olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise propolis kullanımı deneme grubunda fizyolojik yanıtı olumlu etkilemiştir.

Sıcaklık stresi altındaki koyunların sağlık, süt üretimi ve süt kalitesini artırmak için yapılan bir çalışmada rasyonlara %2 soya yağı ile %2 açai (*Euterpe oleracea*) yağı ilave edilmesi karşılaştırılmıştır. 14. günde açai grubu koyunların serum lökosit, nötrofil ve lenfosit konsantrasyonları soya grubu koyunlara göre daha düşük olduğu görülmektedir. 14. günde, açai grubu koyunlarda, soya grubu koyunlara göre daha düşük serum trigliserit ve üre konsantrasyonu, süt yağı konsantrasyonu ve toplam katı ve süt lipid peroksidasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, 14. günde, açai takviyesi yapılan grubun koyunların serum glikoz ve globulin konsantrasyonları, peroksil radikallerine karşı serum ve süt antioksidan kapasitesi, süt üretimi ve üretkenlik etkinliği, soya grubu koyunlara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Sütteki yağ asitleri profili gruplar arasında farklılık göstermediğini ve bu verilerin, açai yağının sıcaklık stresi altındaki süt koyunlarında serum ve sütteki antioksidan aktiviteyi iyileştirdiğini ve süt üretimini ve kalitesini iyileştirdiğini test etmişlerdir (Dos Santos vd., 2019).

Sıcaklık stresinde hurma yağı takviyesi kuru madde tüketimini artırdı ve sıcaklık stresi işaretlerini azaltmıştır (Melo vd., 2016). Konjuge linoleik asitlerle besleme sıcaklık stresi sırasında negatif enerji dengesini iyileştirmiştir fakat aynı zamanda süt yağında azalma bildirilmiştir. Lipoik asidin koruyucu ve enerji metabolizmasına yardımcı etkileri olduğu gösterilmiştir (Gregus vd., 1992; Diesel vd., 2007). Bu nedenle, lipoik asit takviyesinin sıcaklık stresindeki hayvanlara yardımcı olabileceği öne sürülmüştür (Rhoads vd., 2013). Çalışma sonuçlarımızdan anlaşılabileceği üzere fenolik içerik açısından zengin olan propolisin oğlaklarda kullanımı da sıcaklık stresi yanıtını iyileştirmiştir.

Tiyazolidindionlar, HSP üretimini artırabilir (Taniguchi vd., 2006), glikoz kullanımını (Schoenberg ve Overton, 2011) ve enerji metabolizmasını (Ranganathan vd., 2006) geliştirebilir; bu nedenle, sıcaklık stresi sırasında yararlı bir strateji olabilir. Tiyazolidindionlara benzer şekilde, diyet betain sıcaklık stresi yaşayan süt veren ineklerde daha iyi bir seçenek olabilir (Wang vd., 2019). Krom takviyesinin sıcaklık stresi altındaki sağmal ineklerde enerji metabolizmasını ve üretimini iyileştirdiği de gösterilmiştir (Mirzai vd., 2011; Dos Santos Ribeiro vd., 2019; Bin-Jumah vd., 2020; Sammad vd., 2020).

Kim vd. (2021) yumurta tavuklarında 42 günlük sıcaklık stresinin; rektal sıcaklık, vücut-yüzey sıcaklığı, kalp hızı, plazma ve yumurta sarısı örnekleri ve video ile değerlendirilen davranışın heterofil /lenfosit oranı (H/L oranı), CORT (corticosterone-kortikosteron) açısından etkisini karşılaştırmak amacıyla bir çalışma yapmıştır. Çalışma, yumurtlayan tavukların uzun süreli sıcaklık stresi üzerindeki stres durumunu değerlendirmek için rektal ve vücut yüzeyi sıcaklığı, kalp hızı ve davranışın, CORT veya H/L oranına göre daha güvenilir göstergeler olduğunu göstermiştir.

Yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında bu çalışmada sıcaklık stresine karşı propolis takviyesi yapılan grubun nabız ve solunum sayıları kontrol grubuna göre daha azdır. Çalışmamızda propolis kullanımı deneme grubunda fizyolojik yanıtı olumlu etkilemiştir.

5.3. HSP27 ve HSP70 Ekspresyonları

Yapılmış çalışmalar değerlendirildiğinde keçilerde sıcaklık stresıyla ilişkili genetik belirteç olarak HSP70 geni seçilmiştir (Al Yamani, 2020; Afsal vd., 2021). Fenolik bileşiklerin etkinliğini HSP düzeyinde belirlemek amacıyla HSP27'nin in vitro stres tepkisini değerlendirmek için yararlı bir gösterge olduğunu öne sürülmektedir ve hayvanlarda termal strese propolisin etkisini değerlendirmek için aday gen olarak seçilmiştir (Roussou vd., 2004; Dwivedi vd., 2017).

Concannon vd. (2003) HSP'lerin çok çeşitli fizyolojik ve çevresel dalgalanmalara yanıt olarak indüklenen birkaç farklı protein ailesini içerdiğini bildirmişlerdir. HSP 27 ve HSP 70 , sitokrom-C dahil proapoptotik faktörlerin mitokondriden salınmasının blokajına doğrudan dahil olan protein ailesidir. Bu proteinle hem içsel hem de dışsal apoptotik yollardaki modülasyon yoluyla apoptoz sürecini doğrudan inhibe edebilir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde hedef gen olarak seçtiğimiz HSP70'in keçi ırklarının termo-tolerans kapasitesini değerlendirmek için güvenilir biyolojik belirteçler olduğunu göstermiştir.

Yılmaz vd. (2018) farklı yaşlardaki Saanen keçilerinde ilkbahar HSP60 ve HSP70 mRNA gen ekspresyon seviyelerini yaz, sonbahar ve kış seviyeleri ile karşılaştırmışlardır. Keçileri grup I 1-2 yaşında keçiler; grup II 3-4 yaşındakiler ve grup III 5-6 yaşındakiler olarak ayırmışlardır. Genel olarak HSP60 ve HSP70 mRNA ekspresyon düzeyleri ilkbahar dönemine göre yaz, sonbahar ve kış aylarında tüm gruplarda arttığı belirtilmiştir. Yaz aylarında gruplar arasında HSP60 ve HSP70 için mRNA ekspresyon düzeylerinin farklılıkları istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır. Tüm gruplarda kışın HSP60 ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, Grup I ile diğer iki grup arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ($p<0.05$) ve genç keçilerde yaşlılara göre ekspresyon seviyeleri daha yüksek olarak raporlanmıştır. Özellikle yaşlara göre çevreye uyum yeteneğinin keçilerde HSP60 ve HSP70'in mRNA gen ekspresyon düzeylerinin sıcaklık stresine karşı koymadaki rollerini ve fonksiyonel mekanizmalarını etkileyebileceğini belirtmişlerdir.

Abhijith vd. (2021) çalışmalarında yerli Malabari ırkı keçilerde sıcaklık stresinin et üretimi ve kalite değişkenleri üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Çalışmada 45 gün boyunca on iki 10 aylıktan bir yaşına kadar Malabari keçileri kullanmışlardır. Keçiler rastgele iki gruba ayrılmış: Malabari kontrolü ($n = 6$) ve Malabari sıcaklık stresi ($n = 6$). Malabari kontrolü grubu hayvanlar dış ortama maruz bırakılmadan ağıl içinde barındırılırken, Malabari sıcaklık stresi grubu hayvanlar 10:00-16:00 saatleri arasında ağıl dışında tutularak yaz sıcaklığına maruz bırakılmışlardır. Çalışma sonunda hayvanlar kesilerek et özellikleri değerlendirilmiş ve çalışmadan elde edilen bulgular, sıcaklık stresinin canlı ağırlıkta ($p < 0.05$), kesim öncesi ağırlıkta ($p < 0.01$), sıcak karkas ağırlığında ($p < 0.05$), önemli ölçüde azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir. Cidago, Malabari kontrol grubuna kıyasla Malabari sıcaklık stresi grubunda ağırlık önemli ölçüde ($p<0.05$) daha düşük olan tek ilk kesimdir. Ayrıca, nihai et pH'ı, su tutma kapasitesi (WHC) ve kesme kuvveti gibi et kalitesi değişkenleri, sıcaklık stresi sırasında önemli ölçüde artmıştır ($p<0.01$). Duyusal özelliklerden görünüm ($p<0.01$) ve lezzet ($p < 0.05$) Malabari sıcaklık stresi grubunda önemli ölçüde azalmış ancak plazma leptin düzeyi anlamlı olarak ($p<0.01$) daha yüksek bulmuşlardır. Ek olarak, iskelet kası miyostatin gen ekspresyon paterni, Malabari kontrol grubuna kıyasla Malabari sıcaklık stresi grubunda önemli ölçüde ($p<0.05$) daha düşükken, HSP70 gen ekspresyonu önemli ölçüde ($p<0.05$) daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda, yerli Malabari keçilerinin, sıcaklık stresinin olumsuz etkilerinin üstesinden gelerek et üretimini sürdürmek için doğuştan gelen yeteneğe sahip olduğunu

bildirmişlerdir. Ancak sıcaklık stresinin şiddeti Malabari cinsinin et kalitesi değişkenlerine yansıdığı belirtilmiştir.

HSP'ler, keçiye stres tolerans yeteneği kazandıran çevresel streslere yanıt olarak ifade edilen yüksek oranda korunmuş stres proteinleridir (Aleena vd., 2018). Hayvan adaptasyonunda fenotipik özellikler ve HSP70'in rolü ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen, farklı ırklarda bu adaptif özellikleri araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Aleena vd. (2018) yaz sıcağı stresinin Osmanabadi, Salem Black ve Malabari keçilerinin fizyolojik ve davranışsal tepkileri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma bu ırklar arasındaki HSP70 ekspresyon paternindeki farklılıkları da değerlendirmiştir. Yaz aylarında (Nisan-Mayıs) 45 gün boyunca, her birinde altı hayvan bulunan altı gruba rastgele tahsis edilen 36 adet 1 yaşındaki dişi keçi kullanılarak yürütülmüştür. Hayvan grupları deney süresince 1000 ile 1600 saat arasında dış ortama maruz bırakılarak sıcaklık stresine maruz bırakılmıştır. Üretilen veriler, genel doğrusal model tekrarlanan varyans ölçüm analizi ile analiz edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında su alımı sıcaklık stresine maruz bırakılan gruplarda daha fazla kaydedilmiştir. Bu çalışma sonucunda HSP70'in keçi ırklarının termo-tolerans kapasitesini değerlendirmek için güvenilir biyolojik belirteçler olduğunu göstermişlerdir.

Parida vd. (2020) kültürlenmiş keçi kardiyak hücrelerinde ısı şoku proteini 70 (HSP70) mRNA'nın transkripsiyonel düzeyi üzerinde ısı stresinin etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Kültür çalışması için farklı keçilerden alınan kalp dokuları ($n = 6$) kullanılmış ve farklı kalp dokularından elde edilen kalp hücreleri, 24 oyuklu hücre kültürü plakalarında kültürlenilmiş ve 37 °C'de nemlendirilmiş bir CO₂ (%5) inkübatöründe inkübe etmişlerdir. 72 saatlik inkübasyondan sonra kalp hücrelerinin %75-80 konfluent hale gelmesine izin verilen kalp hücreleri daha sonra 0, 20, 60 ve 100 dakika boyunca 42 °C'de ısıya maruz bırakılmıştır. 42 °C'de 0 dakika ısı stresine maruz kalan kalp hücreleri kontrol grubu olarak belirlenmiştir. HSP70 mRNA'nın nispi bolluğu 20 ila 100 dakikalık ısıya maruz kalmada kademeli olarak yukarı regüle olmuş ($p < 0.05$) ve 100 dakikalık ısı tehdidinde zirveye ($p < 0.05$) ulaştığı belirtilmiştir. Mevcut bulgu ile HSP70'in muhtemelen bir sitoprotektif faktör olarak hareket edebileceğini ve ısı stresinin zararlı etkisine karşı kalp hücresinin hayatta kalmasını destekleyebileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca çalışmalarında, diğer hayvan türleri de dahil olmak üzere keçinin kalp hücrelerinde HSP70'in ekspresyon kinetiği üzerine daha fazla araştırma çalışmasının olması gerektiği belirtilmiştir.

Afsal vd. (2021) malabari keçilerde yaptıkları bir çalışmada, Malabari keçilerinin farklı organlarında HSP70 geninin ekspresyon paterni üzerindeemiznin etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışma 45 günlük bir süre boyunca yürütülmüş ve hayvanlar iki gruba ayrılmıştır: Malabari kontrolü ($n = 6$) ve Malabari ısı stresi ($n= 6$). Sıcaklık stresi, adrenaldeki HSP70 ekspresyon modelini önemli ölçüde artırırken, tiroid ve mezenterik lenf nodundaki HSP70 ekspresyon modelini önemli ölçüde düşürmüş ve bununla birlikte, ısı stresi hem karaciğerde hem de uterusu HSP70 geninin ekspresyon modelini etkilemediği belirtilmiştir. Ayrıca, karaciğer ve uterusu sıcaklık-nem indeksi (THI) ile HSP70 gen ekspresyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon, tiroid ve lenf nodunda HSP70 gen ekspresyonu ile negatif korelasyon kurmuşlardır. Böylece HSP70 geninin ekspresyon paterninin doku ve fonksiyona özel olduğu ve ısı stresi altındaki hayvanların ihtiyacına göre programlandığını belirtmişlerdir.

Saanen ve Alpin ırkı keçilerde yapılan bir araştırmada mevsimsel değişimin ve farklı yaş gruplarının (1 yıl ve 2 yıl) HSP70 konsantrasyonu üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlar. Mevsimsel değişimin ve yaş faktörünün HSP70 seviyelerinde değişikliklere neden olduğunu, Saanen ırkı keçilerin HSP70 seviyesini Alpin ırkına göre ilkbahar, yaz ve kış (26.9, 18.34 ve 14.7) aylarında daha yüksek bulmuşlar. Keçilerde ırka ve yaşa bağlı HSP70 seviyeleri Saanen ırkı 1 yaş grubunda farklı mevsimlerde (ilkbahar, yaz ve kış) anlamlı düzeyde ($p<0.01$) anlamlı artış göstermiştir. Genel olarak çalışma sonucuna göre, farklı yaştaki Saanen keçisinin hücresel bütünlüğü korumak için sıcaklık stresinin zararlı etkisini iyileştirme yeteneklerinde olumlu yönde farklılık görülmüştür (Al Yamani, 2020).

Rektal sıcaklıklar ile sıcaklık stresine karşı fizyolojik ve hücresel tepkiler arasındaki ilişkiler, tropikal ortamlarda Saanen keçilerinin üretkenliğini artırabilir. Hooper vd. (2021) çalışmalarında akut sıcaklık stresine maruz kalan Saanen keçilerinin ısı şoku proteinlerinin (HSP60, 70 ve 90) ve apoptoz ile ilgili genlerin (Bax (Bcl-2-associated X protein), Bcl-2 (B-cell lymphoma 2- B hücreli lenfoma 2) ve p53 (tümör protein 53) fizyolojik tepkileri ve gen ekspresyonu değerlendirmiştir. On sağlıklı Saanen keçisi, 3 gün boyunca güneş radyasyonuna maruz bırakılmış ve HSP60, HSP70, HSP90, Bax, Bcl-2 ve p53 genlerinin kan lökositleri, rektal ve yüzeysel sıcaklıklar, solunum frekansı, kortizol, triiyodotironin ve tiroksin ekspresyonu 06:00, 13:00 ve 18'de ölçülmüşlerdir. In vitro, kan lökositleri, aynı hedef genlerin ekspresyonunu ölçmek için 3 saat boyunca 38 °C ve 40 °C'ye tabi tutmuşlar. 12:00 ile 15:00 arasında ölçülen sıcaklık nem indeksi 80'den büyük bulunmuştur. Güneş radyasyonu

kuru dönem Saanen keçilerinde akut sıcaklık stresine, kortizol salınımının artmasına ve HSP60 ve 70 ekspresyonuna neden olmasına rağmen, artan solunum frekansı ve azalan tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3), deney keçilerinin homeotermisini düzeltmiştir. Laboratuvar ortamında, 40 °C, p53 (pro-apoptotik protein), Bcl-2 (anti-apoptotik protein), HSP60, HSP70 ve HSP90'ın ekspresyonunu artırmış ve bu genlerin koruyucu fonksiyonlara sahip olduğunu göstermişlerdir.

Barınaklarda oluşan iklimin olumsuz etkileri sonucu ortaya çıkan mikro çevreler hayvan sağlığını ve performansını olumsuz etkilemektedir. Al-Yamani, (2017) çalışmasında Adana'da bulunan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye İşletmesine bağlı Süt Keçiciliği Araştırma Uygulama Çiftliğinde yarı entansif koşullarda sıcak ve nemli koşulların etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Deneme boyunca 20 baş Alpin, Saanen ve Boer keçisinin bazı fizyolojik parametreler (rektal sıcaklık, solunum sayısı, nabız sayısı, deri sıcaklığı) davranış özellikleri (su tüketimi, yem tüketimi) canlı ağırlık, süt kompozisyonu, HSP60 ve HSP70 konsantrasyonu ve bunların korelasyonları üzerinden durulmuştur. Fizyolojik verilere göre, Saanen ırklar arasında sıcaktan en az etkilenen ırk olmuş ancak yem tüketiminde tam tersi sonuçlar alınmıştır. Saanenler özellikle sıcak ve nemli koşullarda diğer ırklardan daha fazla yem tüketmişlerdir. Bunun sonucu olarak laktasyon verimi de daha yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Buna ek olarak su tüketimlerinde artış gözlemlenmiştir. Sonuç olarak HSP60 ve HSP70 konsantrasyonlarının keçilerde süt verimi ve adaptasyon kriterleri üzerinde etkili olduğunu ve Saanen keçisinin adaptasyon yeteneğinin fazla olduğunu belirtmiştir.

Sıcaklık stresine maruz kalan Osmanabadi ve Salem Kara keçilerinin iskelet kasında, HSP70 geninin mRNA ekspresyonunda önemli bir artış gözlemlenmiştir ve Osmanabadi keçisinde Salem Kara keçi ırkından daha yüksek düzeyde rapor edilmiştir (Archana vd., 2018). Kandan mRNA ekspresyonu yaptığımız çalışmada sıcaklık stresine bağlı HSP70 ekspresyon değerleri artmıştır ancak propolis takviyesiyle HSP70 ekspresyonları normal seviyede kalmıştır.

Merinos-Poll Dorset melez koyunlarda sıcaklık stresi koşulunda (1 hafta için 28–40 °C ve %40–50 bağıl nem) iskelet kasında HSP70 mRNA ekspresyonunda 3,5 kat artış olduğu vurgulanmıştır (Chaudhary vd., 2019). Sıcaklık ve nem seviyeleri çalışmamızla benzerdir ancak HSP70 ekspresyon değerleri (1,7625 ve 2,126) çalışmamızda daha düşüktür. Süt koyunlarında, termotoleransı arttırmaya yönelik HSP ekspresyonu ve salgılanması da belirli

bir diyet stratejisi ile sürdürülmüştür. Özellikle yüksek dozda antioksidanların uygulanması, E vitamini ve Se, sıcaklık stresi altında koyunların iskelet kasında HSP70 ekspresyonunu çalışmamızdaki sonuçlardan fazla olarak 5,2 kat arttırmıştır (Chauhan vd., 2014). Benzer şekilde, yaz mevsiminde sıcaklık stresi altında Comisana koyunlarına *Ascophyllum nodosum* ilavesi, lizat kan hücrelerinde ölçülen HSP70 ekspresyonlarını arttırmış ancak keten tohumu takviyesi HSP70 ekspresyonlarını azalttığını bulmuşlardır (Caroprese vd., 2014). Çalışmamızda ise propolis, HSP70 ekspresyonları sıcak olan yaz mevsiminde ilkbahar seviyesiyle aynı seviyede kalmasını sağlamıştır.

Mohanarao vd. (2014) beş HSP70 ailesi geninin (HSPA1A, HSPA1L, HSPA2, HSPA6 ve HSPA8) ve HSP27'nin bağıl ifadesi soğuk (10 °C), normal (38,5 °C) ve sıcakta (42 °C) gerçek zamanlı PCR ile ölçmüş ve karşılaştırmıştır. Keçi PBMC'lerinin erime eğrisi analizi, test edilen her bir primer setinden herhangi bir spesifik olmayan tepe noktası vermemiştir. Ek olarak, her PCR ürünü, jel elektroforez analizinde beklenen boyutta belirgin bir bant oluşturmuştur. Araştırmacılar, test edilen primer setleriyle spesifik olmayan amplifikasyonların q RT-PCR analizinde tespit edilmediğini belirtmiştir. HSPA1A, HSPA1L, HSPA6 , HSPA8 ve HSP27 genlerinin nispi ekspresyonu, ısıya maruz bırakılmış PBMC'lerde normal hücrelere göre önemli ölçüde daha yüksek ($p<0.0001$), HSPA2 geni durumunda anlamlı bir fark gözlemlenmemişlerdir. HSPA1A, HSPA1L, HSPA6, HSPA8 ve HSP27'ye göre ısıya maruz kalmış PBMC'lerde kat artışı ifadesi normal hücrelere göre sırasıyla 19, 3.3, 16.6, 14.4 ve 6.4 şeklinde sonuç almışlardır. HSP genlerinin kat değişimlerinin çalışmamıza kıyasla fazla olmasının sebebin Mohanarao vd. (2014) çalışmalarında hücreye sıcaklık stresi uygulamaları olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamıza benzer yapılan bir araştırmada sıcak iklim koşullarında Jamunpari keçisinin farklı yaş gruplarında m-RNA HSP70 ekspresyon düzeyi incelenmiştir. Denemede, 3 aylık, 9 aylık, 12 aylık ve ergin (2-3 yaş) yaş gruplarına ait 32 Jamunpari keçisinde çalışma yapmışlardır. Yöntemimize benzer olarak toplam RNA'yı, periferik kan mononükleer hücrelerinden izole etmişlerdir. Rektal sıcaklık, solunum hızı ve nabız sayısı gibi fizyolojik tepkileri, sıcaklık stresinin göstergesi olarak kullanmışlardır. THI, çevresel stresin ciddiyetinin bir göstergesi olarak kullanmışlardır. 9 aylık hayvanlarda m-RNA HSP70 ekspresyon seviyesi yukarı regüle sonuç vermiş ve diğer yaş gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Kan hücrelerinde HSP70 transkript seviyesinin 9 aylık yaş grubunda en yüksek olduğu ve yetişkin yaşta HSP70 ekspresyonunda yaşa bağlı düşüşün gözlemlendiğini belirtmişlerdir Yaş ve fenotip, genlerin ekspresyon değeri üzerinde önemli etkiye sahip

olduğu belirtilmiştir ($p < 0.01$). Farklı yaş gruplarındaki m-RNA HSP70 gen ekspresyonu, sıcaklık stresi toleransı ile ilişkilendirmişlerdir (Kaushik vd., 2022). Oğlaklara verilen propolisin oğlakların adaptasyonuna fayda sağladığı sonucuna varılabilir.

Bovine granulosa hücrelerinde, ısı stresinin granüloza hücresinin HSP70 ekspresyon seviyesi üzerindeki etkisini araştırmak için farklı sıcaklık seviyelerinde (Kontrol, 39, 40 ve 41 °C) 2 saat süreyle ısıl işleme tabi tutmuşlardır. HSP70'in hem mRNA hem de protein seviyesindeki ekspresyonu kontrol etmek için western blot ve RT-qPCR gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlar, HSP70 ekspresyonunun kontrol ve ısı stresli grup (39 °C) arasında önemli ölçüde farklı olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, HSP70'in ifadesi, uygulamadan sonra 40°C ve 41°C'de ısı stresi altındaki granüloza hücresinde önemli ölçüde yukarı regüle edilmiştir (Khan vd., 2020). Çalışmamızda yaz mevsimi örnek alımlarında HSP27 ve HSP70 ekspresyon seviyeleri artmıştır.

Sığırlarda yapılan başka bir çalışmada Kim vd., (2020), hümit maddelerin in vitro ve in vivo modellerde sığır PBMC'lerinde HSPs gen ekspresyonu üzerindeki etkisini in vitro (37 °C'ye (Kontrol) ve 3 saat boyunca 42 °C'ye) ve in vivo (yedi gün boyunca ortam sıcaklığına (22 ila 24 °C, bağıl nem %60; sıcaklık-nem) olarak araştırmışlardır. İn vitro modelde, hücre canlılığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sıcaklık stresi gruplarında önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir ($p=0.015$). İn vitro modelde HSP70 ($p= 0.022$), HSP90 ($p= 0.003$) ve HSP27 ($p= 0.026$) genlerinin ekspresyonu sıcaklık stresi grubunda arttığı belirtilmiştir. İn vivo deneyde, HSP70 gen ekspresyonu, sıcaklık stresi koşullarına (şiddetli THI seviyeleri; THI = 88 ila 90) ani maruz kalmanın ardından artarken, HSP90 ve HSP27, THI grupları arasında hiçbir fark göstermemiştir ($p> 0,05$). Bununla birlikte, şiddetli THI grubunda, HSP70 gen ifadesi, altı günlük sürekli sıcaklık stresi uygulamasından sonra normal aralığa geri dönmüştür. Sonuç olarak, HSP70 geni, hücrelerin hasardan korunmasında çok önemli bir rol oynadığını ve in vitro ve in vivo modellerde diğer HSP genlerine kıyasla bağışıklık hücrelerinde sıcaklık stresine daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Ek olarak çalışmalarında, in vivo modeller, sığırların HSP70 gen ekspresyonunu düzenleyerek altı günlük sürekli maruziyetten sonra hümit maddelere aktif fizyolojik adaptasyon mekanizmaları sergilediğini göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın sonunda 0,4 cc propolis takviyesi yapılan oğlakların hava sıcaklığının arttığı yaz ayı 5. haftadan itibaren kontrol grubuna göre daha fazla kilo almış ve canlı ağırlıkları artmıştır. Grup içi rektal sıcaklık değerlerinin karşılaştırılmasında ise deneme grubunun rektal sıcaklık değerleri daha fazla bulunmasına rağmen solunum ve nabız sayıları kontrol grubuna göre daha düşük gözlenmiştir. Bu sonuçlar propolisin vücut sıcaklığını artırmasına rağmen oğlakların sıcaklık stresine yanıtını iyileştirdiği yönünde yorumlanabilir.

HSP70 geninin ekspresyonu incelendiğinde kontrol grubunun ekspresyon seviyeleri sıcaklık artışına bağlı olarak artmıştır ancak deneme grubunun ekspresyon seviyesi sıcaklığın fazla olduğu Temmuz ayında, ilkbahar dönemindeki ekspresyon seviyesi ile benzer sonuçlar vermiştir. Bu verilere dayanarak, propolis verilen hayvan grubunun HSP70 ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla sıcaklık artışına bağlı olarak aynı seviyede kaldığı görülmektedir. Bu durumda, propolis takviyesinin HSP70 ekspresyonunu koruma veya sıcaklığa bağlı artışı önlemede faydalı olabileceği düşünülebilir. HSP27 gen ekspresyonları ise ilkbahar dönemi kontrol grubunun HSP27 gen ekspresyonları deneme grubuna kıyasla daha azdır. İlkbahar döneminde deneme grubunun HSP27 ekspresyon seviyelerinin kontrol grubundan fazla olması, propolisin sıcak olmayan koşullarda HSP27 ekspresyon seviyelerini artırdığını göstermiştir. Yaz dönemindeki her iki grupta ekspresyon seviyeleri artmıştır ancak deneme grubunun ekspresyon seviyeleri kontrol grubundan azdır. Bu sonuçlar doğrultusunda, sıcaklık seviyesi arttıkça HSP27 ekspresyon seviyesinin arttığını ancak propolis takviyesinin sıcaklık stresinden kaynaklı HSP27 ekspresyon seviyesindeki artışı baskıladığı sonucuna varılabilir.

Propolis, arıların doğadan bitki özleri toplayarak ürettiği bir bileşiktir ve antimikrobiyal, antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahiptir. Bu nedenle, propolis verilmesiyle HSP27 ve HSP70 genlerinin ifadesi düşük sıcaklıkta olduğu gibi yüksek sıcaklıklarda da korunabilir ve hücrelerin stresle başa çıkma yetenekleri artırılabilir. Çalışmadaki oğlakların yem tüketimlerinde farklılık olmamasına rağmen 0.4 cc propolis verilen grubun canlı ağırlık artışı kontrol grubuna göre daha fazla olması propolisin iştah mekanizmasını olumlu etkilediği ve özellikle yemden yararlanmada faydalı bir ürün olduğunu göstermiştir. Deneme grubundaki oğlakların kontrol grubuna göre iştahı daha fazla olması da propolisin hayvancılıkta iştah

açıcı olarak kullanımının olumlu sonuçları olabilir. Bu sonuçlar doğrultusunda propolis sıcaklık stresinden kaynaklı iştahsızlık için kullanılabilir bir üründür.

Propolisin farklı yaş gruplarındaki keçilerde, farklı mevsim ve farklı dozlarda uygulanmasının HSP27 ve HSP70 ekspresyonu üzerindeki etkilerini belirlemek için daha fazla deneysel çalışma yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.



KAYNAKÇA

- Abdel Hady, H. A., Nebar, A. F., & Morad, R. S. (2019). Seasonal Variation In Some Physiological Parameters In Small Ruminants. *Menoufia Journal of Animal Poultry and Fish Production*, 3(6), 157-158.
- Abdlazez ST, Saleh HH (2016). Effect of Different Doses of Propolis on Growth Performance, Some Carcass Characteristics and Lipid Oxidation Stability of Awassi Lambs. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences* 9:62-71.
- Abhijith, A., Sejian, V., Ruban, W., Krishnan, G., Bagath, M., Pragna, P., ... & Bhatta, R. (2021). Summer season induced heat stress associated changes on meat production and quality characteristics, myostatin and HSP70 gene expression patterns in indigenous goat. *Small Ruminant Research*, 203, 106490.
- Afsal, A., Bagath, M., Sejian, V., Krishnan, G., Beena, V., & Bhatta, R. (2021). Effect of heat stress on HSP70 gene expression pattern in different vital organs of Malabari goats. *Biological Rhythm Research*, 52(3), 380-394.
- Aguiar SC, Cottica SM, Boeing JS et al. (2014). Effect of Feeding Phenolic Compounds from Propolis Extracts to Dairy Cows on Milk Production, Milk Fatty Acid Composition, and the Antioxidant Capacity of Milk. *Animal Feed Science and Technology*. 193: 148-154.
- Alam MM, Hashem MA, Rahman MM, Hossain MM, Haque MR, Sobhan Z, Islam MS (2013). Effect of heat stress on behavior, physiological and blood parameters of goat. *Progress Agric* 22(1&2):37-45
- Aleena, J., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., Beena, V., & Bhatta, R. (2018). Resilience of three indigenous goat breeds to heat stress based on phenotypic traits and PBMC HSP70 expression. *International Journal of Biometeorology*, 62(11), 1995-2005.
- Al-Haidary, A. A., Aljumaah, R. S., Alshaikh, M. A., Abdoun, K. A., Samara, E. M., Okab, A. B., & Alfuraiji, M. M. (2012). Thermoregulatory and physiological responses of Najdi sheep exposed to environmental heat load prevailing in Saudi Arabia. *Pakistan Veterinary Journal*, 32(4), 515-519.
- Al-Whaibi, M.H., (2011). Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University-Science*, 23, pp.139-50

- Al-Yamani, H. (2020). The Change Level of Concentration of Hsp70 in the Different Age in the Goats in Various Seasons. *SSRN Electronic Journal*. doi: 10.2139/ssrn.3534250
- Al-Yamani, H. M. M. (2017) *Association of heat shock protein with some physiological parameters in the goats*. Yüksek Lisans Tezi Çukurova Üniversitesi, FenBilimler Enstitüsü, Adana.
- Archana, P. R., Sejian, V., Ruban, W., Bagath, M., Krishnan, G., Aleena, J., ... & Bhatta, R. (2018). Comparative assessment of heat stress induced changes in carcass traits, plasma leptin profile and skeletal muscle myostatin and HSP70 gene expression patterns between indigenous Osmanabadi and Salem Black goat breeds. *Meat Science*, 141, 66-80.
- Asma, S. T., Bobiş, O., Bonta, V., Acaroz, U., Shah, S. R. A., Istanbulgil, F. R., & Arslan-Acaroz, D. (2022). General nutritional profile of bee products and their potential antiviral properties against mammalian viruses. *Nutrients*, 14(17), 3579.
- Aufricht C. Heat-shock protein 70: molecular supertool. (2005). *Pediatric Nephrology*;20(6):707- 13.
- Badawy, H. S. (2021). Effect of Propolis as a Feed Additive on Nutritional and Productive Performance of Pregnant Ewes and their Lambs under Halaib-Shalateen Pastures Condition. *Journal of Animal and Poultry Production*, 12(1), 19-26.
- Balchin, D., Hayer-Hartl, M., & Hartl, F. U. (2016). In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science*, 353(6294), aac4354.
- Banerjee D, Upadhyay RC, Chaudhary UB, Kumar R, Singh S, Ashutosh GJM, Polley S, Mukherjee A, Das TK, De S. (2014). Seasonal variation in expression pattern of genes under HSP70. *Cell Stress and Chaperones* 19(3):401–408
- Batista, I. L., Dias-Silva, T. P., Marques, C. A. T., Torreão, J. N. D. C., Bezerra, L. R., Edvan, R. L., ... & Araújo, M. J. D. (2020). Effects of *Parkia platycephala* on feeding behavior, rumen health, blood markers, and physiological responses of lactating goats. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49.
- Beckmann, R. P., Mizzen, L. E., & Welch, W. J. (1990). Interaction of Hsp 70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science*, 248(4957), 850-854.

- Bener, L., Yaşar, R., & Kuran, M. (2018). Isı Şok Proteinleri Ve İn Vitro Embriyo. *Black Sea Journal of Agriculture*, 1(3), 89-93.
- Bin-Jumah, M., Abd El-Hack, M. E., Abdelnour, S. A., Hendy, Y. A., Ghanem, H. A., Alsafy, S. A., ... & Aleya, L. (2020). Potential use of chromium to combat thermal stress in animals: A review. *Science of the Total Environment*, 707, 135996.
- Birbo, B., Madu, E. E., Madu, C. O., Jain, A., & Lu, Y. (2021). Role of HSP90 in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10317.
- Brodowska, K. M. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7(2), 108-123.
- Cai, L., Yu, J., Hartanto, R., Zhang, J., Yang, A., & Qi, D. (2019). Effects of heat challenge on growth performance, ruminal, blood and physiological parameters of Chinese crossbred goats. *Small Ruminant Research*, 174, 125-130.
- Calderwood, S.K.; Murshid, A.; Prince, T. The shock of aging: Molecular chaperones and the heat shock response in longevity and aging—A mini-review. (2009). *Gerontology*, 55, 550–558.
- Campanella, C., Bucchieri, F., Merendino, A. M., Fucarino, A., Burgio, G., Corona, D. F., ... & Cappello, F. (2012). The odyssey of Hsp60 from tumor cells to other destinations includes plasma membrane-associated stages and Golgi and exosomal protein-trafficking modalities. *PloS one*, 7(7), e42008.
- Caroprese, M., Ciliberti, M. G., Annicchiarico, G., Albenzio, M., Muscio, A., & Sevi, A. (2014). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and immune regulation in heat-stressed sheep after supplementation with polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4247-4258.
- Cell.com. <https://www.cell.com/trends/ecology-evolution/home> [Erişim Tarihi: 05:07:2023]
- Chaudhary, R., Baranwal, V. K., Kumar, R., Sircar, D., & Chauhan, H. (2019). Genome-wide identification and expression analysis of Hsp70, Hsp90, and Hsp100 heat shock protein genes in barley under stress conditions and reproductive development. *Functional & integrative genomics*, 19, 1007-1022.

- Chauhan, S. S., Celi, P., Fahri, F. T., Leury, B. J., & Dunshea, F. R. (2014). Dietary antioxidants at supranutritional doses modulate skeletal muscle heat shock protein and inflammatory gene expression in sheep exposed to heat stress. *Journal of Animal Science*, 92(11), 4897-4908.
- Chen, H., Adam, A., Cheng, Y., Tang, S., Hartung, J., & Bao, E. (2015). Localization and expression of heat shock protein 70 with rat myocardial cell damage induced by heat stress in vitro and in vivo. *Molecular medicine reports*, 11(3), 2276-2284.
- Cheng, Y., Sun, J., Chen, H., Adam, A., Tang, S., Kemper, N., ... & Bao, E. (2016). Expression and location of HSP60 and HSP10 in the heart tissue of heat-stressed rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(4), 2759-2765.
- Chiang HL, Plant C, Dice J. (1989). A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science*, 246(4928): 382-385.
- Ciocca DR, Calderwood SK. (2005). Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress & Chaperones*;10(2):86-103.
- Coelho V. and A. M. C. Faria. (2012). "HSP60: issues and insights on its therapeutic use as an immunoregulatory agent," *Frontiers in Immunology*, vol. 2, 2012.
- Concannon, C. G., Gorman, A. M., & Samali, A. (2003). On the role of Hsp27 in regulating apoptosis. *Apoptosis*, 8, 61-70.
- Correa, M. P. C., Dallago, B. S. L., Paiva, S. R., Canozzi, M. E. A., Louvandini, H., Barcellos, J. J., & McManus, C. (2013). Multivariate analysis of heat tolerance characteristics in Santa Inês and crossbred lambs in the Federal District of Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 45(6), 1407-1414.
- Dangi, S. S., Gupta, M., Maurya, D., Yadav, V. P., Panda, R. P., Singh, G., ... & Sarkar, M. (2012). Expression profile of HSP genes during different seasons in goats (*Capra hircus*). *Tropical Animal Health and Production*, 44(8), 1905-1912.
- Dangi, S. S., Gupta, M., Nagar, V., Yadav, V. P., Dangi, S. K., Shankar, O. M., ... & Sarkar, M. (2014). Impact of short-term heat stress on physiological responses and expression profile of HSPs in Barbari goats. *International journal of biometeorology*, 58(10), 2085-2093.

- De Freitas, M. C., de Miranda, M. B., de Oliveira, D. T., Vieira-Filho, S. A., Caligiorne, R. B., & de Figueiredo, S. M. (2017). Biological activities of red propolis: A review. *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery*, 11(1), 3-12.
- Demir, P., Cevger, Y., (2007). Küresel Isınma ve Hayvancılık Sektörü. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78/1, S: 15-16,
- Demir, S., Aliyazicioglu, Y., Turan, I., Misir, S., Mentese, A., Yaman, S. O., ... & Deger, O. (2016). Antiproliferative and proapoptotic activity of Turkish propolis on human lung cancer cell line. *Nutrition and cancer*, 68(1), 165-172.
- Descheemaeker, K., Oosting, S., Homann-Kee Tui, S., Masikati, P., Falconnier, G., & Giller, K. (2016). Climate change adaptation and mitigation in smallholder crop–livestock systems in sub-Saharan Africa: a call for integrated impact assessments. *Regional Environmental Change*, 16(8), 2331-2343. doi: 10.1007/s10113-016-0957-8
- Devapriya, A., Sejian, V., Ruban, W., Devaraj, C., Spandan, P., & Silpa, M. et al. (2021). Analysis of carcass traits and quantitative expression patterns of different meat quality governing genes during heat stress exposure in indigenous goats. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 100052.
- Devequi-Nunes, D.; Machado, B.A.S.; Barreto, G.A.; Rebouças Silva, J.; da Silva, D.F.; da Rocha, J.L.C.; Brandão, H.N.; Borges, V.M. Umsza-Guez, M.A. (2018). Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. *PLoS ONE*, 13, e0207676.
- Diesel, B.; Kulhanek-Heinze, S.; Höltje, M.; Brandt, B.; Höltje, H.D.; Vollmar, A.M.; Kiemer, A.K. (2007). α -lipoic acid as a directly binding activator of the insulin receptor: Protection from hepatocyte apoptosis. *Biochemistry*, 46, 2146–2155.
- Dobson, C. M., & Ellis, R. J. (1998). Protein folding and misfolding inside and outside the cell. *The EMBO journal*, 17(18), 5251-5254.
- Dobson, H., & Smith, R. F. (2000). What is stress, and how does it affect reproduction?. *Animal reproduction science*, 60, 743-752.

- Dos Santos Ribeiro, L.; Zandonadi Brandão, F.; De Rezende Carvalheira, L.; De Freitas Goes, T.J.; De Almeida Torres Filho, R.; Romano Quintão, C.C.; De Fátima Ávila Pires, M.; De Almeida Camargo, L.S.; De Carvalho, B.C. (2019). Chromium supplementation improves glucose metabolism and vaginal temperature regulation in Girolando cows under heat stress conditions in a climatic chamber. *Tropical Animal Health and Production*, 1–8.
- Dos Santos, D. D. S., Klauck, V., Campigotto, G., Alba, D. F., Dos Reis, J. H., Gebert, R. R., ... & Da Silva, A. S. (2019). Benefits of the inclusion of açai oil in the diet of dairy sheep in heat stress on health and milk production and quality. *Journal of thermal biology*, 84, 250-258.
- Dutta, R., & Inouye, M. (2000). GHKL, an emergent ATPase/kinase superfamily. *Trends in biochemical sciences*, 25(1), 24-28.
- Dwivedi, S., Kumar, M., & Trivedi, S. P. (2017). Mitigating potential of *Melissa officinale* against As 3+-induced cytotoxicity and transcriptional alterations of Hsp70 and Hsp27 in fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental monitoring and assessment*, 189, 1-15.
- Easton-Calabria, A., Demary, K. C., & Oner, N. J. (2019). Beyond pollination: honey bees (*Apis mellifera*) as zootherapy keystone species. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 161.
- Fadare, A. O., Peters, S. O., Yakubu, A., Sonibare, A. O., Adeleke, M. A., Ozoje, M. O., & Imumorin, I. G. (2012). Physiological and haematological indices suggest superior heat tolerance of white-coloured West African Dwarf sheep in the hot humid tropics. *Tropical animal health and production*, 45(1), 157-165.
- Franchin, M., Colon, D. F., Castanheira, F. V., da Cunha, M. G., Bueno-Silva, B., Alencar, S. M., ... & Rosalen, P. L. (2016). Vestitol isolated from Brazilian red propolis inhibits neutrophils migration in the inflammatory process: elucidation of the mechanism of action. *Journal of natural products*, 79(4), 954-960..
- Funari, C. S. F., V.O. (2006). “Análise de própolis ” *Food Science and Technology* 26(1): 171-178.

- Gade, N., Mahapatra, R. K., Sonawane, A., Singh, V. K., Doreswamy, R., & Saini, M. (2010). Molecular characterization of heat shock protein 70-1 gene of goat (*Capra hircus*). *Molecular biology international*, 108429- 7 doi:10.4061/2010/108429
- Gaughan, J. B., Holt, S., Hahn, G. L., Mader, T. L., & Eigenberg, R. (2000). Respiration rate: Is it a good measure of heat stress in cattle?. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13(Supplement Vol C), 329-332.
- Ghizzi, L. G., Del Valle, T. A., Takiya, C. S., da Silva, G. G., Zilio, E. M., Grigoletto, N. T., ... & Rennó, F. P. (2018). Effects of functional oils on ruminal fermentation, rectal temperature, and performance of dairy cows under high temperature humidity index environment. *Animal Feed Science and Technology*, 246, 158-166.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(4), 1220-1234.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry reviews*, 18, 241-272.
- Gökkür, S., Uysal, T., (2020). İklim Değişikliği ve Mera Islahının Önemi, *Apelasyon*, ISSN:2149-4908, Nisan 2020, Sayı 77,
- Gregus, Z., Stein, A. F., Varga, F., & Klaassen, C. D. (1992). Effect of lipoic acid on biliary excretion of glutathione and metals. *Toxicology and applied pharmacology*, 114(1), 88-96.
- Gubicza, A., Molnar, P. (1987). Propolis in the rearing of calves 254. *Magyar Mezogazdasag*, 42(17): 14.
- Gupta, R. S. (1995). Phylogenetic analysis of the 90 kD heat shock family of protein sequences and an examination of the relationship among animals, plants, and fungi species. *Molecular biology and evolution*, 12(6), 1063-1073.
- Hansen, P. J. (2004). Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal reproduction science*, 82, 349-360.
- Harris, B., Richter, R. L., Vernlund, S. (1996). Dairy goat production guide. *University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences*, EDIS.

- Hartl FU. 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*;381(6583):571.
- Hashem NM, El-Hady A, Hassan O. (2013). Effect of Propolis Supplementatin on Semen Quality, Oxidative Status and Hemato Biochemicalchanges of Rabbit Bucks During Hot Season. *Livestock Science*. 157(2) 520–526.
- Henderson B. and Martin A. C. (2014). Protein moonlighting: a new factor in biology and medicine.. *Biochemical Society Transactions*, vol. 42, no. 6, pp. 1671–1678,.
- Henle, K. J., Jethmalani, S. M., & Nagle, W. A. (1998). Stress proteins and glycoproteins. *International Journal of Molecular Medicine*, 1(1), 25-57.
- Hepşen, İ., Tilgen, F., Er, H. 1996. Propolis'in Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 3(4): 386-391.
- Herrero, M., Thornton, P. K., 2013. Livestock and Global Change: Emerging Issues for Sustainable Food Systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(52):20878- 20881.
- Home | Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). Retrieved 18 July 2023, from <https://www.fao.org/home/en> [Erişim Tarihi: 28.05.2023]
- Hooper, H. B., dos Santos Silva, P., de Oliveira, S. A., Merighe, G. K. F., Titto, C. G., & Negrão, J. A. (2021). Long-term heat stress at final gestation: physiological and heat shock responses of Saanen goats. *International Journal of Biometeorology*, 65(12), 2123-2135.
- Hoter, A., El-Sabban, M. E., & Naim, H. Y. (2018). The HSP90 family: structure, regulation, function, and implications in health and disease. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2560.
- Hubbard TJP, Sander C. (1991). The role of heat-shock and chaperone proteins in protein folding: possible molecular mechanisms. *Protein Engineering, Design and Selection*;4(7): 711-7.
- Hut HM, Kampinga HH, Sibon OC. (2005). Hsp70 protects mitotic cells against heat-induced centrosome damage and division abnormalities. *Molecular Biology of the Cell*;16(8):3776-85.

- Inui, S., Hatano, A., Yoshino, M., Hosoya, T., Shimamura, Y., Masuda, S., ... & Kumazawa, S. (2014). Identification of the phenolic compounds contributing to antibacterial activity in ethanol extracts of Brazilian red propolis. *Natural product research*, 28(16), 1293-1296.
- IPCC, A. (2007). Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, edited by: Solomon, S., Qin, D.
- Ismael AB, El-Sayed EM, Sameh Mohammed EN. (2019). Potential Clinical Role of Propolis in Treatment of Clinical Ovine and Caprine Listeriosis. *Journal of Veterinary Medicine*. 57: 301-309.
- Jagan Mohanarao, G., Mukherjee, A., Banerjee, D., Gohain, M., Dass, G., Brahma, B., Datta, T. K., Upadhyay, R. C. and De, S. (2014). HSP70 Family Genes And HSP27 Expression In Response To Heat And Cold Stress In Vitro In Peripheral Blood Mononuclear Cells Of Goat (*Capra Hircus*)". *Small Ruminant Research*, vol 116, no. 2-3, pp. 94-99.
- Jahn, M., Rehn, A., Pelz, B., Hellenkamp, B., Richter, K., Rief, M., ... & Hugel, T. (2014). The charged linker of the molecular chaperone Hsp90 modulates domain contacts and biological function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(50), 17881-17886.
- Johnson, J. L. (2012). Evolution and function of diverse Hsp90 homologs and cochaperone proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(3), 607-613.
- Kaushik, R., Goel, A., & Rout, P. K. (2022). Differential expression and regulation of HSP70 gene during growth phase in ruminants in response to heat stress. *Scientific Reports*, 12(1), 18310.
- Kayk, M. (2017). *Farklı mevsimlerde, saanen keçilerinde hsp 60 ve hsp 70 gen ekspresyon profili ve bazı fizyolojik stres parametreleri ile ilişkisi* (Master's thesis, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,) Aydın.
- Kędzia, B. (2008). Pochodzenie propolisu w świetle teorii i badań naukowych. *Herba Polonica*, 54(4), 179-186.

- Kędzia, B., & Hołderna-Kędzia, E. (2017). Pinocembryna—flawonoidowy składnik krajowego propolisu o działaniu opóźniającym rozwój choroby Alzheimera. Pinocembrin—flavonoid component of domestic propolis with delaying effect of the development of Alzheimer's disease. *Post. Fitoter.*, 18, 223-228.
- Khan, A., Dou, J., Wang, Y., Jiang, X., Khan, M. Z., Luo, H., ... & Zhu, H. (2020). Evaluation of heat stress effects on cellular and transcriptional adaptation of bovine granulosa cells. *Journal of animal science and biotechnology*, 11(1), 1-20.
- Kim, D. H., Lee, Y. K., Lee, S. D., Kim, S. H., & Lee, K. W. (2021). Physiological and behavioral responses of laying hens exposed to long-term high temperature. *Journal of Thermal Biology*, 99, 103017.
- Kim, W. S., Ghassemi Nejad, J., Roh, S. G., & Lee, H. G. (2020). Heat-shock proteins gene expression in peripheral blood mononuclear cells as an indicator of heat stress in beef calves. *Animals*, 10(5), 895.
- Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, j., Musik, I. (2018)."Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly: Possible Medical Application", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>
- Koç, G., Uzmay, A., Çukur, F., (2016). *İklim Değişikliği ve Hayvancılık Sektörü İlişkisinin Dünya'da ve Türkiye'de Tarım Ekonomisi Açısından Değerlendirilmesi*. XII. Tarım Ekonomisi Kongresi, 25- 57 Mayıs 2016, s.203-212, Isparta.
- Koçoğlu, Z. (2020). *İdiyopatik erkek infertilitesi ile seminal plazma ısı şoku proteini 27 (HSP27) düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun
- Koyuncu, M., Akgün, H., (2018). Çiftlik Hayvanları ve Küresel İklim Değişikliği Arasındaki Etkileşim. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32 (1): 151-164, Erişim Tarihi: 28/06/2022. <https://bit.ly/3bAK54v>
- Koyuncu, M., Uzun, Ş. K., Öziş, Ş., (2005). *Süt Keçisi ve Keçi Sütü*. Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi, 154- 159, 26-27 Mayıs, İzmir.
- Kregel KC (2002) Molecular biology of thermoregulation. Invited review: heat shock protein: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 92:2177–2218

- Kupczyński R, Adamski M, Faltá D, Roman A. (2012). The Efficiency of Propolis in Post-Colostrat Dairy Calves. *Archiv fur Tierzucht* 55(4): 315-324.
- Lavery, L. A., Partridge, J. R., Ramelot, T. A., Elnatan, D., Kennedy, M. A., & Agard, D. A. (2014). Structural asymmetry in the closed state of mitochondrial Hsp90 (TRAP1) supports a two-step ATP hydrolysis mechanism. *Molecular cell*, 53(2), 330-343.
- Liang P, MacRae TH. 1997. Molecular chaperones and the cytoskeleton. *Journal of Cell Science*;110(13):1431-40.
- Lindquist, S., & Craig, E. A. (1988). The heat-shock proteins. *Annual review of genetics*, 22(1), 631-677.
- Liu, B. (2019). Effects of transportation stress on the HSP27, HSP70 and HSP90 levels in serum and jejenum of goats. *Chinese Journal of Animal Science*, 55(3), 103-106.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* (2001), 25 (4), 402-408.
- Liyanagamage, D., & Martinus, R. (2020). Role of Mitochondrial Stress Protein HSP60 in Diabetes-Induced Neuroinflammation. *Mediators Of Inflammation*, 2020, 1-8. doi: 10.1155/2020/8073516
- Malik, P. K., Bhatta, R., Takahashi, J., Kohn, R., Prasad, C. S. (Eds.). (2015). Livestock Production and Climate Change. *CABI Climate Change Series*:6, p. 395.
- Manav, S. (2021). *Peynir Alti Suyu Tozu ve Propolis İçeren Mamalar İle Beslenen Oğlaklarda Bazı Büyüme ve Gelişme Özelliklerinin Belirlenmesi* Master's Thesis, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Manav, S., & Yilmaz, M. (2023). Effect of whey and propolis on growth characteristics, on blood values and diarrhea of the goat kids. *VETERINARSKI ARHIV*, 93(2), 223-238.
- Manjari, R., Yadav, M., Ramesh, K., Uniyal, S., Rastogi, S. K., Sejian, V., & Hyder, I. (2015). HSP70 as a marker of heat and humidity stress in Tarai buffalo. *Tropical animal health and production*, 47, 111-116.
- Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM. (2007). Physiological traits as affected by heat stress in sheep: a review. *Small Ruminant Resurch.* 71:1–12.10.1016/j.smallrumres.2006.10.003

- Matwee, C., Kamaruddin, M., Betts, D. H., Basrur, P. K., & King, W. A. (2001). The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 7(9), 829-837.
- Melo, R. P., Castro, L. P., Cardoso, F. F., Barbosa, E. F., Melo, L. Q., Silva, R. B., ... & Pereira, M. N. (2016). Supplementation of palm oil to lactating dairy cows fed a high fat diet during summer. *Journal of Animal Science*, 94, 640-641.
- Meng Q., B. X. Li, and X. Xiao, (2018). "Toward developing chemical modulators of Hsp60 as potential therapeutics," *Frontiers in Molecular Biosciences*, vol. 5, p. 35,.
- Meng, X., Devin, J., Sullivan, W. P., Toft, D., Baulieu, E. E., & Catelli, M. G. (1996). Mutational analysis of Hsp90 α dimerization and subcellular localization: dimer disruption does not impede 'in vivo' interaction with estrogen receptor. *Journal of Cell Science*, 109(7), 1677-1687.
- Meyer, P., Prodromou, C., Hu, B., Vaughan, C., Roe, S. M., Panaretou, B., ... & Pearl, L. H. (2003). Structural and functional analysis of the middle segment of hsp90: implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions. *Molecular cell*, 11(3), 647-658.
- Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M., & Antunes, M. D. (2010). Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3418-3423.
- Minami, Y., Kawasaki, H., Suzuki, K., & Yahara, I. (1993). The calmodulin-binding domain of the mouse 90-kDa heat shock protein. *Journal of Biological Chemistry*, 268(13), 9604-9610.
- Mirzaei, M., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Rahmani, H. R., & Nikkhah, A. (2011). Chromium improves production and alters metabolism of early lactation cows in summer. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 95(1), 81-89.
- Mohamed, R. I., Mosaad, G. M., & Abd El-wahab, H. Y. (2018). Effect of feeding propolis on growth performance of broilers. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 8(3), 66-72.

- Mohanarao, G. J., Mukherjee, A., Banerjee, D., Gohain, M., Dass, G., Brahma, B., ... & De, S. (2014). HSP70 family genes and HSP27 expression in response to heat and cold stress in vitro in peripheral blood mononuclear cells of goat (*Capra hircus*). *Small Ruminant Research*, 116(2-3), 94-99.
- Mondal, T., Avishek, P., Dangi, S. S., Bag, S., Sarkar, M., & Das, B. C. (2020). Expression kinetics of heat-induced genes and possible crosstalk between them in black Bengal goat. *Biological Rhythm Research*, 51(8), 1243-1258.
- Morange, M. (2006). Hsfs in development. *Handb Exp Pharmacol.*, 172, 153–169
- Morsy AS, Abdalla AL, Soltan YA et al. (2013). Effect of Brazilian red Propolis Administration on Hematological, Biochemical Variables and Parasitic Response of Santa Inés Ewes During and After Flushing Period. *Tropical Animal Health and Production*. 45 (7):1609–1618.
- Morsy AS, Soltan YA, Sallam SMA, Alencar SM and Abdalla AL, 2016. Impact of Brazilian red propolis extract on blood metabolites, milk production, and lamb performance of Santa Ines ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 48(5): 1043- 1050, doi: 10.1007/s11250-016-1054-1
- Morsy, A. S., Soltan, Y. A., Elzaiat, H. M., Sallam, S. M. A., Alencar, S. M., Helder, L., Abdalla, A. L. (2011). Effect of two types of Brazilian propolis extracts on rumen gas and methane production and truly degradability in vitro. Middle East. *North African Journal of Animal Science*, 4: 446- 456.
- Moseley, P. (2006). Stress proteins and the immune response. Erişim adresi: www.elsevier.com/locate/immpharm, Erişim Tarihi: 9.04.2014.
- Mujica V, Orrego R, Pérez J, Romero P, Ovalle P, Zúñiga-Hernández J, Arredondo M, Leiva E. (2017). The Role of Propolis in Oxidative Stress and Lipid Metabolism: A Randomized Controlled Trial", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017:4272940. DOI: 10.1155/2017/4272940
- Nativel, B., Planesse, C., Gasque, P., Da Silva, C., Meihac, O., & Viranaïcken, W. (2019). Biology of Extracellular HSP60. *Heat Shock Proteins*, 57-80. doi: 10.1007/978-3-030-02254-9_3

- Özder, M. (2006). Keçi Irkları. s. 17-18. Editör: M. Kaymakçı. Keçi Yetiştiriciliği, Bornova, İzmir.
- Öztürk, E., Kahveci, N., Özlük, K., & Yılmazlar, T. (2009). Isı şok proteinleri. *Turkish Journal of Surgery*, 25(4), 131-136.
- Pahlavani, N., Malekahmadi, M., Firouzi, S., Rostami, D., Sedaghat, A., Moghaddam, A. B., ... & Ghayour-Mobarhan, M. (2020). Molecular and cellular mechanisms of the effects of Propolis in inflammation, oxidative stress and glycemic control in chronic diseases. *Nutrition & Metabolism*, 17, 1-12.
- Pamplona-Zomenhan, L. C., Pamplona, B. C., Silva, C. B. D., Marcucci, M. C., & Mimica, L. M. J. (2011). Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of an ethanol extract of Brazilian classified propolis on strains of *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1259-1264.
- Panaretou, B., Prodromou, C., Roe, S. M., O'Brien, R., Ladbury, J. E., Piper, P. W., & Pearl, L. H. (1998). ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the Hsp90 molecular chaperone in vivo. *The EMBO journal*, 17(16), 4829-4836.
- Panaretou, B., Siligardi, G., Meyer, P., Maloney, A., Sullivan, J. K., Singh, S., ... & Prodromou, C. (2002). Activation of the ATPase activity of hsp90 by the stress-regulated cochaperone aha1. *Molecular cell*, 10(6), 1307-1318.
- Parida, S., Mishra, S. R., Mishra, C., Dalai, N., Mohapatra, S., Mahapatra, A. P. K., & Kundu, A. K. (2020). Impact of heat stress on expression kinetics of HSP27 in cardiac cells of goats. *Biological Rhythm Research*, 51(6), 925-933.
- Parida, S., Mishra, S. R., Mishra, C., Mohapatra, S., Dalai, N., Mahapatra, A. P. K., & Kundu, A. K. (2020). Impact of heat stress on transcriptional abundance of HSP70 in cardiac cells of goat. *Animal Biotechnology*, 31(3), 223-228.
- Parsell, D. A., & Lindquist, S. (1993). The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annual review of genetics*, 27(1), 437-496.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., Gan, S. H. (2017). "Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits" , *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, , Article ID 1259510, 21.

- Pearl, L. H., Prodromou, C., & Workman, P. (2008). The Hsp90 molecular chaperone: an open and shut case for treatment. *Biochemical Journal*, 410(3), 439-453.
- Petrof EO, Ciancio MJ, Chang EB. (2004). Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Journal of Digestive Diseases*;5(2):45-50.
- Pimenta, H. C., Violante, I. M. P., MUSIS, C. R. D., Borges, A. H., & Aranha, A. M. F. (2015). In vitro effectiveness of Brazilian brown propolis against *Enterococcus faecalis*. *Brazilian oral research*, 29, 1-6.
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Qu, B., Jia, Y., Liu, Y., Wang, H. & Ren, G. (2015). The detection and role of heat shock protein 70 in various nondisease conditions and disease conditions: a literature review. *Cell Stress Chaperones* 20, 885–892.
- Ramanauskienė, K., & Inkėnienė, A. M. (2011). Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity. *Natural product research*, 25(15), 1463-1468.
- Ranganathan, G., Unal, R., Pokrovskaya, I., Yao-Borengasser, A., Phanavanh, B., Lecka-Czernik, B., ... & Kern, P. A. (2006). The lipogenic enzymes DGAT1, FAS, and LPL in adipose tissue: effects of obesity, insulin resistance, and TZD treatment. *Journal of lipid research*, 47(11), 2444-2450.
- Rashed H., M., Bayraktar, E., K. Helal, G., Abd-Ellah, M. F., Amero, P., Chavez-Reyes, A., & Rodriguez-Aguayo, C. (2017). Exosomes: from garbage bins to promising therapeutic targets. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 538.
- Reshma Nair M. R., V. Sejian, M.V. Silpa, V.F.C. Fonsêca, C.C. de Melo Costa, C. Devaraj, G. Krishnan, M. Bagath, P.O. Nameer, R. Bhatta. (2021). Goat as the ideal climate resilient animal model in tropical environment: Revisiting advantages over other livestock species, *International Journal of Biometeorology*, 65 (12), pp. 2229-2240
- Rhoads, R. P., Baumgard, L. H., Suagee, J. K., & Sanders, S. R. (2013). Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. *Advances in nutrition*, 4(3), 267-276.

- Rochet JC, Outeiro TF, Conway KA, Ding TT, Volles MJ, Lashuel HA, Bieganski RM, Lindquist SL, Lansbury PT. (2004). Interactions among alphasynuclein, dopamine, and biomembranes some clues for understanding neurodegeneration in Parkinson's disease. *J Mole Neurosci.* 23:23–33.10.1385/JMN:23:1-2
- Rosenzweig, R., Nillegoda, N. B., Mayer, M. P., & Bukau, B. (2019). The Hsp70 chaperone network. *Nature reviews molecular cell biology*, 20(11), 665-680.
- Roussou, I., Lambropoulos, I., Pagoulatos, G. N., Fotsis, T., & Roussis, I. G. (2004) Decrease of heat shock protein levels and cell populations by wine phenolic extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(4), 1017-1024.
- Saeed, F. A., R.S.; Arshad, M.U.; Niaz, B.; Batool, R.; Naz, R.; Ansar Rasul Suleria, H. (2016). "Propolis to curb lifestyle related disorders: An overview." *International journal of food properties* 19(2): 420-437.
- Sahu, S., Mishra, S. R., & Kundu, A. K. (2021). Impact of thermal stress on expression dynamics of HSP60 in cardiac fibroblast cells of goat. *Animal Biotechnology*, 32(3), 327-333.
- Sahu, S., Mishra, S. R., Behera, S. S., Mishra, C., Mohapatra, S., Dalai, N., ... & Kundu, A. K. (2022). Impact of heat challenge on expression dynamics of HSP90 in cardiac cells of goat. *Biological Rhythm Research*, 53(5), 689-695.
- Samali, A., Orrenius, S. (1998). Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress and Chaperones*, 3: 228-236.
- Sammad, A., Wang, Y. J., Umer, S., Lirong, H., Khan, I., Khan, A., ... & Wang, Y. (2020). Nutritional physiology and biochemistry of dairy cattle under the influence of heat stress: *Consequences and opportunities*. *Animals*, 10(5), 793.
- Sarker, M. S. K., & Yang, C. J. (2010). Propolis and illite as feed additives on performance and blood profiles of pre-weaning Hanwoo calves. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(19), 2526-2531.
- Sawicka, D., Car, H., Borawska, M. H., & Nikliński, J. (2012). The anticancer activity of propolis. *Folia histochemica et cytobiologica*, 50(1), 25-37.
- Schnitzler, P., Neuner, A., Nolkemper, S., Zundel, C., Nowack, H., Sensch, K. H., & Reichling, J. (2010). Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytotherapy Research*, 24(S1), S20-S28.

- Schoenberg, K. M., & Overton, T. R. (2011). Effects of plane of nutrition and 2, 4-thiazolidinedione on insulin responses and adipose tissue gene expression in dairy cattle during late gestation. *Journal of dairy science*, 94(12), 6021-6035.
- Seguin B. 2008. The consequences of global warming for agriculture and food production. In: Rowlinson PM, Steele, Nefzaoui A, editors. Proceedings International Conference "Livestock and Global Climate Change". Hammamet: Tunisia; May 17–20; p. 9–11.
- Sejian, V., Maurya, V. P., & Naqvi, S. M. (2012). Effect of walking stress on growth, physiological adaptability and endocrine responses in Malpura ewes in a semi-arid tropical environment. *International Journal of Biometeorology*, 56, 243-252.
- Sejian, V., Maurya, V. P., Kumar, K., & Naqvi, S. M. K. (2013). Effect of multiple stresses (thermal, nutritional and walking stress) on growth, physiological response, blood biochemical and endocrine responses in Malpura ewes under semi-arid tropical environment. *Tropical Animal Health and Production*, 45, 107-116.
- Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of ethnopharmacology*, 133(2), 253-260.
- Shedeed, H. A., Farrag, B., Elwakeel, E. A., Abd El-Hamid, I. S., & El-Rayes, M. A. H. (2019). Propolis supplementation improved productivity, oxidative status, and immune response of Barki ewes and lambs. *Veterinary world*, 12(6), 834.
- Shilja S, Sejian V, Bagath M, Mech A, David ICG, Kurien EK, Varma G, Bhatta R (2016) Adaptive capability as indicated by behavioral and physiological responses, plasma HSP70 level and PBMC HSP70 mRNA expression in Osmanabadi goats subjected to combined (heat and nutritional) stressors. In J Biometeorol 60:1311–1323
- Silici, S. (2015). "Propolis Üzerine Ön Klinik Araştırmalar", *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(3), 185-191.
- Silva, C. S. R., Barreto, C. L. P., de Moraes Peixoto, R., Mota, R. A., de Fátima Ribeiro, M., & Da Costa, M. M. (2012). Antibacterial effect of Brazilian brown propolis in different solvents against staphylococcus spp. isolated from caprine mastitis. *Ciência Animal Brasileira*, 13(2), 247-251.
- Silva, J. C., Rodrigues, S., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2012). Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1790-1795.

- Sonna LA, Gaffin SL, Pratt RE, Cullivan ML, Angel KC, Lilly CM. (2002). Effect of acute heat shock on gene expression by human peripheral blood mononuclear cells. *J Appl Physiol*. 92:2208–2220.10.1152/jappphysiol.01002.2001
- Soti, C.; Vermes, Á.; Haystead, T.A.J.; Csermely, P. (2003). Comparative analysis of the ATP-binding sites of HSP90 by nucleotide affinity cleavage: A distinct nucleotide specificity of the C-terminal ATP-binding site. *Eur. J. Biochem*, 270, 2421–2428.
- Sreedhar, A. S., Kalmár, É., Csermely, P., & Shen, Y. F. (2004). Hsp90 isoforms: functions, expression and clinical importance. *FEBS letters*, 562(1-3), 11-15.
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., & Zhang, H. (2015). Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2015, 1-9. doi: 10.1155/2015/595393
- Taghavizadeh Yazdi, M. E., Amiri, M. S., Nourbakhsh, F., Rahnama, M., Forouzanfar, F., & Mousavi, S. H. (2021). Bio-indicators in cadmium toxicity: Role of HSP27 and HSP70. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(21), 26359-26379.
- Taha E. A., Ono K., and T. Eguchi. (2019). “Roles of extracellular HSPs as biomarkers in immune surveillance and immune evasion,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 18, p. 4588,.
- Tang, S., Chen, H., Cheng, Y., Nasir, M. A., Kemper, N., & Bao, E. (2016). Expression profiles of heat shock protein 27 and α B-crystallin and their effects on heat-stressed rat myocardial cells in vitro and in vivo. *Molecular medicine reports*, 13(2), 1633-1638.
- Taniguchi, Y.; Ooie, T.; Takahashi, N.; Shinohara, T.; Nakagawa, M.; Yonemochi, H.; Hara, M.; Yoshimatsu, H.; Saikawa, T. (2006). Pioglitazone but not glibenclamide improves cardiac expression of heat shock protein 72 and tolerance against ischemia/reperfusion injury in the heredity insulin-resistant rat. *Diabetes*, 55, 2371–2378.
- Tolon B, Önenç A, Kaya A, Altan Ö. (2002). Effects of Propolis on Growth of Calves. 1st German Congress for Bee Products and Apitherapy. 23-24 March, Passau-Germany.P.71.
- Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.

- Tsutsumi, S., Mollapour, M., Graf, C., Lee, C. T., Scroggins, B. T., Xu, W., ... & Neckers, L. (2009). Hsp90 charged-linker truncation reverses the functional consequences of weakened hydrophobic contacts in the N domain. *Nature structural & molecular biology*, 16(11), 1141-1147.
- Tsutsumi, S., Mollapour, M., Prodromou, C., Lee, C. T., Panaretou, B., Yoshida, S., ... & Neckers, L. M. (2012). Charged linker sequence modulates eukaryotic heat shock protein 90 (Hsp90) chaperone activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 2937-2942.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) (2022). Hayvansal Üretim İstatistikleri, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-%C3%9Cretim-%C4%B0statistikleri-Aral%C4%B1k-2021-45593&dil=1> Erişim tarihi: 28/06/2022
- Ulusal, H., (2015). *Demir Eksikliği Anemisi Ve B Talasemi Minörde Isı Şok Proteinleri*. Yüksek Lisans Tezi. T.C. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Gaziantep
- Valente, É. E. L., Chizzotti, M. L., de Oliveira, C. V. R., Galvão, M. C., Domingues, S. S., de Castro Rodrigues, A., & Ladeira, M. M. (2015). Intake, physiological parameters and behavior of Angus and Nellore bulls subjected to heat stress. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(6Supl2), 4565-4574.
- Vit, P., Huq, F., Barth, O., Campo, M., Pérez-Pérez, E., Tomás-Barberán, F., & Santos, E. (2015). Use of propolis in cancer research. *British Journal of medicine and medical Research*, 8(2), 88-109.
- Wagh, V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2013., 308249.
- Walther, D. M., Kasturi, P., Zheng, M., Pinkert, S., Vecchi, G., Ciryam, P., ... & Hartl, F. U. (2015). Widespread proteome remodeling and aggregation in aging *C. elegans*. *Cell*, 161(4), 919-932.
- Wang, B.; Wang, C.; Guan, R.; Shi, K.; Wei, Z.; Liu, J.; Liu, H. (2019). Effects of Dietary Rumen-Protected Betaine Supplementation on Performance of Postpartum Dairy Cows and Immunity of Newborn Calves. *Animals*, 9, 167.

- Wells, J. E., Berry, E. D., Kim, M., Shackelford, S. D., & Hales, K. E. (2017). Evaluation of Commercial β -Agonists, Dietary Protein, and Shade on Fecal Shedding of *Escherichia coli* O157: H7 from Feedlot Cattle. *Foodborne Pathogens and Disease*, 14(11), 649-655.
- Whitesell, L., & Lindquist, S. L. (2005). HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5(10), 761-772.
- Wieczynska, A., Wezgowiec, J., Wieckiewicz, W., Czarny, A., Kulbacka, J., Nowakowska, D., ... & Wilk, K. A. (2017). Antimicrobial activity, cytotoxicity and total phenolic content of different extracts of propolis from the west Pomeranian region in Poland. *Acta Pol. Pharm*, 74, 715-722.
- Wijffels, G., Sullivan, M., & Gaughan, J. (2021). Methods to quantify heat stress in ruminants: Current status and future prospects. *Methods*, 186, 3-13.
- Wikipedia. Global_warming_controversy-Global_average_temperature_-_NASA-GISS_HadCrut_NOAA_Japan_BerkeleyE.svg
https://en.wikipedia.org/wiki/Global_warming_controversy#/media/File:20200324_Global_average_temperature_-_NASA-GISS_HadCrut_NOAA_Japan_BerkeleyE.svg
 [Erişim Tarihi: 08/07/2023]
- Wolska, K., Górska, A., & Adamiak, A. (2016). Właściwości przeciwbakteryjne propolisu. *Postępy mikrobiologii*, 55(4).
- Yildirim, Z., Hacievliyagil, S., Kutlu, N. O., Aydin, N. E., Kurkcuoglu, M., Iraz, M., & Durmaz, R. (2004). Effect of water extract of Turkish propolis on tuberculosis infection in guinea-pigs. *Pharmacological Research*, 49(3), 287-292.
- Yilmaz, M., Kayki, M., AŞICI, G. S. E., & Kiral, F. (2018). The mRNA gene expression profiles for Hsp60 and Hsp70 in various aged Saanen goats in different Seasons. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(1).
- Yonar, M.E. (2017). "Propolisin Genel Özellikleri ve Balıklarda Kullanımı", *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(9), 1015-1023.
- Yücel, B., Önenç, A., Kaya, A., & Altan, Ö. (2015). Effects of propolis administration on growth performance and neonatal diarrhea of calves. *SOJ Veterinary Sciences*, 1(1), 102-106.

- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., & Lobaccaro, J. M. A. (2017). Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, 207, 214-222.
- Zawadzki, F., Prado, I. N., Marques, J. A., Zeoula, L. M., Rotta, P. P., Sestari, B. B., ... & Rivaroli, D. C. (2011). Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20(1), 16-25.
- Zhang, Y.; McCarl, B.; Jones, J. (2017). An Overview of Mitigation and Adaptation Needs and Strategies for the Livestock Sector. *Climate* , 5, 95.

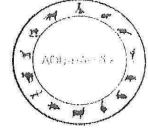


EKLER

Ek.1



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 18/03/2021

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı III. Oturum
Sayı : 64583101/2021/037
Proje Başlığı : Propolis Verilen Oğlakların Sütten Kesim Öncesi Ve Sonrası Hsp30 Ve Hsp70 Gen Ekspresyon Profili Ve Bazı Fizyolojik Stres Parametreleri Üzerine Etkisi.
ProjeYürütücüsü : Murat YILMAZ
Proje Ekibi : Hasan ÇOĞAN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde;

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması

İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması

Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması

İnsanlarda araştırma

İnsan olmayan primatların kullanılması

Transgenik hayvanların kullanılması

Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“PROPOLİSİN, OĞLAKLARDA, FARKLI MEVSİMLERDE HSP27 ve HSP70 GEN EKSPRESYON PROFİLİ ve BAZI FİZYOLOJİK STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı Yüksek Lisans tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Hasan ÇOĞAN

26 / 07/ 2023

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÇOĞAN, Hasan

Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi (Yıl)
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2023
Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2019

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Gültekin, A. K., Özdemir, D., Bener, L., Toparslan, E., Yılmaz, M., Çağlı, A., Çoğan, H. & Ertürk, D. (2023). Identification of Local Camel Populations in Türkiye Using Morphological, Genetic, and Breeding Info.