T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

YOĞUNLUK STRESİ UYGULANAN YUMURTA TAVUKLARINDA KETEN TOHUMU VE AYÇİÇEK YAĞININ PERFORMANS, İMMUN VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİLERİ

MEHMET KETEN

DANIŞMAN
PROF. DR. ERDAL MATUR

VETERİNER FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mehmet KETEN

TEŞEKKÜR

Her şeyden önce, Doktora eğitimime başladığım günden itibaren bana yol gösteren, danışmanlığımı üstlenen, tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde bilimsel destekleri ile değerli yardımlarını esirgemeyen akademik danışmanlığının yanı sıra her zaman için örnek aldığım çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Erdal MATUR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Öğrencisi olma şansına sahip olduğum ilgi ve desteklerini herzaman hissettiğim Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN'a, Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Ülker ÇÖTELİOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Murat ARSLAN'a, Sayın Doç. Dr. Elif ERGÜL EKİZ'e, Sayın Doç. Dr. İbrahim AKYAZI'ya, Sayın Doç. Dr. Evren ERASLAN'a, en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Neşe KOCABAĞLI'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Denemelerin kurulması ve yürütülmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen, değerli görüş ve önerilerini benimle paylaşan Sayın Prof. Dr. Hüseyin ESECELİ'ye teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmalardaki yardımları için sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Ezgi ERGEN'e, Arş. Gör. Mert EREK'e, Songül ERHAN'a, Burak KARAHANGİL'e ve Zeynep Aruç TATLIAĞIZ'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Denemelerin gerçekleşmesi için ihtiyaç duyduğum her an her türlü imkânı sağlayan Sayın Mustafa YILDIRIM'a ve Mert BOZ'un şahsında MRT Tavukçuluğa, tez projeme maddi destek sağlayan İ.Ü.C. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ve son olarak doktora tez çalışmam süresince beni yalnız bırakmayan, her zaman desteklerini gördüğüm aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27671

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
TEŞEKKÜR ..... İV
İÇİNDEKİLER V
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİ
ÖZET ..... XİV
ABSTRACT XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Türkiye'de tavukçuluk sektörü 4
2.2. Yumurta tavukçuluğu 4
2.3. Stres fizyolojisi 5
2.3.1. Kanatlılarda HPA eksenin aktivasyonu 6
2.3.2. Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu 6
2.3.3. Streste inflamasyon ve immun sistemin aktivasyonu 7
2.3.4. Streste davranışsal adaptasyon 8
2.3.5. Kanatlılar neden strese daha yatkındır ? 8
2.4. Kanatlılarda stres etkenleri 9
2.5. Yoğunluk stresi 11
2.6. Stresin yumurtacı tavuklarda performansa etkisi 12
2.7. Kanatlı rasyonunda yağların kullanılması 13
2.7.1. Keten tohumu yağı 15
2.7.2. Ayçiçeği yağı 17
2.8. Kanatlılarda savunma sistemi 18
2.8.1. Heterofiller 20
2.8.2. Fagositik aktivite 21
2.8.3. Oksidatif patlama 22
2.8.4. Kemotaksik aktivite 23

2.8.5. Yardımcı T hücreler 23
2.8.6. Sitotoksik T hücreler 25
2.9. Sitokinler 25
2.9.1. İnterlökin-1 beta 26
2.9.2. Interlökin-4 27
2.9.3. İnterlökin-10 28
2.9.4. Tümör nekroz faktör-alfa 28
2.10. Kanatlılarda antioksidan savunma sistemleri 29
2.10.1. Malondialdehit 30
2.10.2. Glutatyon peroksidaz 31
2.10.3. Katalaz 32
2.10.4. Askorbik asit 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 34
3.1. Tavuklar ve barınma şartları 34
3.2. Araştırma dizaynı ve gruplar 34
3.3. Yemler 34
3.4. Denemede kullanılan yağlar 35
3.5. Performans parametreleri 36
3.6. Yumurta kalite parametreleri 36
3.7. Kan örneklerinin alınması 36
3.8. Lökosit alt tiplerinin belirlenmesi 36
3.9. Flow sitometrik analizler 37
3.9.1. Heterofillerin tam kandan izole edilmesi 37
3.9.2. Heterofil fonksiyon testleri 37
3.9.3. T Hücrelerin saptanması 37
3.10. Serum sitokin düzeylerinin saptanması 38
3.11. Antioksidan savunma sistemine ilişkin parametrelerin ölçülmesi 38
3.12. İstatistiksel analizler 39
4. BULGULAR 40
4.1. Stres düzeyi (H/L oranı) 40
4.2. Canlı ağırlık 40
4.3. Performans (Yumurta üretimi- Yumurta kalite parametreleri) 41

4.3.1. Yumurta üretimi 41
4.3.2. Ortalama yumurta ağırlığı 42
4.3.3. Yumurta Kütlesi 42
4.3.4. Kabuk ağırlığı 43
4.3.5. Kabuk kalınlığı 44
4.3.6. Kabuk direnci 44
4.3.7. Haugh ünitesi 45
4.3.8. Yumurta akı yüksekliği 45
4.3.9. Renk indeksi 46
4.4. İmmun sistem 46
4.4.1. Fagositik aktivite 46
4.4.2. Oksidatif patlama 47
4.4.3. Kemotaksik aktivite 48
4.4.4. Yardımcı T hücreler 48
4.4.5. Sitotoksik T hücreler 49
4.4.6. CD4/CD8 oranı 50
4.5. Sitokinler 50
4.6. Antioksidan savunma sistemi 51
5. TARTIŞMA 53
5.1. Stres düzeyi (H/L oranı) 53
5.2. Canlı ağırlık 53
5.3. Performans 54
5.3.1. Yumurta üretimi 54
5.3.2. Ortalama yumurta ağırlığı 55
5.3.3. Yumurta kütlesi 56
5.4. Yumurta kalitesine ilişkin parametreler 57
5.4.1. Dış kalite parametreleri 58
5.4.1.1. Kabuk ağırlığı 58
5.4.1.2. Kabuk kalınlığı 58
5.4.1.3. Kabuk direnci 59
5.4.2. İç kalite parametreleri 59
5.4.2.1. Haugh ünitesi 59

5.4.2.2. Yumurta akı yüksekliği 60
5.4.2.3. Renk indeksi 60
5.5. İmmun sistem 61
5.5.1. Fagositik aktivite 61
5.5.2. Oksidatif patlama 62
5.5.3. Kemotaksik aktivite 63
5.5.4. Hücresel immun yanıt 64
5.6. Sitokinler 66
5.6.1. Serum IL-4 düzeyi 66
5.7.2 Serum IL-1β düzeyi 67
5.6.3. Serum IL-10 düzeyi 67
5.6.4. Serum TNF-α düzeyi 68
5.7. Antioksidan savunma sistemi 69
5.7.1. Serum MDA düzeyi 69
5.7.2. Serum katalaz düzeyi 70
5.7.3. Serum GSH-Px düzeyi 71
5.7.4. Serum askorbik asit düzeyi 72
5.8. Sonuç 72
KAYNAKLAR 75
ETİK KURUL KARARI 118
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 121
ÖZGEÇMİŞ 122

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Araştırmada kullanılan temel rasyonun bileşimi

Tablo 3-2: Araştırmada kullanılan temel rasyonun besin maddeleri içeriği (%) ve metabolize olabilir enerji düzeyi (ME Kkal/kg)

Tablo 4-1: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının heterofil lenfosit tablosu üzerine etkisi

Tablo 4-2: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının sitokinlere etkisi

Tablo 4-3: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının antioksidan savunma sistemine etkisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4-1: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının canlı ağırlığa etkisi.

Şekil 4-2: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta üretimine etkisi.

Şekil 4-3: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının ortalama yumurta ağırlığına etkisi.

Şekil 4-4: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kütlesine etkisi.

Şekil 4-5: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğu ağırlığına etkisi.

Şekil 4-6: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğu kalınlığına etkisi.

Şekil 4-7: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğunun kırılma direncine etkisi.

Şekil 4-8: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının Haugh ünitesine etkisi.

Şekil 4-9: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta akı yüksekliğine etkisi.

Şekil 4-10: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının Yumurta sarısının renk indeksine etkisi.

Şekil 4-11: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının fagositik aktiviteye etkisi.

Şekil 4-12: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının oksidatif patlamaya etkisi.

Şekil 4-13: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının kemotaksik aktiviteye etkisi.

Şekil 4-14: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının CD4+ hücrelere etkisi.

Şekil 4-15: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının CD8+ hücrelere etkisi.

Şekil 4-16: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının CD4/ CD8 oranına etkisi

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH: Adrenokortikotropik hormon

ALA: α-linolenik asit,

ARA: Araşidonik asit

Ayç. Yağı: Ayçiçek yağı

AVT: Arginin vasotosin

BALT: Akciğerlerde ilişkili lenfoid doku

Ca: Kalsiyum

CAT: Katalaz

CASP-1/ICE: Kaspaz-1

CD: Farklılaşma kümesi-Cluster of differentiation

CO2: Karbondioksit

CoQ: Coenzyme Q

CRH: Kortikropropin salgılatıcı hormon

Cu/Zn-SOD: Bakır çinko içeren süperoksit dismutaz

DHA: Dokosahexaenoik asit

EPA: Eikosapentaenoik asit

FAO: Gıda ve tarım örgütü-Food and agriculture organization

FAWC: Farm animal welfare council

fMLP: N-Formilmetil-lösil-fenilalanin

GALT: Gastrointestinal kanal mukozasına ilişkili lenfoid doku

GH: Büyüme hormonu

GLA: Gamma-linolenik asit

GSH: Glutatyon

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

H/L oranı: Heterofil lenfosit oranı

H2O2: Hidrojen peroksit

HCO3: Bikarbonat

HOCl: Hipoklorik asit

HPA: Hipotalamik hipofiz-adrenal

HSP: Isı şok proteinleri

IFN-γ: İnterferon-gamma

Ig: İmmünoglobulin

IL-1: İnterlökin-1

IL-18: İnterlökin-18

IL-1β: İnterlökin-1 Beta

IL-4: İnterlökin-4

IL-6: İnterlökin-6

LA: Linoleik asit

LPS: Lipopolisakkarit

Keten T Yağı : Keten Tohumu yağı

MALT: Mukozayla ilişkili lenfoid doku

MDA: Malondialdehit

Mn-SOD: Manganez içeren süperoksit dismutaz

MPO: Miyeloperoksidaz

Msr: Metiyonin sülfoksit redüktaz

MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri-Monounsaturated faty acids

NADPH oksidaz: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz

NGF: Sinir büyüme faktörü

NK: Doğal öldürücü- natural killer

NRC: Amerika Ulusal Araştırma Konseyi-National Research Council

O2: Oksijen

O3: Ozon

OH: Hidroksil radikali

PBS: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi-phosphate buffered saline

PGE2: Prostaglandin- E2

PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri-Poliunsaturated faty acids,

SOD: Süperoksit dismutaz

TAGEM: Tarımsal araştırmalar ve politikalar genel müdürlüğü

TCR: T-hücre reseptörü

Temel R.: Temel rasyon

TNF-α: Tümör nekroz faktörü alfa TTh -yardımcı T hücreler

ÖZET

Keten, M. (2020). Yoğunluk Stresi Uygulanan Yumurta Tavuklarında Keten Tohumu ve Ayçiçek Yağının Performans, İmmun ve Antioksidan Savunma Sistemine Etkileri. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Fizyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: yumurta tavuğu, stres, keten tohumu yağı, ayçiçek yağı, immun sistem

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27671

Sunulan çalışmada yumurtacı tavuklarda yoğunluk stresinin ve yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağlarının immun sisteme, antioksidan savunma mekanizmasına ve üretim performansına etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Araştırmada 144 adet yumurtacı tavuk kullanıldı. Hayvanlar yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayanlar olarak ikiye ayrıldı. Bunlar da kendi arasında temel rasyon, keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı verilenler olarak üçer gruba ayrıldı. Üretim performansına, yumurta kalitesine, heterofil fonksiyonlarına, T hücrelerine, antioksidan savunma sistemine ve sitokinlere ilişkin parametreler incelendi. Stres x yem etkileşiminin yumurta üretimini, yumurta ağırlığını, yumurta kütlesini ve renk indeksini etkilediği belirlendi. Keten tohumu yağı stres uygulananlarda yumurta üretimini ve yumurta kütlesini arttırdığı, stres uygulanmayanlarda ise her ikisini de azalttığı görüldü. Ayçiçek yağının stres uygulananlarda ve uygulanmayanlarda ortalama yumurta ağırlığını arttırdığı saptandı. Keten tohumu yağının stres uygulananlarda CD4/CD8 oranını arttırırken, stres uygulanmayanlarda etkilemediği belirlendi. Stres uygulanan tavuklarda yağların IL-1β'yı etkilemediği, stres uygulanmayanlarda ise ayçiçek yağının IL-1β düzeyinin azalttığı görüldü. Stres uygulanan tavukların yemlerine keten tohumu ve ayçiçek yağı katıldığında TNF-α düzeyinin azaldığı saptandı. Strese maruz kalan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde MDA düzeyinin azaldığı, stres uygulanmayanlarda değişmediği belirlendi. Stres uygulanan tavuklarda keten tohumu yağının GSH-Px düzeyini etkilemediği, stres uygulanmayan tavuklarda ise arttırdığı saptandı. Ayrıca stresinin H/L oranını arttırdığı, fagositik ve kemotaksik aktiviteyi azalttığı görüldü. Yeme katılan keten tohumu yağının H/L oranını azalttığı, ayçiçek yağının ise oksidatif patlamayı ve kemotaksik aktiviteyi arttırdığı belirlendi. Sonuç olarak rasyona ilave edilen bitkisel yağların strese altındaki tavuklarda üretim performansını, spesifik ve non-spesifik immun sistemi, sitokinleri ve antioksidan savunma sistemini olumlu yönde etkilediği belirlendi. Bu nedenle keten tohumu ve ayçiçek yağının strese maruz kalan tavuklarda kullanılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı.

ABSTRACT

Keten, M. (2020). The Effects of Linseed and Sunflower Oil on Performance, Immune and Antioxidant Defense System, in Laying Hens with Density Stress. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Physiology. Doctoral Thesis İstanbul.

The aim of this study is to determine the effects of linseed and sunflower oils on performance, immune system, and antioxidant defense systems in laying hens exposed to stocking density stress. Totaly 144 laying hens were used in the study. Hens were grouped as un-stressed and density stressed, these are also divided into three as basic ration, linseed oil and sunflower oil supplemented groups. Parameters related to production performance, egg quality, heterophile functions, T cells, antioxidant defense system and cytokines were examined. Stress x feed interaction affects egg production, weight, mass and yolk color index. Linseed oil increased egg production and mass in stresed group, both parameters were decreased in un-stressed group. Sunflower oil increased egg weight in both groups. Linseed oil increased the CD4/CD8 ratio in stresed group, but did not affect it in un-stressed group. It was observed that sunflower oil decreased IL-1β level in un-stresed group. Linseed and sunflower oils decreased the TNF-α level of the stressed chickens, when linseed oil was given to the chickens exposed to stress the level of MDA, decreased but did not change this level in un-stressed group. Linseed oil did not affect GSH-Px level in stressed but increased it in non-stress chickens. Stress increased H/L ratio but decreased phagocytic and chemotaxic activity. The linseed oil reduced the H/L ratio, sunflower oil was determined to increased oxidative burst and chemotaxic activity. It was determined that the vegetable oils added to the ration positively affect the production performance, specific and non-specific immune system, cytokines and antioxidant defense system in chickens under stress. Therefore, it was concluded that the use of linseed and sunflower oil in chickens exposed to stress would be beneficial.

Key Words: laying hens, stress, linseed oil, sunflower oil, immun system

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa, Project No. 27671.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Artan nüfusun gereksinimi karşılayacak düzeyde yeterli ve sağlıklı besin maddelerinin sağlanması dünyadaki en kritik konulardan biridir. Bu bağlamda, kanatlı ürünleri kolay ve ucuz üretim alternatifleri sunduğu için stratejik bir öneme sahiptir. Günümüzde tüketici tercihlerinin protein kaynağı olarak beyaz ete ve yumurtaya yönelmesi de tavukçuluk sektörünün büyümesine katkı sağlamaktadır. 2017 yılı FAO (Food and Agriculture Organization) verilerine göre; Dünya'da yaklaşık 80 bin ton tavuk yumurtası ve 109 bin ton tavuk eti üretimi yapılmıştır (FAO 2017). Ülkemiz yumurta ve tavuk eti üretiminde Dünya'da ve Avrupa'da ilk sıralarda yer almaktadır. Yumurta tavukçuluğu ulusal ekonomimize önemli ölçüde katma değer sağlayan, sürekli büyüyen, yoğun istihdam sağlayan ve üretimi destekleyen önemli sektörlerden biridir. Türkiye'de modern tavukçuluğun temeli Cumhuriyet'in ilk yıllarında atılmıştır. İlk modern işletmeler 1950'li yıllarda hayata geçirilmiş, 1970'li yıllarda yumurta ve et üretimine dönük işletmeler geliştirilmiş, 1980'lerden sonra damızlık işletmeleri de faaliyete geçirilerek bugünkü kapasitesine ulaşmıştır (Akbay ve ark. 1995; Çakı 2007).

Memelilerde ve kanatlılarda stres önemli çevresel faktörlerden biridir. Strese maruz kalan kanatlılarda metabolik faaliyetlerde, büyüme, gelişme, canlı ağırlık artışı ve yumurta verimi gibi performansa ilişkin parametrelerde, kas, iskelet sisteminin gelişmesinde ve hayvanların refahında önemli değişimler meydana gelmektedir. İmmun sistem üzerine çok yönlü etkileri olan stresin, enfeksiyona yakalanma riskini arttırdığı ve savunma mekanizmalarını etkilediği de bilinen bir gerçektir. Her ne kadar idari tedbirlerle stres etkenleri azaltılmaya çalışılsa da ticari amaçla oldukça büyük kümeslerde yetiştirilen kanatlıların çeşitli stres etkenleriyle karşılaşması kaçınılmazdır. Evcilleştirmeye bağlı olarak genetik yapıda meydana gelen değişimler stresi algılama ve stresle başa çıkma mekanizmalarını etkilemiştir. Üstelik verimi arttırmak için yıllar boyunca yapılan seleksiyonlar strese olan yatkınlığı daha da arttırmıştır.

Kanatlılar memelilere oranla strese daha yatkın hayvanlardır. Bu nedenle memelilerde stres oluşturmayacak pek çok faktör kanatlılarda stres etkeni olarak algılanmaktadır. Örmeğin predatör varlığı, gaga kesimi, kümeste ya da kafeste yabancı tavukların olması, ışık kaynağının yetersiz ya da aşırı parlak olması, sıcak, soğuk, transport, titreşim, gürültü, yem ve su kaynaklarının kısıtlı olması gibi pek çok faktör kanatlılar için strese neden olabilir. Modern kümeslerde karşılaşılan stres etkenlerinden biri de yoğunluk stresidir. Yetiştiriciler yatırım ve işletme masraflarını azaltmak için kafes yoğunluğunu arttırma eğilimindedirler. Bu da kafeslerde tavuk başına ayrılan alanın

ya da yemlik ve suluğun yetersiz olmasına neden olmaktadır. Genellikle uzun süreli olduğu için kronik stres olarak tanımlanır.

Savunma sistemi bir bütün olmasına rağmen fonksiyonel olarak non-spesifik ve spesifik olarak ikiye ayrılabilir. Heterofiller başta olmak üzere fagositik hücrelerin oluşurduğu savunma hattı non-spesifik, lenfositlerin oluşturduğu savunma hattı spesifik olarak adlandırılır. Eskiden non-spesifik savunma sisteminin etkinliğini değerlendirmek için genellikle heterofillerin periferik kandaki oranları saptanmaktaydı. Günümüzde flow sitometri gibi hücresel düzeyde incelemeye imkân veren teknikler sayesinde fagositik aktivite, oksidatif patlama ya da kemotaksik aktivite gibi hücre fonksiyonları incelenebilmektedir. İmmun sisteme ilişkin girişimlerin ya da faktörlerin spesifik immun sisteme olan etkilerini değerlendirmek için yardımcı ve sitotoksik T hücrelerdeki değişimler de analiz edilebilmektedir. Strese maruz kalan hayvanlarda heterofillerin etkinliğini inceleyen çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Stresin olası etkilerini bütüncül olarak değerlendirmek için sadece immun sistemi incelemek yeterli olmayabilir. Stresin antioksidan savunma sistemine olan etkileri de dikkate alınmaktadır. Aynı şekilde stresin organizmada meydana getirdiği değişimleri, olası etkilerini ve altındaki mekanizmaları tam olarak değerlendirmek için sitokinlerdeki değişimler de incelenmelidir. Çünkü sitokinler savunma hücreleri arasındaki haberleşmeyi sağlayan maddelerdir. Savunma reaksiyonlarının aktive edilmesinde ya da aşırı reaksiyonların sınırlandırılmasında son derece önemli rolleri vardır.

Sunulan bu çalışmada stresin organizma üzerindeki etkileri irdelenirken kullanılan hayvan modeli tavuklar olduğu için performans parametreleri de ele alındı. Çünkü üretici açısından değerlendirildiğinde en nihayetinde maruz kalınan stresin üretimde bir olumsuzluğa neden olup olmadığı başlıca kriter olarak kullanılmaktadır. Konu yumurta tavukçuluğu özelinde ele alındığı için yumurta kalitesine ilişkin parametreler de değerlendirmeye alınmaktadır.

Modern işletmelerde stresi engellemek için pek çok girişim yapılmaktadır. Ancak hiçbir zaman stres etkenlerini tamamen engellemek olası değildir. Bu nedenle strese maruz kalan kanatlılarda stresin etkilerini azaltmak için pek çok çalışma yürütülmektedir. Bu kapsamda çeşitli bitkisel ekstraktlar, probiyotikler, bakterilerden ya da mayalardan elde edilen ürünler, iz elementler, vitaminler ya da mineraller gibi çok sayıda ürün yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Kullanılan bu yem katkı maddelerinin amacı hayvanın durumuna, üretim tipine ya da üreticinin tercihine göre farklılık göstermektedir.

Örneğin stres yumurta veriminde ya da performans parametrelerinde bir azalmaya neden oluyorsa kullanılacak olan destekleyici ürün de ona göre seçilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar stresin immun sistem üzerindeki etkilerine odaklanmıştır. Çünkü immun sistemde meydana gelen bir yetersizlik hem performans parametrelerini olumsuz yönde etkilemekte, hem de organizmanın hastalıklara karşı direncini azaltarak hastalıklara daha yatkın hale getirmektedir.

Stresin organizmadaki etkilerini minimize etmek için seçilecek olan yem katkı maddelerinin doğal kaynaklardan elde edilmesi tüketicilerin hassasiyetle üzerinde durduğu konulardan biridir. Özellikle hormon benzeri maddelere ya da antibiyotiklere karşı tüketici tepkilerinin oldukça büyük olduğu bilinmektedir. Zaten Avrupa başta olmak üzere pek çok ülkede yem katkı maddesi olarak antibiyotiklerin kullanımına önemli sınırlamalar getirilmiştir. Bu da üreticileri ve araştırmacıları bitkisel kaynaklara yöneltmiştir. Sunulan bu çalışmada stresin etkilerini minimize etmek için keten tohumu ve ayçiçek yağının yem katkı maddesi olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Keten tohumu yağı bileşiminde oldukça yüksek oranda esansiyel yağ asitlerinden biri olan omega-3 içermektedir. Ayçiçek yağı da omega-6 açısından oldukça zengindir. Her iki bitkisel yağ bu yönleriyle insanlarda ve hayvanlarda çoklu doymamış yağ asidi kaynağı olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda ve diğer memelilerde söz konusu yağların etkileri nispeten detaylı olarak incelenmiştir. Kanatlılarda da performansa ilişkin parametrelere olan etkilerini değerlendirmek üzere sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak immun sitemi, antioksidan savunma sitemi ya da sitokinlere olan etkileri yeterince ele alınmamıştır.

Sunulan bu tezde yumurtacı tavuklarda yoğunluk stresinin, spesifik ve non-spesifik savunma mekanizmalarına ve immun sistemle ilişkili sitokin kaskadına olan etkisi incelenerek, keten tohumu ve ayçiçek yağının uygulanacak olan stres modeline karşı koruyucu özeliklerinin olup olmadığı araştırılacaktır. Ayrıca yapılan uygulamaların performans ve antioksidan savunma mekanizması üzerindeki etkileri de belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Türkiye'de tavukçuluk sektörü

Türkiye'de tavukçuluk sektörü 1970'li yıllarda aile işletmeleri şeklinde, sınırlı üretim kapasiteleriyle faaliyette başlamış olup, 1980'li yıllarda piliç eti entegre tesislerin çoğalması ve sözleşmeli üretim modelinin uygulanması ile önemli bir yapısal değişim göstermiştir. Sonrasında yapılan yatırımlarla 1990'lı yıllarda dünya standartları yakalanmıştır. Ayrıca, 2000'li yıllarda AB uyum çalışmaları çerçevesinde mevzuat AB müktesabatına uygun hale getirilerek, ihracat açısından karşılaşılan engellerin ortadan kaldırılmıştır (Çakı 2007). Türk yumurta birliğinin verilerine göre Türkiye'de 2017 yılında 3063 kümeste, yaklaşık olarak 20 milyar adet yumurta üretilmiş, 377 milyon dolarlık yumurta ihracatı gercekleştirilmiştir. Türkiye'de yaklaşık olarak 1,5 milyon kişi geçimini kanatlı sektöründen sağlamaktadır. Sektörün yıllık cirosunun 5,5 milyar dolar olduğu belirtilmektedir (TAGEM 2018). Sonuç olarak Türk ekonomisine önemli ölçüde katma değer sağlayan sürekli büyüyen, yoğun istihdam sağlayan ve tarımı destekleyen bir sektördür.

2.2. Yumurta tavukçuluğu

Yumurta tavukçuluğu Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de kanatlı sektörünün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Yumurta verimi yüksek ırkların kullanıldığı bir üretim şeklidir. Üretim süreci ticari işletmelerde ekonomik olarak yaklaşık 80-90 haftalık bir dönemi kapsamaktadır. Bunun ilk 20 haftası civciv ve yarka dönemi olarak tanımlanmaktadır. 17-18. haftadan itibaren kılavuz yumurta denilen ilk yumurtalar görülmeye başlar. Ancak asıl yumurtlama 20. haftadan itibaren görülür. İlerleyen haftalarda yumurtlama oranı gittikçe artarak 24. hafta civarında en üst seviyeye ulaşır (TAGEM 2007).

Yumurta tavukçuluğunda, çok sayıda üretim modeli söz konusudur. Klasik uygulamalarda üç tip yetiştiricilik görülmektedir. Geleneksel kafes tipi, yer tipi ve ızgara tipi modeller söz konusudur. Geleneksel kafes tipinde, tavuklar apartman tipi kafeslerde barındırılmaktadır. Yer tipi olanlarda, talaş ya da başka bir altlık serilmiş düz bir zemini olan kümeslerde barındırılır. Izgara tipinde ise tavuklar yerdedir. Ancak zeminin bir kısmına yerden yüksek ızgara döşenmiştir (Türkoğlu ve Sarıca 2009). Günümüzde tüketicilerin talepleri de göz önünde bulundurularak üretim modelleri çeşitlendirilmiştir. Serbest gezen modelde, herhangi bir kısıtlama olmaksızın tavukların dış ortama

ulaşabilmektedir. Hava şartları ve çevresel faktörlerden etkilenir. Yetiştirici tarafından verilen yeme ek olarak yabani bitkileri ve böcekleri vs. de değerlendirirler. Ayrıca yuva alanı ve tünek imkânı da sunulmaktadır. Zenginleştirilmiş kümeslerde, kafesler ya da kümesin tamamı tavukların davranışsal ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde, çeşitli ekipmanlarla donatılmaktadır. Tünek, toz banyosu, eşeleme alanı ya da gagalama ipleri vs. bunlara örnek olarak verilebilir (Baykalır ve Şimşek 2014).

2.3. Stres fizyolojisi

İlk kez Hans Selye tarafından kullanılan bu kavram "vücudu zorlayan bir dış etkene karşı organizmanın verdiği spesifik olmayan cevap olarak tanımlamıştır" (Selye 1974). Daha sonra Dantzer ve Mormède (1983) bu tanımı genişleterek stresi, "olumsuz çevresel koşullara maruz kalan hayvanlarda kaçınılmaz olarak ortaya çıkan ve konforun bozulmasından ölüme kadar birçok olumsuz sonuca neden olan refleksif bir reaksiyon" olarak tarif etmiştir. Latince germek anlamına gelen "stringere" sözcüğünden türetilen stres kelimesi dilimize baskı" ya da "gerginlik" diye çevrilebilir (Yurdakoş 2001).

Strese neden olan uyaranlara "stresör", organizmanın strese karşı verdiği tepkilere ise "stres cevabı" denilmektedir (Dhabhar 2007). Stresi, strese neden olan faktörlere göre fiziksel ya da psikolojik, uyaranların kaynağına göre endojen ya da eksojen, süresi göz önünde bulundurulduğunda akut ya da kronik, şiddeti dikkate alındığında hafif, ılımlı ya da şiddetli olarak sınıflandırmak mümkündür (Moberg 2000). Strese verilen yanıtlar birbirinden farklıdır. Örneğin hafif ve orta düzeydeki stres performansı ve stresle başa çıkma yeteneğini arttırırken, şiddetli stres patolojik sonuçlara neden olmaktadır (Koolhaas ve ark. 2011).

Strese maruz kalındığında, sempatik sinir sistemi, hipotalamik-hipofizer ekseni (HPA) harekete geçerek stres hormonlarının salgılanmasını sağlar. Ayrıca inflamatuar reaksiyonları, immun sistemi ve davranışsal değişimleri de içeren ve stres cevabı denilen bir dizi reaksiyon başlatılır (Preiser ve ark. 2014). Selye bu reaksiyonları alarm dönemi, direnç dönemi ve tükenme dönemi olarak üç aşamada ele almıştır. Alarm dönemi canlının stresle karşılaştığı ilk evreyi ifade eder. Bu dönemde vücut stres etkenine "savaş ya da kaç" reaksiyonu ile cevap verir. Tehdit veya tehlikeyi karşılamak için sempatik sinir sistemi devreye girer. Kortizol ve adrenalin gibi stres hormonları kan dolaşımına verilir. Bu sayede enerji kaynakları mobilize edilerek stres ile başa çıkmaya çalışılır. Stres etkeni çok güçlüyse kısa sürede ölüme götürebilir. Alarm dönemi atlatılırsa direnç dönemi

denilen ikinci evre başlar. Bu dönemde stres etkeni varlığını sürdürmesine rağmen sempatik sistem ilk baştaki alarm durumunu ortadan kaldırır. Ancak glikoz, kortizol ve adrenalin seviyesi hala yüksektir. Vücudun dış görünüşü normal olmasına rağmen, enerji kaynakları tükenme eğilimindedir. Direnç dönemi etkenin gücüne, vücudun adaptasyon yeteneğine ve enerjisine bağlıdır. Kaynaklar azaldıkça vücut tükenme dönemine girer. Bu dönemde alarm reaksiyonu yeniden belirir. Kaynaklar tamamen tükendiğinde hastalık tablosu ya da ölüm şekillenir (Szabo ve ark. 2012).

Her ne kadar negatif bir durum olarak algılansa da strese karşı oluşan yanıtların başlıca amacı, potansiyel tehlike karşısında canlıyı alarma geçirerek homeostazisin sağlanmasıdır (Goldstein ve Kopin 2007; Dhabhar 2014).

2.3.1. Kanatlılarda HPA eksenin aktivasyonu

Kanatlılar strese maruz kaldığında memelilerde olduğu gibi hipotalamustan kortikropropin salgılatıcı hormon (CRH) salgılanır. Bu hormon hipofiz bezinin ön lobundan adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salgılanmasını uyarır. Dolaşımdaki ACTH seviyesi stres uygulandıktan 5-10 dakika sonra pik seviyeye ulaşır (Kovacs ve Peczely 1991). Bazı türlerde arginin vasotosin (AVT) de ACTH salgılanmasını stimüle eder (Ritchie 2014). ACTH, adrenal korteksten glukokortikoidlerin salgılanmasına neden olur (Radke ve ark. 1985). Memelilerden farklı olarak kanatlılardaki en önemli glukokortikoid kortikosterondur. Kortikosteron hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini ortaya çıkarır (Carsia ve Harvey 1986). Stres sırasındaki en önemli fonksiyonları depo edilmiş olan glikoz, lipit ve proteinleri kullanılabilir enerjiye dönüştürmektir (Sapolsky ve ark. 2000). Böylece organizmanın stresle başa çıkmasına katkı sağlar.

2.3.2. Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu

Stres etkeni organizma tarafından algılandığında, hiptalamusun paraventriküler nükleusundan salgılanan CRH hem HPA ekseni üzerinden endokrin mekanizmaları harekete geçirilir, hem de sempatik sistemi aktive eder. Bunu da CRH üreten nöronların beyin sapındaki locus coerules ile kurduğu bağlantılar sayesinde gerçekleştirir (Won ve Kim 2016). Locus coerules sempatik nöronlardaki α1-adrenerjik reseptörleri aktive ederek (Lewis ve Coote 1990), preganglionik parasempatik nöronlardaki α2-adrenerjik reseptörleri ise inhibe ederek etkisini ortaya çıkarır (Unnerstall ve ark. 1984).

Vücut stres altında olduğunda, sempatik sinir sitemi "savaş ya da kaç" tepkisinin oluşmasına katkıda bulunur. Enerji kaynaklarını yaşam tehdidiyle savaşmaya veya bir düşmandan kaçmaya yönelik olarak harekete geçirir. Böbrek üstü bezini uyararak, adrenalin (epinefrin) salgılamasını sağlar. Adrenalin, kalp frekansında, solunum hızında, iskelet kaslarındaki kan akımında artışa neden olur (Vrijkotte ve ark. 2000).

Stres sona erdiğinde, vücut genellikle stres öncesi durumuna geri döner. Bu süreç genellikle parasempatik sinir sistemi tarafından kolaylaştırılmaktadır. Ancak parasempatik sinir sisteminin aşırı aktivitesi de stres reaksiyonlarına neden olabilir (De Looff ve ark. 2018).

2.3.3. Streste inflamasyon ve immun sistemin aktivasyonu

Stresin aktive ettiği sempatik sistem öncelikle kan damarlarıyla birlikte lenfoid dokulardaki kan akımını da arttırarak dolaşımdaki savunma hücrelerinin dağılımını ve trafiğini değiştirmektedir (Chrousos ve Elenkov. 2000). Strese bağlı olarak salgılanan glukokortikoidler, epinefrin, norepinefrin ve sitokinler de savunma hücrelerini çok yönlü olarak etkilemektedir. Nitekim glukokortikoidlerin periferal kandaki doğal öldürücü hücrelerin, nötrofillerin ve lenfositlerin dağılımını etkilediği bilinmektedir. Stres hormonlarının uzun vadede doğal öldürücü (natural killer- NK) hücrelerin ve lenfositlerin sayısında azalmaya neden olduğu, ancak aktivitesini arttırdığı da bildirilmektedir (Chrousos 2006).

Strese bağlı olarak salgılanan epinefrin ve norepinefrin gibi mediatörler hem inflamatuar sitokinleri, hem de savunma hücrelerini etkilemektedir. Örneğin norepinefrinin tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) ve interlökin-6 (IL-6) salgılanmasını uyardığı bildirilmiştir (Spengler ve ark. 1994). Tam tersine asetilkolinin ise TNF-α, interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve interlökin-18 (IL-18) gibi sitokinleri inhibe ettiği belirtilmektedir (Pavlov ve ark. 2009).

Stres sırasında salgılanan prolaktin, büyüme hormonu (GH) ve sinir büyüme faktörü (NGF) gibi hormonların, NK hücrelerin aktivitesi, lenfosit proliferasyonu, antikor üretimi ve latent viral enfeksiyonların yeniden aktivasyonu da dâhil olmak üzere, savunma mekanizmalarını negatif yönde etkilediği bildirilmektedir (Webster Marketon ve Glaser, 2008).

2.3.4. Streste davranışsal adaptasyon

Stres sırasında gözlenen davranışsal değişimlerin amacı organizmanın stresle başa çıkmasını kolaylaştırmaktır. Akut strese verilen hızlı tepkiler, organizmanın tehditten kaçmasına, tehdit önlenemiyorsa, alınan yara ya da hasarın üstesinden gelmesine yardımcı olmaktadır (Cameron ve Schoenfeld 2018). Kronik strese karşı gösterilen davranışsal tepkilerin temel amacı ise organizmanın strese adaptasyonunu sağlamaktır. Örneğin, korkuyu öğrenme, gelecekteki streslerden kaçınma becerisini geliştirebilir. Bununla birlikte, psikolojik ya da fiziksel stres uzun süre devam ederse kognitif fonksiyonlarda azalma (McEwen ve Sapolsky 1995), duysal eşiklerde değişim, uyanık kalınan sürenin artması, artan endişe hali, kısa ve uzun süreli hafızanın zayıflaması (McEwen ve ark. 2015; Yaribeygi ve ark. 2017), iştah, yeme ve üreme davranışlarının baskılanması (Von Borell ve ark. 2007) gibi davranışsal değişiklikler oluşmaktadır.

2.3.5. Kanatlılar neden strese daha yatkındır ?

Tavuklar memelilere göre strese karşı daha korunaksızdır. Çünkü yapısal ve davranışsal pek çok farklılıkları vardır. Hatta diğer kuş türlerine göre de bazı dezavantajları söz konusudur. Bu da tavukların bazı stresörlerden daha fazla etkilenmesine neden olmaktadır. Örneğin kuluçka makinelerinde üretilen civcivler diğer kuşlardan farklı olarak maternal kontak olmaksızın hayata başlarlar (Campderrich ve ark. 2019). Bu da strese neden olmaktadır.

Derilerinde ter bezleri olmadığı için fazla ısıyı dış ortama iletmekte zorlanırlar (Stettenheim 2000). Termoregülasyonları yetersizdir. Bu nedenle çevresel ısı değişimleri kolayca strese girmelerine neden olur.

Görme yetenekleri nispeten zayıftır. Özellikle çalılık ve ormanlık alanlarda birbirlerini direkt göremezler. Bu nedenle karadan ve havadan gelebilecek pek çok tehdide açıktırlar. Dış ortamın algılanmasında büyük oranda sesli uyaranları kullanırlar. Çevredeki ani sesler tavuklarda ani reaksiyonlara ve strese neden olmaktadır (Chloupek ve ark. 2009).

Tavuklarda akciğerin yapısı memelilerden farklı olduğu için havadaki gazlar daha fazla absorbe edilmektedir. Bu da ortamdaki amonyak gibi zararlı gazların da daha fazla vücuda alınmasına neden olur (Yahav 2004). Özellikle civcivlerde havadaki amonyak miktarının artması ciddi bir stres faktörüdür.

2.4. Kanatlılarda stres etkenleri

Yaklaşık olarak 8000 yıl önce evcilleştirilen tavuklarda yabani atalarına göre genotipik ve fenotipik olarak önemli farklılıklar oluşmuştur. Ayrıca et ve yumurta üretimini artırmak için yapılan seleksiyonlar ve evcilleştirme pek çok morfolojik farklılığın yanında, stresi algılama ve stresle başa çıkma mekanizmalarında da önemli değişimler oluşturmuştur (Ericsson ve ark. 2014). Bu nedenle yabani ve evcil türleri etkileyen stres faktörleri de farklılaşmıştır. Örneğin yabani hayatta predatör stresi önemli bir etken olduğu halde, modern kümeslerde böyle bir stres etkeni söz konusu değildir. Aynı şekilde ticari işletmelerde tavuklar zaman zaman yoğunluk stresine maruz kalırken, yabani hayatta yoğunluktan kaynaklanan bir stres söz konusu değildir. Ancak pek çok stres faktörünün hem yabani hem de evcil tavukları etkilediği de bir gerçektir. Tavuklarda yaygın görülen stres etkenleri aşağıda sunulmuştur.

Transport stresi: Ticari amaçla yetiştirilen tavuklar kuluçkahaneden civciv kümeslerine, civciv kümeslerinden yetiştirme kümeslerine ve son olarak da kesimhaneye götürülmek üzere en az üç kez transfer edilir (Mitchell ve Kettlewell 2004). Transfer sırasında tavukların yakalanması, yüklenmesi, yem ve sudan mahrum bırakılması, çevresel sıcaklık farklılıkları, gürültü ya da titreşim gibi pek çok etken strese neden olmaktadır (Kannan ve ark. 1997; Delezie ve ark. 2007). Transportun yapıldığı mevsim ve mesafe de oldukça etkilidir (Dos Santos ve ark. 2017).

Termal stres: Tavuklarda vücut sıcaklığı 40,5-41,5 °C gibi dar sınırlar içinde sabit tutulur. Termal konfor denilen bu sıcaklığın çevresel ısı tarafından düşürülmesi ya da yükseltilmesi termal strese neden olur (Etches ve ark. 1995). Termal stres tavukçuluk işletmelerinde en sık rastlanan stres etkenlerinden biridir. Doğal hayatta çoğu kuş türü göç ederek ya da uygun yaşam alanlarını tercih ederek termal stresten kendilerini korumaya çalışırlar (Dawson ve ark. 1983).

Kümes hayvanlarında, ortam sıcaklığı vücut sıcaklığını aştığında sıcaklık stresi söz konusu olur (Okpara ve ark. 2016). Yüksek nem düzeyi ve içme suyunun yetersiz olması stresin etkisini arttırmaktadır (Etches ve ark. 1995). İyi havalandırılmayan kümeslerde, yaz aylarında ve tropikal bölgelerdeki ülkelerde sıklıkla görülür. Sıcaklık stresinin yem alımı, yemden yararlanma oranı, yumurta verimi, yumurta kalitesi, büyüme, gelişme ve immun sistemi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Mashaly ve ark. 2004; Barbosa ve ark. 2006).

Olumsuz çevresel sıcaklık kanatlılarda düzenleyici mekanizmaları, hormonları, kan dolaşımını, solunumu ve asit-baz dengesini etkilediği bildirilmektedir (Stilborn ve ark. 1988; Šranková ve ark. 2019).

Tavuklarda sık karşılaşılan stres etkenlerinden biri de soğuk stresidir. Özellikle kuzey yarım küredeki ülkelerde kış aylarında görülür. Isıtma maliyetlerinin yüksek olması ya da ısıtma siteminin yeterli olmaması başlıca nedenleridir (Tsiouris ve ark. 2015). Son yıllarda açık alanı kullanan üretim sistemlerinin yaygınlaşması nedeniyle soğuk stresi daha da önemli hale gelmiştir (Campo ve ark. 2008). Soğuk stresi tavukları pek çok hastalığa karşı daha duyarlı hale getirmektedir (Sato ve ark. 2002).

Predatör stresi: Kanatlıların yırtıcı hayvanların saldırılarına maruz kalmaları sonucunda oluşan strestir. Doğal hayatta en sık karşılaştıkları stres etkenlerinden biri olmasına rağmen, kapalı kümeslerde böyle bir stres etkeni söz konusu değildir. Ancak son yıllarda artan açık alan tavukçuluğunda tekrar yaygın görülmeye başlamıştır. Tilki, köpek, kedi, çakal, sansar gibi karasal yırtıcılar ve şahin, atmaca, kartal, ya da baykuş gibi avcı kuşlar en önemli predatörlerdir (Moberly ve ark. 2004). Stres oluşması için saldırganın hayvana ulaşmış olması gerekmez, saldırganı görmesi de strese neden olmaktadır (FAWC 1997). Ayrıca predatör stresinin hayvanlarda tüy gagalama davranışını arttırarak ikinci bir strese daha neden olduğu bildirilmektedir (Defra 2001).

Yumurtlama stresi: Yarkaların yumurtlamaya başladığı ilk günlerde görülen strestir. Yumurtlamak için vücutta meydana gelen hormonal değişimler homeostazisi etkileyerek strese neden olur. Yumurtaların kabuksuz olması, yüzeyinin pürüzlü olması ya da aşırı büyük olması stresinin başlıca göstergeleridir (Mazzuco ve Bertechini 2014). Bu dönemde hayvanların besinsel ihtiyaçlarının karşılanması stresin azaltılmasında etkilidir.

Gaga kesim stresi: Yumurta tavukçuluğunda kuluçka sonrası ilk on günlük dönemde gaga kesimi uygulanmaktadır (Gustafson ve ark. 2007). Gaga kesiminin hayvanı strese soktuğu, acı ve ağrı duyduğu, doku hasarı oluşturduğu ve plazma kortikosteron seviyesini yükselttiği bildirilmektedir (Davis ve ark. 2004). Ancak gagası kesilmiş hayvanların birbirine daha az zarar verdiği (Henderson ve ark. 2009), saldırgan davranışların ve ölüm oranının azaldığı bildirilmektedir (Gentle ve ark. 1997). Bu nedenle yumurtacı işletmelerde rutin olarak kullanılmaktadır.

Sosyal stres: Tavuklarda hiyerarşik düzen "gagalama sırası" olarak adlandırılmaktadır. Gruba yeni üyelerin katılması bu düzeni bozduğu için strese neden olur (Guhl 1956). Yumurta tavuklarının yetiştirme kümeslerinden üretim kümeslerine transfer edilmesi ya da başka nedenlerle yer değiştirmesi sırasında görülür. Birbirlerine karşı saldırgan davranışlar açığa çıkar ve ciddi yaralanmalar oluşur (Cheng ve Jefferson 2008). Grup büyüklüğü sosyal hiyerarşinin oluşmasını ve devam ettirilmesini güçleştirir. Bunun sonucunda artan saldırganlıkla birlikte stres ortaya çıkar (Estevez ve ark. 1997: Keeling ve ark. 2003; McEwen 2006).

Işık stresi: Kanatlı kümeslerinde çoğunlukla yapay aydınlatma kullanılmaktadır. Işık şiddetinin, süresinin ve dalga boyunun pek çok performans parametresini etkilediği bilinmektedir (Classen ve ark. 2004). Özellikle fazla parlak ışığın tüy gagalama, kanibalizm ve saldırgan davranışlarda artışa neden olarak stres oluşturduğu bildirilmiştir (Deep ve ark. 2010).

Yumurtacı tavukların verimlerini artırmak amacıyla yapılan uzun süreli aydınlatmanın melatonin sekresyonunu azalttığı bilinmektedir (Kumar ve Follett, 1993; Underwood ve ark. 1984; Schultz ve Kay, 2003). Melatoninle bazı immun parametreler arasında korelasyon olduğu (Champney ve McMurray 1991; Demas ve Nelson 1996) ve melatoninin immun sistemi direk veya indirek olarak etkilediği tespit edilmiştir (Moore ve Siopes 2000). Ayrıca melatoninin, piliçlerde HPA eksenini inhibe ettiği ve kortizon üretimini baskılayarak stresi modüle ettiği de rapor edilmektedir (Saito ve ark. 2005; Tong ve ark. 2017).

2.5. Yoğunluk stresi

Kafeslerde tavuk başına ayrılan alanın ya da yemlik ve suluk için ayrılan alanların yetersiz olması yoğunluk stresine neden olmaktadır (Cravener ve ark. 1992: Thogerson ve ark. 2009). Yetiştiriciler yatırım ve işletme masrafları minimize etmek adına kafes yoğunluğunu arttırma eğilimindedirler (Carey ve ark. 1995; Utnik-Banas ve ark. 2014). Ancak Avrupa başta olmak üzere Dünyanın çeşitli ülkelerinde direktifler yayınlanarak, kümes yoğunluklarına sınırlandırma getirilmiştir. Kümes yoğunluğu belirlenirken, tavukların cinsine, kümes sistemine, koloni boyutuna, sıcaklığa, havalandırma, aydınlatma, tüneme imkânlarına ve ayrıca önceki sürünün refah sonuçlarına dikkat edilmektedir. Tavuk başına verilen alan tek kriter olarak yetersizdir. Broiler tavukçulukta verilen alan hayvanın kilosuyla ilişkilendirilmektedir. Avrupa topluluğu broiler tavuklar

için en az 33 kg/m^2 alan tahsis edilmesini şart koşmaktadır (Council Directive 2007). Ayrıca tavuk başına en az 750 cm² kafes alanı verilmesi, bunun en az 600 cm²'sinin kullanılabilir olması, kafes yüksekliğinin ise en az 20 cm olması önerilmektedir. Bunlara ek olarak, tavuk başına en az 10 cm yatay yemlik, ya da en az 4 cm dairesel yemlik, her 10 tavuk için en az bir tane meme ucu şeklinde (niple) suluk önermektedir (Council Directive 1999).

Kafes yoğunluğunun yem tüketiminde artışa, canlı ağırlık ve yemden yararlanma oranında azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Patterson ve Siegel 1998). Hayvanların kalabalıktan dolayı hareketsiz kalması ve türe özgü davranışları sergileyememesi stres neden olmaktadır (Appleby ve ark. 2002). Ayrıca hareketsiz kaldıkları için kas ve iskelet sisteminin yeterli düzeyde gelişmediği görülmektedir. Yoğunluk stresi kanibalizm ve osteoperosis gibi metabolik hastalıkların da insidansını artırmaktadır (Wilson ve ark. 1992; Jendral ve ark. 2008).

Yoğunluk stresine maruz kalan civcivlerde dalak ağırlığında değişim olmadığı bildirilmesine rağmen, bursa Fabricius ya da timus gibi lenfoid organların relatif ağırlıklarında azalma olduğu belirlenmiştir (Dafwang ve ark. 1987). Ayrıca heterofil-lenfosit oranında ve antijene karşı antikor üretme gücünde değişim olmadığı rapor edilmektedir (Patterson ve Siegel 1998). Öte yandan yoğunluk stresinin spesifik ve non-spesifik immun sistemi nasıl etkilediği ya da sitokin ekspresyonunu etkileyip etkilemediği yeterince incelenmemiştir. Ayrıca, kafes yoğunluğunun, amonyak üretimini, ayak tabanı lezyonlarını, altlık nemini ve ısı stresini arttırdığı bildirilmiştir (Cravener ve ark. 1992).

2.6. Stresin yumurtacı tavuklarda performansa etkisi

Günümüzde yumurtacı tavuk işletmelerinde kullanılan sistemler en yüksek üretim performansını hedeflemektedir. Ancak performası maksimize etmek amacıyla kurulan bu sistemler, doğal yaşam koşullarından çok farklı olduğu için refah problemlerini ortaya çıkarmaktadır. Stres koşullarında, öncelikle canlının varlığını devam ettirmek amacıyla adaptasyon mekanizmaları devreye girer. Örneğin kalp frekansında, kan basıncında, yem alımında, sindirim faaliyetlerinde, endokrin ve immun sistemde belirgin farklılıklar oluşur. Sonuç olarak homeostatik dengenin bozulduğu görülür. Vücudun kaynakları üretimden ziyade homeostatik dengenin yeniden kurulmasına sarf edilir. Bu da üretim performansının azalmasına neden olmaktadır.

Yumurtacı tavukların performansını tespit etmek için yem tüketimi, yumurta verimi, yemden yararlanma oranı, yumurta ağırlığı ve kırık-çatlak yumurta oranı ölçülen başlıca kriterlerdir. Yetiştiriciler tarafından kayıt altına alınan ve karlılığı tespit etmek için kullanılan bu kriterler sürekli kontrol edilmektedir.

2.7. Kanatlı rasyonunda yağların kullanılması

Yağlar kimyasal olarak alkol, eter, kloroform ve benzen gibi organik çözücülerde çözünen maddeler olarak tanımlanmaktadır. Yağlarla ilgili birçok sınıflandırma mevcuttur. Elde edildikleri kaynağa göre bitkisel veya hayvansal olarak tanımlanabilir. Yağ asitlerindeki karbon sayılarına göre; kısa zincirli (2-4 C atomlu), orta zincirli (6-10 C atomlu) ve uzun zincirli yağ asitleri (12-28 C atomlu) olarak gruplandırılabilir. Karbon atomları arasındaki bağlara göre doymuş, doymamış, tekli veya çoklu doymamış veya trans yağ asitleri şeklinde sınıflandırmak da mümkündür.

Doymuş yağ asitleri; karbon atomları arasında tek bağ bulunan ve bütün karbon atomlarının hidrojene doyduğu yağ asitleridir. Bunların oluşturduğu yağlara da doymuş yağlar denir. Genel olarak oda ısısında katı halde bulunurlar. Karbon sayısı 10'un altında olan doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında sıvı haldedir.

Doymamış yağ asitleri; karbon zinciri üzerinde bir ya da daha fazla çift bağ bulunan yağ asitleridir. Bunların oluşturduğu yağlara da doymamış yağlar denir. Doymamış yağlardaki yağ asitleri farklı zincir uzunluğu ve farklı yapıda bağ içerirler. Bir çift bağı olanlar tekli doymamış yağ asitleri (monounsaturated faty acids, MUFA), birden fazla çift bağ olanlar ise çoklu doymamış yağ asitleri (poliunsaturated faty acids, PUFA) olarak adlandırılırlar. Çoklu doymamış yağ asitleri, çift bağın metil grubuna olan uzaklığına göre omega-3, omega-6 ve omega-9 olarak sınıflandırılır.

Omega-3, vücut fonksiyonları için gerekli olan ve besinlerle dışarıdan alınması gereken esansiyel yağ asitlerindendir. Balık, keten tohumu ve ceviz gibi gıdalarda bulunmaktadır. Çok sayıda omega-3 yağ asidi olmasına rağmen, α-linolenik asit (ALA), eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahexaenoik asit (DHA) besinlerle alınması gereken başlıca omega-3 yağ asitleridir (Tribulova ve ark. 2017).

Omega-6 da vücut fonksiyonları için gerekli olan ve besinlerle dışarıdan alınması gereken esansiyel yağ asitlerindendir. Omega-6 grubunda da çok sayıda yağ asidi olmasına rağmen en yaygın olanları linoleik asittir (LA; 18: 2 n-6). Ayrıca gamma-

linolenik asit (GLA) ve araşidonik asit de (ARA) biyolojik önemi yüksek omega-6 yağ asitlerindendir.

Omega-3 ve omega-6 aynı enzim grubu (delta-5-desatüraz ve delta-6-desatüraz) tarafından metabolize edilir. Bu nedenle iki yağ asidi arasında doğal bir rekabet vardır (Das 2006). Aynı enzimler için rakip substratlar olarak işlev gördükleri için diyetteki oranlarının ayarlanması gerekmektedir (Bibus ve Lands 2015).

Rasyondaki yağların değerlendirilmesinde, yağ asitlerinin zincir uzunluğu, trigliserid molekülündeki pozisyonu, çift bağ sayısı ya da doymuş ve doymamış yağ asitlerinin oranı önemlidir. Örneğin doymamış yağ asitleri, uzun zincirli doymuş yağ asitlerine göre daha iyi sindirilmektedir (Kırkpınar ve ark. 1996).

Kanatlılarda da diğer çiftlik hayvanlarında olduğu gibi enerji büyük ölçüde karbonhidratlardan karşılanır. Ancak enerji ihtiyacının yüksek olduğu durumlarda enerji açığı yağlarla kapatılır (Özdoğan ve Sarı 2001). Ayrıca karbonhidrat vb. kaynaklardan alınan fazla enerji yağa dönüştürülerek depolanmaktadır. Bazı vitaminlerin emilimini arttırdığı ve esansiyel yağ asitleri yönünden zengin olduğu için kanatlı rasyonuna eklendiği görülmektedir (Coşkun ve ark. 1996; Baião ve Lara 2005). Yağların yukarıda sayılan biyolojik özelliklerinin yanında peletleme işlemini kolaylaştırması, yemin tozlaşmasını azaltması, lezzetini arttırması, yapısını ve rengini olumlu yönde etkilemesi gibi teknik avantajları da söz konusudur (Göçmen ve ark. 2015).

Kanatlı rasyonlarında kullanılan yağlar bitkisel ve hayvansal kökenli olmak üzere ikiye ayrılır. Kolza yağı, soya yağı, ayçiçek yağı, mısır yağı, keten tohumu yağı, palmiye yağı, zeytinyağı ve yerfıstığı yağı, rasyonda kullanılan başlıca bitkisel kökenli yağlardır. Domuz yağı, kanatlı yağı, balık yağı ve restoran yağları ise en yaygın kullanılan hayvansal kökenli yağlardır (Cihan 2007).

Yumurtacı tavuklarda rasyona ilave edilen yağların temel amacı enerji düzeyini yükseltmektir. Ancak konuya ilişkin çalışmalar yağların pozitif etkisinin enerji dengesiyle sınırlı olmadığını, yumurta verimini, kalitesini ve ağırlığını da arttırdığını göstermiştir. Yumurta ağırlığındaki artışın linoleik ve linolenik yağ asitleri kullanıldığında daha fazla olduğu da ifade edilmektedir (Whitehead ve ark. 1991).

Günümüzde hayvansal üretimde kullanılan yemlerin sadece hayvanın besinsel ihtiyaçlarını karşılaması yeterli görülmemektedir. Verilen yemin aynı zamanda elde edilen ürünlerde tüketici açısından fonksiyonel özelliklerinin de olması beklenilmektedir. Örneğin yumurtacı tavuklarda yeme katılan yağ asidinin, yumurtayı yiyen tüketicide

kolesterol seviyesini düşürmesi gibi (Cachaldora ve ark. 2008). Rasyona yağ ilave edilirken bu gibi faktörler de göz önünde bulundurulmaktadır.

Yağlar yukarıda belirtilen faydalarına ek olarak, stresin etkilerini azaltmak, immunsuppresyon durumlarında bağışıklığı güçlendirmek ya da oksidatif strese karşı antioksidan savunma mekanizmalarını uyarmak için de kullanılmaya başlanılmıştır. Ancak esansiyel yağ asitleri yönünden zengin olan ayçiçek yağı ve keten tohumu yağının bu amaçla kanatlı rasyonlarında yeterince kullanılmadığı görülmektedir.

2.7.1. Keten tohumu yağı

Keten *Linaceae* familyasında yer alan, tek ve çok yıllık türleri olan çiçekli bir bitkidir. Yabani ketenin (*L. bienne*) M.Ö. 8 binli yıllarından beri bilindiği, tarımının ilk olarak Fırat ve Dicle vadilerinde yapıldığı bildirilmektedir (Fu 2011). Günümüzde ülkemiz de dâhil olmak üzere pek çok ülkede yetiştirilmektedir. Gövdesinden elde edilen lifler tekstil sanayisinde, tohumları gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Küspesi ise hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir.

Keten tohumunun bileşiminde çeşitli yağlar, suda çözünen ve çözünmeyen lifler, proteinler ve basit şekerler bulunmaktadır (Morris ve Vaisey-Genser, 2003). Tohumları genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte yaklaşık olarak %38-47 oranında yağ içermektedir (Oomah ve Mazza, 1997). Yapısındaki yağ asitlerinin %52'si linolenik, %17'si linoleik, %20'si oleik, %6'sı palmitik ve %4'ü stearik asittir (Shima ve ark. 2014).

Keten tohumu, yağlı tohumlar arasında içerdiği ALA miktarı açısından benzersizdir. Keten tohumundaki yağların yaklaşık %45-52'si ALA'dır. Bu nedenle vejetaryen diyetleri için vazgeçilmez bir omega-3 yağ asidi kaynağıdır (Riediger ve ark. 2008).

Üretim performansına etkisi: Keten tohumu yağının kanatlılarda üretim performansına olan etkilerini saptamak için yapılan çalışmalardan çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Al-Hilali (2018) broiler civcivlerde rasyona katılan keten tohumunun doza bağlı olarak canlı ağırlığı azalttığını rapor ederken, Aziza ve Awadin (2018) ise tam tersine rasyona %10 oranında katılan keten tohumunun canlı ağırlığı arttırdığını bildirmektedir.

Yem alımına etkisi: Yem alımında da benzer bir çelişki rapor edilmektedir. Caston ve Leeson (1990) keten tohumu ile beslenen tavuklarda yem tüketiminin arttığını bildirirken, Scheideler ve Froning (1996) yem alımının azaldığını belirtmektedir.

Yumurta verimine etkisi: Schuman ve ark. (2000), 40 g/kg keten tohumu yağı ya da 100 g/kg keten tohumu verdiği tavuklarda yumurta veriminin kontrol grubunda göre azaldığını rapor etmektedir. Aymond ve VanElswyk, (1995) ise rasyona %15 oranında keten tohumu ilave etikleri tavuklarda yumurta üretiminde bir azalma olduğunu belirtmektedirler. Öte yandan Sarı ve ark. (2002) ise yemlerine %10 ve %15 oranında keten tohumu ilave ettikleri tavuklarda yumurta üretiminin arttığını rapor etmektedirler Benzer şekilde Scheideler ve Froning (1996)'de tavuklara %5 ve %10 oranında keten tohumu verildiğinde üretimde bir artış olduğunu rapor etmektedirler. Ancak farklı oranlarda kullanılan keten tohumunun yumurta üretimini etkilemediğini bildiren çalışmalar da vardır (Bean ve Leeson 2003; Al-Nasser ve ark. 2011).

Yumurta kalitesine etkisi: Novak ve Scheideler (2001) yeme katılan keten tohumu yağının yumurta sarısı ağırlığını etkilemediğini rapor etmesine rağmen, Caston ve ark. (1994) yumurta sarısı ağırlığını azalttığını bildirmektedirler. Yeme katılan omega-3 yağ asitlerinin yumurtada biriktiği belirlenmiştir. Yemlerine 5 g/kg ve 10 g/kg keten tohumu yağı katılan tavuklarda yumurta ağırlığı, kabuk ağırlığı, kalınlığı, kırılma direnci ve yumurta sarısının rengi gibi kalite parametrelerinde önemli bir değişim görülmediği halde, albumin yüksekliği ve Haugh ünitesinin arttığı rapor edilmektedir (Lee ve ark. 2015). Schuman ve ark. (2000) ise yeme eklenen keten tohumu ve keten tohumu yağının yumurta ağırlığı ve albumin yüksekliği dışımdaki yumurta kalitesine ilişkin parametreleri etkilemediğini, bu iki parametrede ise artışa neden olduğunu bildirmektedir. Bean ve Leeson (2003) yemlerine %10 oranında keten tohumu katılan tavuklarda yumurta ağırlığı, kabuk ağırlığı ve kalınlığı değişmediği halde yumurta sarısının ağırlığının azaldığını bildirmektedirler.

Antioksidan sisteme etkisi: Shafey ve ark. (2015) keten tohumu verdikleri yumurtacı tavuklarda oksidatif strese ilişkin parametrelerde ya da antioksidan enzimlerin düzeyinde önemli bir değişim olmadığını rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar verilen keten tohumunun karaciğerde oksidatif stresi arttırdığını bildirmekte, bunun da yağın bileşimindeki uzun zincirli yağ asitleriyle ilişkili olduğunu ileri sürmektedir.

İmmun sisteme etkisi: Keten tohumu yağı verilen civcivlerde bursa Fabricius'da kontrol grubuna göre büyüme olduğu rapor edilmektedir (Htin ve ark. 2007). Keten tohumu yağındaki ALA'nın lenfositlerinin çoğalmasını ve bazı antijenlerin neden olduğu gecikmiş tipteki aşırı duyarlılık reaksiyonlarını baskıladığı rapor edilmektedir (Kelley ve ark. 1991). Bu nedenle otoimmün hastalıkların klinik yönetiminde yararlı olabileceği

düşünülmektedir (Parbtani ve ark. 1995). Ayrıca keten tohumunda bulunan ALA'nın, membran fosfolipitlerini değiştirdiği, linoleik asitten arakidonik asit biyosentezini ve arakidonik asitten proinflamatuar eikosanoidlerin sentezini inhibe ettiği rapor edilmektedir (Leaf ve Weber 1988).

Sitokin üretimine etkisi: İnsanlarda diyete eklenen ALA miktarının ve ALA / linoleic asit oranının, makrofajlar tarafından üretilen TNF-α ve IL-1 düzeyini etkilediği rapor edilmektedir (Watanabe ve ark. 1991). Ayrıca 8 hafta boyunca keten tohumu yağı içeren diyetle beslenen erkeklerde TNF-α ve IL-1 beta üretiminin %77-81 oranında inhibe edildiği rapor edilmektedir (Endres 1996).

2.7.2. Ayçiçeği yağı

Dünyadaki önemli yağlı tohum bitkilerinden biridir (Vilvert 2018). Kökenini Amerika kıtasından alan ayçiçeğinin (*Helianthus annuus*) yağ oranı genetik ve ıslah çalışmalar sonucunda %50-60'lara kadar çıkarılmıştır. Çekirdeğinden elde edilen ham yağı açık amber renginde, rafine hali solgun sarı renklidir. Yüksek linoleik asit içerikli ayçiçek yağı kimya endüstride, yemeklik olarak ve margarin üretiminde kullanılmaktadır.

Ayçiçek yağına artan talep nedeniyle, ayçiçeği ekimi yayılmaktadır, Dünyanın en büyük ayçiçeği üreticisi, 7,20 milyon hektar ile Rusya ve 5,80 milyon hektar ile Ukrayna'dır. Bu iki ülke dünyadaki toplam ayçiçeği üretiminin %50'sinden fazlasını üretmektedir (Jocic´ ve ark. 2015). Adaptasyon kabiliyeti yüksektir. Yetiştiği bölgeye ve türe bağlı olarak yapısındaki yağ asitlerinin bileşimi de değişmektedir.

Ayçiçeğinden elde edilen yağlarda, doymuş yağ asitleri (palmitik, stearik), tekli doymamış yağ asidi (oleik), çoklu doymamış yağ asidi ve çoğunlukla linoleik asit bulunmaktadır (Lacombe ve Berville 2001). Linoleik asit oranı %55-75, oleik asit oranı ise %15-25 düzeyindedir. Ayrıca %15-20 oranında protein de içerir (FAO 2010). Ayçiçeğinin doymuş yağ oranı oldukça düşüktür. İçeriğinde α-tokoferol de bulunmaktadır.

Rasyonuna %4 oranında ayçiçek yağı ilave edilen broiler civcivlerde yem tüketimi ve yemden yararlanma oranının ilk 21 günlük döneminde kontrol grubuna göre arttığı, ancak 42 günlük dönemde önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Nobakht ve ark. 2001). Benzer şekilde Fébel ve ark. (2008) da ayçiçek yağının broiler piliçlerde büyüme performansını etkilemediğini rapor etmektedir. Ancak Alao ve Balnave (1984) ise farklı oranlarda ayçiçek yağı verdikleri broiler civcivlerde büyüme ve yemden yararlanma

oranının arttığını rapor etmektedirler. Ayçiçek yağı verilen tavuklarda canlı ağırlık, yumurta verimi, yumurta ağırlığı ve yumurta sarısı ağırlığının değişmediği de rapor edilmektedir (Eseceli ve Kahraman 2003).

Ayçiçek yağının immun sisteme olan etkisinin incelendiği bir çalışmada, yeme %5 oranında ayçiçek yağı ilave edilen tavuklarda dalak, timus ve bursa Fabricius gibi lenfoid organların büyüdüğü rapor edilmiştir (Wang ve ark. 2000). Antikor üretimi açısından ise hayvansal ve bitkisel kökenli yağlarla ayçiçeği yağı arasında önemli bir fark saptanmamıştır (Poorghasemi ve ark. 2015). Ancak antikor üretiminde yağ kaynağının önemli olduğunu bildiren raporlar da vardır. Nitekim hücresel ve humoral immun yanıtın oluşmasında diyetteki linoleik asitlerin, linolenik asitten daha etkili olduğu bildirilmektedir (Uma ve Richard 2008).

Ayçiçek yağı verilen tavuklarda dalakta interferon-gamma (IFN-γ), IL-1β, IL-2 ve IL-6 gibi sitokinlerin mRNA ekspresyonlarının balık yağı ya da kombine yağ verilenlere göre daha düşük olduğu bildirilmektedir (Ibrahim ve ark. 2018).

Ayçiçek yağı verilen tavuklarda lipit peroksidasyonunun doza bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir (Rao ve ark. 2011).

2.8. Kanatlılarda savunma sistemi

Kanatlılardaki savunma sistemi, memelilerde olduğu gibi, geniş bir patojen grubuyla başa çıkmak için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Bunlar patojenin vücuda girişini önleyen fiziksel ve kimyasal bariyerler ile patojeni ortadan kaldırmak için tasarlanmış bağışıklık sistemleridir (Erf 2004).

Bağışıklık sistemi memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi olarak ikiye ayrılır. Non-spesifik savunma sistemi de denilen doğal bağışıklık sistemi, deri ve mukoza gibi fiziksel bariyerleri, mide asidi ve mukozal bezlerin salgılarının oluşturduğu kimyasal bariyerleri, plazmadaki bazı proteinlerden oluşan kompleman sistemini ve heterofilleri, monositleri, makrofajları ve denritik hücreleri içermektedir (Kaiser 2012). Makrofaj ve dentritik hücreler aynı zamanda antijen sunan hücreler olarak görev alırlar. Spesifik sistemle non-spesifik sistem arasındaki bağlantıyı kurarlar. Doğal bağışıklık sisteminin temel fonksiyonu patojenin vücuda girmesini engellemek ya da vücuda girmişse yayılmasını önlemektir. Doğal bağışıklık sistemi aktive olduğunda inflamatuar reaksiyonlar denilen bir dizi olay gözlenir. İnflamatuar reaksiyonlar doku hasarını sınırlandırmaya, diğer savunma hücrelerini alarma geçirmeye,

zarar görmüş nekrotik hücreleri uzaklaştırmaya ve doku onarımını sağlamaya yönelik olarak çalışır (Chen ve ark. 2017).

Doğal bağışıklık mekanizmaları patojen istilasını durduramadığında kazanılmış bağışıklık devreye girer. Spesifik savunma sistemi de denilen kazanılmış bağışıklık sistemi kanatlılarda da diğer memelilerde olduğu gibi B hücreleri ve T hücreleri içermektedir. Memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da bu hücrelerin prekürsörleri kemik iliğindeki lenfoid kök hücrelerden köken alırlar (Boehm ve ark. 2012). Sonrasında B hücreler bursa Fabricius'da, T hücreler timusta seçilerek olgunlaşırlar. Bursa Fabricius ve timüs kanatlılarda birincil lenfoid organlardır. Söz konusu hücreler aktive olduklarında birincil lenfoid organları terk ederek ikincil lenfoid organlara yerleşirler (Lanning ve Knight 2015). Kanatlılarda memelilerden farklı olarak kapsüllenmiş lenf yumruları yoktur, onun yerine yaygın lenfoid dokular vardır. Söz konusu yaygın lenfoid dokular stratejik bir öneme sahip olan mukozalarda yer alırlar. Bu nedenle "mukozayla ilişkili lenfoid doku" (MALT) olarak isimlendirilirler. Yerleştiği mukozal dokuya göre isim alırlar. Gastrointestinal mukozada yerleşmiş olana (GALT), akciğerlerde yerleşmiş olana (BALT) gibi isimler verilir. Ayrıca bağırsaktaki Peyer plakları ve oküler mukozadaki Harder bezleri de ikincil lenfoid dokulardır (Nochi ve ark. 2018).

Kazanılmış bağışıklık hücresel ve humoral (sıvısal) bağışıklık olmak üzere iki kola ayrılır. Hücresel bağışıklığı oluşturan T lenfositlerin, sitotoksik T hücreler, yardımcı T-hücreler (Th) ve NK hücreler olmak üzere üç alt tipi vardır. Sıvısal bağışıklık oluşturan B hücreler antijenle karşılaştığında yardımcı T hücrelerinin yardımıyla plazma hücresine ve hafıza hücresine dönüşürler. Plazma hücreleri antikor üreterek patojeni etkisiz hale getirirler. Hafıza hücreleri ise ikinci kez aynı antijenle karşılaştığında hızlı bir şekilde antikor üreterek vücudu patojene karşı korur (Erf 2004).

Memelilerden farklı olarak kanatlılarda immünoglobulin (Ig) IgM, IgA ve IgY olmak üzere üç antikor tipi vardır. Memelilerde ise bilindiği gibi IgM, IgA, IgG, IgE ve IgD olmak üzere beş çeşit antikor vardır (Smialek ve ark. 2011). Maternal antikorlar da memelilerle kanatlılar arasında farklılık göstermektedir. Bilindiği gibi memelilerde IgG tipi antikorlar plesantal yolla ya da kolostrum ile yavruya geçerek kazanılmış bağışıklığın olmadığı ilk dönemde yavruyu patojenlere karşı korur. Kanatlılarda ise plazma hücreleri tarafından üretilen IgY tipi antikorlar kan yoluyla ovarian foliküllerine giderek yumurta sarısına geçerler. Ayrıca yumurtanın gelişim döneminde IgA ve IgM tipi antikorlarda

oviduct epitelinden geçerek yumurta akında birikirler. Böylece yavru embriyonel dönemde maternal antikorları edinmiş olur (Leandro ve ark. 2011).

2.8.1. Heterofiller

Memelilerdeki nötrofillerin kanatlılardaki eşdeğerleri heterofillerdir. Periferal kanda en çok bulunan granülositlerdir. Kan damarlarında 1-5 gün kaldıktan sonra dokulara geçerler. Çapları 10-15 μm kadardır. Çekirdekleri iki ya da üç parçalı ve sitoplazmaları granüllüdür. Sitoplazmada yoğun ve az yoğun olmak üzere iki tip granülleri vardır (Maxwell 1973). Kortikosteroid ya da lipopolisakkaritle karşılaştıklarında hücre boyutunun küçüldüğü, sekretorik granüllerinin hacminin ise büyüdüğü bildirilmektedir (Shini ve ark. 2008).

Non-spesifik bağışıklık sistemi olarak da adlandırılan doğal bağışıklık sisteminin en önemli hücreleridir. Vücuda giren patojenlere karşı ilk savunma hattını oluştururlar. Heterofillerin hızlı aktivasyonu ve kemotaksisi, tepkilerin hızlı bir şekilde ortaya çıkmasını sağlar (Kogut ve ark. 1995). Yangısal uyaranlar (Lipopolisakkarit, terebentin) veya çeşitli patojenler heterofillerin o bölgeye infiltre olmasına neden olur (Juul-Madsen ve ark. 2014). Sadece istilacı patojenleri fagosite etmekle kalmaz aynı zamanda diğer bağışıklık mekanizmalarını harekete geçirmek için gerekli sinyalleri de gönderirler (Harmon 1998; Farnell ve ark. 2003). Ayrıca aktive edildiklerinde IL-1, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin ekspresyonunu da uyarırlar (Kogut ve ark. 2005).

Yapısal ve fonksiyonel olarak memeli nötrofillerinden farklı yönleri vardır. Örneğin myeloperoksidaz eksikliği nedeniyle heterofillerdeki oksidatif patlama nötrofillerdeki kadar etkili değildir. Ayrıca fagositoz sırasında hidrojen peroksit de üretmezler. Ancak lizozomal enzimleri sayesinde bakterisidal etki gösterirler (Brune ve ark. 1972, He ve ark. 2005). Bu nedenle kanatlılardaki inflamatuar reaksiyonların patojenezisinde memelilere göre farklılıklar görülür (Carlson, 1982; Montali 1988).

Heterofiller nötrofillerde olduğu gibi patojeni yok etmek için yakın zamanda keşfedilen “hücre dışı tuzak” olarak adlandırılan bir mekanizma da kullanırlar (Chuammitri ve ark. 2009). Bu mekanizmada kromatin iplikleri çözündürülerek adeta bir ağ gibi patojenin üstüne fırlatılarak patojen etkisiz hale getirilir (Redmond ve ark. 2011).

Strese maruz kalan kanatlılarda periferal kandaki heterofillerin sayısı artarken, lenfosit sayısı azalır (Davis ve ark. 2008). Bu nedenle, heterofil lenfosit oranı (H/L oranı) kanatlılarda stres belirteci olarak kullanılmaktadır (Matur ve ark. 2015).

2.8.2. Fagositik aktivite

Fagositoz, amip ya da protozoan gibi tek hücrelilerde beslenmek için kullanılan rutin bir prosedürdür. Çok hücrelilerde ise patojenlerin ve doku artıklarının yok edilmesinde kullanılan savunma mekanizmalarından biridir (Stillwell 2016). Kanatlılarda, iki ana fagositik hücre tanımlanmıştır. Bunlar, monositler/makrofajlar ve heterofillerdir (Genovesen ve ark. 2013; Ferdous ve ark. 2016). Ancak son yıllarda trombositlerin de fagositik özelliklerinin olduğu belirlenmiştir (Wigley ve ark. 1999). Fagositoz, pinositozla benzer özellikler taşımakla beraber pinositozdan temel farklılığı internalize edeceği parçacıklara spesifik yüzey reseptörlerinin olmasıdır.

Fagositik aktivite opsonizasyon, vakoulizasyon ve bakterisidial aşama olmak üzere üç evreden oluşur. Patojenin tanınması ve fagositoz için işaretlenmesi opsonizasyon olarak tanımlanır. Mikroorganizmaların yüzeyinde biriken bazı peptitler opsonin işlevi görmektedir. Ayrıca, immünoglobulinler de opsoninler olarak kullanılabilir. Fagositoz, öncesinde mikroorganizmaların opsonize edilmesi fagositik aktiviteyi arttırmaktadır (Lehmann ve ark. 2000). Fagositik hücrelerin yüzeyinde bulunan Fc reseptörü ve kompleman reseptörü opsonize edilmiş partiküllerin fagositozunda görev alırken, dektin-1 reseptörü, süpürücü reseptörler ve mannoz reseptörleri opsonize edilmemiş partiküllerin fagositozunda görev alır (Flannagan ve ark. 2012). Tavuklarda yapılan çalışmalar heterofillerin opsonize edilmiş ya da edilmemiş bakterileri aynı düzeyde fagosite edebildiğini göstermiştir. Ancak patojenin opsonize edilmesi, fagoitoz sonrasında salgılanan sitokinleri etkilemektedir. Bu savunma sisteminin diğer mekanizmalarını aktive ya da inaktive edilmesinde önemlidir (Genovese ve ark. 2013).

Fagositik hücre fagosite edilecek partikülü hücre içine almak için bir vakuol oluşturur. Fagositik aktivitenin ikinci aşamasını oluşturan bu yapıya fagozom da denilmektedir. Fagozomlar lizozomlarla birleşerek, lizozomlardaki hidrolitik enzimler vezikül içine aktarılır. Degranülasyon da denilen bu olay fagositik aktivitenin üçüncü aşamasını oluşturur. Fagozite edilen partikül bakteri değil de doku atığı ya da başka bir maddeyse bakterisidal mekanizmalar devreye girmez. Fagosite edilen madde bir mikroorganizmaysa, söz konusu mikororganizmanın sindirilmeden önce inaktive edilmesi gerekir (Coleman ve ark. 1989; Stites ve Terr 1991). Fagositik aktivitenin yetersiz olması, vücuda giren enfeksiyöz etkenin yayılmasına ve otoimmun hastalıklara neden olmaktadır (Platt ve Fineran 2015).

Önceden immünolojik çalışmalarda fagositik hücrelerin sadece sayısı göz önünde bulundurulmaktaydı. Hematolojik tekniklerin gelişmesiyle birlikte, hücrelerin sayısal oranının yeterli olmadığı anlaşılmış, fonksiyonel olarak da aktif olup olmadıklarının belirlenmesi gündeme gelmiştir. Bu bağlamda nötrofillerin, heterofillerin ya da makrofajların aktivitesinin belirlenmesi de mümkün olmuştur. Fagositik hücrelerin aktivitesinin saptanmasında flow sitometrik metotlar da kullanılmaktadır.

Flow sitometrik metotların bir kısmında floresan işaretli partiküller, bakteriler veya mayalar kullanılmaktadır. Fagosite edilen boyaların yoğunluğu flow sitometrik olarak dedekte edilmektedir (Lehmann ve ark. 2000; Nuutila ve Lilius 2005). Ayrıca fagositoz sırasında açığa çıkan okside edici maddelerin floresan boyaları dönüştürmesinden de yararlanılmaktadır **(**Bilgiç ve ark. 2007).

2.8.3. Oksidatif patlama

Oksidatif patlama fagositik hücrelerin patojenleri imha etmek için kullandığı etkin mekanizmalardan biridir. Fagositik hücreler aktive olduklarında reaktif oksijen bileşikleri üreterek patojenleri yok ederler (Zinkl 1989; Yang ve ark. 2016).

Kemotaktik uyaranlar fagositik hücrelerin membranındaki nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) enzimini aktive eder. Aktive olan NADPH oksidaz enzimi oksijeni indirgeyerek süperokside (O_2^-) dönüştürür (Parnham ve ark. 1983; Freitas ve ark. 2009). Nötrofillerin azorofilik granüllerinde bulunan miyeloperoksidaz enzimi oksidatif patlama sırasında hidrojen peroksiti (H_2O_2) hipoklorik asite (HOCl) indirgemektedir (Klebanoff, 2005). Bu iki reaksiyon sonucunda oluşan süperoksit ve hipoklorik asit internalize edilen patojenin yok edilmesinde kullanılır. Fagositik aktivite sırasında söz konusu kimyasal maddeler bol miktarda ve hızlı bir şekilde açığa çıktığı için oksidatif patlama ya da respiratorik patlama olarak adlandırılmaktadır.

Kanatlı heterofillerinde MPO enzimi olmadığı için hidrojen peroksit üretimi de yetersizdir (Wells ve ark. 1998). Buna rağmen heterofillerin bakterileri öldürmesinde bir zafiyet görülmez (Genovese ve ark. 1999). Çünkü heterofillerin mikroorganizmaları öldürmek için antimikrobiyel proteinler, lizozimler, elastaz ve hücre dışı heterofil tuzağı gibi alternatif mekanizmaları daha etkili kullandıkları düşünülmektedir (Genovese ve ark. 2013).

2.8.4. Kemotaksik aktivite

Bir organizmanın kimyasal uyaranların etkisiyle hareket etmesine "kemotaksis" denir. Fagositik hücreler için "kemotaksik aktivite" olarak da tanımlanan bu olay nötrofil/heterofil fonksiyonlarının ilk aşamasını oluşturur. Kemotaksise neden olan maddeler kemoatraktan ya da kemotaktik madde olarak tanımlanmaktadır (Weiss, ve Walcheck 2008).

Kemoatraktanların önemli bir kısmı istilacı mikroorganizmalar tarafından salgılanır. Örneğin gram negatif bakteriler, stafilokok, streptokok ya da pneumokoklar kemoatraktan madde üretmektedirler (Bayram ve ark. 1985). Kemoatraktan maddeler istilacı mikroorganizma ile konakçı arasındaki etkileşim sonucunda da açığa çıkabilmektedir. Patojenin istila ettiği hasarlı dokudan açığa çıkan ya da damarlardan salgılanan maddelerin bir kısmı kemoatraktan özelliktedir. Nitekim deneysel olarak Salmonella enteritidis enjeksiyonu yapılan civcivlerde dokulardan salgılanan IL-8 sayesinde kemotaksik aktivitenin arttığı gösterilmiştir (Kogut 2002). Aynı şekilde patojen varlığında aktive olan kompleman sisteminden açığa çıkan C5a gibi bazı fragmentler de kemoatraktan özelliktedir (Henricks ve ark. 1986; Rotrosen,ve Gallin 1987; Noyan 1993).

Kemotaktik maddeler hücre yüzeyindeki elektro negativiteyi azaltarak, nötrofillerin damar endoteline tutunmasına ve dokulara geçmesine yardım ederler (Henricks ve ark. 1986; Rotrosen ve Gallin, 1987). Ayrıca lökositlerin yüzeyinde kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak hücrenin gradyan farkına göre kemoatraktan maddenin kaynağına doğru ilerlemesini sağlarlar. Söz konusu süreçlerde kemokin denilen sitokinler de aktif olarak görev alırlar (Dianqing 2005; Miller ve Mayo 2017).

N-Formilmetil-lösil-fenilalanin (fMLP) bakteriler tarafından üretilen etkili bir kemoatraktan maddedir. Nötrofilerde ve makrofajlarda G proteinle ilişkili yüzey reseptörlere bağlanarak ve çeşitli hücre içi yolakları kullanarak hücre içi mekanizmaları harekete geçirir (Sato ve ark. 2013). Bu özelliklerinden dolayı nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivitesinin incelenmesinde kemoatraktan madde olarak kullanılır.

2.8.5. Yardımcı T hücreler

Moleküler biyolojide hücreleri tanımlamak için yüzey proteinlerinden yararlanılmaktadır. Hücrelerin tanımlanmasında kullanılan yüzey proteinleri "Cluster of differentiation" (CD) (farklılaşma kümesi) olarak adlandırılmaktadır. CD4 proteini

monositlerin, makrofajların, dendritik hücrelerin ve yardımcı T hücrelerin yüzeyinde bulunan bir glikoproteindir. 1970'lerin sonlarında keşfedildi. Önceleri leu-3 ve ve T4 olarak isimlendirilmekteydi. 1984'ten sonra CD4 olarak adlandırıldı. (Bernard ve ark. 1984).

CD4+ T hücreler yüzeyinde CD4 reseptörü taşıyan T lenfosit alt tipidir. T hücre grubunun %65'ini oluştururlar. Yardımcı T hücreler (T helper, Th) olarak da adlandırılır. Bunların da Th1 ve Th2 olmak üzere iki alt tipi vardır (Abbas 2010).

Aktive olmamış CD4+ hücreler tecrübesiz "naive" olarak adlandırılır. Antijen sunan hücreler tarafından aktive edilirler. Bu hücreler fagosite ettikleri patojenin antijenik bir peptidini membranındaki MHC-II molekülü aracılığıyla CD4+ hücrelere sunarlar. CD4+ hücreler sahip oldukları T hücre reseptörü (TCR) sayesinde sunulan "peptit-MHC-II" kompleksine bağlanır. Böylece tecrübesiz CD4+ hücre aktive olur. Burada her bir CD4+ hücre sadece bir peptit MHC-II kompleksine spesifiktir. Diğer patojenlerin fagositozu sonucunda sunulacak olan peptidi tanımazlar (O'Garra 2000).

Aktive olduktan sonra effektör ya da hafıza yardımcı T hücrelere dönüşürler. Hafıza hücreleri gelecekte aynı patojenle karşılaştıklarında hızlı tepki verilmesini sağlar. Effektör hücrelerin birden fazla fonksiyonu vardır. Öncelikle salgıladıkları sitokinlerle diğer effektör hücreleri daha da aktif hale getirirler. İkincil olarak B lenfositleri uyararak antikor üretmesini sağlarlar. Hali hazırda uyarılmış olanları da tekrar tekrar uyararak daha fazla antikor salgılamasına neden olurlar. Üçüncü olarak da sitotoksik T hücreleri hatta non-spesifik sistemin hücrelerini uyarırlar (Luckheeram ve ark. 2012)

Th1 hücrelerin "naive" hücrelerden farklılaşmasını dentritik hücrelerden ve makrofajlardan salgılanan IL-12 sağlar, INF-γ da söz konusu farklılaşma ve yönelme olayını geliştirir. Th2 hücrelerin farklılaşmasında ise IL-4 etkilidir. Bu sitokinler kendi hücrelerinin gelişmesini stimüle ederken, diğerinin gelişimini de baskılarlar. Böylece Th1/Th2 dengesi kurulur. Bu hücrelerin sekrete ettikleri sitokinler de birbirinden farklıdır. Th1 hücreler INF-γ, IL-2 ve TNF-α sekrete ederken, Th2 hücreler IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgılar. Th1 ve Th2 hücrelerin fonksiyonları birbirinden farklıdır. Thl hücreleri, hücre içi bakterilere ve protozoalara karşı etkilidir. Th2 hücreler ise helmintlere ve hücre dışı patojenlere karşı daha etkilidir (Abbas ve ark. 1996).

Konuya ilişkin çalışmalar kanatlılardaki CD4+ hücrelerin yapısal ve fonksiyonel olarak memelilerdekine benzer özellikler taşıdığını göstermektedir (Arstila ve ark. 1994). Humoral immun yanıtın ve sitotoksik hücrelerin ya da doğal öldürücü hücrelerin aktive

edilmesinde ve aktivitelerinin kontrol altında tutulmasında CD4+ hücrelerin söz sahibi olduğu bildirilmektedir. Özellikle Th1 hücrelerin humoral immun yanıtı sıkı bir şekilde kontrol ettiği ifade edilmektedir (Erf 2004).

2.8.6. Sitotoksik T hücreler

Sitotoksik T hücreler T lenfositlerin alt tiplerinden biridir. CD8 pozitif hücreler (CD8+ Cell) olarak adlandırılır. Yüzeylerinde CD3 reseptörü, antijene özgü T-hücre reseptörü (TCR) ve CD8 moleküllerini eksprese ederler. İnsanlarda dolaşımdaki lenfositlerin %30'unu oluştururlar. Spesifik savunma sisteminin hücreleridir. Virüsle enfekte olmuş hücreleri, kanserli hücreleri ya da zarar görmüş diğer hücreleri elimine ederler (Abbas ve ark. 2000). CD8+ hücreler aynı zamanda IFN-γ, TNF-α, ve IL-2 gibi sitokinleri ve çok sayıda kemokini salgılar. Salgılanan bu ürünler monositler başta olmak üzere diğer savunma hücrelerinin de enfeksiyon bölgesine gelmesine neden olur (Masopust ve Schenkel 2013).

Virüs ile enfekte olmuş hücrelerin ya da kanserli hücrelerin T hücreleri tarafından tanınması, hastalıklı hücrelere ait antijenik peptitlerin, hücre yüzeyindeki MHC-I reseptörleri tarafından sunulması sayesinde olur (Neefjes ve ark. 2011). MHC-I molekülü bütün çekirdekli hücrelerde vardır. Sitotoksik T hücreler sahip oldukları T hücre reseptörü aracılığıyla enfekte/kanserli hücrelerdeki MHC-I molekülü tarafından sunulan peptite bağlanır. Bu esnada CD8 reseptörü de ko-reseptör olarak görev alır. Söz konusu bağlantı sağlandıktan sonra sitotoksik T hücresinden salgılanan perforin ve granzim gibi enzimler enfekte/kanserli hücrenin membranını tahrip ederek ölmesine neden olurlar (Masopust ve Schenkel 2013). CD8+ hücrelerin aktive olması için yardımcı T hücrelere gereksinim vardır.

Kanatlılarda da memelilerde olduğu gibi, virusla enfekte olmuş hücrelerin ya da tümör hücrelerinin CD8+ T hücreleri tarafından tanınarak ortadan kaldırıldığı bilinmektedir (Fulton ve ark. 1995). Kanatlılarda CD8+ T hücrelerin virüs ile enfekte/kanserli hücreleri öldürmesine ilişkin detaylar henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak memelilerdekine benzediği düşünülmektedir (Wang ve Erf 2003).

2.9. Sitokinler

Sitokinler hücreler arası iletişimde, immun yanıtın şekillenmesinde, inflamatuar reaksiyonlarda ve pek çok hücresel fonksiyonun düzenlenmesinde görev alan küçük

yapılı proteinlerdir. Genellikle 20–30 kD ağırlığında olan sitokinler peptid veya glikoprotein yapısındadırlar (Roshene ve Ramesh 2017). Lenfositler, makrofajlar, monositler ve bazı somatik hücreler tarafından sentezlenirler. Salgılanan bir sitokin, diğer sitokinlerin de salgılanmasına neden olduğu için çoğunlukla bir kaskat halinde üretilirler (Zhang ve An 2007). Genel olarak stokin olarak isimlendirilmekle birlikte lenfokin (lenfositler tarafından üretilen sitokinler), monokin (monositler tarafından üretilen sitokinler), kemokin (kemotaktik faaliyet gösteren sitokinler) ve interlökin (bir lökosit tarafından üretilen ve diğer lökositler üzerine etki eden sitokinler) olarak isimlendirilmektedirler. Hormonlara benzemekle birlikte hormon değildirler (Nororiha ve ark. 1995). Otokrin, parakrin ve endokrin etkileri vardır. Aynı sitokin farklı hücrelerden salgılanabileceği gibi, tek bir sitokinin farklı hücre tiplerine etki etmesi de söz konusudur. Buna pleiotropik etki denir.

Sitokinler, inflamasyon reaksiyonlarındaki etkinlikleri göz önünde bulundurularak proinflamatuar ve anti-inflamatuar olarak iki gruba ayrılır. Proinflamatuar sitokinler yangısal reaksiyonları tetikleyen sitokinlerdir. IL-2, IL-6, TNF-α, IL-1β, , IL-12, IFN-α, IFN-γ, IL-15, IL-17 ve IL-18 proinflamatuardır (Wojdasiewicz ve ark. 2014). Anti-inflamatuar sitokinler; temel olarak proinflamatuar sitokinlerin tepkisini kontrol eden moleküllerdir. Başlıcaları IL-4, IL-10, IL-11 ve IL-13, TGF-β'dır (Roshene ve Ramesh 2017).

2.9.1. İnterlökin-1 beta

Katabolin olarak da bilinen IL-1β polipeptid yapıda, 31 kDa ağırlığında, hemen hemen tüm doku ve organlara etkili olan bir sitokindir. Akut ve kronik inflamasyonu indükleyen proinflamatuar sitokinlerlerden biridir (Dinarello 1988). Enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında, serumda IL-1β konsantrasyonun artması, IL-1β etkisinin sistemik olduğunu düşündürmektedir (Dinarello 1991).

IL-1β makrofajlar ve monositler tarafından pro-IL-1β olarak üretilir. Doğal öldürücü hücrelerde ve nötrofilde de üretilir. Kaspaz-1(CASP-1/ICE) tarafından aktive edilir (Graves ve Cochran 2003).

Çok yönlü bir sitokin olan IL-1β'nın sepsiste vasküler geçirgenliği, otoimmun hastalıklarda sitokin sekresyonu arttırdığı ve enfeksiyoz hastalıklarda vücut ısısını yükselttiği bilinmektedir. İnflamatuar yanıtın önemli bir mediatörüdür ve diğer sitokinlerin salgılanmasını indükler. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisiyle

de ilişkilidir (Samad ve ark. 2001). T-lenfositlerin uyarılması ve lenfokin üretimi, B-lenfositlerin proliferasyonu ve antikor üretimi, fibroblast proliferasyonu, monosit ve fibroblastlar tarafından salgılanan prostaglandin-E2'nin (PGE2) stimulasyonu, metaloproteinazların sekresyonu biyolojik etkilerinin bazılarıdır. IL-1β osteoklast oluşumunu ve kemik rezorpsiyonunu kolaylaştırır ve nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu etkiler. Septik şok ve yara iyileşmesi ile de ilişkilidir (Brechter ve ark 2008).

2.9.2. Interlökin-4

Interlökin-4 (IL-4) 18-20 kD ağırlığında, glikoprotein yapısında ve anti-inflamatuar olarak tanımlanan bir sitokindir (Söderhall ve ark. 2002). T hücreleri, mast hücreleri ve bazofiller tarafından üretilir (Roitt ve ark. 2001). Ayrıca Th2 hücreleri de aktive olduktan sonra pozitif bir geri bildirimle IL-4 üretimine katılırlar.

Diğer sitokinler gibi çok yönlü (pleiotrofik) etkileri vardır. Henüz farklılaşmamış (naive) CD4+ T hücreler antijenle karşılaştıktan sonra Th1 ve Th2 hücrelere farklılaşırlar. IL-4 bu aşamada çok kritik bir fonksiyon üstlenerek naive T hücrelerinin Th2 hücrelere farklılaşmasını stimüle eder. Tam tersine, Th1 hücrelere farklılaşmasını ise inhibe etmektedir (Seder ve ark. 1992). Diğer önemli bir görevi de B hücreler ile ilişkilidir. B hücrelerinin proliferasyonunun ve farklılaşmasını uyarır. Bu nedenle B hücre büyüme faktörü olarak da bilinir (Roitt ve ark. 2001). Aynı zamanda plazma hücrelerinden IgE salgılanmasını da stimüle eder (Spiegelberg 1990). IL-4'ün fazla üretilmesi alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır.

Interlökin-4'ün etkileri sadece lenfoid hücrelerle sınırlı değildir. Mast, dentritik, endotelial, musküler ve nöronal hücrelerin proliferasyonunu, farklılaşmasını ve apoptozisini de regüle etmektedir (Zamorano ve ark. 1996). Ayrıca bazı adezyon moleküllerinin ekpresyonunu uyararak lenfosit, monosit ve eozinofillerin endotel hücrelerine daha fazla tutunmasını sağlar (Sabatini ve ark. 2003). Bu da söz konusu hücrelerin inflamasyon bölgesine geçişini arttırır. IL-4'ün diğer bir fonksiyonu da helmint enfeksiyonlarıyla ilişkilidir. IL-4'ün anti-helmintik etkileri olduğu, IL-4 ya da IL-4 reseptörü eksikliğinde savunma sisteminin helmint enfeksiyonlarına karşı başarısız olduğu rapor edilmektedir (Finkelman ve ark. 2004).

2.9.3. İnterlökin-10

İnterlökin-10, **(**IL-10), 36 kDa ağırlığında, çok yönlü etkileri olan bir sitokindir. Monositler başta olmak üzere, Th2 hücreler, mast hücreleri, regülatör T hücreler (CD4+ CD25+ Foxp3+) ve aktive olmuş B hücreler tarafından üretilir (Ishizuka ve ark. 1999).

En önemli anti-inflamatuar sitokinlerden biridir. Th1 hücrelerden IFN-γ ve IL-2'nin, Th2 hücrelerden IL-4 ve IL-5'in, monositlerden IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12 ve TNF-α'nın, NK hücrelerden IFN-γ ve TNF-α'nın üretimini inhibe eder (Couper ve ark. 2008). Bu sayede inflamatuar sitokinlerin aktivitesini sınırlandırarak doku hasarını engeller. Ayrıca dendritik hücrelerde ve makrofajlarda MHC-II, ICAM-1 ve CD23, CD80/CD86 gibi moleküllerin ekspresyonunu inhibe eder. Söz konusu moleküller antijen sunan hücrelerin Th2 hücreleri aktive etmesi için gerekli olduğundan, Th2 hücreleri aktivesini de inhibe etmiş olur (O'Garra ve ark. 2004).

Allerjenlere karşı tolerans oluşturulmasında solunum yollarındaki immatür dendiritik hücrelerden ve makrofajlardan salgılanan IL-10 rol oynar. IL-10 allerjik reaksiyonlarla ilişkili sitokinleri inhibe eder. Ayrıca alerjenlere karşı tolerans oluşturulmasında alerjene spesifik regülatör T hücrelerden salgılanan IL-10'da etkili olur. Söz konusu hücrelerden salgılanan IL-10, alerjik reaksiyonları tetikleyen mast hücrelerin, eozinofillerin ve bazofillerin suprese edilmesini sağlar. Ayrıca, alerjene spesifik regülatör B hücrelerden IgE salgılanmasını da inhibe eder (Akdis ve Akdis 2014). Bilindiği gibi IgE alerjik reaksiyonların başlıca mediatörüdür.

2.9.4. Tümör nekroz faktör-alfa

Kaşektin olarak da adlandırılan TNF-α, 17-70 kDa ağırlığında, glikoprotein yapısında sitokindir (Male ve ark. 1996). TNF-α, doğal ve kazanılmış immünite, hücre proliferasyonu, inflamasyon, anorexia, apoptozis, septik şok, viral replikasyon ve hematopoezde rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerden birdir (Mezyk ve ark. 2005). En önemli kaynağı aktive makrofajlar ve monositler olmakla birlikte, endotel hücreler, fibroblastlar, adipositler, kupffer hücreleri, düz kas hücreleri, B hücreleri ve tümör hücrelerinde de üretilmektedir.

Tümör nekroz faktör-alfa salgılanması için en güçlü uyaranlar lipopolisakkaritlerdir (Beutler ve ark. 1985). Özellikle gram-negatif bakteriler, parazitler,

virüsler, tümör hücreleri, IL-1, IL-2 ve IFN-γ, TNF-α sekresyonunu arttırmaktadır. IL-10 ve prostaglandinler ise baskılamaktadır (Çayakar, 2018).

Nötrofillerin ve monositlerin kemotaksisini uyarır ve böylece enfeksiyon alanına toplanmasını sağlar. Endotelyal hücrelerden ve makrofajlardan kemokin salgılanmasına neden olur. Ayrıca damar endotellerinden adezyon moleküllerinin ekpresyonuna neden olarak nötrofillerin, monositlerin ve lenfositlerin endotel yüzeyine yapışmasını sağlar. TNF-α'nın inflamatuar hastalıkların seyri sırasında farklı etkileri söz konusudur. Düşük konsantrasyonlarda enfeksiyona karşı organizmayı aktive ederken, yüksek konsantrasyonlarda inflamasyon ve doku hasarına neden olur (Çayakar, 2018). Ayrıca tümör hücrelerinde nekroz oluşumunu sağladığı için anti-tümöral etkisi olduğu ileri sürülmektedir. Osteoklast öncü hücrelerinin farklılaşmasını uyararak, kemik yıkımına da neden olur. Mononükleer fagositler üzerine etki ederek IL-1 salınımını artırır (Lum ve ark. 1999; Schlondorff ve ark. 2001) İnflamasyondaki bu güçlü rolüne ek olarak, fibroblastların apoptozisini indükler ve bu yolla doku tamirini sınırlar (Bostancı ve ark 2008).

2.10. Kanatlılarda antioksidan savunma sistemleri

Metabolik faaliyetler sırasında açığa çıkan ve serbest radikal denilen oksitleyici maddelerin hücrelerde oluşturduğu hasar oksidatif stres olarak tanımlanır. Vücudu oksidatif stresten korumak için farklı mekanizmalar gelişmişitr. Enzimatik, non-enzimatik, ya da hücre içi, hücre dışı gibi farklı kategorilere ayrılabilen bu mekanizmaların tamamına antioksidan savunma sistemi denilmektedir.

Kanatlılarda yüksek verim elde etmek için yapılan seleksiyonların, sadece yem dönüşüm oranını ya da yumurta verimini arttırmadığı, onları oksidatif strese de daha duyarlı hale getirdiği bildirilmektedir (Soleimani ve ark. 2011).

Kanatlılardaki antioksidan savunma sistemi memelilerde olduğu gibi üç ana bölümde ele alınabilir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz gibi antioksidan enzimler ilk savunma hattını oluşturmaktadır (Surai 2016). Demir ve bakır gibi metaller serbest radikal oluşumunun ana katalizörleri olduğundan, metal bağlayıcı proteinler de antioksidan savunma sisteminin ilk hattında yer almaktadır. Antioksidan savunma sisteminin ikinci hattını E vitamini, askorbik asit, glutatyon (GSH), Coenzyme Q (CoQ) ve ürik asit gibi serbest radikal temizleyici antioksidanlar oluşturur. Antioksidan savunmanın üçüncü hattını ise, hasarlı moleküllerin onarımında ya da

elimine edilmesinde görev alan metiyonin sülfoksit redüktaz (MSR), ısı şok proteinleri (HSP'ler), DNA-tamir enzimleri gibi biyoaktif maddeler vs. oluşturmaktadır (Chen ve ark 2014; Moloney ve Cotter 2018; Santoro 2018).

Süperoksit dismutaz kanatlılarda en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Özellikle stres sırasında üretiminin artması kanatlılar için kritik öneme sahiptir. Çünkü kanatlılar önceden de belirtildiği gibi memelilere oranla strese daha duyarlı türlerdir. Stres sırasında SOD üretimindeki artışta yemlerle alınan antioksidan maddelerin de oldukça etkili olduğu görülmüştür. Özellikle, E vitamini, selenyum, karotenoidler ve fitokimyasalların SOD ekspresyonunu arttırdığı rapor edilmektedir (Surai ve ark. 2019). Kanatlılarda sitozolik ve mitokondrial olmak üzere, moleküler yapısı farklı, iki ayrı SOD enziminin olduğu bildirilmektedir (Surai 2016). Bunlar SOD-1 ya da bakır çinko içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) ve manganez içeren süperoksit dismutaz (Mn-SOD) olarak isimlendirilmektedir. Cu/Zn-SOD enziminde bakır ve çinkonun bağlı olduğu iki bölge vardır. Daha çok hücrenin sitozolünde, membranında ve membrana yakın bölgelerinde yer alır (Weisiger ve Fridovich 1973). Mn-SOD enzimi ise mitokondride bulunur. Mitokondrial aktivite sırasında açığa çıkan çok miktardaki superoksidin elimine edilmesini sağlar.

Kanatlılarda metabolik faaliyetler sırasında üretilen başlıca azotlu atık ürik asittir. Ürik asit aynı zamanda oksijen radikallerini, peroksit radikallerini temizleyen ve reaktif bileşiklerin üretiminde görev alan metal iyonlarını şelatlayan güçlü bir antioksidandır (Halliwell ve Gutteridge 2007). Dolaşımdaki ürik asit, reaktif bileşiklerle etkileşime girdiğinde allantoine oksitlenir (Tsahar ve ark. 2006). Kanatlılarda metabolik aktiviteler sırasında açığa çıkan ürik asit proksimal nefronda protein veziküllerıyle paketlenerek çözünmeyen ürik asit kristalleri şeklinde kloakaya verilir. Tavuklara yemle birlikte inozin verildiğinde oksidatif stresin azalması ya da tam tersine ürik asit oluşumunu azaltan allopurinol verildiğinde oksidatif stresin belirgin olarak artması kanatlılarda ürik asidin en önemli antioksidan mekanizmalardan biri olduğunu göstermektedir (Settle 2014).

2.10.1. Malondialdehit

Metabolik faaliyetler sırasında açığa çıkan serbest radikaller hücre zarındaki lipidlerden elektron çalarak membrandaki lipitlerin okside olmasına neden olurlar. Lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan bu olay genellikle çoklu doymamış yağ asitlerini etkiler (Munnia ve ark. 2004; Khalili ve ark. 2008). Lipit peroksidasyonu sırasında çok

sayıda sekonder ürün açığa çıkar. Bunlardan biri de oldukça toksik bir madde olan malondialdehitir (MDA) (Valko ve ark. 2007). MDA, sadece lipit peroksidasyonu sırasında üretilmez. Tromboksan A2'nin biyosentezinde de yan ürün olarak üretilebilir.

Serum ya da doku MDA düzeyi lipit peroksidasyonunu, dolayısıyla oksidatif hasarı saptamak için biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Dinçel ve ark. 2009). Ancak besinlerde bulunan MDA sindirim sırasında bağırsaktan rahatlıkla kana geçerek serum MDA düzeyini etkileyebilmektedir. Bu nedenle serum MDA düzeyi ölçülürken besinlerden alınabilecek MDA miktarı dezavantaj olarak değerlendirilmektedir (Halliwell ve Gutteridge 2007).

Lipit peroksidasyonu sırasında MDA'nın yanı sıra F2-isoprostan denilen bir madde de açığa çıkmaktadır. Gıdalarda izoprostanlar bulunmasına rağmen, sindirim kanalından az miktarda emildiği bildirilmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyon düzeyini belirlerken alternatif biyobelirteç olarak kullanılabilir (Mateos ve Bravo 2007).

Malondialdehit oluştuktan sonra metabolize edilmezse hücresel proteinlerle, doku proteinleriyle ya da DNA ile bileşerek doku hasarına neden olur (Monaghan ve ark. 2009). Nükleik asitlerin, enzimlerin, proteinlerdeki amino gruplarının ve tiyollerin MDA'ya affinitesi yüksek düzeyde olduğu için hücreler açısından toksiktir (Oropesa ve ark. 2009). Genotoksik, mutajenik ve karsinojenik özellikler de göstermektedir (Del Rio ve ark. 2005). MDA karaciğerdeki mitokondrilal aldehid dehidrogenaz enzimi tarafından büyük oranda CO_2'ye ve H_2O'ya metabolize edilmektedir. %10'luk kısmı idrarla dışarı atılabilmektedir (Draper ve ark. 1984).

2.10.2. Glutatyon peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), neredeyse tüm canlılarda bulunan (Passardi ve ark. 2007) hücreleri lipit peroksit ve H_2O_2 hasarından koruyan ve selenyum içeren bir enzimdir (Ma ve ark. 2017). GSH-Px'in iki ana türü vardır. Bunlardan biri, aktif bölgesinde selenyum bulunduğu için selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (Se-GPx) olarak tanımlanır. Se-GPx hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Selenyuma bağımlı olmayan glutatyon peroksidaz (GST) ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde etkilidir.

Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutatyonu (GSH) kullanarak H_2O_2'yi, lipit hidroperoksitleri ve DNA hidroperoksitleri metabolize eder.

Glutatyon peroksidaz ve katalazın birbirine çok benzer fonksiyonları vardır. Ancak katalaz başlıca peroksizomlarda en yüksek aktiviteyi gösterirken, GSH-Px en yüksek aktiviteyi sitozol ve mitokondrial matrikste gösterir (Sun ve ark. 1989). H_2O_2 miktarı düşükse GSH-Px, yüksekse katalaz daha etkili olur (Memişoğulları 2005).

2.10.3. Katalaz

Katalaz (E.C. 1.11.1.6) (CAT), neredeyse yaşayan bütün organizmalarda bulunan endojen bir antioksidandır. Dokulardaki oksidan maddeleri azaltarak, hücresel moleküller üzerindeki zararlı etkilerini elimine eder. H_2O_2 üzerindeki katalitik aktivitesi sebebiyle bu isim verilmiştir (Loew 1900). Metabolik faaliyetler sonucunda oluşan ve toksik etki gösteren H_2O_2'yi su ve moleküler oksijene katalize eder. Böylece hiçbir serbest radikal oluşturmaksızın hücreleri oksidatif hasarlara karşı korur (Duthie ve ark. 1989; Tucsek ve ark. 2014).

Katalazın antioksidan etkisinin yanında sinyal iletimi, detoksifikasyon ve henüz bilinmeyen önemli birçok biyolojik rolü olabileceği düşünülmektedir (Chelikani ve ark. 2002). Ancak dolaşımdaki yarılanma ömrü oldukça kısadır (6-10 dakika). Böbrekler tarafından hızlı bir şekilde atılır ve hücre içine taşınmasının zayıf olması önemli bir dezavantajdır (Loew 1900).

Katalaz tetramerik bir yapısı vardır. Merkezinde demir iyonu bulunan protoporfirin halkası şeklinde dört hem grubuna (tıpkı hemoglobindeki gibi) sahiptir (Kirkman ve Gaetani 1984). Bu sayede H_2O_2 ile tepkimeye girer. Ayrıca katalaz monomerinde bulunan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) molekülü, katalazı H_2O_2'in oksitleyici etkisinden korumaktadır. Her ne kadar alt birim, sayı ve tipinde değişiklikler olsa da tüm canlılarda benzer bir yapıya sahip olduğu kanıtlanmıştır.

2.10.4. Askorbik asit

C vitamini olarak da adlandırılır. Renksiz kristaller halinde, kendine has kokusu olan, ekşi tatta, asit reaksiyonda, suda kolay çözünebilen, karbonhidrat türevli basit bir şekerdir. Taşıyıcı proteini olmayan askorbik asit subselüler yapılara bağlı olarak bulunur. İmmün fonksiyonları kuvvetlendirici etkisi olduğu belirtilen askorbik asitin birçok biyokimyasal reaksiyonda rol oynadığı bilinmektedir (Herbert ve ark. 2006). Oksidasyon-redüksiyon olaylarında görev alır (McDowell 1989). Reaktif oksijen veya peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek tokoferoksil radikaline dönüşen E vitaminin tekrar aktif hale dönüşmesini sağlar (Liebler ve ark. 1989). Böylece vitamin E'nin antioksidan

etkilerini artırır (Niki ve ark. 1982; Shahidi ve ark. 2008). Nitrik oksit sentezi, kollojen sentezi ve kolesterol metabolizması üzerinde de etkileri vardır.

Askorbik asit, sitoplazmadaki önemli antioksilardan biridir. Süperoksit ve diğer reaktif oksijen türlerini etkin biçimde temizler (Bendich ve ark. 1986; May 1999) ve hücre içi redoks durumunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Winkler ve ark. 1994; Rose ve ark. 1993). Bu özelliği savunma hücrelerin fonksiyonları için önemlidir. Nitekim askorbik asitin stres sırasında böbreküstü bezinden salgılanan glikokortikoitlerin neden olduğu immunosupresyonu azalttığı bildirilmiştir (Erganis ve İstanbulluoğlu 1993).

Askorbik asit fizyolojik pH'da glutatyon ya da glutatyon dehidroaskorbat oksidoredüktaz enzimi tarafından dehidroaskorbata indirgenir. Çoğu doku ve plazmada, askorbat şeklinde bulunur. (Akkuş 1995). Birçok canlı askorbik asiti glikozdan sentezleyebilmektedir. Ancak, insan, primat ve kobaylarda L-glukonolaktonu askorbik aside dönüştüren glukanolakton oksidaz enzimi bulunmadığından bu canlılar için askorbik asit esansiyeldir (Frikke-Schmidt ve Lykkesfeldt 2009; Traber ve Stevens 2011). Kanatlılarda askorbik asit böbreklerde sentezlenmektedir. Ancak yaşamlarının ilk 2 haftasında sentezlenen miktar yeterli düzeyde değildir. Ergin kanatlılarda beslenme yetersizlikleri, hastalıklar ve çeşitli stres faktörleri vücuttaki askorbik asit seviyesinin düşmesine neden olmaktadır.

Nötrofiller, mononükleer hücreler, trombositler ve endotel hücreler plazmalarında yüksek konsantrasyonda askorbik asit depolarlar (Evans ve ark. 1982; Oberritter ark.1986). Eksojen olarak askorbik asit verildiğinde lökositlerin kemotaktik kabiliyetlerinin arttığı bildirilmektedir (Boxer ve ark. 1979).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Tavuklar ve barınma şartları

Araştırmada 38 haftalık toplam 144 adet "Atak-S" ırkı yumurtacı tavuk kullanıldı. Tavuklar deney süresince ticari bir işletmenin kümeslerinde barındırıldı (Mrt Tarım. A.Ş., Bandırma, Balıkesir). Deneysel prosedürler başlamadan önce tavuklara iki hafta adaptasyon süresi verildi. Kümeslerin ısı, nem, vb. gibi çevresel şartları "Atak-S" bakım kitabında önerilen program doğrultusunda, otomatik olarak düzenlendi. Kümeslerde zenginleştirilmemiş battery tipi metal kafesler kullanıldı. Kafesler nipel suluklar ve oluk yemlikler ile donatılmıştı. Deneme süresince havalandırma, kümeslerdeki havalandırma kapağından yapıldı. Aydınlatma, 16 saat aydınlık olacak şekilde uygulandı.

3.2. Araştırma dizaynı ve gruplar

Yerleşim sıklığının neden olduğu kronik strese karşı keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının koruyucu etkisi olup olmadığını belirlemek amacıyla çalışmaya alınan hayvanlar rastgele stres uygulananlar ve stres uygulanmayanlar olarak 2 gruba ayrıldı. Bunlar da kendi arasında temel rasyon ile beslenenler, yemlerine keten tohumu yağı katılanlar ve ayçiçek yağı katılanlar olarak üç alt gruba ayrıldılar. Her bir alt grup, dörtlü replikasyonlu çalışılmıştır. Stres uygulanan grupta her bir kafeste 7 tavuk yer aldı. Stres uygulanmayan grupta ise her bir kafese 5'er tavuk konuldu. Böylece stres uygulanan gruptaki kafeslerde tavuk başına 357 cm^2, stres uygulanmayanlarda ise 500 cm^2 alan verilmiş oldu.

Temel rasyonla beslenen tavuklara ticari yumurtacı tavuk yemi verildi. Keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı verilenlerde temel rasyona % 2 oranında bitkisel yağ eklendi. Yemler tavuklara 15 hafta süreyle üretici firmanın kitapçığında belirtilen miktarlarda verildi.

3.3. Yemler

Deneme süresince kullanılan yemler ticari bir işletmeden temin edildi. Toz formunda olan yemlerin besin değerleri ticari bir işletmenin laboratuvarında analiz edildi (Banvit Aş, Bandırma Balıkesir). Keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı verilenlerde temel rasyona %2 oranında bitkisel yağ günlük olarak eklendi.

Tablo 3-1: Araştırmada kullanılan temel rasyonun bileşimi

	Temel Rasyon
Yem ham maddeleri	**%**
SFK % 46	30,00
ATK % 34	25,00
TYS % 18	11,00
Mısır % 14	15,00
Ham yağ (Soya Yağı)	0,80
DCP	2,00
DL-Metiyonin	0,10
Limestone	9,50
Vitamin + mineral premix[1]	1,00
Tuz	0,30

[1]Her 1 kg yemde bulunan vitamin miktarı: Vitamin A. 10.000.000IU; vitamin D3. 2.000.000 IU.; vitamin K3. 3 mg /kg; vitamin B1. 3 mg; vitamin B2. 6 mg: vitamin B6. 4 mg; vitamin B1. 2; 15 mg; Ca pantotenat. 10 mg; Niasin 25 mg; Folik asit. 1mg; D Biotin; 25 mg . Her 1 kg yemde bulunan mineral miktarı: Mn. 80 mg; Fe .60 mg; Zn. 60 mg; Cu. 5 mg: Co 500 mg; Se. 150 mg. SFK = Soya fasülyesi küspesi, ATK = Ayçiçeği tohumu küspesi, TYS = Tam yağlı soya, DCP = Dikalsiyum fosfat.

Tablo 3-2: Araştırmada kullanılan temel rasyonun besin maddeleri içeriği (%) ve Metabolize olabilir enerji düzeyi (ME Kkal/kg)

	Temel Rasyon
Kuru madde %	89,33
Nem %	10,67
Ham protein %	18,35
Selüloz %	3,32
Kül %	5,74
Ham yağ %	4,73
NaCl %	0,33
Nişasta %	35,33
Şeker %	5,1
Metobolize edilebilir enerji (ME Kkal/kg)	2636

3.4. Denemede kullanılan yağlar

Kullanılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı özel bir işletmeden satın alındı (Ayhan Sezer Ltd. Şti., Bandırma, Balıkesir). Deneme boyunca, yeme katılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı soğuk hava deposunda +4°C derecede muhafaza edildi.

3.5. Performans parametreleri

Araştırmada canlı ağırlık değişimini tespit etmek için tüm tavuklar deneme başında ve sonunda tartıldı. Deneme başında homojeniteye dikkat edilerek gruplandırıldı.

Araştırma süresince hayvanların günlük yumurta verimlerini kontrol etmek amacıyla yumurtalar her gün aynı saatte toplandı. Toplanan yumurtalar (0.1) g hassasiyetteki dijital terazi ile tartılarak kaydedildi. Elde edilen verilerden yumurta üretimi, ortalama yumurta ağırlığı ve yumurta kütlesi hesaplandı (Yumurta üretimi = üretilen yumurta adedi/mevcut tavuk sayısı x 100, Yumurta kütlesi = yumurta üretimi x ortalama yumurta ağırlığı) (TNAU 2020).

3.6. Yumurta kalite parametreleri

Yumurta kalitesine ilişkin parametreleri ölçmek üzere çalışmanın son haftasında toplanan yumurtalar kullanıldı. Her bir alt gruptan 20'şer yumurta rastgele seçilerek analiz edildi (Stres uygullananlarda 3 x 20, toplam 60 yumurta, stresi uygulanmayanlar 3 x 20, toplam 60 yumurta). Yumurta kalitesine ilişkin parametreler Digital egg tester (DET6000) cihazında analiz edildi. Analizler ticari bir işletmenin ARGE laboratuvarında gerçekleştirildi (SEN Tarım A.Ş. Bandırma, Balıkesir). Dış kalite parametreleri olarak kabuk ağırlığı, kabuk kalınlığı, kabuk direnci, iç kalite parametresi olarak Haugh ünitesi, yumurta akı yüksekliği ve renk indeksi ölçüldü.

3.7. Kan örneklerinin alınması

Deney sonunda her bir alt gruptan rastgele seçilen 12'şer tavuktan 5'er ml antikoagulanlı ve antikoagülansız kan örnekleri alındı (her kafesten rastgele 3 hayvan seçildi, stres uygulananlardan 36, stres uygulanmayanlardan 36, toplam 72 tavuktan kan alındı). Kan örneklerinin alınmasında *V. Subcutanea ulnaris* kullanıldı. Alınan kanlar soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı. Antikoagulanlı kan örnekleri flow sitometrik analizler ve lökosit tiplerini belirlemek için kullanıldı. Antikoagulansız kan örnekleri 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edildi ve sonraki analizler için (-80^0C'de) saklandı.

3.8. Lökosit alt tiplerinin belirlenmesi

Heterofil lenfosit oranını saptamak için periferal kandan sürme kan frotisi hazırlandı. Hazırlanan frotiler May-Grunwald, Giemsa ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobunda incelenerek lokosit alt tipleri belirlendi.

3.9. Flow sitometrik analizler

3.9.1. Heterofillerin tam kandan izole edilmesi

Sunulan çalışmada heterofilleri izole etmek için Kogut ve ark. (1999) metodu esas alınmıştır. Heterofilleri izole etmek için kullanılan prosedür kısaca aşağıdaki gibidir. Numaralandırılmış tüplere 3'ml kan örneği, üzerine 2'şer ml %1'lik metilselüloz (SigmaChemicalCompany, St. Louis, MO) içeren PBS (25 Centipoise) çözeltisi pipetlendi. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant ve buffy coat katmanı bir pipet kullanılarak toplandı. Üzerine 1/1 oranında Hanks Balanced Salt Solution (HBSS) eklendi. Elde edilen süspansiyon dikkatli bir şekilde bir Histopaque® (1.077 / 1.119) gradyanı (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO) üzerinde yayıldı. Gradyan 250 g'de oda sıcaklığında 60 dakika santrifüj edildi. Heterofilleri elde etmek için 1.199 bandı pipetle dikkatlice alındı. Alınan örnekler 1/1 oranında Roswell Park Memorial Institute medium 1640 (RPMI 1640) solüsyonu ile 2500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkandı. Üstteki süpernatant atılarak alttaki hücre peleti PBS ile sulandırılarak kullanıldı.

3.9.2. Heterofil fonksiyon testleri

Her bir örnek için 3'er tüp hazırlandı. Tüplere 1'er ml PBS eklendi, üzerine 20'şer µl heterofil süspansiyonu ve 10'ar µl DHR-123 pipetlendi. Örnekler su banyosunda 5 dakika inkübe edildikten sonra uyaranlar pipetlenerek (Oksidatif patlama için 10 µl phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), fagositik aktvite için 10 µl E coli, kemotaksik aktivite için 10 µl N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP)), flow sitometride 0. ve 20. dakikada ortalama florasan yoğunluğu (mean floresan intensity MFI) saptandı.

Ortalama florasan yoğunluğunun ölçülmesi: Ortalama floresan yoğunluğunu ölçmek için 10.000 hücre flow sitometriden geçirildi. Florasan yoğunluğu FL1 dedektörü kullanılarak saptandı. Elde edilen değerler Cell Quest (Becton, Dickinson, New Jersey. US.) programı kullanılarak sayısal veriye dönüştürüldü. 20. dakikada ölçülen değer 0. dakikada ölçülen değere bölünerek ortalama floresan yoğunluğu hesaplandı.

3.9.3. T Hücrelerin saptanması

Monoklonal antikorlar: CD3+, CD4+, CD8+ T hücreleri belirlemek için tavuğa spesifik monoclonal antikorlar kullanıldı. CD3 için, mouse anti-chicken CD3-FITC (clone CT-3), CD4 için, mouse anti-chicken CD4-PE (clone CT-4), CD8 için mouse anti-chicken

CD8α-PE (clone CT-8) antikorları kullanıldı (Southern Biotech© Birmingham, ABD) kullanıldı.

Hücrelerin monoklonal antikorlarla işaretlenmesi: Her örnek için 2'şer tüp hazırlandı (biri CD4, diğeri CD8 için). Tüplere izole edilen lenfositleri içeren süspansiyondan 100'er µl pipetlendi. Üzerine 1'er µl CD3-FITC (fluorescein isothiocyanate boyalı CD3 antikoru) ve 0,5 µl CD4 PE (phycoerythrin boyalı CD4 antikoru) antikoru ilave edildi. İkinci tüplere de 1'er µl CD3-FITC, üzerine 0,5 µl CD8 PE (phycoerythrin boyalı CD8 antikoru) pipetlendi. Hücreler 30 dakika süreyle oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra üzerlerine 2'şer ml PBS pipetlenerek, 1500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüjden sonra supernatant pipetle atılarak, kalan hücreler 500 µl Facsflow ya da PBS ile sulandırılarak, flow sitometride ölçülmek üzere hazır hale getirildi. Flow sitometri cihazında FL-1 ve FL-2 dedektörleri kullanılarak 20.000 hücre saydırıldı. Cellquest program (FacsCalibur™, Becton Dickinson, USA) kullanılarak sayılan hücreler analiz edildi.

3.10. Serum sitokin düzeylerinin saptanması

Proinflamatuar sitokinleri saptamak için IL-4, IL-1β, TNF-α anti-inflamatuar olarakta IL-10 düzeyi ölçüldü. Serum sitokin düzeyleri ticari test kiti kullanılarak tayin edildi (Abbkine CA. USA). Analizler kitlerin prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemiyle yapıldı. Chicken interleukin 4 (IL-4) ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken interleukin-1 beta (IL-1β) ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken interleukin-10 (IL-10) ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken tumor necrosis factor-α (TNF-α) ELISA kit (Abbkine ELISA kit).

3.11. Antioksidan savunma sistemine ilişkin parametrelerin ölçülmesi

Oksidatif stresi belirlemek için serum MDA düzeyi, antioksidan savunma sisteminin etkinliğini ölçmek için katalaz, GSH-Px ve askorbik asit düzeyleri ölçüldü. Serum antioksidan savunma sistemine ait parametreler ticari test kiti kullanılarak tayin edildi (Abbkine CA. USA). Analizler kitlerin prosedürlerine uygun olarak ELISA yöntemiyle yapıldı. Chicken malondialdehyde (MDA) ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken catalase (CAT) ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken GSH-Px ELISA kit (Abbkine ELISA kit), chicken vitamine C (VC) ELISA kit (Abbkine ELISA kit).

3.12. İstatistiksel analizler

Elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizinde faktöryel ANOVA kullanıldı. Stres ve yem sabit faktör, ölçülen parametreler ise bağımlı değişken olarak analiz edildi. Buna göre stresin olup olmaması ya da üç farklı yem tipi (temel rasyon, keten tohumu yağı içeren rasyon ve ayçiçek yağı içeren rasyon) faktör olarak kullanıldı. Elde edilen veriler 2 x 3 faktöryel dizayna göre analiz edildi. Böylece stresin ana etkisi, kullanılan yemlerin ana etkisi ve stres x yem etkileşiminin etkisi (interaktif etki) istatistiksel olarak analiz edildi. Sadece ana etkilerin önemli çıktığı durumlarda, ana etkiler göz önünde bulunduruldu. İnteraktif etkinin önemli olduğu durumlarda ise ana etkiler önemli olsa bile değerlendirmeye alınmadı. İnteraktif etki üzerinden değerlendirme yapıldı. İnteraktif etkinin ya da yemin ana etkisinin önemli çıktığı durumlarda Posthoc testler kullanılarak farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığı belirlendi. Posthoc testler yapılmadan önce Levene testi ile verilerin homojen dağılıp dağılmadığı kontrol edildi. Homojen dağılım gösteren verilerin ($P > 0,005$ düzeyinde önemli çıkanlar) Posthoc analizinde Tukey testi kullanıldı. Homojen dağılmayan verilerin ($P < 0,005$ düzeyinde önemli çıkanlar) Potshoc analizi non-parameterik Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Tabloların ve grafiklerin oluşturulmasında verilere ait ortalama değerler ve ortalama değerin standart hataları kullanıldı. $P = 0,005$ ve daha küçük değerler, önemli olarak kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS programı SPSS 13.0 kullanılarak yapıldı. (SPSS, Inc., Chicago, USA).

4. BULGULAR

4.1. Stres düzeyi (H/L oranı)

Yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının heterofil ve lenfosit oranı üzerindeki etkisi Tablo 4.1'de yer almaktadır.

Heterofil lenfosit oranına ilişkin veriler stresin ve yemlerin ana etkisinin önemli olduğunu (sırasıyla P = 0,018 ve P = 0,001), stres x yem etkileşiminin önemli olmadığını göstermektedir (P = 0,776). Strese maruz kalan tavuklarda H/L oranının stres uygulanmayanlara göre daha yüksek olduğu saptandı. Ayrıca bazal diyetle beslenenlerde H/L oranının rasyonuna keten tohumu yağı ilave edilenlere göre daha yüksek olduğu, ayçiçek yağı ilave edilenlerle arasında önemli bir fark olmadığı saptandı. Keten tohumu yağı verilenlerle ayçiçek yağı verilenler arasındaki farkın da önemli olmadığı saptandı (Tablo 4.1).

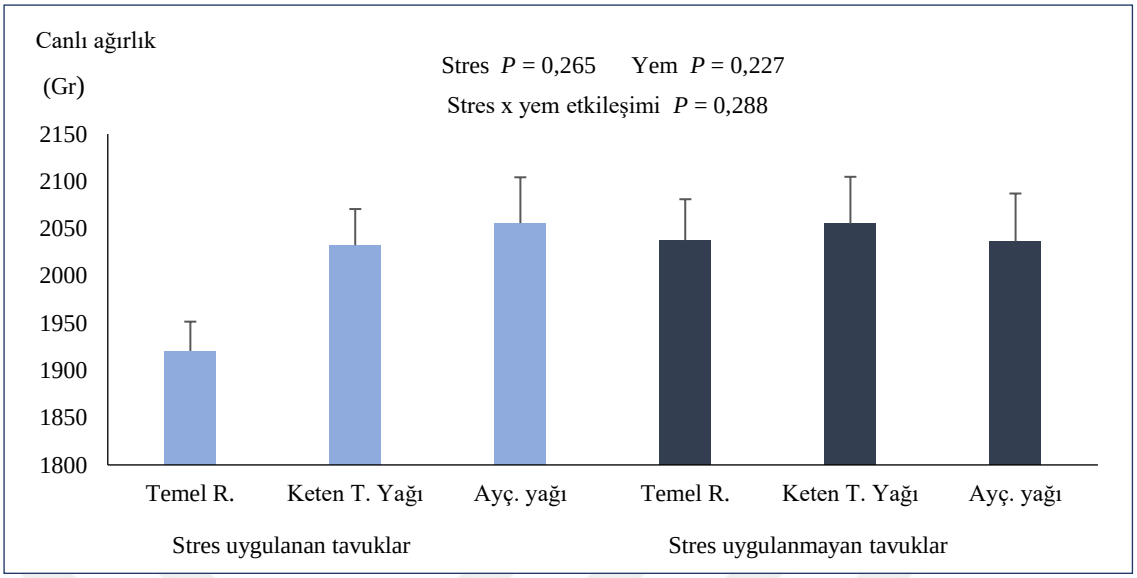
Tablo 4-1: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının heterofil lenfosit oranına etkisi

		Heterofil (%)	Lenfosit (%)	H/L oranı
Stres Uygulananlar	Temel R.	62 ± 2,57	20^{b} ± 1,72	$3,32^{a}$ ± 0,39
	Keten T. Yağı	44 ± 2,26	34^{a} ± 1,68	$1,71^{b}$ ± 0,24
	Ayç. Yağı	62 ± 3,15	28^{a} ± 2,58	$2,54^{ab}$ ± 0,43
Stres Uygulanmayanlar	Temel R.	57 ± 2,38	26^{b} ± 2,46	$2,45^{a}$ ± 0,37
	Keten T. Yağı	50 ± 3,44	42^{a} ± 3,12	$1,31^{b}$ ± 0,19
	Ayç. Yağı	52 ± 3,70	35^{a} ± 3,95	$1,82^{ab}$ ± 0,36
			P değeleri	
Stresin ana etkisi		**0,004**	**0,004**	**0,018**
Yemin ana etkisi		0,128	**0,001**	**0,001**
Stres x yem etkileşimi		0,672	0,916	0,776

a, b, c = Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir. H/L = heterofil lenfosit oranı

4.2. Canlı ağırlık

Tavukların canlı ağırlıkları Şekil 4.1'de yer almaktadır. Uygulanan stresin (P = 0,265) ya da yeme katılan keten tohumu yağının ve ayçiçek yağının (P = 0,227) canlı ağırlığı önemli düzeyde etkilemediği görüldü. Ayrıca stres x yem etkileşiminin de önemli olmadığı saptandı (P = 0,288).

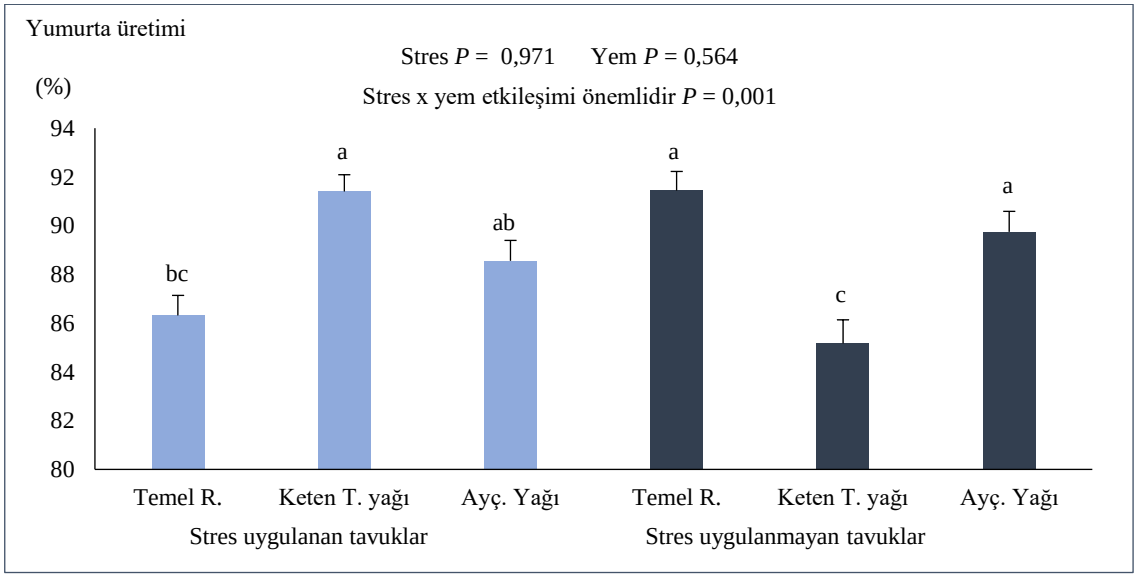


Şekil 4-1: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının canlı ağırlığa etkisi.

4.3. Performans (Yumurta üretimi- Yumurta kalite parametreleri)

4.3.1. Yumurta üretimi

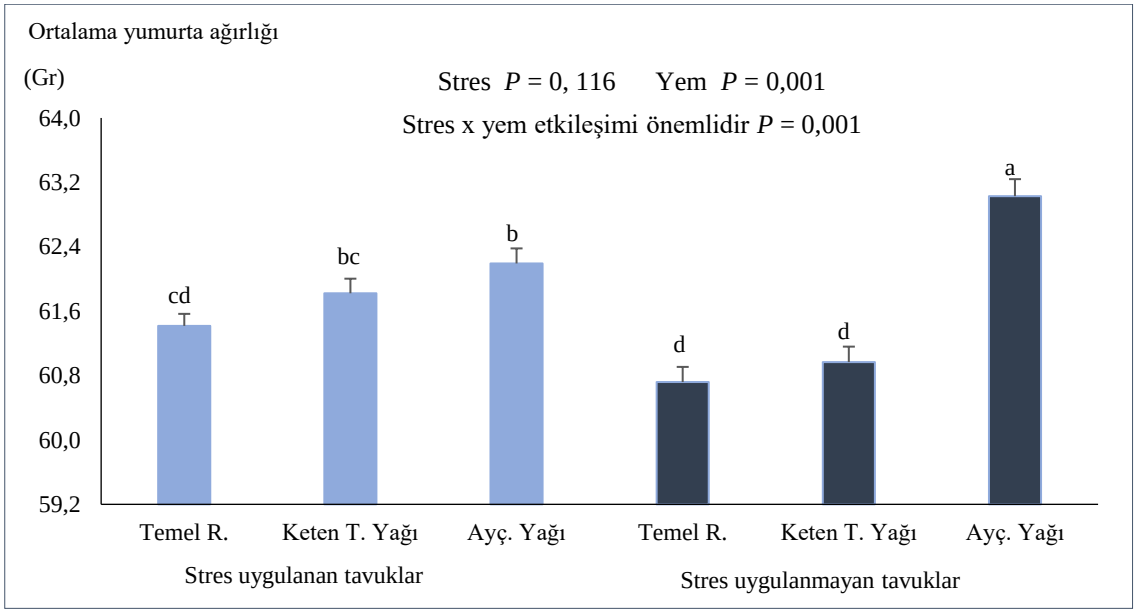
Yumurta üretimine ilişkin veriler Şekil 4.2'de yer almaktadır. Elde edilen veriler stres x yem etkileşiminin yumurta üretimini etkilediğini göstermektedir (P = 0,001). Rasyona ilave edilen keten tohumu yağının stres uygulananlarda yumurta üretimini arttırdığı, stres uygulanmayanlarda ise tam tersine azalttığı görüldü. Ayçiçek yağının ise yumurta üretimini etkilenmediği belirlendi.



Şekil 4-2: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta üretimine etkisi.

4.3.2. Ortalama yumurta ağırlığı

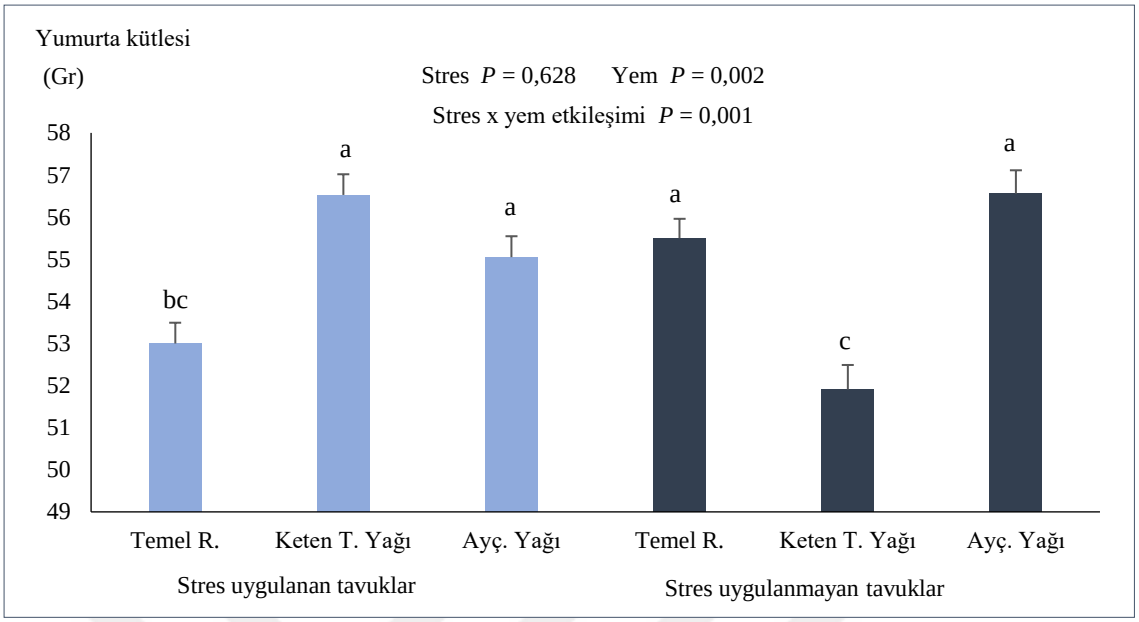
Ortalama yumurta ağırlığına ilişkin veriler Şekil 4.3'de yer almaktadır. Stres x yem etkileşiminin yumurta ağırlığını etkilediği görülmektedir (P = 0,001). Stres uygulanmayan tavuklarda rasyona keten tohumu yağı ilave edildiğinde ortalama yumurta ağırlığında önemli bir değişim görülmemektedir. Stres uygulananların rasyonuna ilave edildiğinde ise sınırlı bir artış gözlenmektedir. Ayçiçek yağı ise her iki durumda da (stres olsun ya da olmasın) ortalama yumurta ağırlığında belirgin bir artışa neden olmaktadır.



Şekil 4-3: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının ortalama yumurta ağırlığına etkisi.

4.3.3. Yumurta kütlesi

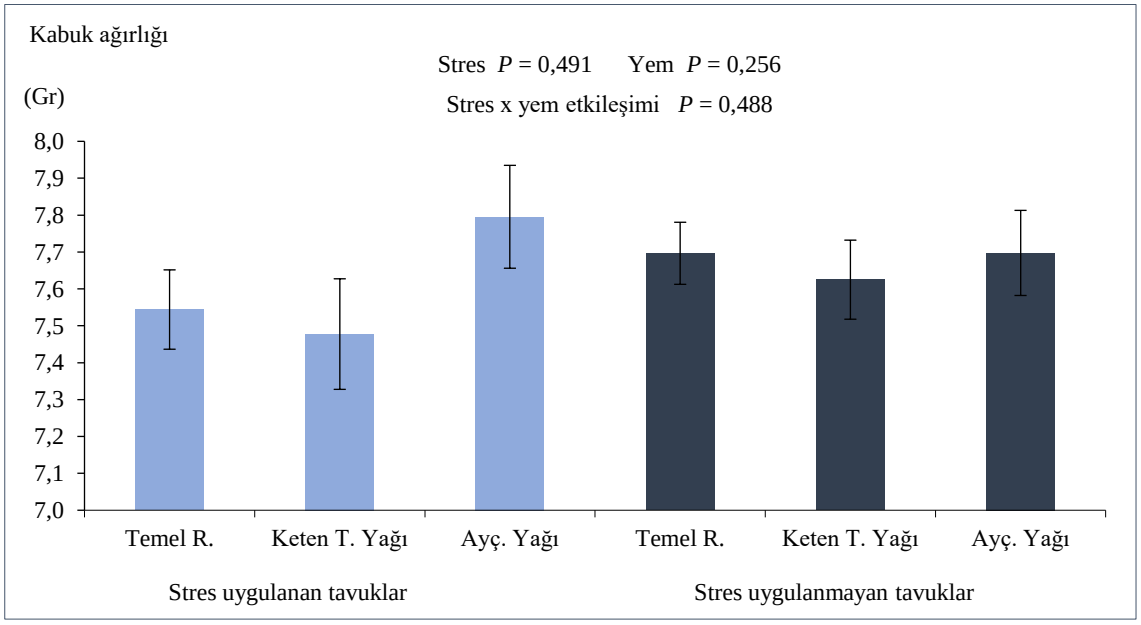
Yumurta kütlesine ilişkin veriler Şekil 4.4'de sunulmaktadır. Sunulan bu çalışmada stres x yem etkileşiminin yumurta kütlesini etkilediği saptandı (P = 0,001). Stres uygulanmayan tavukların rasyonuna keten tohumu yağı ilave edildiğinde yumurta kütlesinin azaldığı, stres uygulananlara ilave edildiğinde ise tam tersine belirgin bir şekilde arttığı gözlendi. Ayçiçek yağının ise hem stres uygulananlarda hem de uygulanmayanlarda yumurta kütlesini temel rasyonla beslenenlere göre arttırdığı belirlendi.



Şekil 4-4: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kütlesine etkisi.

4.3.4. Kabuk ağırlığı

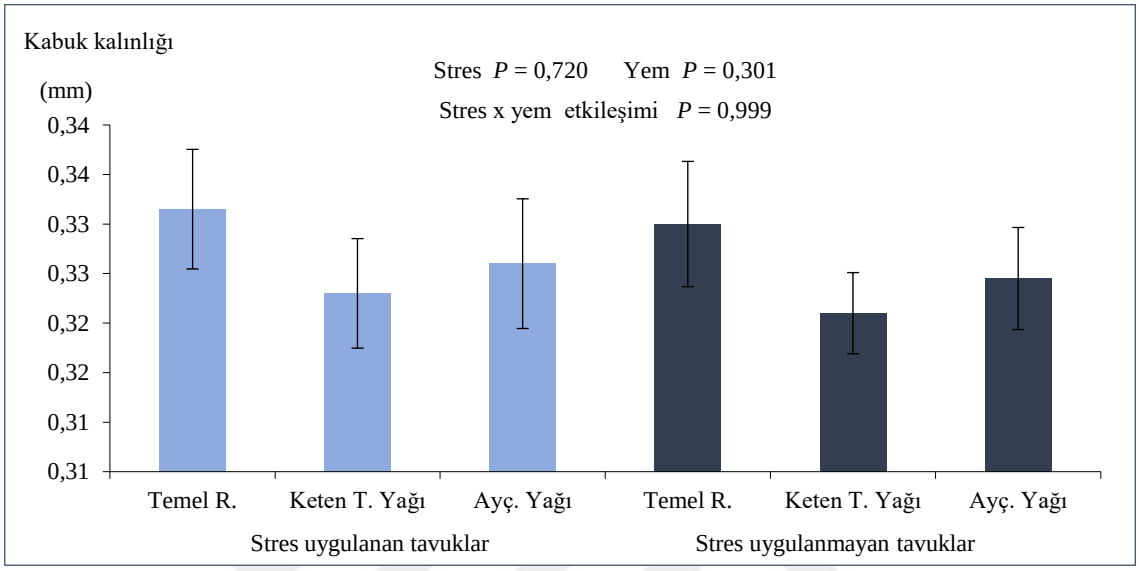
Yumurta kabuk ağırlığına ilişkin veriler Şekil 4.5'da yer almaktadır. Elde edilen bulgular stresin (P = 0,491), yemin (P = 0,256) ve stres x yem etkileşiminin (P = 0,488) kabuk ağırlığını etkilemediğini göstermektedir.



Şekil 4-5: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğu ağırlığına etkisi.

4.3.5. Kabuk kalınlığı

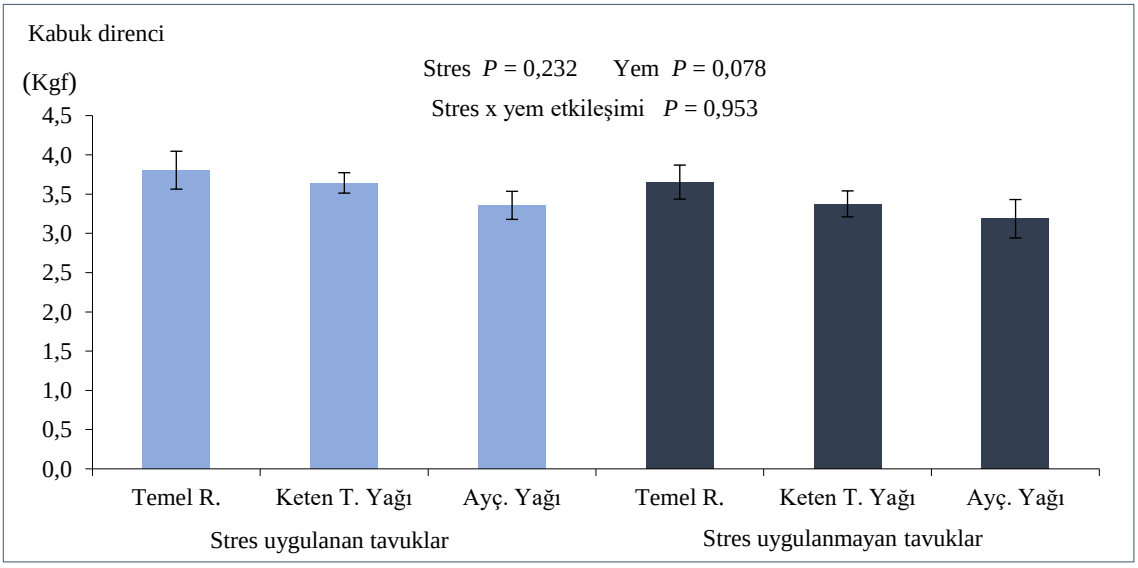
Yumurta kabuğunun kalınlığına ilişkin bulgular Şekil 4.6'da yer almaktadır. Uygulanan stresin (P = 0,491), yeme katılan yağların (P = 0,301) ve stres x yem etkileşiminin (P = 0,999) kabuk kalınlığını etkilemediği saptanmıştır.



Şekil 4-6: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğu kalınlığına etkisi.

4.3.6. Kabuk direnci

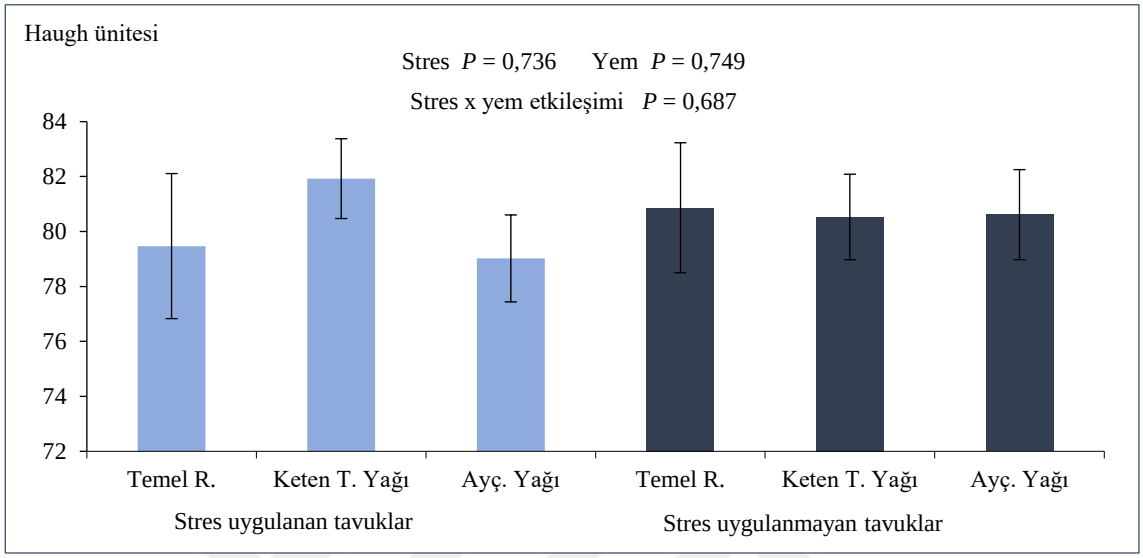
Yumurta kabuğunun kırılma direncine ilişkin veriler Şekil 4.7'de yer almaktadır. Elde edilen veriler stresin (P = 0,232), yemin (P = 0,078) ve stres x yem etkileşiminin (P = 0,953) yumurta kabuğunun kırılma direncini etkilemediği saptandı.



Şekil 4-7: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta kabuğunun kırılma direncine etkisi.

4.3.7. Haugh ünitesi

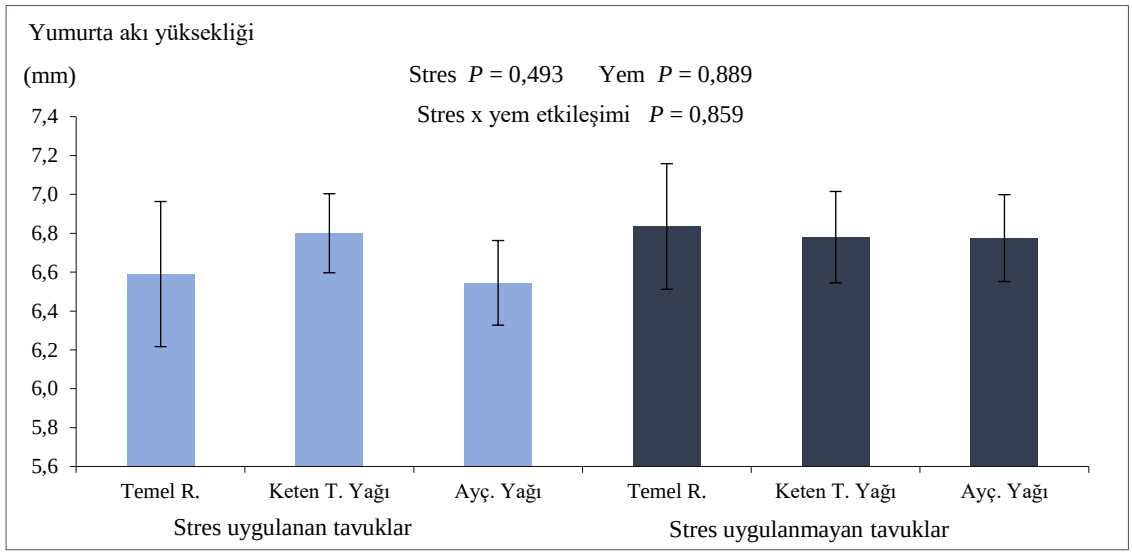
Haugh ünitesine ilişkin veriler Şekil 4.8'de yer almaktadır. Elde edilen bulgular stresin (P = 0,736), yemin (P = 0,749) ve stres x yem etkileşiminin (P = 0,687) Haugh ünitesini etkilemediği yönündedir.



Şekil 4-8: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının Haugh ünitesine etkisi.

4.3.8. Yumurta akı yüksekliği

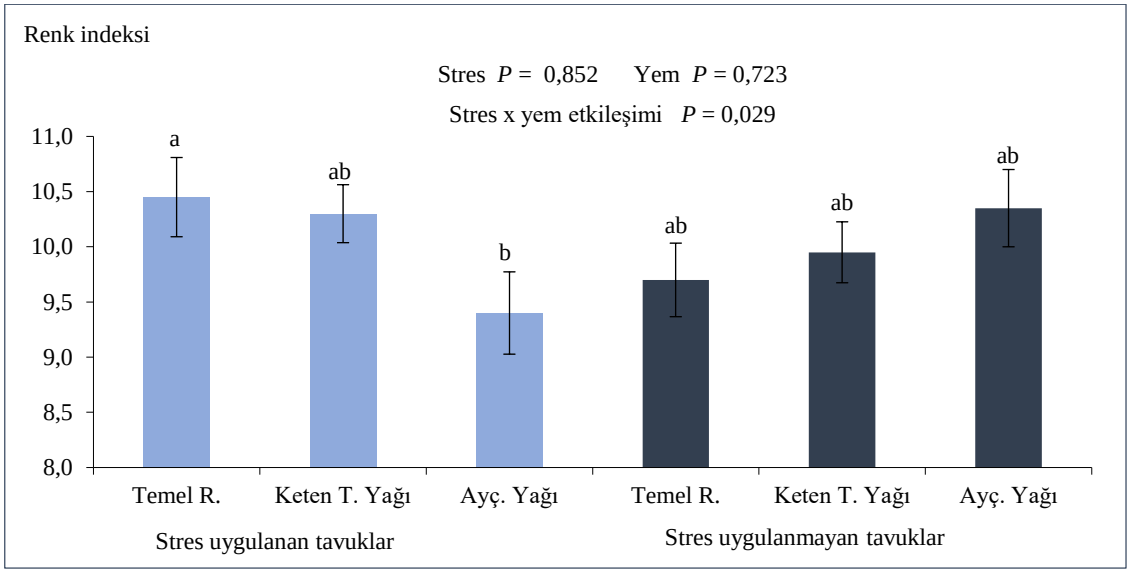
Yumurta akı yüksekliğine ilişkin veriler Şekil 4.9'da yer almaktadır. Elde edilen bulgular stresin (P = 0,493), yemin (P = 0,889) ve stres x yem etkileşiminin (P = 0,859) yumurta akının yüksekliğini etkilemediği belirlendi.



Şekil 4-9: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta akı yüksekliğine etkisi

4.3.9. Renk indeksi

Yumurta sarısının renk indeksine ilişkin veriler Şekil 4.10'de sunulmaktadır. Elde edilen veriler stresin (P = 0,852) ve yemin (P = 0,723) ana etkilerinin önemli olmadığını göstermektedir. Ancak stres ile yem arasında önemli bir etkileşim belirlendi (P = 0,029). Stres uygulanan tavukların yemine ayçiçek yağı katıldığında renk indeksinin belirgin olarak azaldığı görüldü. Stres uygulanmayanlarda ise önemli bir etkisi görülmedi. Keten tohumu yağı ilave edildiğinde de önemli bir değişim görülmedi.

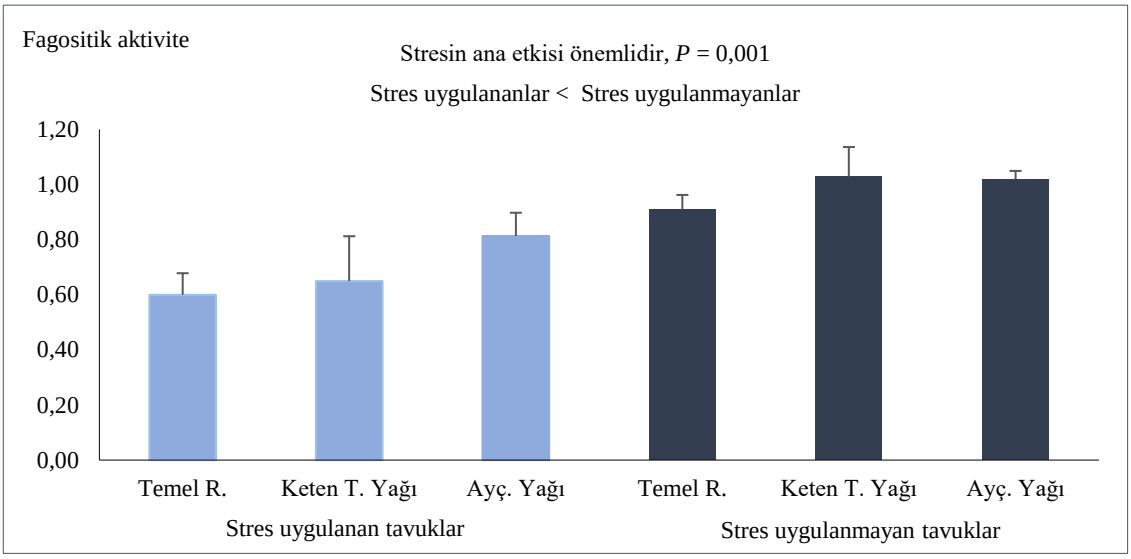


Şekil 4-10: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının yumurta sarısının renk indeksine etkisi

4.4. İmmun sistem

4.4.1. Fagositik aktivite

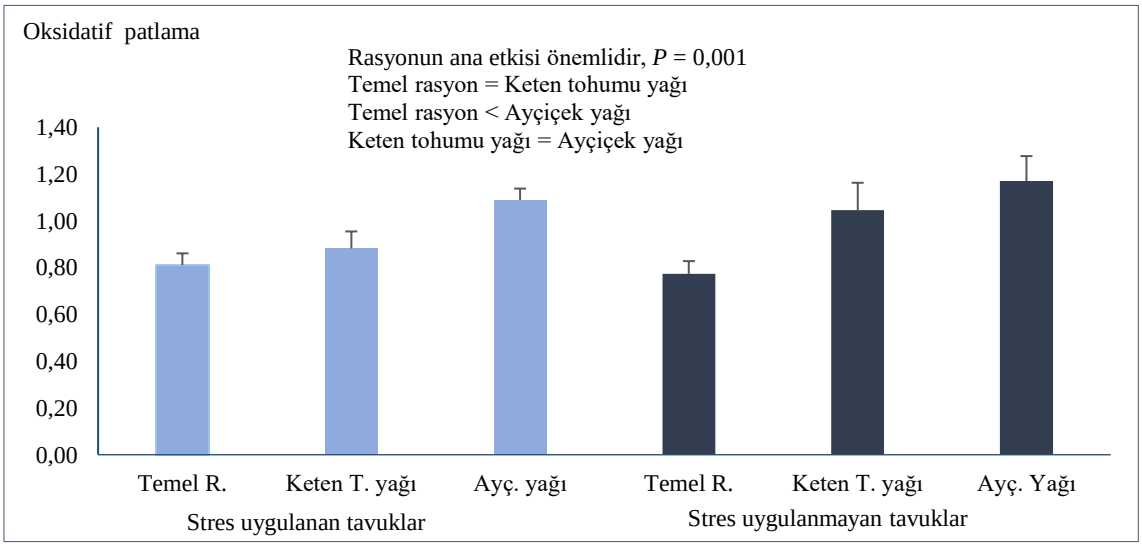
Heterofillerin fagositik aktivitesine ilişkin bulgular Şekil 4.11'de yer almaktadır. Tavuklara uygulanan yoğunluk stresinin fagositik aktivite üzerindeki ana etkisinin önemli olduğu belirlendi (P = 0,001). Stres uygulananlarda fagositik aktivitenin önemli düzeyde azaldığı görüldü. Öte yandan kullanılan yemlerin fagositik aktivite üzerindeki ana etkisinin önemli olmadığı saptandı (P = 0,414). Ayrıca kullanılan yemlerle stres arasında önemli bir etkileşim de görülmedi (P = 0,503).



Şekil 4-11: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının fagositik aktiviteye etkisi.

4.4.2. Oksidatif patlama

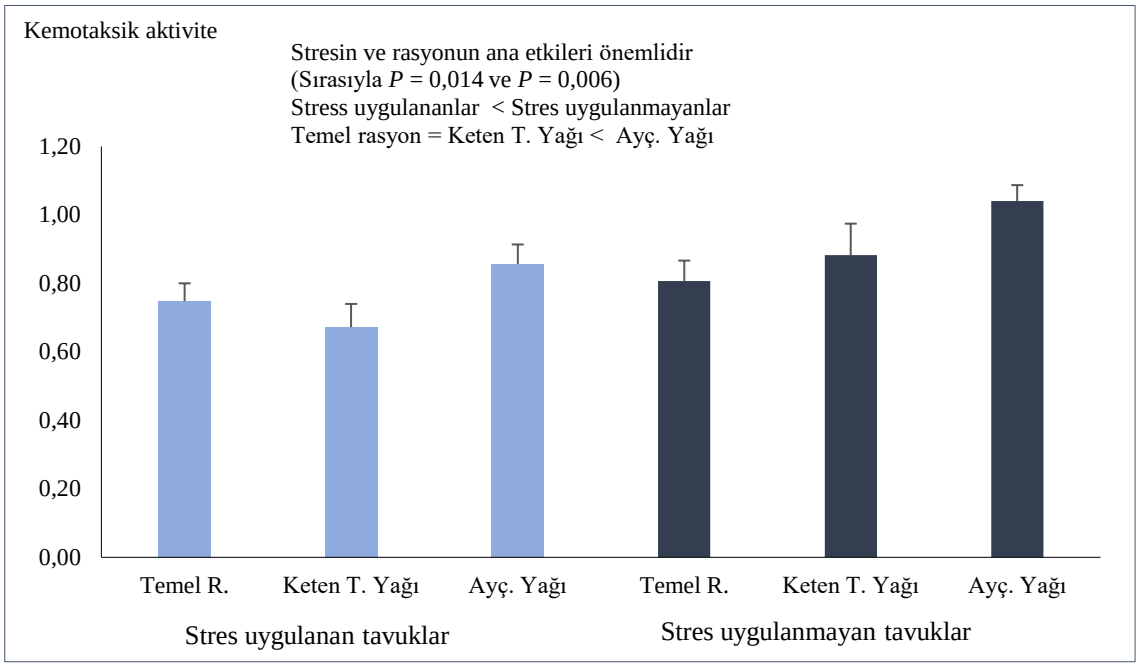
Heterofillerin oksidatif patlamasına ilişkin veriler Şekil 4.12'de sunulmaktadır. Elde edilen veriler kullanılan rasyonun oksidatif patlama üzerindeki ana etkisinin önemli olduğunu göstermektedir (P = 0,001). Yemlerine ayçiçek yağı katılan tavuklarda oksidatif patlamanın temel rasyon ile beslenenlere göre belirgin olarak yüksek olduğu saptandı. Keten tohumu yağı verilen tavuklarda ise önemli bir farklılık olmadığı saptandı. Ayrıca stresin ana etkisinin önemli olmadığı görüldü (P = 0,297). Stres ile rasyon arasındaki etkileşimin oksidatif patlama üzerindeki etkisinin önemli olmadığı belirlendi (P= 0,457).



Şekil 4-12: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının oksidatif patlamaya etkisi.

4.4.3. Kemotaksik aktivite

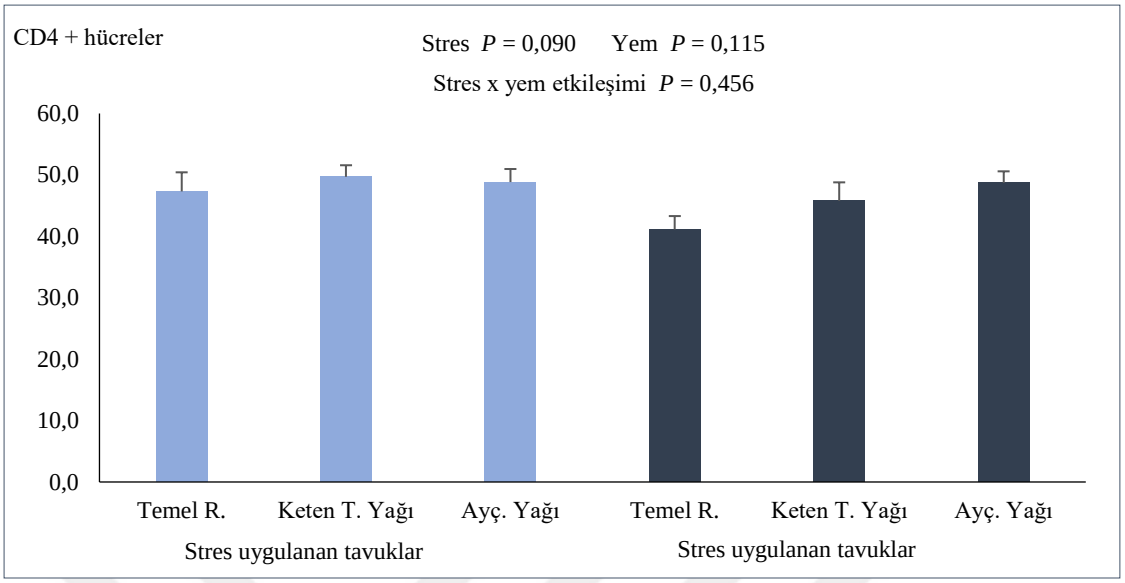
Kemotaksik aktiviteye ilişkin bulgular Şekil 4.13'de yer almaktadır. Elde edilen veriler uygulanan yoğunluk stresinin ve tavuklara verilen yemlerin heterofillerin kemotaksik aktivitesini önemli düzeyde etkilediğini göstermektedir. Stres uygulananlarda kemotaksik aktivitenin stres uygulanmayanlara göre belirgin olarak düşük olduğu saptandı (P = 0,006). Ayrıca ayçiçek yağı verilen tavuklarda kemotaksik aktivitenin diğerlerine göre yüksek olduğu görüldü (P = 0,014). Kemotaksik aktivite açısından stres yem arasında önemli bir etkileşim saptanmadı (P = 0,452).



Şekil 4-13: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının kemotaksik aktiviteye etkisi.

4.4.4. Yardımcı T hücreler

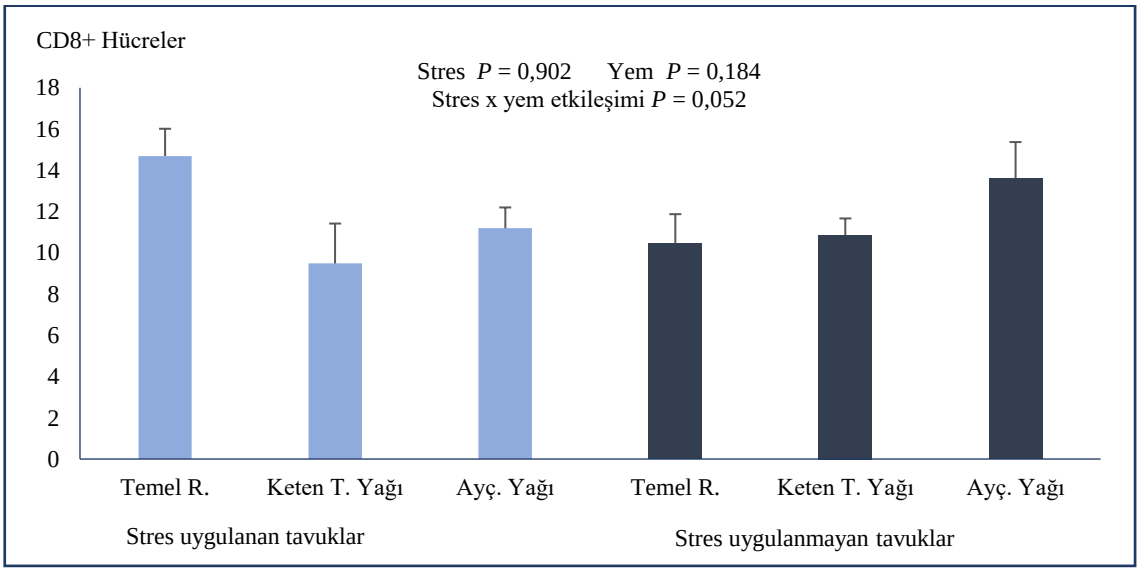
CD4+ T hücrelere ilişkin veriler Şekil 4.14'de sunulmaktadır. Uygulanan yoğunluk stresinin (P = 0,090) ya da keten tohumu yağı ve ayçiçek yağı içeren rasyonların (P = 0,155) CD4+ hücrelerin oranını etkilemediği görüldü. Ayrıca stres x rasyon arasındaki etkileşimin de önemli olmadığı saptandı (P = 0,456).



Şekil 4-14: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının CD4+ hücrelere etkisi

4.4.5. Sitotoksik T hücreler

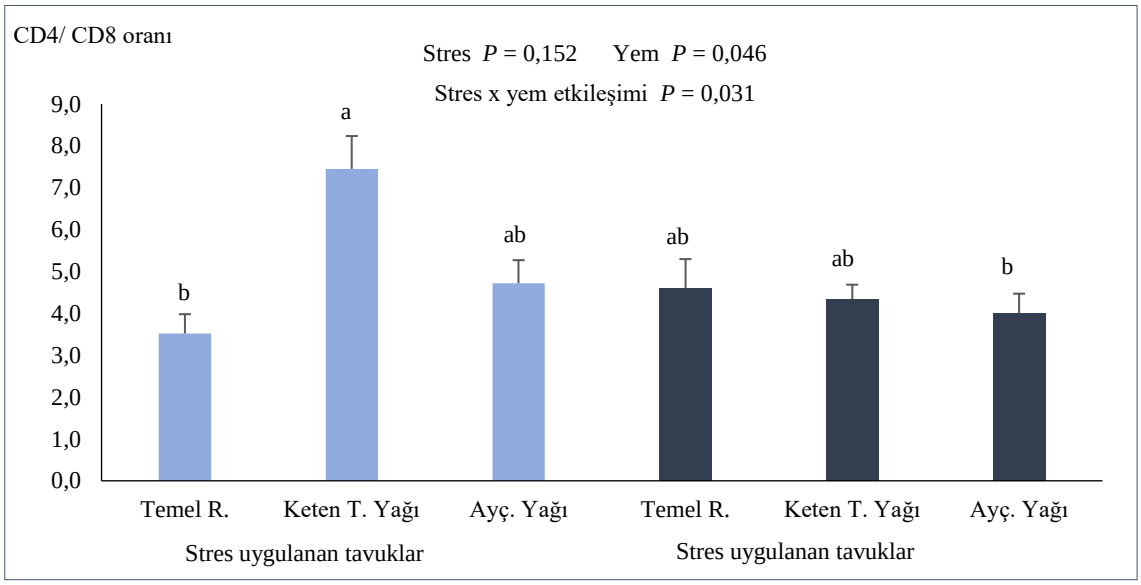
CD8+ T hücrelere ilişkin veriler Şekil 4,15'de görülmektedir. Uygulanan yoğunluk stresinin (P = 0,184) ve rasyonun (P = 0,902) CD8+ hücrelerin oranını etkilemediği görüldü. Ayrıca bu parametreye ilişkin stres x rasyon arasındaki etkileşimin de önemli olmadığı saptandı (P = 0,052).



Şekil 4-15: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının CD8+ hücrelere etkisi

4.4.6. CD4/CD8 oranı

CD4/CD8 oranı Şekil 4.16'da verilmiştir. CD4/CD8 oranına ilişkin veriler stresin ana etkisinin önemli olmadığını göstermiştir (P = 0,152). Kullanılan yemlerin ana etkisi önemli gibi görünmesine rağmen (P = 0,046), stres x yem etkileşimi önemli olduğu için (P = 0,031), yemin ana etkisi dikkate alınmamıştır. İnteraktif etkiye göre stres uygulananlara keten tohumu yağı verildiğinde CD4/CD8 oranının temel rasyonla beslenenlere göre belirgin olarak yüksek olduğu gözlenirken, stres uygulanmayanlarda bu etkinin görülmediği saptandı.



Şekil 4-16: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağınınCD4/ CD8 oranına etkisi

4.5. Sitokinler

Yoğunluk stresi ugulanan tavuklarda yeme katılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının inflamatuar sitokinlere etkisi Tablo 4.2'de sunulmuştur. Uygulanan yoğunluk stresinin ya da yeme katılan yağ asitlerinin serum IL-4 düzeyini değiştirmediği görülmektedir (Sırasıyla P = 0,302 ve P = 0,721). Ayrıca stres x yem etkileşiminin de önemli olmadığı belirlendi (P = 0,348). Stresin ve yemin IL-1β üzerindeki ana etkilerinin önemli olmadığı (Sırasıyla P = 0,407 ve P = 0,347), ancak stres x yem etkileşiminin önemli olduğu saptandı (P = 0,012). Stres uygulanan tavuklarda yeme katılan keten tohumu yağının ya da ayçiçek yağının serum IL-1β düzeyini etkilemediği gözlenirken, stres uygulanmayan tavuklada yeme ayçiçek yağı katıldığında IL-1β'nın azaldığı görüldü (Tablo 4.2). Serum IL-10 düzeyinin uygulanan stresten (P = 0,237), yemlerden (P = 0,159) ya da ikisinin interaktif etkisinden (P = 0,097) etkilemediği belirlendi (Tablo 4.2).

Tavuklara uygulanan yoğunluk stresi ile yeme katılan yağ asitleri arasında etkileşimin serum TNF-α düzeyinin etkilediği saptandı (P = 0,028). Stres uygulanan tavukların yemlerine keten tohumu yağı ya da ayçiçek yağı ilave edildiğinde serum TNF-α düzeyinin belirgin olarak azaldığı görüldü. Stres uygulanmayanlarda ise yeme katılan yağların önemli bir etkisi görülmedi (Tablo 4.2).

Tablo 4-2: Yoğunluk stresi uygulanan ve uygulanmayan tavuklarda yeme katılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının sitokinlere etkisi

		IL-4 (ng/L)	IL-1β (ng/L)	IL-10 (ng/L)	TNF-α (ng/L)
Stres Uygulananlar	Temel R.	105,18 ± 2,05	7,01^{ab} ± 1,17	3,82 ± 0,51	14,66^{a} 1,03
	Keten T. Yağı	102,04 ± 1,92	7,00^{ab} ± 0,82	6,54 ± 1,18	9,42^{b} 1,66
	Ayç. Yağı	107,38 ± 5,17	8,39^{ab} ± 0,88	4,86 ± 0,56	7,91^{bc} 1,26
Stres Uygulanmayanlar	Temel R.	101,22 ± 0,97	9,35^{a} ± 1,07	6,78 ± 0,96	6,31^{bc} 0,61
	Keten T. Yağı	104,20 ± 1,34	9,54^{a} ± 1,23	6,22 ± 0,94	5,34^{c} 0,79
	Ayç. Yağı	102,58 ± 1,70	5,53^{b} ± 0,70	4,68 ± 0,73	5,06^{c} 0,51
			P değerleri		
Stresin ana etkisi		0,302	0,407	0,237	0,000
Yemin ana etkisi		0,721	0,347	0,159	0,001
Stres x Yem etkileşimi		0,348	**0,012**	0,097	**0,028**

a, b, c = Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir. Stres = stres uygulanan tavuklar, No stres = stres uygulanmayan tavuklar.

4.6. Antioksidan savunma sistemi

Yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda yeme katılan keten tohumu yağı ve ayçiçek yağının antioksidan savunma sistemine etkisi Tablo 4.3'de sunulmuştur. Serum MDA düzeyi üzerinde stresin ve yağların ana etkileri önemli olmasına rağmen (Sırasıyla P = 0,048 ve P = 0,001), stres yem etkileşimi önemli olduğu için (P = 0,028), ana etkiler dikkate alınmadı. Strese maruz kalan tavuklar temel rasyon ile beslendiğinde oksidatif stresin göstergesi olan MDA'nın arttığı görüldü. Bu tavukların yemlerine keten tohumu yağı ilave edildiğinde MDA'nın azaldığı belirlendi. Ayçiçek yağı verildiğinde ise MDA düzeyinde ılımlı bir azalma olduğu dikkati çekti. Stres uygulanmayan tavuklarda ise yeme katılan yağların önemli bir etkisi gözlenmedi (Tablo 4.3). Serum katalaz düzeyinin tavuklara uygulanan stresten (P = 0,200) ya da verilen yemlerden (P = 0,095) etkilenmediği görüldü. Ayrıca stres x yem etkileşimin de serum katalaz düzeyine önemli bir etkisinin olmadığı saptandı (P = 0,607). Yeme katılan yağların GSH-Px enzimi

üzerindeki ana etkisi önemli bulunmadı (P = 0,0182). Uygulanan stresin ana etkisi önemli bulunmasına rağmen (P = 0,018), stres x yem etkileşimi önemli olduğu (P = 0,007) için stresin ana etkisi dikkate alınmadı. Yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda yeme keten tohumu yağı ya da ayçiçek yağının önemli bir etkisi gözlenmezken, stres uygulanmayan tavukların yemlerine keten tohumu yağı katıldığında GSHpx düzeyinin arttığı görüldü (Tablo 4.3). Tavuklara uygulanan yoğunluk stresinin askorbik asit üzerindeki ana etkisinin önemli olduğu saptandı (P = 0,057). Stres uygulanan tavuklarda askorbik asit düzeyinin azaldığı saptandı. Öte yandan yemlere katılan yağların ana etksisinin önemli olmadığı belirlendi (P = 0,250). Ayrıca stres x yem etkileşiminin de serum askorbik asit düzeyine önemli bir etkisinin olmadığı görüldü (P = 0,392) (Tablo 4.3).

Tablo 4-3: Yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda yeme katılan keten tohumu ve ayçiçek yağının antioksidan savunma sistemine etkisi

		MDA (nmol/mL)	Katalaz (ng/L)	GSHpx (promol/L)	Vitamin C (µg/L)
Stres Uygulananlar	Temel R.	$3,35^{a} \pm 0,73$	$6,56 \pm 0,42$	$2,46^{b} \pm 0,16$	$2,34 \pm 0,27$
	Keten T. Yağı	$1,65^{b} \pm 0,14$	$6,94 \pm 0,45$	$2,48^{b} \pm 0,16$	$3,90 \pm 0,83$
	Ayç. Yağı	$2,32^{ab} \pm 0,20$	$7,32 \pm 0,50$	$2,80^{b} \pm 0,34$	$3,52 \pm 0,66$
Stres Uygulanmayanlar	Temel R.	$1,41^{b} \pm 0,12$	$6,93 \pm 0,37$	$2,21^{b} \pm 0,13$	$3,51 \pm 0,30$
	Keten T. Yağı	$1,49^{b} \pm 0,11$	$8,32 \pm 0,74$	$4,33^{a} \pm 0,81$	$4,91 \pm 1,00$
	Ayç. Yağı	$1,45^{b} \pm 0,13$	$7,83 \pm 0,69$	$2,45^{b} \pm 0,15$	$3,13 \pm 0,26$
		P değerleri			
Stresin ana etkisi		0,048	0,200	0,018	0,057
Yemin ana etkisi		0,001	0,095	0,182	0,250
Stres x yem etkileşimi		0,028	0,607	0,007	0,392

a,b,c = Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir. MDA= Malodialdehit, GSHpx = Glutatyon peroksidaz.

5. TARTIŞMA

5.1. Stres düzeyi (H/L oranı)

Sunulan bu çalışmada heterofil lenfosit oranı stresin göstergesi olarak kullanıldı. Strese bağlı olarak salgılanan kortikosteronun periferal kandaki hücrelerin dağılımını etkilediği bilinmektedir. Strese maruz kalan hayvanlarda periferal kandaki heterofiller artarken lenfositlerin azaldığı bildirilmektedir (Hill 1983; Siegel 1985). Dolayısıyla H/L oranının artması kanatlılarda stresin göstergesi olarak kullanılmaktadır (Gross ve Siegel 1983; Maxwell 1993). Nitekim, sıcaklık stresinin lenfosit oranını azalttığı bildirilmiştir (McFarlane ve Curtis 1989). Broiler civcivlerde ısı stresi, amonyak artışına bağlı stresin ve yoğunluk stresinin H/L oranı arttırdığı rapor edilmiştir (Onbaşılar ve Aksoy 2005; Thaxton ve ark. 2006; Onbaşılar ve ark. 2008; Kang ve ark. 2016). Sunulan bu çalışmada da literatürde bildirildiği gibi stres uygulanan tavuklarda H/L oranının stres uygulanmayanlardan daha yüksek olduğu görüldü. Ancak yoğunluk stresi uygulanmayan broilerlerde H/L oranı değişmediğini bildiren çalışmalar da vardır (Bozkurt ve ark. 2008b). Söz konusu farklılığın tavukların ırkından kaynaklanmış olabileceği bildirildiği gibi (Al-Murrani ve ark. 1997), periferal kandaki hücrelerin kronik strese adapte olduğu, bu nedenle H/L oranının etkilenmediği de ifade edilmiştir (Cunningham ve ark. 1987). Sunulan bu çalışmada da kronik bir stres uygulanmış olmasına rağmen yoğun kafeslerde barındırılan tavuklarda H/L oranının yüksek olduğu görüldü. Bu da çalışmada kullanılan tavukların uygulanan yoğunluk stresine adapte olmadığını gösterdiği için önemlidir.

5.2. Canlı ağırlık

Sunulan çalışmada yeme katılan keten tohumu yada ayçiçek yağlarının ve stresin yumurtacı tavuklarda canlı ağırlık üzerine önemli bir etkisinin olmadığı görüldü (Şekil 4.1). Tespit ettiğimiz sonuç benzer bazı çalışmalar ile uyumluluk gösterirken, bazıları ile örtüşmemektedir. Yumurtacı tavuklarda omega-3 kaynağı olarak balık yağı ve keten tohumu yağı, omega-6 kaynağı olarak ayçiçek yağı kullanılan tavuklarda canlı ağırlıkta önemli bir değişim sağlamadığı bildirilmiştir (Eseceli ve Kahraman 2003). Benzer şekilde broiler rasyonlarına soya, kolza ve ayçiçek yağı ilave edildiğinde de canlı ağırlığın değişmediği saptanmıştır (Zollitsch ve ark.1997; Fébel ve ark. 2008). Ayrıca omega-3 kaynağı olarak balık yağı ilave edilmesinin canlı ağırlığı etkilemediği de görülmüştür (Shang ve ark. 2004;). Bıldırcın rasyonuna ayçiçek, mısır, keten tohumu ve balık yağı eklendiğinde canlı ağırlığın değişmediği (Al-Daraji ve ark. 2010), ancak bunların aksine;

bıldırcın ve broiler rasyonuna omega-3 kaynağı olarak balık yağı ilave edildiğinde canlı ağırlığın arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Das ve ark. 2014). Literatürden ve bizim çalışmamızdan görüldüğü gibi kanatlı rasyonuna omega-3 ve omega-6 kaynağı olarak eklenen yağların canlı ağırlık artışına farklı etkileri söz konusudur. Bu farklılıkların yeme katılan yağ oranlarından ya da uygulama süresinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Canlı ağırlıkla stres ilişkisi ele alındığında, stresin kanatlılarda canlı ağırlığa pozitif, negatif ve nötr etkilerinin olduğu görülmektedir. Nitekim sıcaklık stresi uygulanan piliçlerde canlı ağırlığın etkilenmediği (Basilio ve ark. 2001; Nelson ve ark. 2018), azaldığı (Altan ve ark. 2000) ya da arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Yahav ve Plavnik 1999). Sunulan bu çalışmada stres modeli olarak uygulanan yoğunluk stresinin yumurtacı tavuklarda canlı ağırlığı etkilemediği açıkça görülmüştür.

5.3. Performans

5.3.1. Yumurta üretimi

Yumurta üretimine ilişkin bulgularımız rasyona ilave edilen ayçiçek yağının yumurta üretimini etkilemediğini göstermektedir. Hayvanlara stres uygulanmasının bu durumu değiştirmediği saptanmıştır. Keten tohumu yağının yumurta üretimine etkisinin ise hayvanların stres altında olup olmamasına göre değiştiği görüldü. Keten tohumu yağının stres uygulananlarda yumurta üretimini arttırdığı, stres uygulanmayanlarda ise azalttığı belirlendi.

Ayçiçek yağının yumurta üretimini etkilemediği önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Sangkaew ve ark. 2017). Bu nedenle çalışmamızda ayçiçek yağı verilenlerde yumurta verimine ilişkin elde edilen bulgunun literatürle uyumlu olduğu söylenebilir.

Rasyona keten tohumu ya da keten tohumu yağı ilave edilen tavuklarda yumurta üretiminin değişmediğini bildiren raporlar olduğu gibi, azaldığını bildiren raporlar da vardır. Örneğin Al-Nasser ve ark. (2011) rasyona %5, %7,5 ve %10 oranında keten tohumu ilave edilen tavuklarda, Neijat ve ark. (2016) ise rasyona %0,2, %0,4 ve %0,6 oranlarında keten tohumu yağı ilave ettikleri tavuklarda yumurta üretiminin etkilenmediğini rapor etmektedir. Hatta daha yüksek oranda (%3 oranında) keten tohumu yağı verilenlerde de yumurta üretiminde değişiklik olmadığı bildirilmektedir (Herkel ve ark. 2014). Öte yandan Petrovic ve ark. (2012) rasyona %2, Schuman ve ark. (2000) ise

%4 oranında keten tohumu yağı ilave ettikleri tavuklarda yumurta üretiminin azaldığını rapor etmişlerdir. Hatta son çalışmada (Schuman ve ark. 2000) %10 oranında keten tohumu verilenlerde yumurta üretiminin azaldığı bildirilmektedir. Sunulan bu çalışmada stres uygulanmayan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde yumurta üretiminin azalması yukarıda verilen literatürler göz önünde bulundurulduğunda sürpriz bir sonuç değildir. Bunun altındaki mekanizmayı elimizdeki verilerle tam olarak açıklamak zor olmakla birlikte rasyona yüksek enerji veren yağlar ilave edildiğinde yem tüketiminin azaldığı bunun da yumurta üretiminde azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Huang ve ark. 1989). Sunulan bu çalışmada ilginç olan strese maruz kalan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde yumurta üretiminin artmasıdır. Aslında stres uygulanan tavuklara ayçiçek yağı verildiğinde de yumurta üretiminde bir artış olduğu dikkati çekmektedir. Ancak farkın istatistiksel düzeyde önemli olmadığı belirlendi. Önceki çalışmalarda yoğunluk stresinin yumurta üretimini azalttığı bildirilmiştir (Okpokho ve ark. 1987; Nahashon ve ark. 2006; Sarıca ve ark. 2008; Akbari ve ark. 2018). Sunulan bu çalışmada strese maruz kalan tavukların rasyonuna katılan keten tohumu yağında bulunan uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin stresin yumurta üretimi üzerindeki negatif etkisini terse çevirdiğini göstermektedir.

Tavuklarda yumurtlama faaliyetleri hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) ekseni tarafından koordine edilir. Söz konusu eksen gonadotropin-salgılatıcı hormon (GnRH) tarafından aktive edilir (Mishra ve ark. 2019). Keten tohumu yağında da bol miktarda bulunan omega-3'ün GnRH üretimini stimüle ettiği rapor edilmektedir (Tran ve ark. 2016). GnRH'ın en önemli stimülatörlerinden biri de katakolaminlerdir (Ottinger ve ark. 1995). Stres sırasında katakolamin üretiminin arttığı bilinmektedir (Sabban 2007). Dolayısıyla strese maruz kalan tavuklar keten tohumu yağı verildiğinde GnRH üretiminin iki koldan stimüle edilmesi söz konusudur. GnRH hem rasyona eklenen omega-3 yağ asitleri tarafından, hem de strese bağlı olarak salgılanan katakolaminler tarafından stimüle edilmektedir. Sonuç olarak stres uygulanan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde GnRH salgılanmasındaki artışın, yumurta üretimindeki artışa neden olduğu düşünüldü.

5.3.2. Ortalama yumurta ağırlığı

Sunulan çalışmada yumurta ağırlığına ilişkin veriler (Şekil 4.3) sunulmuştur. Elde edilen veriler omega-6 kaynağı olarak kullanılan ayçiçek yağının, stres olsun ya da olmasın her iki durumda da ortalama yumurta ağırlığını belirgin olarak arttırdığını

göstermektedir. Sunulan bu çalışmamızda olduğu gibi omega-6 yağ asitlerince zengin yağların yumurta ağırlığını arttırdığını bildiren raporlar olmakla birlikte (Bozkurt ve ark. 2008a; Güçlü ve ark. 2008; Jahja ve ark. 2011; Hamady 2013; Saleh ve ark. 2019), bizden farklı olarak etkisi olmadığını (Rowghani ve ark. 2007; İsmail ve ark. 2013; Göçmen ve ark. 2015), hatta azalttığını (Gül ve ark. 2012; Yuan ve ark. 2018) bildiren raporlar da vardır. Sunulan bu çalışmada ve önceki çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edilmesinde farklı yağ kaynakları kullanılması, uygulama süreleri ve yeme katılan yağ oranlarının birbirinden farklı olmasının etkili olduğu düşünüldü. Sunulan bu çalışmada yukarıdaki literatürlerden farklı olarak hayvanlara yoğunluk stresi de uygulanmış olmasına rağmen, ayçiçek yağının yumurta ağırlığında artışa neden olması üretici açısından pozitif bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

Sunulan bu çalışmada omega-3 kaynağı olarak kullanılan keten tohumu yağının stres varlığında ya da yokluğunda ortalama yumurta ağırlığını etkilemediği saptandı. Konuya ilişkin literatürler incelendiğinde bizim çalışmamızda olduğu gibi omega-3 kaynağı olarak kullanılan yağların (Ceylan ve ark. 2011; Omidi ve ark. 2015; DalleZotte ve ark. 2015), hatta direkt kapsül halinde verilen (Atakişi ve ark. 2009) omega-3'ün yumurta ağırlığını etkilemediği görülmektedir. Ancak omega-3 yönünden zengin rasyonla beslenen tavuklarda yumurta ağırlığının azaldığını bildiren çalışmalar da (Cherian, 2008; Hamady 2013; Koppenol ve ark. 2014) vardır ve bu azalma omega-3'ün, östradiol üretimini azaltarak yumurta sarısını küçültmesiyle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Scheideler ve Froning 1996; Novak ve Scheideler, 2001; Hamady 2013).

5.3.3. Yumurta kütlesi

Yumurtacı tavuklarda üretim performansını değerlendirirken yumurta sayısı yerine yumurta kütlesinin kullanılması, daha duyarlı bir yöntemdir. Çünkü yumurta kütlesini hesaplamak için ortalama yumurta ağırlığı ve yumurta üretimi (yumurtlama yüzdesi) de işin içine girmektedir.

Sunulan bu çalışmada stres uygulanmadığında rasyona katılan keten tohumu yağının yumurta kütlesini azalttığı, ayçiçek yağının ise pozitif ya da negatif bir etkisinin olmadığı görüldü (Şekil 4.4). Konuya ilişkin önceki çalışmalarda rasyona eklenen ayçiçek yağının yumurta kütlesini etkilemediği rapor edilmişti (Karunajeewa ve ark. 1989). Bu da stres uygulanmayan tavuklarda ayçiçek yağı verdiğimizde elde ettiğimiz sonucun literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir. Bir çok araştırmacı (Sarı ve ark. 2002;

Hamady 2013; Göçmen ve ark. 2015) rasyona %15 oranında keten tohumu ilave edildiğinde yumurta kütlesinin azaldığını rapor etmektedirler. Augustyn ve ark. (2006) ise yumurta kütlesini hesaplamamışlar ancak rasyona %4 oranında keten tohumu yağı ilave ettikleri tavuklarda yumurta ağırlığının azaldığını bildirmişlerdir. Bu da yumurta kütlesinin azalabileceğinin bir göstergesidir. Bizim çalışmamızda ise keten tohumu yağının, yumurta ağırlığını değil de, yumurta üretiminde bir azalmaya neden olması sebebiyle yumurta kütlesini düşürdüğü söylenebilir. Öte yandan keten tohumunun (Novak and Scheideler 2001) ya da keten tohumu yağının (Grobas ve ark. 2001) yumurta kütlesini etkilemediğini bildiren raporlar da vardır. Altındaki mekanizmayı açıklamak için elimizdeki veriler yeterli olmamakla birlikte, farklılıkların doz, ırk, uygulama, yaş vb. diğer faktörlere ilişkili olabileceği düşünüldü. Sebebi her ne olursa olsun rasyona keten tohumu yağı ilave etmeyi düşünen üreticilerin yumurta üretimindeki söz konusu negatif etkiyi göz önünde bulundurması gerekmektedir.

Önceki çalışmalarda yoğunluk stresinin yumurta kütlesini azalttığı bildirilmiştir (Okpokho ve ark. 1987; Nahashon ve ark. 2006; Sarıca ve ark. 2008). Bu açıdan bakıldığında bizim çalışmamızda stres sırasında yeme katılan yağların yumurta üretimine önemli bir katkısı olduğu aşikardır. Benzer bir tablo yumurta üretiminde de karşımıza çıkmıştı. Ve altındaki mekanizma bir önceki bölümde (5.3) detaylı olarak tarif edilmişti. Stresli tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde yumurta kütlesinde görülen artışın da aynı mekanizma ile ilişkili olduğu düşünüldü. Sonuç olarak stressiz tavuklarda keten tohumu yağının yumurta üretimine ve yumurta kütlesine negatif bir etkisi olsa da strese maruz kalan tavuklarda pozitif bir etkisinin olduğu aşikardır.

5.4. Yumurta kalitesine ilişkin parametreler

Yumurta kalitesi, yumurtanın iç ve dış standartlarının tanımlanmasıdır. Tüketime sunulan yumurtalarda, yumurtanın tüketici tarafından tercih edilmesini, damızlık yumurtalarda da kuluçka randımanını etkilemektedir. Kalite parametreleri iç ve dış olarak sınıflandırılmaktadır. Sunulan bu çalışmada dış kalite parametresi olarak kabuk direnci, yumurta kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı, iç kalite parametresi olarak yumurta akı yüksekliği, Haugh ünitesi, yumurta sarısı renk indeksi analiz edilmiştir.

5.4.1. Dış kalite parametreleri

5.4.1.1. Kabuk ağırlığı

Sıcaklık stresi uygulanan tavuklarda yumurta kabuk ağırlığının azaldığına ilişkin pek çok bildirim vardır (Mashaly ve ark. 2004; Mack ve ark. 2013; Bozkurt ve ark. 2012). Bu çalışmada ise uygulanan yoğunluk stresinin kabuk ağırlığını etkilemediği görüldü (Şekil 4.5). Bu çalışmaya benzer şekilde kortikosteroid verilen tavuklarda yumurta kabuk ağırlığının değişmediği de rapor edilmiştir (Kim ve ark. 2015). Bu durumun muhtemelen stres tipinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sunulan bu çalışmada yeme atılan yağların kabuk ağırlığını etkilemediği ve elde edilen sonucun literatürle uyumlu olduğu görüldü (Novak ve Scheideler 2001; Bean ve Leeson 2003; Ahmad ve ark. 2013). Öte yandan rasyona katılan yağ asitlerinin oranına bağlı olarak kabuk ağırlığının artabileceğini bildiren raporlar da vardır (Bozkurt ve ark. 2012; Ding ve ark. 2017). Sunulan bu çalışmada stres uygulananlarda kabuk ağırlığının azalmamış olması olumlu bir sonuç olarak değerlendirildi. Yeme katılan yağların ise kabuk ağırlığına ekstradan bir katkı sağlamadığı söylenebilir.

5.4.1.2. Kabuk kalınlığı

Sunulan bu çalışmada uygulanan yoğunluk stresinin yumurta kabuk kalınlığını etkilemediği saptandı. Bizimkinden farklı olarak sıcaklık stresi uygulanan çalışmada yumurta kabuk kalınlığının azaldığı bildirilmiştir (Mahmoud ve ark. 1996). Öte yandan bizimkiyle aynı stres modelinin kullanıldığı çalışmada kabuk kalınlığının değişmediği bildirilmektedir (Onbaşılar ve Aksoy 2005; Kang ve ark. 2016). Bu nedenle elde ettiğimiz sonucun literatürle uyumlu olduğu söylenebilir. Ancak yoğunluğun fazla olduğu kümeslerde kabuk kalınlığının yüksek olduğunu bildiren çalışmalara da rastlanmıştır (Jahanian ve Mirfendereski, 2015).

Rasyonlarına ayçiçek yağı ilave edilen tavuklarda kabuk kalınlığının etkilemediği bildirilmiştir (Cachaldora ve ark. 2005). Öte yandan keten tohumu yağı verilen tavuklarda kabuk kalınlığının azalığı bildirilmiştir (Promila ve ark. 2017). Bizim çalışmamızda ise her iki yağın da kabuk kalınlığını etkilemediği görüldü (Şekil 4.6). Kabuk kalınlığı üretim aşamasından tüketiciye kadar olan süreçte oluşabilecek kayıplar açısından önemlidir. Sunulan bu çalışmada stresin kabuk kalınlığını etkilememiş olması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

5.4.1.3. Kabuk direnci

Sunulan çalışmada uygulanan yoğunluk stresinin kabuk direncini etkilemediği görüldü. Bu çalışmaya benzer şekilde yoğunluk stresinin kabuk direncini etkilemediğini bildiren çok sayıda çalışma vardır (Garcia-Rebollar ve ark. 2008; Sarica ve ark. 2008). Ancak olumsuz etkisi olduğunu bildiren raporlara da rastlanmıştır (Kang ve ark. 2016).

Yumurtacı tavuk rasyonlarına ilave edilen ayçiçek yağının, yumurta kabuğunun kırılma direncini etkilemediği bildirilmiştir (Cachaldora ve ark. 2005; Dong ve ark 2018). Öte yandan yapılan benzer bir çalışmada rasyona farklı oranlarda keten tohumu yağı ilave edildiğinde kabuğun kırılma direncinin azaldığı bildirilmiştir (Promila ve ark. 2017). Bu çalışmada ise her iki bitkisel yağın da kabuk direncini etkilemediği saptandı. Kabuk direnci yumurtanın tüketiciye ya da damızlık ünitelerine minimum kayıpla iletilmesinde en önemli parametrelerden biridir. Sunulan bu çalışmada yapılan uygulamaların kabuk direncine olumlu ya da olumsuz bir etkisi olmadığı söylenebilir.

5.4.2. İç kalite parametreleri

5.4.2.1. Haugh ünitesi

Haugh ünitesi yumurta akı yüksekliğini kullanarak protein kalitesini ölçen bir testtir. İç kalite parametrelerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Yumurtanın protein içeriği ve tazeliği hakkında fikir verir. Haugh değerinin yüksek olması kalitesinin iyi olduğunu göstermektedir.

Bizimkine benzer şekilde yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda Haugh ünitesinin arttığı bildirilmiştir (Onbaşılar ve Aksoy 2005). Kümes yoğunluğunun yumurta kalitesine olan etkilerini inceleyen Geng ve ark. (2019), m^2' ye 5, 6 ve 8 tavuk koydukları gruplarda Haugh değerinin değişmediğini, 7 tavuk koydukları grupta ise azaldığını bildirmektedirler. Bizim çalışmamızda ise bunlardan farklı olarak yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda Haugh ünitesinin değişmediği görüldü (Şekil 4.8). Isı stresi oluşturulan tavuklarda da bizimkinde olduğu gibi Haugh ünitesinin etkilenmediği rapor edilmiştir (Davami ve ark. 1987; Al-Saffar ve Rose 2002).

Sunulan bu çalışmada rasyona eklenen bitkisel yağların Haugh ünitesini etkilemediği görüldü. Çalışmamızdakine benzer şekilde rasyona ilave edilen keten tohumu yağının Haugh ünitesini etkilemediği önceki çalışmalarda rapor edilmişti (Cherian ve ark. 2007; Garcia-Rebollar ve ark. 2008). Japon bıldırcınlarda rasyona

eklenen ayçiçek yağının da benzer etkileri olduğu ifade edilmektedir (Midilli ve ark. 2009).

5.4.2.2. Yumurta akı yüksekliği

Yumurta akı (albumin) yüksekliği, yumurtanın iç kalite parametrelerinden biridir yumurtanın tazeliği hakkında bilgi verir. Yumurta akı yüksekliğinin fazla olması yumurtanın taze olduğunu göstermektedir. Sunulan bu çalışmada tavuklara uygulanan yoğunluk stresinin ya da yeme katılan bitkisel yağların yumurta akının yüksekliğini etkilemediği görüldü (Şekil 4.9). Konuya ilişin literatür incelendiğinde strese maruz kalan tavuklarda yumurta akı yüksekliğinin etkilenmediği görülmektedir (Sarica ve ark. 2008). Bu da bulduğumuz sonucun literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir. Ancak bıldırcınlarda yapılan bir çalışmada yoğunluk stresinin yumurta akının yüksekliğini düşürdüğü bildirilmiştir (El-Tarabany ve ark. 2016). Söz konusu farklılığın tür farkından kaynaklanmış olabileceği düşünüldü.

Keten tohumu yağının yumurta akı yüksekliğini etkilemediği bildirilmiştir. (Cedro ve ark. 2009; Brown ve ark. 2018). Aynı şekilde ayçiçek yağı da dâhil olmak üzere rasyona eklenen farklı yağ kaynaklarının yumurta akının yüksekliğini etkilemediği rapor edilmektedir. Sunulan bu çalışmada yağların yumurta akı yüksekliğine olan etkisinin literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir.

5.4.2.3. Renk indeksi

Yumurta sarısının renk indeksi tüketici tercihlerini etkileyen en önemli iç kalite parametrelerinden biridir. Ülkemizde renk indeksinin yüksek olması tercih edilen bir durumdur. Sarısı koyu olan yumurtaların besin değerinin de yüksek olduğuna inanılmaktadır. Oysaki yumurta sarısının rengiyle besin değeri arasında direkt bir ilişki yoktur (Mızrak ve ark. 2012). Yumurta sarısının rengi bileşimindeki karotenoidlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle sadece tüketici tercihi açısından önemli değildir. Karotenoidler antioksidan oldukları için kuluçka sırasında dokuları oksidatif hasardan koruma açısından da önemlidir (Blount ve ark. 2000).

Sunulan bu çalışmada stresle yem arasında önemli bir etkileşim belirlendi (Şekil 4.10). Stres uygulanan tavukların yemine ayçiçek yağı katıldığında renk indeksinin belirgin olarak azaldığı görüldü. Stres uygulanmayanlarda ise önemli bir etkisi olmadığı

belirlendi. Keten tohumu yağı ilave edilenlerde (stres olsun ya da olmasın) ise önemli bir değişim saptanmadı.

Stresin sindirim kanalını çok yönlü olarak etkileyerek besinlerin sindirimini ve emilimini azalttığı bilinmektedir (Bhatia ve Tandon 2005). Ayrıca ayçiçek yağının β-karoten emilimini azalttığı ifade edilmektedir (Xixuan ve ark. 2000). Aynı şekilde ayçiçek yağında yüksek oranda bulunan omega-6 çoklu doymamış yağ asidinin de β-karoten emilimini azalttığı bildirilmektedir (Hollander ve Ruble 1978). Strese maruz kalan ve ayçiçek yağı verilen tavuklarda β-karoten emilimi yukarıda belirtilen iki nedenden dolayı azalacaktır. β-karoten yumurta sarısının rengini oluşturan temel bileşenlerden biri olduğu için, sunulan bu çalışmada strese maruz kalan tavuklara ayçiçek yağı verildiğinde sarı renk indeksinin azalmasının bu mekanizmadan kaynaklanmış olabileceği düşünüldü. Sarı renk indeksinin azalması hem tüketici tercihi açısından, hem de kuluçkada kullanılacak yumurtalar açısından olumsuz bir sonuç olarak değerlendirildi.

5.5. İmmun sistem

5.5.1. Fagositik aktivite

Kanatlılarda en önemli stres faktörlerinden biri de yoğunluk stresidir. Aşırı kalabalık kümeslerde barındırılan tavuklarda yemden yararlanma oranı, canlı ağırlık artışı ya da yumurta üretimi gibi performans parametrelerinin azaldığı bildirilmektedir (Thaxton ve ark. 2005; Guardia ve ark. 2011). Ayrıca mortalite oranında ve ayak problemlerinde artış olduğu, hastalıklara daha yatkın hale geldikleri de rapor edilmektedir (Estevez, 2007). Ancak stresin etkisi bunlarla sınırlı değildir. Yoğunluk stresine maruz kalan kanatlılarda primer ve sekonder lenfoid organlarda küçülme olduğu (Heckert ve ark. 2002), heterofil/lenfosit oranının değiştiği (Gross ve Siegel, 1980) ve antikor üretiminin azaldığı (Hamal ve ark. 2006) ve makrofajların fagositik aktivitesinin de azaldığı rapor edilmektedir (Gomes ve ark. 2014). Yukarıda verilen bilgilerden de görülebileceği gibi stresin immun sistemi çok yönlü olarak etkilediği aşikârdır. Ancak bulabildiğimiz kadarıyla yoğunluk stresinin heterofil fonksiyonlarına olan etkileri rapor edilmemiştir. Sunulan bu tezde yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda heterofillerin fagositik aktivitesinin de azaldığı görüldü.

Çalışmamızda stresin muhtemel olumsuz etkilerini elimine etmek için rasyona ayçiçek ya da keten tohumu yağı ilave edildi. Elde edilen sonuçlar kullanılan yağların stres uygulanan ya da uygulanmayan tavuklarda fagositik aktiviteyi etkilemediğini

göstermiştir. Benzer olarak Švedová ve ark. (2008) da keten tohumu yağının yumurtacı tavuklarda heterofillerin fagositik aktivitesini etkilemediğini bildirilmektedir. Hatta ayçiçek yağında olduğu gibi omega-6 açısından zengin mısır yağı verildiğinde de nötrofillerinin fagositik aktivitesinin değişmediği rapor edilmiştir (Rees ve ark. 2006). Ancak insanlarda ve farelerde omega-3'ün nötrofillerin fagositik aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Gorjao ve ark. 2006). Kemirgen ve insanlarda fagositik aktvite değişimini omega-3'ün hücre zarlarındaki yağ asitlerinin bileşimini, dolayısıyla hücre zarlarının akışkanlığını etkileyerek gerçekleştirdiği bildirimler arasındadır (Al-Khalifa ve ark. 2011; Gutiérrez ve ark. 2019). Ancak bizim çalışmamızda omega-3 açısından zengin keten tohumu yağı verilenlerde böyle bir etki gözlenmedi.

Heterofiller non-spesifik savunma hattını oluşturan önemli fagositik hücrelerdir. Stres sırasında fagositik aktivitelerinin azalması, organizmanın patojenlere karşı direncini azaltacağından negatif bir sonuç olarak değerlendirildi. Üstelik kullanılan yağların da bu olumsuz tabloyu önleyemediği görüldü.

5.5.2. Oksidatif patlama

Sunulan bu çalışmada tavuklara uygulanan stresin oksidatif patlamayı etkilemediği görüldü. Bizden farklı stres modeli uygulayan McReynolds ve ark. (2009), yem kısıtlaması ve ışık süresini azaltarak, tüy dökümüne zorladıkları tavuklarda oksidatif patlamanın arttığını bildirmiştir. Huff ve ark. (2011) ise tam tersine transport stresi uyguladıkları hindilerde oksidatif patlamanın azaldığını rapor etmektedirler. Benzer şekilde ısı stresi uygulanan broiler civcivlerde makrofajlardaki oksidatif patlamanın azaldığı belirlenmiştir (Quinteiro-Filho ve ark. 2010; Quinteiro-Filho ve ark. 2012).

Keten tohumu yağının oksidatif patlamaya etkisi olup olmadığını bildiren yayınlanmış veriye rastlanılmadı. Ancak keten tohumunda bol miktarda bulunan omega-3 PUFA yağ asidinin nötrofillerde oksidatif patlamayı inhibe ettiği in vitro olarak gösterilmiştir (Heine ve ark. 1997). Bizim çalışmamızda omega-3 kaynağı olarak keten tohumu yağı verilen tavuklarda oksidatif patlamanın temel rasyonla beslenenlerden farklı olmadığı görülmektedir (Şekil 4.12). Söz konusu farklılığın heterofillerde miyeloperoksidaz enziminin olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünüldü. Çünkü Heine ve ark. (1997) omega-3'ün serbest radikallerinin oluşumunu engelleyerek oksidatif patlamayı inhibe ettiğini ileri sürmektedirler. Oksijen radikallerinin oluşmasında etkili mekanizmalardan biri de miyeloperoksidazın varlığıdır. Dolayısıyla heterofillerde

miyeloperoksidazın olmaması omega-3'ün bu mekanizma üzerindeki etkisini boşa çıkarmaktadır.

Sunulan bu çalışmada keten tohumu yağı verilenlerde heterofillerin oksidatif patlaması değişmediği halde, ayçiçek yağı verilenlerde oksidatif patlamanın bazal diyet verilenlere göre arttığı görüldü. Söz konusu farklılık muhtemelen yağların bileşiminde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim çoklu doymamış yağ asitlerinin nötrofil fonksiyonları üzerindeki etkilerinin, yağların yapısındaki karbon çift bağ sayısına, karbon zincir uzunluğuna ve karboksil grubunun pozisyonuna bağlı olarak değiştiği ifade edilmektedir (Ferrante ve ark. 1994).

Konuya ilişkin literatürler incelendiğinde omega-6'nın nötrofillerin oksidatif patlamasını stimüle ettiği anlaşılmaktadır (Curnutte ve ark. 1984; Jüttner ve ark. 2008). Sunulan bu çalışmada omega-6 kaynağı olarak kullanılan ayçiçek yağının heterofillerin oksidatif patlamasını arttırması literatürle uyumlu bir sonuçtur. Omega-6'nın hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ve reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu stimüle ederek oksidatif patlamayı arttırdığı ileri sürülmektedir (Carrillo ve ark. 2011). Omega-6'nın dışında ayçiçek yağında yüksek oranda omega-9 (oleik asit) da vardır.

Oksidatif patlama fagositik hücrelerin patojenleri imha etmek için kullandığı mekanizmalardan biri olduğu için konakçının savunmasına son derece etkilidir. Bu bağlamda, sunulan çalışmada ayçiçek yağının heterofillerdeki oksidatif patlamayı arttırması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

5.5.3. Kemotaksik aktivite

Sunulan çalışmada kemotaksik aktiviteye ilişkin bulgular Şekil 4.13'da yer almaktadır. Elde edilen veriler uygulanan yoğunluk stresinin ve tavuklara verilen yemlerin heterofillerin kemotaksik aktivitesini önemli düzeyde etkilediğini göstermektedir. Stres uygulananlarda kemotaksik aktivitenin stres uygulanmayanlara göre belirgin olarak düşük olduğu saptandı. Ayrıca omega-6 açısından zengin ayçiçeği yağı verilen tavuklarda kemotaksik aktivitenin diğerlerine göre yüksek olduğu görüldü. Kemotaksik aktivite açısından stres ile rasyonla arasında önemli bir etkileşim saptanmadı.

Heterofillerin periferal dolaşımdan dokulara geçmesi ve kemoatraktan maddelerin etkisiyle enfeksiyonun olduğu bölgeye doğru ilerlemesi heterofil fonksiyonlarının ilk aşamasını oluşturmaktadır. Fagositik hücrelerin kemotaksik aktivitesinin belirlenmesi non-spesifik immun yanıtın değerlendirilmesi açısından önemli bir parametredir. Ancak

kanatlılarda heterofillerin kemotaksik aktivitesi yeterince incelenmemiştir. Strese maruz kalan kanatlılarda ise yayınlanmış veri yok denilecek kadar azdır. Matur ve ark. (2016) akut stres modeli olarak transport stresi uyguladıkları tavuklarda heterofillerin kemotaksik aktiviteyi arttırdığını rapor etmektedirler. Aynı araştırmacılar konvansiyonel kafeslerde barındırdıkları tavuklara bir hafta süreyle sosyal stres uyguladıklarında, kemotaksik aktivitede istatistiksel düzeyde önemli olmamakla birlikte bir azalma olduğunu bildirmişlerdir (Matur ve ark. 2015). Tavuklarda stres oluşturan faktörlerden biri de molting uygulamalarıdır. Kogut ve ark. (1999) tavukları yemden yoksun bırakarak molting uyguladıkları çalışmalarının ilk 8 gününde heterofillerin kemotaksik aktivitesinde bir değişim olmadığını, ancak 8. günden sonra kemotaksik aktivitenin azaldığını rapor etmektedirler. Sunulan bu çalışmada da benzer şekilde uzun süre yoğunluk stresi uyguladığımız tavuklarda kemotaksik aktivitenin azaldığı görüldü. Elde edilen bu sonuç önceki çalışmalarla birlikte değerlendiridiğinde stres süresi ile kemotaksik aktivite arasında negatif bir korelasyon olabileceği ortaya çıkmaktadır. Bunun altındaki mekanizmayı elimizdeki verilerle tam olarak açıklayamıyoruz. Ancak strese bağlı olarak salgılanan kortikositeroidlerin zaman içinde kemotaksik aktiviteyle ilişkili hücrelerin yüzeyinde bulunan kompleman reseptörlerin ya da hücre içi reseptörlerin ekspresyonunu azaltmış olabileceği düşünüldü. Nitekim kortikosteroidlerin pekçok hücre içi ve hücre dışı reseptörünü etkilediği in vivo ve in vitro olarak kanıtlanmıştır (Cohn, 1991).

5.5.4. Hücresel immun yanıt

Stresin memelilerde ve kanatlılarda immun sistemi çok yönlü olarak etkilediği bilinmektedir Ancak kanatlılarda CD4+ ve CD8+ hücrelere olan etkilerini inceleyen az sayıda çalışma yayınlanmıştır. Tavuklarda kısa ve uzun süreli sıcaklık stresinin CD+ ve CD8+ hücrelerin oranını azalttığı (Trout ve Mashaly 1994; Xu ve ark. 2018), uzun süreli sosyal stresin (Matur ve ark. 2015) ve grup büyüklüğünün (Fahey ve ark. 2007) söz konusu hücreleri etkilemediği rapor edilmiştir. Ancak yoğunluk stresinin etkisine ilişkin yayınlanmış veriye rastlanılmadı.

Bu çalışmada kullanılan bitkisel yağların CD4+ ve CD8+ hücrelere olan etkisine ilişkin sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Hou ve ark. (2019) rasyonuna 6 hafta süreyle % 5 oranında keten tohumu yağı ilave edilen broiler civcivlerde periferal kandaki CD4+ hücrelerin azaldığını, CD8+ hücrelerde ise değişim olmadığını rapor etmektedir. Keten

tohumu yerine omega-3 verilen civcivlerde de CD8+ hücrelerde değişim olmadığını bildirmektedir (Ying 2008).

Sunulan çalışmamızda ise uygulanan stresin ya da yeme katılan yağların CD4+ ve CD8+ hücrelerde istatistiksel düzeyde bir değişim oluşturmadığı görülmektedir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Bunun da yukarıda verilen literatürler göz önünde bulundurulduğunda beklenilen bir sonuç olduğu söylenebilir. Ancak CD4/CD8 oranı hesaplandığında aslında uygulanan stresin ve kullanılan yemlerin CD4+ ve CD8+ hücreleri etkilediği görülmektedir (Şekil 4.16). Çünkü CD4/CD8 oranı söz konusu hücrelerdeki değişimi daha hassas yansıtan bir parametredir.

Hücresel immun yanıtta CD4+ ve CD8+ hücreleri arasındaki denge önemlidir. İnsanlarda CD4/CD8 oranın artması hücresel immun sistemin uyarıldığını gösterirken, azalması ise immun disfonksiyonun göstergesi olarak kullanılmaktadır (Lu ve ark. 2015). Tavuklarda da aynı şekilde azalan CD4/CD8 oranı immun yetersizliği göstermektedir (Bridle ve ark. 2006). Akut strese maruz kalan sıçanlarda CD4/CD8 oranı artmasına rağmen, kronik strese maruz kalanlarda değişmediği rapor edilmektedir (Stefanski ve Engler 1998). Çalışmamızda strese maruz kalan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde bu tavuklarda hücresel immun sistemin aktive olduğu görülmektedir. Elimizdeki verilerle bunun altındaki mekanizmayı tam olarak açıklayamıyoruz. Ancak söz konusu durumun aşağıda açıklanan iki faktörün birleşmesi sonucunda olabileceği düşünüldü. Tavuklarda konuya ilişkin veri çok sınırlı olmakla birlikte, kronik strese maruz kalan memelilerde periferal kandaki CD4+ hücrelerde hafif bir artış olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda istatistiksel düzeyde olmasa da strese maruz kalan tavuklarda CD4+ hücrelerde rakamsal bir artıştan söz edilebilir (Şekil 4.14). Yağların bileşimindeki omega-6:omega-3 oranı azaldıkça CD4/CD8 oranının arttığı ifade edilmektedir (Chen ve ark. 2012). Keten tohumu yağında omega-6:omega-3 oranı, ayçiçek yağına göre oldukça düşüktür. Dolayısıyla stres uygulanan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde CD4/CD8 oranının artması, stresin CD4+ hücreleri arttırması ve keten tohumundaki yağ asitlerinin oranıyla ilişkili olabileceği düşünüldü.

Mekanizması her ne olursa olsun, CD4+:CD8+ oranındaki artış strese maruz kalan tavuklarda yardımcı T hücrelerin uyarıldığını göstermektedir. Yardımcı hücrelerin sitotoksik hücrelere, antiijen sunan hücrelerler antikor üreten hücrelerle hatta non spesifik sitemin fagositik hücreleriyle olan etkileşimi göz önünde bulundurulduğunda stres sırasında organizmayı tehdit edecek muhtemel patojenlere karşı konakçının savunma

hattını güçlendirdiği aşikardır. Bu nedenle stres altındaki tavuklara keten tohumu yağı verilmesinin yararlı olabileceği söylenebilir.

5.6. Sitokinler

5.6.1. Serum IL-4 düzeyi

Sunulan çalışmada yeme katılan yağların ya da uygulanan stresin serum IL-4 seviyesini etkilemediği belirlenmiştir (Tablo 4.2). Bizimkine benzer şekilde yoğunluk stresi ya da yem kısıtlama stresi uygulanan yumurtacı tavuklarda da serum IL-4 düzeyinin değişmediği bildirilmiştir (Kang ve ark. 2011). Ancak bizimkinin aksine bazı stres etkenlerinin serum IL-4 düzeyini arttırabileceği bildirilmektedir. Örneğin broiler kümeslerindeki önemli stresörlerden biri olan havadaki amonyak düzeyindeki artışın da IL-4 üretimini arttırdığı rapor edilmektedir (Wei ve ark. 2015). Ayrıca kanatlılarda yaygın olarak karşılaşılan çevresel stres faktörlerinden biri olan sıcaklığın da IL-4 üretimini arttırdığı ifade edilmektedir (Ohtsu ve ark. 2015).

Anti-inflamatuar etkili bir yağ asidi olan keten tohumu yağının, insanlarda anti-inflamatuar sitokinlerden biri olan IL-4 üretimini etkilemediği rapor edilmektedir (Meraou ve ark. 2017). Keten tohumunda olduğu gibi omega-3 yönünden zengin olan balık yağı verilen insanlarda da IL-4 üretiminin değişmediği bildirilmektedir. Hatta aynı araştırmada farklı dozlarda ve uzun süre balık yağı verilmesinin de sonucu değiştirmediği rapor edilmektedir (Wallace ve ark. 2003). Ayçiçek yağı verilen bireylerde serum IL-4 düzeyinin azaldığı (Meraou ve ark. 2017), ayçiçek yağında yüksek oranda bulunan omega-6 yağ asidi verilen farelerde ise de IL-4 düzeyinin değişmediği rapor edilmektedir (Harbige ve ark. 2000). Kanatlılarda ise konuya ilişkin yayınlanmış veriye rastlanılmadı. Bu nedenle tam olarak bir karşılaştırma yapılamadı. Ancak insanda ve farelerde elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda kullanılan bitkisel yağların türe ve duruma göre farklı etkileri olabileceği anlaşılmaktadır.

T hücreleri, mast hücreleri ve bazofiller tarafından üretilen IL-4 (Roitt ve ark. 2001), Th1/ Th2 dengesinin kurulması başta olmak üzere (Seder ve ark. 1992), çeşitli savunma hücrelerinin proliferasyonunda, apoptozisinde ya da kandan dokulara geçişinde etkilidir. Bu nedenle IL-4 üretiminin uygulanan stresten ya da kullanılan yağlardan etkilenmemesi immun sistemin stabilitesi açısından olumlu olarak değerlendirildi.

5.7.2 Serum IL-1β düzeyi

Normalde çeşitli stres etkenlerinin IL-1β üretimini arttırdığı bilinmektedir. Nitekim insanlarda psikolojik stresin mononükleer hücrelerde IL-1β geninin expresyonunu arttırdığı rapor edilmektedir (Brydon, ve ark. 2005). Benzer şekilde farelere uygulanan sosyal stresin IL-1β düzeyini yükselttiği de bildirilmiştir (Bailey ve ark. 2009). Stres IL-1β ilişkisi tavuklarda son derece az çalışmada ele alınmış olmakla birlikte, yumurtacı tavuklarda soğuk stresinin IL-1β düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (Hangalapura ve ark. 2006). Tavuklara eksojen olarak kortikosteroit verildiğinde ilk uygulama sonrası IL-1β düzeyinin yükseldiği, ancak tekrarlayan uygulamalardan sonra IL-1β'nın azaldığı bildirilmiştir (Shini ve ark. 2010a). Bizim çalışmamızda ise bunlardan farklı olarak strese maruz kalan tavuklarda serum IL-1β düzeyinde önemli bir değişim görülmedi (Tablo 4.2).

Rasyona katılan ayçiçek yağının keten tohumu yağından farklı olarak stres uygulanmayan tavuklarda IL-1β düzeyini azalttığı belirlendi (Tablo 4.2). Konuya ilişkin yayınlanmış veriler sonderece kısıtlı olmakla birlikte elde ettiğimiz bulular Ibrahim ve ark. (2018) verileriyle uyumludur. Söz konusu araştırmacılar rasyonuna ayçiçek yağı ilave ettikleri tavuklarda dalakta IL-1β mRNA ekspresyonun azaldığını rapor etmektedirler.

Monositler ve makrofajlar başta olmak üzere, nötrofil ve doğal öldürücü hücrelerde üretilen IL-1β, akut ve kronik inflamasyonu indükleyen proinflamatuar sitokinlerden biridir (Dinarello 1988). Bu yönüyle kullanılan ayçiçek yağı stressiz tavuklarda IL-1β düzeyini azalttığı için bu hayvanlarda anti-inflamatuar etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Ancak strese maruz kalan tavuklarda böyle bir etkisi gözlenmedi. Belki de bizim çalışmamızda uygulanan stresin inflamasyon oluşturmamış olması da bunda etkili olmuştur. Herhangi bir anti-inflamatuar yanıta gereksinim kalmamıştır.

5.6.3. Serum IL-10 düzeyi

Memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da IL-10 anti-inflamatuar sitokinlerden biridir. Sunulan bu çalışmada uygulanan yoğunluk stresinin ve kullanılan yağların serum IL-10 düzeyini etkilemediği belirlendi (Tablo 4.2). Shini ve ark. (2010b) içme sularıyla kortikosteron verdikleri yumurtacı piliçlerde, heterofillerde IL-10'un mRNA ekspresyonunu belirlemişlerdir. Söz konusu araştırmacılar kısa süreli kortikosteroid uyguladıkları tavuklarda IL-10'un arttığını, uzun süreli uygulananlarda ise azaldığını

rapor etmişleridir. Ayrıca serum kortikosteroid konsantrasyonuyla IL-10 arasında pozitif korelasyon olduğunu da belirtmişlerdir. Ohtsu ve ark. (2015) ise sıcaklık stresi uyguladıkları broiler civcivlerde dalakta IL-10 düzeyinin değişmediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada da uzun süreyle yoğunluk stresine maruz kalan tavuklarda serum IL-10 düzeyinin değişmediği gösterilmiş oldu.

Kanatlılarda keten tohumu yağının serum ya da dokulardaki IL-10 düzeyini etkileyip etkilemediğine ilişkin literatüre rastlanılmadı. Ancak 12 hafta süreyle günlük 1 gr keten tohumu yağı kapsülü verilen sağlıklı insanlarda mononükleer hücrelerden salgılanan IL-10 düzeyinin kontrol grubundakilere göre farklı olmadığı rapor edilmiştir (Wallace ve ark. 2003). Deneysel olarak alkol verilip keten tohumu yağı verilerek tedavi edilen farelerde de serum IL-10 düzeyinin değişmediği bildirilmiştir (Zhang ve ark. 2017).

Memelilerde ve kanatlılarda yapılan çalışmalar IL-10'un proinflamatuar sitokinlerin aşırı salgılanmasını kontrol eden, endojen geri bildirim mekanizmasının bir parçası olduğunu göstermektedir (Iyer ve Cheng, 2012). Sunulan bu çalışmada proinflamatuar sitokinleri izlemek için IL-1β, IL-4 ve TNF-α düzeyleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar yapılan uygulamaların söz konusu sitokinlerde artışa neden olmadığını açıkça göstermiştir (Tablo 4.2). Bu nedenle proinflamatuar sitokinlerdeki artışı sınırlandırmak için salgılanacak olan IL-10'da önemli bir değişim olmaması makul bir sonuç olarak değerlendirildi.

5.6.4. Serum TNF-α düzeyi

Sunulan bu çalışmada stresin ya da yeme katılan yağların tek başına TNF-α üzerine önemli etkilerinin olmadığı görüldü. Ancak strese maruz kalan tavuklara keten tohumu ya da ayçiçek yağı verildiğinde serum TNF-α seviyesinin azaldığı saptandı. Keten tohumu yağında ya da ayçiçek yağında bulunan yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleridir. Ferrucci ve ark. (2006) çoklu doymamış yağ asitlerinin TNF-α üretimini inhibe ettiğini bildirmektedir. Aynı şekilde keten tohumu yağında bol miktarda bulunan omega-3'ün de TNF-α üretimini azalttığı in vitro ve in vivo olarak gösterilmiştir (Endres ve ark. 1989; Babcock ve ark. 2002; Novak ve ark. 2003). Öte yandan omega-6 yağ asitlerin anti-inflamatuar etkisi olabileceğini öne süren bildirimler de bulunmaktadır. (De Caterina ve ark. 1999; Pischon ve ark. 2003). Yukarıdaki literatürlerden keten tohum yağının ya da ayçiçek yağının bulundurdukları yağ asitlerinden dolayı inflamatuar

sitokinlerden biri olan TNF-α'yı azaltabileceği anlaşılmaktadır. Ancak sunulan bu çalışmada kullanılan yağların TNF-α üzerindeki etkisini sadece stres altındaki tavuklarda açığa çıkardığı görüldü. Stres uygulanmayanlarda TNF-α üretiminde bir değişim görülmedi. Dolayısıyla ortaya çıkan sonuçta stresin de bir payının olması beklenmektedir. Normalde proinflamatuar ve anti-inflamatuar mekanizmaların stresin tipine ve yoğunluğuna bağlı olduğu, akut stres etkenlerinin immun fonksiyonları uyardığı, kronik stresörlerin ise baskılayıcı etki gösterdikleri bildirilmektedir (Liu ve ark. 2017). Sunulan bu çalışmada uygulanan yoğunluk stresi kronik bir strestir. Bu nedenle TNF-α üretiminin baskılanması uygulanan stres modeline uygundur. Bu durumda kullanılan yağlardaki çoklu doymamış yağ asitlerinin ve uygulanan kronik stresin ortak etkisiyle TNF-α üretiminin baskılanması beklenilen bir sonuçtur. TNF-α'nin düşük konsantrasyonlarda enfeksiyona karşı organizmayı aktive ettiği, yüksek konsantrasyonlarda inflamasyon ve doku hasarına neden olduğu bildirilmektedir (Çayakar, 2018). Çünkü TNF-α proinflamatuar sürecin en güçlü uyarıcılarından biridir (Hong ve ark. 2006). Bu nedenle hafif strese maruz kalan tavuklarda TNF-α artmamış olması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

5.7. Antioksidan savunma sistemi

5.7.1. Serum MDA düzeyi

Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, kanatlılarda ve memelilerde stresin göstergesi olarak kullanılmaktadır (Aengwanich, ve Suttajit 2010). Sunulan bu çalışmada da aynı amaçla kullanıldı. Yoğunluk stresi uygulanan broiler civcivlerde serum MDA düzeyinin arttığı rapor edilmektedir (Li ve ark. 2019). Benzer şekilde yoğunluk stresi uygulanan yumurtacı tavuklarda da plazma ve yumurtadaki MDA düzeyinin arttığı bildirilmektedir (Jahanian ve Mirfendereski 2015). Bizim çalışmamızda da stres uygulanan tavuklarda serum MDA düzeyinin stres uygulanmayanlara göre yüksek olduğu bulunmuştur.

Sunulan çalışmada stres uygulanan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde MDA düzeyinin belirgin olarak azaldığı belirlendi. Serum MDA düzeyinin ayçiçek yağı verilenlerde de temel rasyonla beslenenlere göre azaldığı söylenebilir (Tablo 5). Ancak keten tohumu kadar etkili olmadığını da belirtmek gerekir. Konuya ilişkin literatürler incelendiğinde keten tohumunun serum MDA düzeyini düşürdüğü görülmektedir. Rasyonlarına hayvansal yağ, ayçiçek yağı ve keten tohumu yağı ilave edilen broiler

civcivlerde, keten tohumunun serum MDA düzeyini diğerlerinden daha fazla düşürdüğü bildirilmektedir (Fébel ve ark. 2008). Keten tohumunda yüksek düzeyde bulunan omega-3 yağ asidinin de broiler tavuklarda MDA'nın düşmesine neden olduğu rapor edilmektedir. (Ibrahim ve ark. 2018). Dolayısıyla sunulan bu çalışmada keten tohumu verilenlerde MDA düzeyinin düşmesi literatürle uyumlu bir bulgudur.

Sonuç olarak bu çalışmada tavukların yoğun kafeslerde barındırılmasının oksidatif strese neden olduğu, yeme katılan keten tohumu yağının ve daha az etkili olmakla birlikte, ayçiçek yağının ise oluşan oksidatif stresi azalttığı söylenebilir.

5.7.2. Serum katalaz düzeyi

Sunulan bu çalışmada enzimatik antioksidan savunma sisteminin etkinliğini değerlendirmek için ölçülen parametrelerden biri de serum CAT aktivitesiydi. Metabolik faaliyetler sırasında açığa çıkan hidroksil radikallerinin elimine edilmesinde görev aldığı için önemli bir antioksidan enzimdir.

Elde edilen sonuçlar tavuklara uygulanan stresin ya da diyete katılan yağların CAT düzeyini etkilemediğini göstermektedir (Tablo 4.3). Broiler civcivlere farklı düzeylerde yoğunluk stresi uygulayan Şimşek ve ark. (2009) serum CAT düzeyinde, sunulan bu çalışmada olduğu gibi önemli bir değişim olmadığını rapor etmektedirler. Bizimkinden farklı olarak akut ya da kronik ısı stresi uygulanan tavuklarda CAT aktivitesinde bir artış olduğu bildirilmiştir (Altan ve ark. 2003; Hao ve Gu 2014; Rimoldi ve ark. 2015). Ancak ısı stresi uygulanan tavuklarda CAT aktivitesinin azaldığını ileri süren çalışmalar da vardır (Al-Zghoul ve ark. 2018). Bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, stres CAT ilişkisinde diğer parametrelerde olduğu gibi stresin tipinin etkili olduğu söylenebilir.

Yemlerine omega-3 yönünden zengin balık yağı ilave edilen sıçanlarda CAT düzeyinin değişmediği rapor edilmiştir (Grotto ve ark. 2011). Ancak balık yağı ve keten tohumu yağının, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde (Wang ve ark. 2004; Sharma ve ark. 2016) ve sıçanlarda (Naqshbandi ve ark. 2013, Kahraman ve ark. 2018) CAT aktivitesini arttırdığı da bildirilmektedir. Rasyonuna direkt keten tohumu ilave edilen kazlarda da yeme katılan keten tohumu oranına bağlı olarak karaciğerdeki CAT aktivitesinin arttığı rapor edilmektedir. Ancak plazma düzeyi hakkında bilgi verilmemiştir (Chen ve ark. 2015). Benzer şekilde keten tohumu ekstresi verilen broiler civcivlerden alınan etlerde, yeme katılan miktara bağlı olarak, CAT düzeyinin arttığı ileri

sürülmektedir. (Anjum ve ark. 2013). Bizim çalışmamızda serum örneklerinde analiz yapıldığı için tam bir karşılaştırma yapılamadı. Ancak türe ve kullanılan ürüne bağlı farklılıkların olması normal bir sonuç olarak değerlendirildi.

5.7.3. Serum GSH-Px düzeyi

Glutatyon peroksidaz, hücreleri, metabolik faaliyetler sırasında açığa çıkan H_2O_2'nin yıkıcı etkisinden koruyan enzimlerden biridir (Ighodaro ve Akinloye 2017; Ma ve ark. 2017). Katalaza çok benzer bir fonksiyonu olmasına rağmen etkinlik alanı CAT'dan biraz farklıdır. Katalaz en yüksek aktiviteyi peroksizomlarda gösterirken, GSH-Px sitozol ve mitokondride daha etkilidir (Sun ve ark. 1989). Bu yönüyle hücreleri oksidatif hasardan koruyan önemli bir enzimdir. Sunulan bu çalışmada strese maruz kalan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde serum GSH-Px aktivitesinde önemli bir değişim olmadığı halde, stres uygulanmayan tavuklara keten tohumu yağı verildiğinde enzim aktivitesinin belirgin olarak arttığı gözlendi.

Broiler civcivlerde sıcaklık ve yoğunluk stresinin serum GSH-Px düzeyini azalttığı bildirilmiştir (Şimsek ve ark. 2009; Lu ve ark. 2017; Shakeri ve ark. 2018). Aynı şekilde yumurtacı tavuklarda kafes yoğunluğuna bağlı olarak plazma GSH-Px düzeyinin azaldığı belirtilmektedir (Li ve ark. 2019). Ancak sıcaklık stresinin GSH-Px düzeyini artırdığını ifade eden bir rapor da mevcuttur (Altan ve ark. 2003). Sunulan bu çalışmada yemlerin ve stresin etkileşimi önemli bulunduğu için tek başına stresin etkisi göz önünde bulundurulmadı.

Rasyona keten tohumu eklenen yumurtacı tavuklarda GSH-Px düzeyinde önemli bir değişim olmadığı bildirilmektedir (Shafey ve ark. 2015). Ancak farelerde yeme katılan çoklu doymamış yağ asitlerinin GSH-Px aktivitesini arttırdığı bildirilmektedir (Bhattacharya ve ark. 2003). Bıldırcınlarda da yeme katılan keten tohumu yağının GSH-Px düzeyini arttırdığı belirlenmiştir (Ebeid ve ark. 2011). Benzer şekilde keten tohumu yağındaki başlıca yağ asidi olan omega-3'ün broiler piliçlerde (Chen ve ark. 2012) ve yumurtacı tavuklarda (Hamosh ve ark. 2008) GSH-Px düzeyini arttırdığı rapor edilmektedir Yumurtacı tavuklarda da omega-3'ün GSH-Px aktivitesini arttırdığı ifade edilmiştir.

Yukarıda sunulan literatürler göz önünde bulundurulduğunda keten tohumu yağının GSH-Px aktivitesini arttırması beklenilen bir sonuç olarak değerlendirildi. Ancak stres uygulanan tavuklarda bu etkiyi neden göstermediği sorusu akla gelmektedir. Keten

tohumu yağının etkisiyle fazladan üretilen GSH-Px enziminin bu grupta strese bağlı olarak açığa çıkması muhtemel H_2O_2'nin elimine edilmesinde kullanılmış olabileceği ve serumdaki düzeyinin bu nedenle artmamış olabileceği düşünüldü.

5.7.4. Serum askorbik asit düzeyi

Sunulan bu çalışmada non-enzimatik antioksidan savunma sisteminin göstergesi olarak serum askorbik asit (askorbik asit) düzeyi saptandı. Askorbik asit nötral pH'da suda çözünen antioksidan özelliği olan bir maddedir (Morales-Gonzalez 2013). Tüm kanatlı türleri böbrek ve karaciğerinde bulunan L-gulonolactone oxidase sayesinde D-glukozdan askorbik asit sentezi yapabilir (Gan ve ark. 2018). Metabolik faaliyetler sırasında üretilen serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizler (Yimcharoen ve ark. 2019). Bu nedenle vücutta hücre dışı antioksidan olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda uygulanan yoğunluk stresinin serum askorbik asit düzeyini azalttığı saptandı. Bizimkinde olduğu gibi ısı stresi uygulanan japon bıldıncınlarda da serumda ve karaciğerde askorbik asit düzeyinin azaldığı bildirilmektedir (Şahin ve ark. 2002). Isı stresi başta olmak üzere çeşitli stres faktörlerinin kümes hayvanlarında askorbik asit kullanımını ve biyosentezini değiştirdiği bilinmektedir (Pardue ve Thaxton 1986). Isı stresine maruz kalan kanatlılarda askorbik asidin yeterince sentezlenemediği ve endojen depoların tükendiği bildirilmektedir (Daghir, 1995; Khan ve ark. 2012). Bu nedenle sunulan çalışmada stres uygulanan tavuklarda serum askorbik asit düzeyinin azalması beklenilen bir sonuç olarak değerlendirildi.

Sunulan çalışmada kullanılan keten tohumu ve ayçiçek yağının serum askorbik asit düzeyini etkilemediği görüldü. Yoğunluk stresi uyguladığımız tavuklarda askorbik asit düzeyinin azalması ve kullanılan yağların bu durumu düzeltememiş olması hücre dışı, non-enzimatik, antioksidan savunma sistemi açısından olumsuz bir sonuç olarak değerlendirildi.

5.8. Sonuç

Çalışmamızda birim alanda daha fazla tavuğun barındırıldığı kafeslerde H/L oranının artması hayvanların strese girdiğini göstermesi açısından önemli bir bulgu olarak değerlendirildi.

Uygulanan stresin ya da yeme katılan bitkisel yağların canlı ağırlığı etkilemediği görüldü. Erişkin yumurtacı tavuklarda canlı ağırlık değişimi istenilen bir durum değildir. Bu nedenle yapılan uygulamalardan dolayı canlı ağırlığın değişmemiş olması olumlu bir

sonuç olarak değerlendirildi. Strese maruz kalan tavuklara keten tohumu yağı verilmesinin yararlı olabileceği sonucuna varıldı. Çünkü stres altındaki tavuklarda keten tohumu yağının hem yumurta üretimini hem de yumurta kütlesini arttırdığı görüldü. Ancak stres uygulanmayan tavuklarda bu parametrelere ilişkin negatif bir etki de gözlendi. Bu nedenle stressiz tavuklarda rasyona keten tohumu yağı ilave edilirken daha dikkatli olunması gerektiği düşünüldü. Ayçiçek yağının performans parametreleri açısından negatif bir etkisi görülmedi. Tam tersine hem stresli hem de stressiz tavuklarda ortalama yumurta ağırlığını arttırdığı belirlendi. Ayrıca stressiz tavuklarda yumurta kütlesini de arttırdığı görüldü..

Sunulan bu çalışmada uygulanan stresin ya da yeme katılan bitkisel yağların renk indeksi hariç diğer yumurta kalite parametrelerine olumsuz bir etkisi olmadığı sonucuna varıldı. Sadece strese maruz kalan tavuklarda sarı rengin azaldığı görüldü. Her ne kadar bu özellik ülkemizdeki tüketici tercihleri açısından negatif olarak algılansa da besin değeri açısından bir kayıp söz konusu olmadığı için olumsuz olarak değerlendirilmedi.

Uygulanan stresin fagositik aktiviteyi ve kemotaksik aktiviteyi azalttığı, bu nedenle non-spesifik savunma sistemini olumsuz yönde etkilediği saptandı. Rasyona ilave edilen ayçiçek yağının stresin kemotaksik aktivite üzerindeki olumsuz etkisini giderdiği, stresten bağımsız olarak oksidatif patlamayı da arttırdığı görüldü. Bu nedenle non-spesifik immun sistemi güçlendirmek için rasyona ayçiçek yağı ilave edilmesinin yararlı olabileceği düşünüldü.

Rasyona eklenen keten tohumu yağının özellikle stres altındaki tavuklarda hücresel immun yanıtı belirgin olarak uyardığı bulundu. Her ne kadar stres uygulanmayan tavuklarda T hücreleri üzerinde belirgin bir etkisi gözlenmese de, strese maruz kalan hayvanlardaki pozitif etkisinden dolayı kullanılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Yeme katılan ayçiçek yağının stres uygulanan tavuklarda TNF-α stres uygulanmayan tavuklarda IL-1β üretimini azaltarak anti-inflamatuar etki gösterdiği görüldü. Keten tohum yağının ise stresli tavuklarda TNF-α üretimini azaltarak anti-inflamatuar etki gösterdiği saptandı. Bu nedenle her iki bitkisel yağın da tavuklarda inflamatuar etkiyi azaltmak için kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Stresin tavuklarda oksidatif strese neden olduğu, keten tohumu verilenlerde ise bu olumsuz tablonun düzeldiği görüldü. Ayrıca keten tohumu yağının hücre içi antioksidan enzimlerden biri olan GSH-Px'in üretimini arttırdığı da belirlendi. Bu nedenle oksidatif stresi önlemek için tavuklara keten tohumu yağı verilmesinin yararlı olabileceği

düşünüldü. Ancak yoğunluk stresi uygulanan tavuklarda askorbik asit düzeyinin azalması ve kullanılan yağların bu durumu düzeltememiş olması hücre dışı, non-enzimatik, antioksidan savunma sistemi açısından olumsuz bir sonuç olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak rasyona ilave edilen bitkisel yağların strese maruz kalan yumurtacı tavuklarda üretim performansınaı, spesifik ve non-spesifik immun sistemi, sitokinleri ve antioksidan savunma sistemini olumlu yönde etkilediği belirlendi. Olumsuz yönlerinin ise yok denilecek kadar az olduğu görüldü. Bu nedenle keten tohumu ve ayçiçek yağının strese maruz kalan tavuklarda kullanılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı. Elde edilen sonuçların konuya ilişkin yeni çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abbas A. K. (2010). Introduction to the immune system. İçinde Abbas A. K., Lichtman A. H., Pillai, S. (Ed.). *Cellular and Molecular İmmunology*. (6th Ed.), Philadelphia: W.B. Saunders Company, 13-38.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H. ve Pober, J. S. (2000). *Cellular and Molecular Immunology*. (4th ed.). Philadelphia, PA. WB Saunders.

Abbas, A. K., Murphy, K. M. ve Sher, A. (1996). Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature,* **383,** 787-793.

Aengwanich, W. ve Suttajit, M. (2010). Effect of polyphenols extracted from Tamarind (*Tamarindus indica L*.) seed coat on physiological changes, heterophil/lymphocyte ratio, oxidative stress and body weight of broilers (*Gallus domesticus*) under chronic heat stress. *Animal Science Journal,* **81,** 264–270.

Ahmad, S., Ahsan-ul-Haq, Yousaf, M., Kamran, Z., Ata-ur-Rehman, Sohail, M. ve Rahman, S. (2013). Effect of feeding whole linseed as a source of polyunsaturated fatty acids on performance and egg characteristics of laying hens kept at high ambient temperature. *Revista Brasileira de Ciência Avícola,* **15(1),** 21-25.

Akbari, M. K. R., Bakhshalinejad, R., Anderson, K. E. ve Golian, A. (2018). Effect of high and low stocking density on age of maturity, egg production, egg size distribution in white and brown layer hens: a meta-analysis. *Poultry Science Journal*, **6(1),** 71-87.

Akbay, R., Ülker, M. ve Elibol, O. (1995).Tavukçuluk tüketim projeksiyonları ve üretim hedefleri. Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi. Ankara, *T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları,* **26**, 771-787.

Akdis, C. A. ve Akdis, M. (2014). Mechanisms of immune tolerance to allergens: role of IL-10 and Tregs. *Journal of Clinical Investigation*, **124(11),** 4678-4680.

Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri.* (1st Ed.). Konya, Mimoza Yayınları.

Alao, S. J. ve Balnave, D. (1984). Growth and carcass composition of broilers fed sunflower oil and olive oil. *British Poultry Science,* **25(2),** 209-219.

Al-Daraji, H. J., Al-Mashadani, H. A., Al-Hayani, W. K., Mirza H. A., ve Al-Hassani, A. S. (2010). Effect of Dietary Supplementation with Different Oils on Productive and Reproductive Performance of Quail. *International Journal of Poultry Science*, **9**, 429-435.

Al-Hilali, A. (2018). Effect of dietary flaxseed oil on growth performance and serum lipid profiles in broilers. *Pakistan Journal of Nutrition*, **17,** 512-517.

Al-Khalifa, H., Givens, D. I., Rymer, C. ve Yaqoob, P. (2011). Effect of n-3 fatty acids on immune function in broiler chickens. *Poultry Science,* **91(1),** 74-88.

Al-Murrani, W. K., Al-Sam, H. Z.ve Al-Athari A. M. (1997). Heterophil/lymphocyte ratio as a selection criterion for heat resistance in domestic fowl. *British Poultry Science*, **38,** 159-163.

Al-Nasser, A. Y., Abdulameer, E. Al-S., Faten K. A., Mariam, E. Al-B., Gehan, R. ve Magdy M. M. (2011). effect of adding flaxseed in the diet of laying hens on both production of omega-3 enriched eggs and on production performance. *International Journal of Poultry Science,* **10,** 825-831.

Al-Saffar, A. A. ve Rose, S. P. (2002). Ambient temperature and the egg laying characteristics of laying fowl. *World's Poultry Science Journal, **58*(03),** 317-331.

Altan, Ö., Altan, A., Çabuk, M. ve Bayraktar, H. (2000). Effects of Heat Stress on Some Blood Parameters in Broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,* 24, 145-148

Altan, Ö., Pabuçcuoğlu, A., Altan, A., Konyalıoğlu, S. ve Bayraktar, H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science,* **44,** 545–550.

Al-Zghoul, M. B., Sukker, H. ve Ababneh, M. M. (2018). Effect of thermal manipulation of broilers embryos on the response to heat-induced oxidative stress. *Poultry Science* **98, 2,** 991-1001.

Anjum, F. M., Haider, M. F., Khan, M. I., Sohaib, M., Muhammad Sajid Arshad, M. S. (2013). Impact of extruded flaxseed meal supplemented diet on growth performance, oxidative stability and quality of broiler meat and meat products. *Lipids in Health and Diseases* **12,** 13.

Appleby, M. C., Walker, A. W., Nicol, C. J., Lındberg, A. C., Freıre, R., Hughes, B. O. ve Elson, H. A. (2002). Development of furnished cages for laying hens. *British Poultry Science,* **43,** 489-500.

Arstila, T. P., Vainio, O. ve Lassila, O. (1994). Central role of CD4+ T cells in avian immune response. *Poultry Science,* **73(7),** 1019-1126.

Atakişi, E., Atakişi, O., Yaman, H., ve Arslan, I. (2009). Omega-3 fatty acid application reduces yolk and plasma cholesterol levels in Japanese quails. *Food and Chemical Toxicology*, **47(10),** 2590-2593.

Augustyn, R., Barteczko, J. ve Smulikowska, S. (2006). The effect of feeding regular or low alpha-linolenic acid linseed on laying performance and total cholesterol content in eggs. *Journal of animal and feed sciences,* **15**, 103.

Aymond, W. M. ve Van Elswyk, M. E. (1995). yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed. *Poultry Science*, **74(8),** 1388–1394.

Aziza, A. ve Awadin, W. (2018). Impact of dietary supplementation of whole flaxseed and flaxseed meal to ınfected broiler chickens with *Eimeria tenella*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances,* **13,** 166-174.

Babcock, T. A., Helton, W. S., Hong, D.ve Espat, N. J. (2002). Omega-3 fatty acid lipid emulsion reduces LPS-stimulated macrophage TNF-alpha production. *The Surgical Infection (Larchmt),* **3,** 145-149.

Baião, N. C., Lara, L. J. C. (2005). Oil and fat in broiler nutrition. *Brazilian Journal of Poultry Science,* **7 (3),** 129 -141.

Bailey, M. T., Kinsey, S. G., Padgett, D. A., Sheridan, J. F. ve Leblebicioglu, B. (2009). Social stress enhances IL-1β and TNF-α production by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-stimulated CD11b+ cells. *Physiology and Behavior*, **98(3),** 351-358.

Barbosa F. J., Silva, M., Silva, I., ve Coelho, A. (2006). Egg quality in layers housed in different production systems and submitted to two environmental conditions. *Revista Brasileira de Ciência Avícola,* **8(1),** 23-28.

Baykalır, Y. ve Şimşek, Ü. G. (2014). Yumurta tavukçuluğunda kullanılan yetiştirme sistemleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **28 (2),** 93- 98.

Bayram, A., Vural, Ö. ve Bakan, E. (1985). Nötrofil fagositozu. *Türkiye Klinikleri,* **5, (3),** 276-279.

Bean, L. D. ve Leeson, S. (2003). Long-term effects of feeding flaxseed on performance and egg fatty acid composition of brown and white hens. *Poultry Science,* **82,** 388-394.

Bendich, A., Machlin, L. J., Scandurra, O., Burton, G. W. ve Wayner, D. D. M. (1986) The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine,* **2(2),** 419–444.

Bernard, A., Boumsell, L. ve Hill, C. (1984). Joint Report of the First International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens by the Investigators of the Participating Laboratories. İçinde Bernard, A., Boumsell, L., Dausset, J., Milstein, C., Schlossman, S.F. (Ed.). *Leucocyte Typing*: human leucocyte differentiation antigens detected by monoclonal antibodies: specification, classification, nomenclature. Berlin: Springer, 45-48.

Beutler, B., Milsark, I. W. ve Cerami, A. C. (1985). Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science,* **229,** 869-871.

Bhatia, V, Tandon, R. K. J (2005). Stress and the gastrointestinal tract. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **20(3),** 332-339.

Bhattacharya, A., Lawrence, R. A., Krishnan, A., Zaman, K. Sun D. ve Fernandes, G. (2003). Effect of dietary n-3 and n-6 oils with and without food restriction on activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in livers of cyclophosphamide treated autoimmune-prone NZB/W female mice. *Journal of the American College of Nutrition*, **22,** 388-399.

Bilgiç, S., Aktas, E., Salman, F., Ersahın, G., Erten, G., Yılmaz, M. T. ve Denız, G. (2007) Intracytoplasmic cytokine levels and neutrophil functions in early clinical stage of type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practise*, **7**, 931-936.

Bibus, D. ve Lands, B. (2015). Balancing proportions of competing omega-3 and omega-6 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in tissue lipids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA),* **99**, 19–23.

Blount, J. D., Houston, D. C., Møller, A. P. (2000). Why egg yolk is yellow. *Trends in Ecology & Evolution,* **5**, 47-49.

Boehm, T., Hess, I. ve Swann, J. B. (2012). Evolution of lymphoid tissues. *Trends Immunology*, **33(6)**, 315-321.

Bostancı, N., Emingil, G., Afacan, B., Han, B., Ilgenli, T., Atilla, G. ve ark. (2008). Tumor Necrosis Factor-α-converting Enzyme (TACE) Levels in periodontal diseases. *Journal of Dental Research,* **87(3),** 273-277.

Boxer, L. A., Vanderbilt, B., Bonsib, S., Jersild, R., Yang, H. H. ve Baehner, R. L. (1979), Enhancement of chemotactic response and microtubule assembly in human leukocytes by ascorbic acid. *The Journal of Cellular Physiology*, **100,** 119-126.

Bozkurt, M., Çabuk, M., ve Alçiçek, A. (2008a). Effect of dietary fat type on broiler breeder performance and hatching egg characteristics. *The Journal of Applied Poultry Research*. **17,** 47-53.

Bozkurt, M., Küçükyilmaz, K., Çatli, A.U., Çinar, M., Bintaş, E. ve Çöven, F. (2012). Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-ligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *Poultry Science,* **91,** 1379-1386.

Bozkurt, Z., Bayram, I., Bülbül, A. ve Aktepe, O. (2008b). Effects of strain, cage density and position on immune response to vaccines and blood parameters in layer pullets. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. **14,** 191-204.

Brechter, A. B., Persson, E., Lundgren, I. ve Lerner, U. H. (2008). Kinin B1 and B2 receptor expression in osteoblasts and fibroblasts is enhanced by interleukin-1 and tumour

necrosis factor-*α*. Effects dependent on activation of NF-*K*b and MAP kinases. *Bone,* **43(1),** 72–83.

Bridle, B. W., Julian, R, Shewen, P. E., Vaillancourt, J. P. ve Kaushik, A. Z. (2006). T Lymphocyte subpopulations diverge in commercially raised chickens. *Canadian Journal of Veterinary Research,* **70(3),** 183-190.

Brune, K., Leffell, M. S. ve Spitznagel, J. K. (1972). Microbicidal activity of peroxidaseless chicken heterophile leukocytes. *Infection and Immunity,* **5,** 283-287.

Brydon, L., Edwards, S., Jia, H., Mohamed-Ali, V., Zachary, I., Martin, F. ve Steptoe, A., (2005). Psychological stress activates interleukin-1beta gene expression in human mononuclear cells. *Brain, Behavior, and Immunity, **19*(6),** 540-546.

Brown, C. A., Hamidu, J. A., Adomako, K., Okai, M. A. (2018). Effects of omega-3 fatty acids enrichment with flaxseed oil and egg storage duration on egg quality. *Livestock Research for Rural Development,* 30(3).

Cachaldora, P. García-Rebollar, P., Álvarez, C., Méndez, J. ve de Blas, J. C. (2005). Effect of conjugated linoleic acid, high-oleic sunflower oil and fish oil dietary supplementation on laying hen egg quality. *Spanish Journal of Agricultural Research, **3*(1),** 74-82.

Cachaldora, P., García-Rebollar, P., Alvarez, C., Blas, J. C. De. ve Méndez, J. (2008). Effect of type and level of basal fat and level of fish oil supplementation on yolk fat composition and n-3 fatty acids deposition efficiency in laying hens. *Animal Feed Science and Technology,* **141(1-2),** 104-114.

Cameron, H. A. ve Schoenfeld, T. J. (2018). Behavioral and structural adaptations to stress. *Front Neuroendocrinol*, **49**, 106-113.

Campderrich, I., Nazar, F. N., Wichman, A., Marin, R. H., Estevez, I. ve Keeling, L. J. (2019). Environmental complexity: A buffer against stress in the domestic chick. *PLOS ONE*, **14(1),** e0210270.

Campo, J. L., Prieto, M. T. ve Davila, S. G. (2008). Effects of housing system and cold stress on heterophil to lymphocyte ratio, fluctuating asymmetry, and tonic immobility duration of chickens. *Poultry Science*, **87**, 621-626.

Carey, J. B. ve Kuo, F. L. (1995). Effects of cage population on the productive performance of layer, *Poultry Science*, **74,** 633-637.

Carlson, H. C. (1982). Defense mechanisms of the avian gastrointestinal tract. *Poultry Science*, **61,** 172-180.

Carrillo, C., Cavia, M. M., Roelofs, H., Wanten, G. ve Alonso-Torre, S. R. (2011). Activation of Human Neutrophils by Oleic Acid Involves the Production of Reactive Oxygen Species and a Rise in Cytosolic Calcium Concentration: a Comparison with N-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **28,** 329-338.

Carsia, R.V. ve Harvey S. (1986). Adrenals. içerisinde Whittow C. G. (Ed.), *Sturkie's Avian Physiology (5th*. Ed.). New York: Academic press; 489-522.

Caston, L. J., Squires E. J. ve Leeson, S. (1994). Hen performance, egg quality and the sensory evaluation of eggs from SCWL hens fed dietary flax. *Canadian Journal of Animal Science*, **74**, 347-353.

Caston, L. ve Leeson, S. (1990). Research note: dietary flax and egg composition. *Poultry Science*, **69,** 1617-1620.

Cedro, T. M. M., Calixto, L. F L., Gaspar, A., Curvello, F. A., Hora, A. S. (2009). Internal quality of conventional and omega-3-enriched commercial eggs stored under different temperatures. *Brazilian Journal of Poultry Science,* **11(3),** 181-185.

Ceylan, N., Ciftci, I. Mizrak, C. Kahraman, Z. ve Efil, H. (2011). Influence of different dietary oil sources on performance and fatty acid profile of eggyolk in layinghens. *Journal of Animal Feed Science,* **20,** 71–83.

Champney, T. H. ve McMurray, D. N. (1991). Spleen morphology and lymphoproliferative activity in short photoperiod exposed hamsters. İçinde Fraschini,F. ve Reiter, R. J. (Ed.). *"Role of Melatonin and Pineal Peptides in Neuroimmunomodulation*" New York: Plenum Press, 219-213.

Chelikani, P., Fita, I. ve Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **61(2),** 192-208.

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang. J., Zuo, Z., Deng, J. ve ark. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget,* **23, 9(6),** 7204-7218.

Chen, W. Jiang, Y. Y., Wang J. P., Yan, B. X., Huang Y. Q, ve Wang, Z. X. (2015). Effect of flaxseed on the fatty acid profile of egg yolk and antioxidant status of their neonatal offspring in Huoyan geese. *Animal, **9*****(11),** 1749-1755.

Chen, W., Wang, J. P. ve Huang, Y. Q. (2012). Effect of dietary n-6: n-3 polyunsaturated fatty acid ratio on cardiac antioxidative status, T-cell and cytokine mRNA expression in the thymus, and blood T lymphocyte subsets of broilers. *Livestock Science,* **150,** 114-120

Chen, X., Li, S. ve Liu, L. (2014) Engineering redox balances through cofactor systems. *Trends in Biotechnology,* **32,** 337–343.

Cheng, H.W. ve Jefferson, L. (2008). Different behavioral and physiological responses in two genetic lines of laying hens after transportation. *Poultry Science,* **87(5),** 885-892.

Cherian, G. (2008). Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. *Poultry Science*, **87,** 1131-1137.

Cherian, G., Gonzalez, D., Ryu, K. S. ve Goeger, M. P. (2007). Longterm feeding of conjugated linoleic acid and fish oil to laying hens: effects on hepatic histopathology, egg quality, and lipid components. *Journal of Applied Poultry Research.* **16(3),** 420-428.

Chloupek, P., Voslářová, E., Chloupek, J., Bedáňová, I., Pištěková, V. ve Večerek, V. (2009). Stress in broiler chickens due to acute noise exposure. *Acta Veterinaria Brno,* **78**, 93-98.

Chrousos, G. P. (2006). The stress response and immune function: clinical implications: The 1999 Novera H. spector lecture. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **917(1),** 38-67.

Chrousos, G. P. ve Elenkov, I. (2000). Interactions of the endocrine and immune systems. içinde L. DeGroot ve L. Jameson, (Ed.). *Endocrinology*. (4th ed.). Philadelphia. W. B. Saunders Co.

Chuammitri, P., Ostojić, J., Andreasen, C. B., Redmond, S. B., Lamont S. J. ve Palić, D. (2009). Chicken heterophil extracellular traps (HETs): novel defense mechanism of chicken heterophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **129,** 126-131.

Cihan, T. (2007). Farklı yağ kaynakları kullanılarak hazırlanan etlik piliç rasyonlarında L-karnitin kullanılmasının performans üzerine etkisi, Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme Ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı.

Classen, H. L., Annett, C. B., Schwean-Lardner, K. V., Gonda, R. ve Derow, D. (2004). The effects of lighting programmes with twelve hours of darkness per day provided in one, six or twelve hour intervals on the productivity and health of broiler chickens. *British Poultry Science*, **45,** 31-32.

Cohn L. A. (1991). The Influence of Corticosteroids on Host Defense Mechanisms. *Journal of Veterinary internal Medicine* ***5,*** 95-104.

Coleman, R. M., Lombard, M. F., Sicard, R. E. ve Rencricca, N. J. (1989) *Fundamental Immunology*. Dubuque, Iowa, Wm. C. Brown Publishers.

Coşkun, B., Balevi, T. ve Aktümsek. A. (1996). Yumurtacı tavuk rasyonlarına ilave edilen yağ sanayi yan ürünlerinin verim ve yumurta sarısı yağ asitleri kompozisyonu üzerine etkileri. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, **12,** 81-86.

Council Directive (1999/74/EC) (1999). laying down minimum standards for the protection of laying hens. Official Journal of the European Union. Erişim 08.01.2020: https://eurlex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31999L0074&from=EN

Council Directive (2007/43/EC), (2007). Laying down minimum rules for the protection of chickens kept for meat production Official Journal of the European Union. Erişim 08.01.2020 https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv: O J. L_.2007.182.01. 0019.01. ENG&toc =OJ:L:2007:182:TOC

Couper, K. N., Blount, D. G. ve Riley, E. M. (2008). IL-10: The master regulator of ımmunity to ınfection. *The Journal of Immunology*, **180(9),** 5771-5777.

Cravener, T. L., Roush, W. B. ve Mashaly, M. M. (1992). Broiler production under varying population densities. *Poultry Science*, **71(3)**, 427-433.

Cunningham, D. L., Van Tienhoven, A. ve De Goeijen, F. (1987). Dominance rank and cage density effects on performance traits, feeding activity and plazma corticosterone levels of laying hens (*Gallus domesticus*). *Applied Animal Behaviour Science*, **17**, 139.

Curnutte, J. T., Badwey, J. A., Robinson, J. M., Karnovsky, M. J. ve Karnovsky, M. L. (1984). Studies on the mechanism of superoxide release from human neutrophils stimulated with arachidonate. *The Journal of Biological Chemistry*, **10, 259(19),** 11851-7.

Çakı, S., S. (2007). Tavukculuk sektorunun Türk ekonomisindeki yeri ve durumu. *Ege Academic Review*, 7(1), 153-189.

Çayakar, A. (2018). Nedir bu tümör nekrozis faktör alfa? *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine,* **3(2),** 67-76.

Dafwang, I. I., Cook, M. E. ve Sunde, M. L. (1987). Interaction of dietary antibiotic supplementation and stocking density on broiler chick performance and immune response, *British Poultry Science*. **28(1),** 47-55.

Daghir, N.J. (1995). (Ed.). Nutrients requirements of poultry at high temperatures içinde *Poultry production in Hot Climate,* International center for agriculture and biosciences. CAB Int., Trowbridge, Cromwell Press, UK.

DalleZotte, A., Andrighetto, I., Giaccone, V. ve Marchesini, G. (2015). Dietary enrichment of n-3 PUFA for layinghens: effect of differentsources on production, composition and quality of eggs. *Animal science papers and reports* **33(4),** 411-424.

Dantzer, R. ve Mormède, P. (1983). Stress in farm animals: a need for reevaluation. *Journal of Animal Science*, **57(1)**, 6-18.

Das, U. N. (2006). Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology, *Biotechnology Journal*, **1(4)**, 420-439.

Davami, A., Wineland, M. J., Jones, W. T., Ilardi, R. L. ve Peterson, R. A. (1987). Effects of population size, floor space, and feeder space upon productive performance, external

appearance, and plasma corticosterone concentration of laying hens. *Poultry Science*, **66,** 251-257.

Davis, A. K., Maney, D. L. ve Maerz, J. C. (2008). Review: The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology,* **22,**760–772.

Davis, G. S., Anderson, K. E. ve Jones, D. R. (2004). The effects of different beak trimming techniques on plasma corticosterone and performance criteria in single comb white leghorn hens. *Poultry Science*, **83,** 1624-1628.

Dawson, W. R., Marsh, R. L., Buttemer, W. A. ve Carey, C. (1983). Seasonal and geographic variation of cold resistance in house finches carpodacus mexicanus. *Physiological zoology,* **56(3),** 353-369.

De Caterina, R., Spiecker, M., Solaini, G., Basta, G., Bosetti, F., Libby, P. ve Liao, J. (1999). The inhibition of endothelial activation by unsaturated fatty acids. *Lipids* **34,** 191–194.

De Looff, P. C., Cornet, L. J. M., Embregts, P. J. C. M., Nijman, H. L. I. ve Didden, H. C. M. (2018). Associations of sympathetic and parasympathetic activity in job stress and burnout: A systematic review. *PLOS One*, **18, 13(10),** 1-24 e0205741

Deep, A., Schwean-Lardner, K., Crowe, T. G., Fancher, B. I. Ve Classen, H. L. (2010). Effect of light intensity on broiler production, processing characteristics, and welfare. *Poultry Science*, **89(11),** 2326-2333.

Defra (2001) The welfare of hens in free range systems. London, department for environment, food and rural affairs Erişim 08.01.2020 https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/69366/pb6490-hens-020130.pdf

Del Rio, D., Stewart, A. J. ve Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases,* **15(4),** 316-328.

Delezie, E., Swennen, Q., Buyse, J. ve Decuypere, E. (2007). The effect of feed withdrawal and crating density in transit on metabolism and meat quality of broilers at slaughter weight. *Poultry Science*, **86(7),** 1414-1423.

Demas, G. E., ve Nelson, R. J. (1996). Photoperiod and temperature interact to affect immune parameters in adult male deer mice. *Journal of Biological Rhythms,* **11**, 94-102.

Dhabhar, F. S. (2007). Immune function, stress-induced enhancement içinde *Encyclopedia of Stress.* CA, USA: Elsevier Inc 455-461.

Dhabhar, F. S. (2014). Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. *Immunologic Research,* **58,** 193-210.

Dianqing, W. U. (2005). Signaling mechanisms for regulation of chemotaxis. *Cell Research,* **15,** 52–56.

Dinarello, C. A. (1988). Biology of interleukin 1. *The FASEB Journal,* **2(2),** 108–115.

Dinarello, C. A. (1991). Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood,* **77,** 1627-1652.

Dinçel, A. S., Benli, A. Ç. K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, A. ve Erkoç, F., (2009). Sublethal cyfluthrin toxicity to carp *(Cyprinus carpio L.)* fingerlings: Biochemical, hematological, histopathological alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72,** 1433-1439.

Ding, X., Yu, Y., Su, Z. ve Zhang, K. (2017). Effects of essential oils on performance, egg quality, nutrient digestibility and yolk fatty acid profile in laying hens. *Animal Nutrition, **3*****(2),** 127-131.

Dong, X. F., Liu, S. ve Tong, J. M. (2018). Comparative effect of dietary soybean oil, fish oil, and coconut oil on performance, egg quality and some blood parameters in laying hens. *Poultry Science,* **97(7),** 2460–2472.

Dos Santos. V. M., Dallago B. S. L., Racanicci, A. M. C., Santana Â. P. ve Bernal F. E. M. (2017). Effects of season and distance during transport on broiler chicken meat. *Poultry Science*, **96(12),** 4270-4279.

Draper, H. H., Polensek, L., Hadley, M. ve McGirr, L. G. (1984). Urinary malondialdehyde as an indicator of lipid peroxidation in the diet and in the tissues. *Lipids,* **19(11),** 836-843.

Duthie, G. G., Wahle, K. W. J. ve James, W. P. T. (1989). Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews,* **2,** 51-62.

Ebeid, T., Fayoud A., Abou El-Soud, S., Eid, Y. ve El-Habbak, M. (2011). The effect of omega-3 enriched meat production on lipid peroxidation, antioxidative status, immune response and tibia bone characteristics in Japanese quail. *Czech Journal of Animal Science,* **56,** 314-324.

El-Tarabany, M, S. (2016). Impact of cage stocking density on egg laying characteristics and related stress and immunity parameters of Japanese quails in subtropics. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl).* **100(5),** 893-901.

Endres, S. (1996). N-3 Polyunsaturated fatty acids and human cytokine synthesis. *Lipids,* **31(1),** 239-242.

Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V. E., Georgilis, K., Lonnemann, G., van der Meer, J. W. ve ark. (1989) The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *The New England Journal of Medicine,* **320,** 265-271.

Erf, G. F. (2004). Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science, **83*(4),**580-590.

Erganis, O. ve İstanbulluoğlu, E. (1993). *Immunoloji.* Sağlık Bilimleri Dizisi 1, Konya, Mimoza Yayınları.

Ericsson, M., Fallahsharoudi, A., Bergquist, J., Kushnir, M. M. ve Jensen, P. (2014). Domestication effects on behavioural and hormonal responses to acute stress in chickens. *Physiology & Behavior,* **133,** 161-169.

Eseceli, H. ve Kahraman, R. (2003). Ayçiçek ve balık yağı içeren yumurta tavuğu rasyonlarına E ve C vitaminleri ilavesinin performansa etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi,* **4,** 13-22.

Estevez, I. (2007). Density allowances for broilers: where to set the limits? *Poultry Science*, **86,** 1265-1272.

Estevez, I., Newberry, R. C. ve De Reyna, L. A. (1997). Broiler chickens: a tolerant social system? *Etologia,* **5,** 19-29.

Etches, R. J., John, T. M. ve Verrinder, Gibbins, A. M. (1995). Behavioural, physiological, neuroendocrine and molecular responses to heat stress. İçinde N. J. Daghir, (Ed.), *Poultry Production in Hot Climates,* Wallingford, UK: CAB International, 31-65.

Evans, R. M., Currie, L. ve Campbell, A. (1982) The distribution of ascorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and its relation to the plasma concentration. *British Journal of Nutrition*, **47,** 473-482.

Fahey, A. G. ve Cheng, H. W. (2008). group size and density effects on physical indices and cell-mediated immunity in two genetic lines of white leghorn layers. *Poultry Science*, **87(12),** 2500-2504.

FAO. (2017). Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO), Erişim 08.01.2020, http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL

FAO, (2010), Sunflower crude and refined oils, Agribusiness Handbook, erişim 20.01.2020 http://www.fao.org/3/al375e/al375e.pdf

Farnell, M. B., Crippen T. L., He, H., Swaggerty, C. L. ve Kogut, M. H. (2003). Oxidative burst mediated by toll like receptors (TLR) and CD14 on avian heterophils stimulated with bacterial toll agonists. *Developmental and Comparative Immunology,* **27,** 423–429.

FAWC.-Farm Animal Welfare Council (1997). Report on the welfare of laying hens.

Fébel, H., Mézes, M., Pálfy, T., Hermán, A., Gundel, J., Lugasi, A. ve ark. (2008). Effect of dietary fatty acid pattern on growth, body fat composition and antioxidant parameters in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **92(3),** 369-376.

Ferdous, F., Saski, C., Bridges, W., Burns, M., Dunn, H., Elliott, K. ve Scott, T. R. (2016). Transcriptome profile of the chicken thrombocyte: new implications as an advanced immune effector cell. *Plos One,* **11(10),** e0163890.

Ferrante, A., Goh, D., Harvey, D. P., Robinson B. S., Hii C. S., Bates E. J. ve ark (1994). Neutrophil migration inhibitory properties of polyunsaturated fatty acids. The role of fatty acid structure, metabolism, and possible second messenger systems. *Journal of Clinical Investigation* **93,** 1063-1070.

Ferrucci, L., Cherubini, A., Bandinelli, S., Bartali, B., Corsi, A., Lauretani, F. ve ark. (2006). Relationship of Plasma Polyunsaturated Fatty Acids to Circulating Inflammatory Markers. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **91(2),** 439-446.

Finkelman, F. D., Shea-Donohue, T., Morris, S. C., Gildea, L., Strait, R., Madden, K. B. ve ark. (2004). Interleukin-4 and interleukin-13-mediated host protection against intestinal nematode parasites. *Immunological Reviews,* **201(1),** 139-155.

Flannagan, R. S., Jaumouillé, V. ve Grinstein, S. (2012). *The Cell Biology of Phagocytosis. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease,* **7(1),** 61-98.

Freitas, M., Lima, J. L. F. C. ve Fernandes, E. (2009). Optical probes for detection and quantification of neutrophils' oxidative burst. A review. *Analytica Chimica Acta,* **649(1),** 8-23.

Frikke-Schmidt, H. ve Lykkesfeldt, J. (2009). Role of marginal vitamin C deficiency in atherogenesis: In vivo models and clinical studies. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology,* **1;104(6)**, 419-433.

Fu, Y. B. (2011). Genetic evidence for early flax domestication with capsular dehiscence. *Genetic Resources and Crop Evolution*. **58 (8),** 1119-1128.

Fulton, J. E., Thacker, E. L., Bacon, L. D., ve Hunt, H. D. (1995). Functional analysis of avian class I (BFIV) glycoproteins by epitope tagging and mutagenesisin vitro. *European Journal of Immunology,* **25(7),** 2069-2076.

Gan, L., Fan, H., Nie, W. ve Guo, Y. (2018). Ascorbic acid synthesis and transportation capacity in old laying hens and the effects of dietary supplementation with ascorbic acid. *Journal of animal science and biotechnology*, **9,** 71.

Garcia-Rebollar, P, P. Cachaldor, C. Alvarez, C. De-Blas, ve Mendez, J. (2008). Effect of the combined supplementation of diets with increasing levels of fish and linseed oils on yolk fat composition and sensorial quality of eggs in laying hens *Animal. Feed Science. Technology,* **140,** 337-348.

Geng, A. L., Liu, H. G., Zhang, Y., Zhang, J., Wang, H. H, Chu, Q. ve Yan, Z. X. (2019). Effects of indoor stocking density on performance, egg quality, and welfare status of a native chicken during 22 to 38 weeks. *Poultry Science*, **99,** 163-171.

Genovese, K. J., He, H., Swaggerty, C. L. ve Kogut, M. H. (2013). The avian heterophil. *Developmental and Comparative Immunology,* **41(3),** 334-340.

Genovese, L. L., Lowry, V. K., Genovese, K. J., DeLoach, J. R., ve Kogut, M. H. (1999). Enhancement of phagocytosis and bacterial killing by heterophils from neonatal chicks after administration of Salmonella enteritidis-immune lymphokines. *Veterinary Microbiology,* **65(2),** 133-143.

Gentle, M. J., Hughes, B. O. ve Waddington, D. (1997). Behavioural and anatomical consequences of two beak trimming methods in 1 and 10 day old domestic chicks. *British Poultry Science,* **38,**453-463.

Goldstein, DS. ve Kopin, IJ. (2007). Evolution of concepts of stress. *Stress*, **10,** 109–120.

Gomes, A. V. S., Quinteiro-Filho, W. M., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M. L., Baskeville, E., ve ark. (2014). Overcrowding stress decreases macrophage activity and increases *Salmonella Enteritidis* invasion in broiler chickens. *Avian Pathology, **43*****(1),** 82-90.

Gorjao, R., Verlengia, R., Lima, T. M., Soriano, F. G., Boaventura, M. F., Kanunfre, C. C. ve ark. (2006). Effect of docosahexaenoic acid-rich fish oil supplementation on human leukocyte function. *Clinical Nutrition,* **25,** 923-938.

Göçmen, R., Kanbur, G. ve Cufadar, Y., (2015). Yumurta tavuğu rasyonlarına soya yağı, ayçiçek asit yağı ve kombinasyonlarının ilavesinin performans, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı yağ asidi kompozisyonuna etkileri. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi,* **12(1),** 12-15.

Graves, D. T. ve Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology,* **74(3),** 391-401.

Grobas, S., Mendez, J., Lazaro, R., De Blas, C. ve Mateo, G. G. (2001). Influence of source and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. *Poultry Science.* **80(8),** 1171-1179.

Gross, W. B. ve Siegel, P. B. (1980). Effects of early environmental stresses on chicken body weight, antibody response to RBC antigens, feed efficiency, and response to fasting. *Avian Diseases*, **24(3),** 569-579.

Gross, W. ve Siegel, H. S. (1983). Evaluation of the heterophil /lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dissease*, **27,** 972-979.

Grotto, D., Vicentini, J., Angeli, J.P. F., Latorraca, E.F., Monteiro, P. A. P Barcelos, G. R. M., ve ark. (2011). Evaluation of protective effects of fish oil against oxidative damage in rats exposed to methylmercury. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74, 3,** 487-493.

Guardia, S., Konsak, B., Combes, S., Levenez, F., Cauquil, L., Guillot, J. F. ve ark. (2011). Effects of stocking density on the growth performance and digestive microbiota of broiler chickens. *Poultry Science,* **90,** 1878-1889.

Guhl, A. M. (1956). The social order of chickens. *Scientific American*, **194**, 42-46.

Gustafson, L.A., Cheng H.W., Garner, J. P., Pajor, E. A. ve Mench J. A. (2007). The effects of different bill-trimming methods on the well-being of Pekin ducks. *Poultry Science*, **86**, 1831-1839.

Gutiérrez, S., Svahn, S. L. ve Johansson, M. E. (2019). Effects of omega-3 fatty acids on immune cells. *International Journal of Molecular Sciences,* **20,** 5028.

Güçlü, B. K., Uyan, F. ve İşcan, K. M, (2008). Effects of dietary oil sources on egg quality, fatty acid composition of eggs and blood lipids in laying quail. *South African Journal of Animal Science* **38(2),** 91-100.

Gül, M., Yörük, M. A., Aksu, T., Kaya, A. ve Kaynar, Ö. (2012). The effect of different levels of canolaoil on performance, eggshell quality and fatty acid composition of laying hens. *International Journal of Poultry Science,* **11 (12),** 769-776.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford, UK: Oxford University Press.

Hamady, G. A. A. (2013). Effects of different ratios of dietary omega-6 to omega-3 fatty acids on laying performance and egg quality of lohmann brown hens. *Egypt Poultry Science,* **(33),** 957-969.

Hamal, K., Burgess, S., Pevzne, R. I., Erf, G. (2006). Maternal antibody transfer from dams to their egg yolks, egg whites, and chicks in meat lines of chickens. *Poultry Science,* **85,** 1364-1372.

Hamosh, M. (2008). Fatty acids and growth and development. içerisinde Chow C.K., ed. Fatty Acids in Foods and Their Implications. CRC Press; Boca Raton, FL, USA 899–933.

Hangalapura, B. N., Kaiser, M. G., Poel, J. J. van der, Parmentier, H. K. ve Lamont, S. J. (2006). Cold stress equally enhances in vivo pro-inflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Developmental and Comparative Immunology*, **30(5),** 503-511.

Hao, Y. ve Gu X. H. (2014). Effects of heat shock protein 90 expression on pectoralis major oxidation in broilers exposed to acute heat stress. *Poultry Science*, **93**, 2709-2717.

Harbige, L. S., Layward, L., Morris-Downes, M. M., Dumond, E. D. C. ve Amor, S. (2000). The protective effects of omega-6 fatty acids in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in relation to transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) up-regulation and increased prostaglandin E2 (PGE2) production. *Clinical and experimental immunology*. ***122*(3),** 445-452.

Harmon, B. G. (1998). Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Science*, **77,** 972–977.

He, H., Lowry, V. K., Ferro, P. M. ve Kogut, M. H. (2005). CpG-oligodeoxynucleotide-stimulated chicken heterophil degranulation is serum cofactor and cell surface receptor dependent. *Developmental and Comparative Immunology*, **29,** 255–264.

Heckert, R. A., Estevez, I., Russek-Cohen, E. ve Pettit-Riley, R. (2002). Effects of density and perch availability on the immune status of broilers. *Poultry Science,* **81,** 451-457.

Heine, J., André, M., Scheinichen, D., Jaeger, K., Leuwer, M. ve Piepenbrock, S. (1997). Omega-3 parenteral lipid solution inhibits neutrophil respiratory burst in vitro. *Clinical Nutrition.* **16(2),** 33.

Henderson, S. N., Barton, J. T., Wolfenden, A. D., Higgins S. E., Higgins, J. P., Kuenzel, W. J. ve ark. (2009). Comparison of beak-trimming methods on early broiler breeder performance *Poultry Science,* **88**, 57-60.

Henricks, P. A. J., Verhoef, J. ve Nijkamp, F. P. (1986). Modulation of phagocytic cell function. *Veterinary Research Communications,* **10,** 165-188.

Herbert, K. E., Fletcher, S., Chauhan, D., Ladapo, A., Nirwan, J., Munson, S. ve ark. (2006). Dietary supplementation with different vitamin C doses: no effect on oxidative DNA damage in healthy people. *European Journal of Nutrition,* **45(2),** 97-104.

Herkel, R., Gálik B., Bíro, D., Rolinec, M., Šimko, M., Jurácek, M. ve ark. (2014). The effect of pumpkin and flaxseed oils on selected parameters of laying hen's performance *Acta Fytotechnica et Zootechnica,* **17(3),** 96-99.

Hill, J. A. (1983). Indicators of stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*. **39,** 24-32.

Hollander, D. ve Ruble, P. E J. (1978). β-carotene intestinal absorption: bile, fatty acid, pH and flow rate effects on transport. *American Journal of Physiology*, 235:E686-91.

Hong, Y. H., Lillehoj, H. S., Lee, S. H., Park, D. W. ve Lillehoj, E. P. (2006). Molecular cloning and characterization of chicken lipopolysaccharide-induced TNF-alpha factor (LITAF). *Developmental and Comparative Immunology*, **30(10),** 919-929.

Htin, N. N., Zulkifli, I., Hair-Bejo M., Omar A. R., Alimon A. R. ve Loh T.C. (2007). Effects dietary linoleic and linolenic fatty acids on immune response and resistance to infectious bursal disease (IBD) in broiler chickens under heat stress conditions. *Archiv für Geflügelkunde,* **71(6),** 258-266.

Huang, Z., Leibovitz, H., Lee, C. M. ve Millar, R. (1989). Effect of dietary fish oil on ω-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* ***38*****(3),** 743-747.

Huff, G. R., Dutta, V., Huff, W. E. ve Rath, N. C. (2011). Effects of dietary yeast extract on turkey stress response and heterophil oxidative burst activity, *British Poultry Science,* **52(4)**, 446-455.

Huo, W., Li, M., Wang, J., Wang, Z., Huang, Y. ve Chen, W. (2019). On growth performance, nutrient digestibility, blood T lymphocyte subsets, and cardiac antioxidant status of broilers. *Animal Nutrution,* ***5*****(1),** 68-73.

Ibrahim, D., El-Sayed, R., Khater, S. I., Said, E. N. ve El-Mandrawy, S. A. M. (2018). Changing dietary n-6:n-3 ratio using different oil sources affects performance, behavior, cytokines mRNA expression and meat fatty acid profile of broiler chickens. *Animal Nutrition,* **4(1),** 44-51.

Ighodaro, O. M. ve Akinloye, O. A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine,* **54 (4),** 287-293.

Ishizuka, T., Okayama, Y., Kobayashi, H. ve Mori, M. (1999). Interleukin-10 is localized to and relased by human lung mast cells. *Clinical & Experimental Allergy,* **29,** 1424-1432.

Iyer, S. S. ve Cheng G. (2012). Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Critical Reviews in Immunology*, **32(1),** 23-63.

İsmail, İ. B., Albusadah, K. A., ve Elbahr, S. M. (2013). Effect of dietary supplementation of canolaoil on egg production quality and biochemistry of egg yolk and plasma of laying hen. *International Journal of Biological Chemistry,* **7(1),** 27-37.

Jahanian, R. ve Mirfendereski, E. (2015). Effect of high stocking density on performance, egg quality, and plasma and yolk antioxidant capacity in laying hens supplemented with organic chromium and vitamin C. *Livestock Science,* **177,** 117-124.

Jahja, A., Grashorn, M. A., Bessei, W. ve Stuhec I. (2011). Effect of physical activity of laying hens on egg quality. *Archiv fur Geflugelkunde,* **75 (4)**, 279-284.

Jendral, M. J., Korver, D. R., Church, J. S. ve Feddes, J. J. R. (2008). Bone mineral density and breaking strength of White Leghorns housed in conventional, modified and commercially available colony battery cages. *Poultry Science,* **87,** 828-837.

Jocic´, S., Miladinovic´, D. ve Kaya, Y. (2015). Breeding and genetics of sunflower. *Sunflower,* 1-25.

Juul-Madsen, H. R., Viertlböeck, B., Härtle, S., Smith, A. L., ve Göbel, T. W. (2014). Innate Immune Responses içinde K.A. Schat, B. Kaspars, P. Kaiser (Ed.), *Avian Immunology,* (2nd ed.). Cambridge, Academic Press, 121-147.

Jüttner, B., Kröplin, J., Coldewey, S. M., Witt, L., Osthaus, W. A., Weilbach, C. (2008) Unsaturated long-chain fatty acids induce the respiratory burst of human neutrophils and monocytes in whole blood. *Nutrition & Metabolism,* **5,** 19.

Kahraman, C., Alver, A., Akça, İ. İ., Rendi, T. A. ve Sağlam, N. (2018). The effects of high-fat diets on the oxidative stress in adipose tissue in rats, whose retroperitoneal adipose tissues are denervated. *Sdü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* **9(2),** 85-89.

Kaiser, P. (2012). The long view: a bright past, a brighter future? Forty years of chicken immunology pre- and post-genome. *Avian Pathology,* **41(6),** 511-518.

Kang, H. K., Park, S. B., Kim, S. H., ve Kim, C. H. (2016). Effects of stock density on the laying performance, blood parameter, corticosterone, litter quality, gas emission and bone mineral density of laying hens in floor pens. *Poultry Science*, **95(12),** 2764–2770.

Kang, S., Ko, Y., Moon, Y., Sohn, S. ve Jang, I. (2011). Effects of the combined stress ınduced by stocking density and feed restriction on hematological and cytokine parameters as stress indicators in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, ***24*(3),** 414-420.

Kannan, G., Heath, J., Wabeck, C., Souza, M., Howe, J. ve Mench, J. (1997). Effects of crating and transport on stress and meat quality characteristics in broilers. *Poultry Science*, **76(3),** 523-529.

Karunajeewa, H., Tham, S. H., ve Abu-Serewa, S. (1989). Sunflower seed meal, sunflower oil and full-fat sunflower seeds, hulls and kernels for laying hens. *Animal Feed Science and Technology,* **26(1-2),** 45-54.

Keeling, L. J., Estevez, I., Newberry, R. C. ve Correıa, M. G. (2003). Production related traits of layers reared in different sized flocks: the concept of problematic intermediate group sizes. *Poultry Science*, **82**, 1393-1396.

Kelley, D. S., Branch, L. B., Love, J. E., Taylor, P. C., Rivera, Y. M. ve Iacono, J. M. (1991). Dietary alpha-linolenic acid and immunocompetence in humans. *American Journal of Clinical Nutrition,* **53,** 40-46.

Khalili, J. ve Biloklytska, H. F. (2008). Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Disease*, **14,** 754-760.

Khan, R. U., Naz, S., Nikousefat, Z., Selvaggı, M., Laudadıo, V. ve Tufarellı, V. (2012). Effect of ascorbic acid in heat-stressed poultry. *World's Poultry Science Journal,* **68(3),** 477-490.

Kırkpınar, F., Taluğ, A.M., Erkek, R. ve Ergül, M. (1996). Karma yemlere yağ ilavesi ve etlik piliç performansı üzerine etkileri. Hayvancılık'96 Ulusal Kongresi- İzmir, **1,** 406-413.

Kim, Y. H., Kim, J., Yoon, H. S., ve Choi, Y. H. (2015). Effects of dietary corticosterone on yolk colors and eggshell quality in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **28(6),** 840-846.

Kirkman, H. N. ve Gaetani, G. F. (1984). Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **81**, 4343-4347.

Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology,* **77(5),** 598–625.

Kogut, M., H. (2002). Dynamics of a protective avian inflammatory response: the role of an IL-8-like cytokine in the recruitment of heterophils to the site of organ invasion by Salmonella enteritidis. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, **25(3**),159-172.

Kogut, M. H., Genovese, K. J. ve Stanker L. H. (1999). Effect of induced molting on heterophil function in White Leghorn hens. *Avian Diseases*, **43,**538-548.

Kogut, M. H., Iqbal, M., He, H., Philbin, V., Kaiser, P. ve Smith A. (2005). Expression and function of Toll-like receptors in chicken heterophils. *Developmental and Comparative Immunology*, **29**,791-807.

Kogut, M. H., McGruder, E. D., Hargis, B. M., Corrier, D. E. ve DeLoach, J. R. (1995). In vivo activation of heterophil function in chickens following injection with Salmonella enteritidis-immune lymphokines. *Journal of Leukocyte Biology*, **57,** 56-62.

Koolhaas, J. M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., DeBoer, S. F., Flügge, G., Korte, S. M., ve ark. (2011). Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **35,** 1291-1301.

Koppenol, A., Delezie, E., Aerts, J., Willems, E., Wang, Y., Franssens, L. ve ark. (2014). Effect of the ratio of dietary n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on broiler breeder performance, egg quality and yolk fatty acid composition at different breeder ages. *Poultry Science,* **93(3),** 564-573.

Kovacs, K. J. ve Péczely, P. (1991). Plasma adrenocorticotropin in domestic geese: Effects of ether stress and endocrine manipulations. *General and Comparative Endocrinology,* **84(2),** 192–198.

Kumar, V. ve Follett, B. K. (1993). The circadian nature of melatonin secretion in japanese quail (*Coturnix coturnix japonica). Journal of Pineal Research*, **14**, 192–200.

Lacombe, S. ve Berville, A. (2001). A dominant mutation for high oleic acid content ġn sunflower (*Helianthus Annuus L.)* seed oil ġs genetically linked to a single oleate-desaturase rflp locus. *Molecular Breeding,* **8,**129-137.

Lanning, D. K. ve Knight, K. L. (2015). Diversification of the primary antibody repertoire by aıd-mediated gene conversion. *Results and Problems in Cell Differentiation,* **57**, 279-93.

Leaf, A., ve Weber, P. C. (1988). Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *New England Journal of Medicine,* **318(9),** 549-557.

Leandro, N. M., Ali, R., Koci, M., Moraes, V., Eusebio-Balcazar. P.E., Jornigan, J., ve ark. (2011). Maternal antibody transfer to broiler progeny varies among strains and is affected by grain source and cage density. *Poultry Science,* **90(12),** 2730-2739.

Lee, J. Y., Kang, S. K., Heo, Y. J., Shin, D. W., Park, T. E., Han, G. G.ve ark. (2015). Influence of flaxseed oil on fecal microbiota, egg quality and fatty acid composition of egg yolks in laying hens. *Current Microbiology*, **72(3),** 259-266.

Lehmann, A. K., Sørnes, S. ve Halstensen, A. (2000). Phagocytosis: measurements by flow cytometry. *Journal of Immunological Methods*, **243(1-2),** 229–242.

Lewis, D. I. ve Coote J. H. (1990). Excitation and inhibition of rat sympathetic preganglionic neurones by catecholamines. *Brain Research,* **530(2),** 229-234.

Li, W., Wei, F., Xu, B., Sun, Q., Deng, W., Ma, H.ve ark. (2019). Effect of stocking density and alpha-lipoic acid on the growth performance, physiological and oxidative

stress and immune response of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **32(12),** 1914-1922.

Liebler, D. C., Kaysen, K. L. ve Kennedy, T. A. (1989). Redox cycles of vitamin E: hydrolysis and ascorbic acid dependent reduction of 8a-(alkyldioxy)tocopherones. *Biochemistry*, **28(25),** 9772-9777.

Liu, Y. Z, Wang, Y. X., Jiang, C. L. (2017). Inflammation: The common pathway of stress-related diseases. *Frontiers in Human Neuroscience*. **11,** 316.

Loew, O. (1900). A New enzyme of general occurrence in organismis. *Science*, **11(279),** 701–702.

Lu, W., Mehraj, V., Vyboh, K., Cao, W., Li, T. ve Routy J.P. (2015). CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *Journal of the International AIDS Society*. **18,** 20052.

Lu, Z., He, X.F., Ma, B. B., Zhang, L., Li, J. L., Jiang, Y. ve ark. (2017). Chronic heat stress ımpairs the quality of breast-muscle meat in broilers by affecting redox status and energy-substance metabolism. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **65,** 11251-11258.

Luckheeram, R. V., Zhou, R., Verma, A. D. ve Xia, B. (2012). CD4+ T Cells: Differentiation and Functions. *Clinical and Developmental Immunology*, 1-12.

Lum, L., Wong, B. R., Josien, R., Becherer, J. D., Erdjument-Bromage, H., Schlöndorff, J. ve ark. (1999). Evidence for a role of a tumor necrosis factor-α (TNF-α)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member ınvolved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *Journal of Biological Chemistry*, **274(19),** 13613–13618.

Ma, X., Deng, D. ve Chen, W. (2017). Inhibitors and activators of SOD, GSH-Px, and CAT. İçinde Murat Senturk (Ed.). *Enzyme Inhibitors and Activators.* 207-224.

Mack, L. A., Felver-Gant, J. N., Dennis, R.L. ve Cheng, H. W. (2013). Genetic variation alters production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poultry Science***, 92,** 285-294.

Mahmoud, K. Z., Beck, M. M., Scheideler, S. E., Forman, M. F., Anderson, K. P. ve Kachman, S. D. (1996). Acute high environmental temperature and calcium-estrogen relationship in the hen. *Poultry Science*, **75,** 1555-1562.

Male, D., Cooke, A., Owen, M., Trowsdale, J. ve Champion, B. (1996). *Advanced Immunology,* St Louis, C. V. Mosby.

Mashaly, M. M., Hendricks, G. L. 3rd, Kalama, M. A., Gehad, A. E., Abbas, A. O. ve Patterson, P. H. (2004). Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Science,* **83(6)**, 889-894.

Masopust, D. ve Schenkel, J. M. (2013). The integration of T cell migration, differentiation and function. *Nature Reviews Immunology,* **13(5),** 309-320.

Mateos, R. ve Bravo, L. (2007). Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of biomarkers of oxidative damage to macromolecules (DNA, lipids, and proteins). *Journal of Separation Science,* **30(2),** 175-191.

Matur, E., Akyazı, I., Eraslan, E., Ergul Ekiz, E., Eseceli, H., Keten, M. ve ark. (2016). The effects of environmental enrichment and transport stress on the weights of lymphoid organs, cell-mediated immune response, heterophil functions and antibody production in laying hens. *Animal Science Journal*, **87,** 284-292.

Matur, E., Akyazı, I., Eraslan, E., Ergul Ekız, E., Eseceli, H., Keten, M., ve ark. (2015). The effect of furnished cages on the immune response of laying hens under social stress. *Poultry Science,* **94 (12),** 2853-2862.

Maxwell, M. H. (1993). Avian blood leucocyte responses to stress *World's Poultry Science* **49,** 34-43.

Maxwell, M. H. (1973). Comparison of heterophil and basophil ultrastructure in six species of domestic birds. *Journal of Anatomy,* **115,** 187-202.

May, J. M. (1999). Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *The FASEB Journal,* **13(9),** 995-1006.

Mazzuco, H. ve Bertechini, A. G. (2014). Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. *Ciência e Agrotecnologia Lavras,* **38 (1),** 7-14.

McDowell L. R. (1989). Vitamin C. İçinde McDowell L. R. (Ed.). *Vitamins in animal nutrition.* New York, USA: Academic Press, 365-387.

McEwen, B. S. ve Sapolsky, R. M. (1995). Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology*, **5(2),** 205-216.

McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N. ve Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, **18(10),** 1353-1363.

McEwen, B. S. (2006). Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain *Dialogues in Clinical Neuroscience*, **8(4)**, 367-381.

McFarlane, J. M. ve Curtis, S. E. (1989). Multiple concurrent stressors in chicks. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil: lymphocyte ratio, *Poultry Science,* **68,** 522-527.

McReynolds, J. L., Genovese, K. J., He, H., Swaggerty, C. L., Byrd J. A., Ricke, S. C. ve ark. (2009). Alfalfa as a nutritive modulator in maintaining the innate immune response during the molting process. *The Journal of Applied Poultry Research,* **18**, 410-417.

Memişoğulları, R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi,* **3,** 30-39.

Meraou, A., Merzouk, H., Saidi, A., Medjdoub, A., Merzouk, S. A., Bénali, M. ve ark. (2017). In vitro effects of oil's fatty acids on T-cell function of obese men. *Food and Nutrition Sciences*, **8,** 277-293.

Mezyk-Kopec, R., Bzowska, M., Potempa, J., Bzowska, M., Jura, N., Sroka, A. ve ark. (2005). Inactivation of membrane tumor necrosis factor alpha by gingipains from porphyromonas gingivalis. *Infection and Immunity,* **73(3),** 1506-1514.

Mitchell, M. A. ve Kettlewell, P. J. (2004). Transport of chicks, pullets and spent hens. İçinde Perry G.C., (Ed.), *Welfare of the Laying Hen*, Oxon, UK: CAB International, 345-360.

Midilli, M, Bayram, İ., Erol, H., Sadi Cetingul, I., Cakir S, Calikoglu E. ve ark. (2009). The effects of dietary poppy seed oil and sunflower oil on performance, reproduction and

egg quality parameters and fatty acid profile of egg yolk in the japanese quail, *Journal of Animal and Veterinary Advances,* **8(2),** 379-384.

Miller, M. ve Mayo, K. (2017). Chemokines from a structural perspective. *International Journal of Molecular Sciences,* **18(10),** 2088.

Mishra, B., Nirvay, S. ve Sanjeev, W. (2019). Genetic and hormonal regulation of egg formation in the oviduct of laying hens. intechopen içinde *Poultry, IntechOpen*. London, UK.

Mızrak, C., İ., Kamanlı, S., Demirtaş, Ş. E., Kalebaşı, S., Karademir, E. Doğu, M. (2012). Determination egg consumption and consumer habits in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **36(6),** 592-560.

Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: Implications for animal welfare. İçinde: Moberg, G. P. ve Mench, J. A. (Ed.). *The Biology of Animal Stress Basic Principle and Implications for Animal Welfare*. London: CABI Publishing; 1-21.

Moberly, R. L., White, P. C. L. ve Harris, S. (2004). Mortality due to fox predation in free-range poultry flocks in Britain. *Veterinary Record*, **155(2),** 48-52.

Moloney, J. N. ve Cotter, T. G. (2018). ROS signalling in the biology of cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology,* **80,** 50-64.

Monaghan, P., Metcalfe, N. B. ve Torres, R. (2009). Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology Letters,* **12,**75-92.

Montali, R. J. (1988). Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds and mammals). *Journal of Comparative Pathology,* **99(1),** 1-26.

Moore, C. B. ve Siopes, T. D. (2000). Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in japanese quail *(Coturnix coturnix japonica.) General and Comparative Endocrinology,* **119(1)**, 95-104.

Morales-Gonzalez, J. A. (2013). Oxidative stress and chronic degenerative diseases: A role for antioxidants. İçinde The exogenous antioxidants. London, United Kingdom: IntechOpen; 33-57.

Morris, D.H. ve Vaisey-Genser, M. (2003). Flaxseed. İçinde Caballero, B. (Ed.), *Encyclopedia of food sciences and nutrition,* Cambridge: Academic Press; 2525-2531.

Munnia, A., Amasio, M. E., Peluso, M. (2004). Ecocyclic malondialdehyde and aromatic DNA adducts in larynx tissues. *Free Radical Biology and Medicine,* **37,** 850-858.

Nahashon, S. N., Adefope, N. A., Amenyenu, A. ve Wright, D. (2006). Laying performance of pearlgray guinea fowl hens as affected by caging density. *Poultry Science,* **85(9),** 1682-1689.

Naqshbandi, A., Rizwan, S., Khan, M. ve Khan, F. (2013). Dietary flaxseed oil supplementation ameliorates the effect of cisplatin on brush border membrane enzymes and antioxidant system in rat intestine. *Human & Experimental Toxicology*, **32(4),** 385-394.

Neefjes, J., Jongsma, M. L. M., Paul, P., ve Bakke, O. (2011). Towards a system understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature Reviews Immunology,* **11(12),** 823-836.

Neijat, M., Ojekudo, O. ve House, J. D. (2016). Effect of flaxseed oil and microalgae DHA on the production performance, fatty acids and total lipids of egg yolk and plasma in laying hens. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, **115,**77-88.

Niki, E., Tsuchiya, J., Tanimura, R. ve Kamiya, Y. (1982). Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxyl radical by glutathione and vitamin C. *Chemistry Letters,* **11(6),** 789-792.

Nobakht, A., Tabatbaei, S. ve Khodaei, S. (2011). Effects of different sources and levels of vegetable oils on performance, carcass traits and accumulation of vitamin e in breast meat of broilers. *Current Research Journal of Biological Sciences,* **3(6),** 601-605.

Nochi, T., Jansen, C. A., Toyomizu, M. ve Van Eden, W. (2018). The Well-Developed mucosal ımmune systems of birds and mammals allow for similar approaches of mucosal vaccination in both types of animals. *Frontiers in Nutrition,* **5**, 60.

Nororiha, I. L., Niemir, Z., Stein. H. ve Waldher, R. (1995). Cytokines and growth factors in renal disease. Nephrology Dialysis Transplantation, **10**, 775-786.

Novak, C. ve Scheideler, S. E. (2001). Long-term effects of feeding flaxseed-based diets. 1. Egg production, parameters, components and eggshell quality in two strains of laying hens. *Poultry Science,* **80,** 1480-1489.

Novak, T. E., Babcock, T. A., Jho, D. H., Helton, W. S. ve Espat, N. J. (2003). NF-kappa B inhibition by omega-3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF-alpha transcription. *American Journal of Physiology-Lung Cellular* and *Molecular Physiology,* **284,** 84–89.

Noyan, A. (1993). *Fizyoloji Ders Kitabı.* 8.Baski, Çankaya/Ankara Meteksan Anonim Şirketi. 697-713.

Nuutila, J. ve Lilius, E. M., (2005). Flow cytometric quantitative determination of ingestion by phagocytes needs the distinguishing of overlapping populations of binding and ingesting cells. *Cytometry Part A,* **65(2),** 93-102.

O'Garra, A. (2000), T-cell differentiation: Commitment factors for T helper cells. *Current Biology*, **10,** 492-494.

O'Garra, A., Vieira, P. L., Vieira, P. ve Oldfeld AE. (2004). IL-10-producing and naturally occurring CD4+ Tregs: limiting collateral damage. *Journal of Clinical Investigation*, **1114(10),** 1372-1378.

Oberritter, H., Glatthaar, B., Moser, U. ve Schmidt, K. H. (1986). Effect of functional stimulation on ascorbate content in phagocytes under physiological and pathological conditions. *International Archives of Allergy* and *Immunology*, **81,** 46-50.

Ohtsu, H., Yamazaki, M., Abe, H., Murakami, H. ve Toyomizu, M. (2015). Heat stress modulates cytokine gene expression in the spleen of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, **52(4),** 282-287.

Okpara M. O., Egbu C. F. ve Ani A. O. (2016). Effect of relative humidity on the performance of nera black hens in a humid tropical environment. *Journal of Agriculture and Ecology Research International,* **9(1)**, 1-5.

Okpokho, N. A., Craig, J. V. ve Milliken, G. A. (1987). Density and group size effects caged hens of two genetic stocks differing in escape and avoidance behavior. *Poultry Science*, **66**, 1905-1910.

Omidi, M., Rahimi, S. ve Karimi T. M. A. (2015). Modification of egg yolk fatty acids profile by using different oil sources, *Veterinary Research Forum*, **6 (2),** 137-141.

Onbaşılar, E. E., Poyraz, O., Erdem, E. ve Ozturk, H. (2008) Influence of lighting periods and stocking densities on performance, carcass characteristics and some stress parameters in broilers. *Archiv fur Geflugelkunde,* **72**, 193-200.

Onbaşılar, E. E. ve Aksoy, F. T. (2005). Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. *Livestock Production Science,* **95,** 255-263.

Oomah, B. D. ve Mazza G. (1997). Effect of dehulling on chemical composition and physical properties of flaxseed. *LWT – Food Science and Technology*, **30(2),** 135-140.

Oropesa, A. L., Garcia-Cambero, J. P. ve Soler, F. (2009). Glutathione and malondialdehyde levels in common carp after exposure to simazine. *Environmental Toxicology and Pharmacology,* **27,** 30-38.

Ottinger, M. A. ve Bakst, M. (1995). Endocrinology of the avian reproductive system. *Journal of Avian Medicine and Surgery,* **9,** 242-250.

Özdoğan, M. ve Sarı, M. (2001). Kanatlı rasyonlarına yağ katkısı. *Hayvansal Üretim,* **42(1),** 28-34.

Parbtani, A. ve Clark, W. F. (1995). Flaxseed and Its Components in Renal Disease, içinde *Flaxseed in Human Nutrition*, Cunnane, S. C, ve Thompson, L. U. (Ed.), Champaign, IL: AOCS Press, 244-260.

Pardue, S. L. ve Thaxton, J. P. (1986). Ascorbic acid in poultry: a Review. *World's Poultry Science Journal,* **42(02),** 107-123.

Parnham, M. J., Winkelmann, J. ve Leyck, S. (1983). Macrophage, lymphocyte and chronic inflammatory responses in selenium deficient rodents. Association with decreased glutathione peroxidase activity. *International Journal of Immunopharmacology*, **5(5),** 455-461.

Passardi, F., Theiler, G., Zamocky, M., Cosio, C., Rouhier, N., Teixera, F. ve ark. (2007). PeroxiBase: the peroxidase database. *Phytochemistry,* **68,** 1605-1611.

Patterson, P. H., ve Siegel, H. S. (1998). Impact of cage density on pullet performance and blood parameters of stress. *Poultry Science*, **77(1),** 32-40.

Pavlov, V. A., Parrish, W. R., Rosas-Ballina, M., Ochani, M., Puerta, M., Ochani, K., ve ark. (2009). Brain acetylcholinesterase activity controls systemic cytokine levels through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior and Immunty,* **23(1),** 41-45.

Petrovic, M., Gacic, M., Karacic, V., Gottstein, Ž., Mazija, H. ve Medic, H. (2012). Enrichment of eggs in n−3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. *Food Chemistry*. **135,** 1563-1568.

Pischon, T., Hankinson, S. E., Hotamisligil, G. S., Rifai, N., Willett, W. C. ve Rimm, E. B (2003). Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among U.S. men and women. *Circulation* **108,**155-160.

Platt, N. ve Fineran, P. (2015). Measuring the phagocytic activity of cells. *Lysosomes and Lysosomal Diseases,* 287-304.

Poorghasemi, M. Seidavi, A., Qotbi A. A. A., Chambers J. R., Laudadio V. ve Tufarelli V. (2015). Effect of dietary fat source on humoral immunity response of broiler chickens. *European Poultry Science*, **79,** 1-8.

Preiser, J. C., Ichai C., Orban J. C. ve Groeneveld A. B. (2014). Metabolic response to the stress of critical illness. *British Journal of Anaesthesia,* **113(6),** 945-954.

Promila, N. K., Rakesh V., Jyoti S, ve Sajjan S. (2017). Influence of linseed oil supplementation on egg cholesterol content, fatty acid profile, and shell quality. *The Pharma Innovation Journal,* **6(11),** 174-178.

Quinteiro-Filho, W. M., Gomes, A. V., Pinheiro, M. L., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Astolfi-Ferreira, C. S. ve ark. (2012). Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. *Avian Pathology*. **41,** 421-427.

Quinteiro-Filho, W. M., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M. L., Sakai, M., As, L. R., ve ark. (2010). Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. *Poultry Science*, **89,** 1905-1914.

Radke, W., Albasi, C., Rees, A., ve Harvey, S. (1985). Stress and ACTH stimulate aldosterone secretion in the fowl (*Gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology,* **82(2),** 285-288.

Rao, R. S. V., Raju, M. V. L. N., Panda, A. K., Poonam, N. S.ve Sunder, S. G. (2011) Effect of dietary α-tocopherol concentration on performance and some immune responses in broiler chickens fed on diets containing oils from different sources, *British Poultry Science,* **52(1)**, 97-105.

Redmond, S. B., Chuammitri, P., Andreasen, C. B., Palić, D. ve Lamont, S. J. (2011). Genetic control of chicken heterophil function in advanced intercross lines: associations with novel and with known Salmonella resistance loci and a likely mechanism for cell death in extracellular trap production. *Immunogenetics*, **63(7),** 449-458.

Rees, D., Miles, E. A., Banerjee, T., Wells, S. J., Roynette, C. E., Wahle, K. W. ve Calder, P. C. (2006). Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *American Journal of Clinical Nutritio, **83,*** 331-342.

Riediger, N. D., Othman, R., Fitz, E., Pierce, G. N., Suh. M. ve Moghadasian, M. H. (2008). Low n6:n3 fatty acid ratio, with fish or flaxseedoil, in high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *European Journal of Nutrition,* **47**,153-160.

Rimoldi, S., Lasagna, E., Sarti, F., Marelli, S., Cozzi, M., Bernardini, G. ve ark. (2015). Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heat stress conditions. *Meta Gene,* **6**, 17-25.

Ritchie, M. (2014). Neuroanatomy and physiology of the avian hypothalamic/pituitary axis. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice,* **17(1),** 13-22.

Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. (Ed.). (2001). *İmmunology* (6 ed.). Barselona, Mosby.

Rose, R. C. ve Bode, A. M. (1993). Biology of free-radical scavengers an evaluation of ascorbate. *The FASEB Journal,* **7,** 1135-1142.

Roshene, R. ve Ramesh, A. (2017). Cytokines. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* **9(5),** 719-721.

Rotrosen, D. ve Gallin, J. I. (1987). Disorders of phagocyte function. *Annual Review of Immunology,* **5(1),** 127-151.

Rowghani, E., Arab, M., Nazifi, S. ve Bakhtiari, Z. (2007). Effect of canola oil on cholesterolandfattyacidcomposition of egg-yolk of layinghens. *International Journal of Poultry Science*. **6,** 111-114.

Sabatini, F., Silvestri, M., Sale, R., Serpero, L., Di Blasi, P. ve Rossi, G. (2003). Cytokine release and adhesion molecule expression by stimulated human bronchial epithelial cells are downregulated by salmeterol. *Respiratory Medicine,* **97(9),** 1052-1060.

Sabban, E. L. (2007). Catecholamines in stress: molecular mechanisms of gene expression. *Endocrine Regulations*, **41(2-3),** 61-73.

Şahin, K., Kucuk, O., Sahin, N. ve Sarı, M. (2002). Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, some serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). *International Journal for Vitamin and Nutrition Research,* **72,** 91-100.

Saito, S., Tachibana, T., Choi, Y. H., Denbow, D. M. ve Furuse, M. (2005). ICV melatonin reduces acute stress responses in neonatal chicks. *Behavioural Brain Research,* **165**, 197-203.

Saleh, A. A., Kirrella, A. A., Dawood, M. A. O. ve Ebeid, T. A. (2019). Effect of dietary inclusion of cumin seed oil on the performance, egg quality, immune response and ovarian development in laying hens under high ambient temperature. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* **103(6),** 1810-1817.

Samad, T. A., Moore, K. A., Sapirstein, A., Bille, S., Allchorne, A., Poole, S. ve ark. (2001). Interleukin-1-beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature,* **410,** 471-475.

Sangkaew, M., Rahman, M. ve Koh, K. (2017). Effects of high oleic acid sunflower oil on egg quality and fatty acid composition of egg yolk in laying hens. *Journal of Advanced Agricultural Technologies,* **4(2),** 180-184.

Santoro, M. M. (2018). Fashioning blood vessels by ROS signalling and metabolism. *Seminars in Cell and Developmental Biology,* **80,** 35-42.

Sapolsky, R. M., Romero, M. L. ve Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stres responses? Integrating, permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrine Reviews,* **21(1),** 55-89.

Sarı, M., Akşit, M., Özdoğan, M., ve Basmacıoğlu, H. (2002). Effects of addition of flaxseed to diets of laying hens on some production characteristics, levels of yolk and serum cholesterol, and fatty acid composition of yolk. *Archive für Geflügel Kunde,* **66(2),** 75-79.

Sarica, M., Boga S. ve Yamak U. S. (2008). The effects of space allowance on egg yield, egg quality and plumage condition of laying hens in battery cages. *Czech Journal of Animal Science,* **53(8),** 346-353.

Sato, T., Hongu, T., Sakamoto, M., Funakoshi, Y. ve Kanaho, Y. (2013). Molecular mechanisms of n-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-ınduced superoxide generation and degranulation in mouse neutrophils: phospholipase d ıs dispensable. *Molecular and Cellular Biology,* **33(1),** 136-145.

Sato, T., Tezuka, K., Shibuya, H., Watanabe, T., Kamata, H. ve Shirai, W. (2002). Cold-induced ascites in broiler chickens and its improvement by temperature controlled rearing. *Avian Diseases,* **46,** 989-996.

Shang, X. G., Wang, F. L., Li, D. F., Yin, J. D., Li, J. Y. (2004). Effects of dietary conjugated linoleic acid on the productivity of laying hens and egg quality during refrigerated storage. *Poultry Sciences,* **83**, 1688-1695.

Scheideler, S. E. ve Froning, G. W. (1996). The combined influence of dietary flaxseed variety, level, form and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-supplemented hens. *Poultry Science,* **75,** 1221-1226.

Schlondorff, J., Lum, L.ve Blobel, C. P. (2001). Biochemical and pharmacological criteria define two shedding activities for TRANCE/OPGL that are distinct from the tumor necrosis factor alpha convertase. *Journal of Biological Chemistry*, **276(18),** 14665–14674.

Schultz, T. F. ve Kay S. A. (2003). Circadian clocks in daily and seasonal control of development. *Science*, **301**, 326-328.

Schuman, B. E., Squires, E. J. ve Leeson S. (2000). Effect of dietary flaxseed, flax oil and n-3 fatty acid supplement on hepatic and plasma characteristics relevant to fatty liver haemorrhagic syndrome in laying hens. *British Poultry Science,* **41(4),** 465-472.

Seder, R. A., Paul, W. E., Davis, M. M. ve De St Groth B. F. (1992). The presence of interleukin 4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4+ T cells from T cell receptor transgenic mice. *Journal of Experimental Medicine,* **176(4),** 1091-1098.

Selye, H. (1974). *Stress Without Distress.* Toronto: Mc Clellandand Steward Ltd.

Settle, T. (2014). The effect of allopurinol and inosine administration on xanthine oxidoreductase gene expression, mitochondrial respiration, and inflammation in broiler chickens. Doktora tezi. West Virginia University. US.

Shafey, T. M., Al-Batshan, H. A. ve Farhan, A. M. S. (2015). The effect of dietary flaxseed meal on liver and egg yolk fatty acid profiles, immune response and antioxidant status of laying hens. *Italian Journal of Animal Science,* **14(3),** 428-435.

Shahidi, S., Komaki, A., Mahmoodi, M., Atrvash, N. ve Ghodrati, M. (2008). Ascorbic acid supplementation could affect passive avoidance learning and memory in rat. *Brain Research Bulletin,* **76(1-2),** 109-113.

Shakeri, M., Cottrell, J., Wilkinson, S., Ringuet, M., Furness, J. ve Dunshea, F. (2018). Betaine and antioxidants improve growth performance, breast muscle development and ameliorate thermoregulatory responses to cyclic heat exposure in broiler chickens. *Animals,* **8,** 162.

Sharma, J., Singh, R. ve Goyal, P. K. (2016). Chemomodulatory potential of flaxseed oil against DMBA/Croton oil–ınduced skin carcinogenesis in mice. *Integrative Cancer Therapies*, 358-367.

Shima, Y. Y., BoGuia, B., Arnison, P. G., Wang, Y. ve Reaney M. J. T. (2014). Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science & Technology,* **38(1),** 5-20.

Shini, S., Huff, G. R., Shini, A. ve Kaiser, P. (2010a). Understanding stress-induced immunosuppression: Exploration of cytokine and chemokine gene profiles in chicken peripheral leukocytes. *Poultry Science*, **89(4),** 841–851.

Shini, S., Kaiser. P., Shini, A. ve Bryden, W. L. (2008). Differential alterations in ultrastructural morphology of chicken heterophils and lymphocytes induced by corticosterone and lipopolysaccharide. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **122(1-2),** 83-93.

Shini, S., Shini, A. ve Kaiser, P. (2010b). Cytokine and chemokine gene expression profiles in heterophils from chickens treated with corticosterone, *Stress*, **13(3),** 185-194.

Siegel, H. S. (1985). Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science, Journal*. **41,** 36-44.

Şimşek, U. G., Dalkılıc, B., Çiftci, M. ve Yüce, A. (2009). The influences of different stocking densities on some welfare indicators, lipid peroxidation (MDA) and antioxidant enzyme activities (GSH, GSH-Px, CAT) in broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **8(8),** 1568-1572.

Smialek, M., Tykałowski, B., Stenzel, T. ve Koncicki, A. (2011). Local immunity of the respiratory mucosal system in chickens and turkeys. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, **14(2)**, 291-297.

Soleimani, A. F., Zulkifli, I., Omar, A. R. ve Raha, A. R. (2011). Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poultry. Science*, **90,** 1435-1440.

Spengler, R. N., Chensue, S. W., Giacherio, D. A., Blenk, N. ve Kunkel, S. L. (1994). Endogenous norepinephrine regulates tumor necrosis factor-alpha production from macrophages in vitro. *Journal of Immunology*, **152(6),** 3024-3031.

Spiegelberg, H. L. (1990). The role of interleukin-4 in IgE and IgG subclass formation. *Springer Seminars in Immunopathology*, **12(4),** 365-383.

Šranková, V., Lendelová, J., Mihina, Š., Žitňák, M. ve Nawalany, G. (2019). Mortality of broiler chickens during summer fattening periods affected by microclimatic conditions, *Acta Technologica Agriculturae*, **22(1),** 22-30.

Stefanski, V. ve Engler, H. (1998). Effects of acute and chronic social stress on blood cellular immunity in rats. *Physiology and behavior,* **64(5),** 733-741.

Stettenheim, P. R. (2000). The Integumentary Morphology of modern birds—An overview. *American Zoologist,* **40(4),** 461-477.

Stilborn, H. L., Haris, G. C., Bottje, W. G. ve Waldroup, P. W. (1988). Ascorbic acid and acetylsalicylic acid in the diet of broilers maintained under heat stres conditions. *Poultry Science*, **67**, 1183-1187.

Stillwell, W. (2016). *An Introduction to Biological Membranes Composition, Structure and Function.* (2nd ed.). Newyork USA: Elsewier, Academic Press, 423–451.

Stites, D. P. ve Terr, A. I. (1991). *Basic and Clinical Immunology.* (7 th Ed.). California, Appleton and Lange Press.

Sun, Y., Oberley, L. W., Elwell, J. H. ve Sierra-Rivera, E. (1989). Antioxidant enzyme activities in normal and transformed mouse liver cells. *The International Journal of Cancer,* **44(6),** 1028-1033.

Surai, P. F., Kochish, I. I, Fisinin, V. I., ve Kidd, M. T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants,* **8(7),** 235.

Surai, P. F. (2016). Antioxidant systems in poultry biology: Superoxide dismutase. *Journal of Animal Research and Nutrition,* **1(8),** 1-14.

Švedová, M., Vaško, L., Trebunová, A., Kaštel, R., Tučková, M. ve Čertík, M. (2008). Influence of linseed and fish oil on metabolic and ımmunological ındicators of laying hens *Acta Veterinaria Brno***, 77,** 39-44.

Szabo, S., Tache Y. ve Somogyi, A. (2012). The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: A retrospective 75 years after his landmarkbrief "Letter" to the Editor of Nature. *Stress,* **15(5),** 472-478.

TAGEM (2018). Kanatlı Hayvancılık Sektör Politika Belgesi 2018-2022. Erişim 08.01.2020, https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Kanatl%C4%B1%20Hayvanc%C4B1l%C4%B1k%20Sekt%C3%B6r%20Politika%20Belgesi%202018-2022.pdf

TAGEM, (2007). Yumurta tavukçuluğu. Erişim 07.01.2020, https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Belgeler/Hayvancılık/Kanatlı%20Yetiştiriciliği/ Yumurta Tavukculugu.pdf

Thaxton, J. P., Dozier, W. A., Branton, S. L., Morgan, G. W., Miles, D. W., Roush, W. B. ve ark. (2006). Stocking density and physiological adaptive responses of broilers. *Poultry Science,* **85(5),** 819-824.

Thaxton, J. P., Olanrewaju, H. A., Branton, S. L. ve Roush, W. B. (2005). Stocking density effects on male broilers grown to 1.8 kilograms of body weight. *Poultry Science*, **708,** 344-351.

Thogerson, C. M., Hester P. Y., Mench, J. A., Newberry, R. C., Okura C. M., Pajor E. A., Talaty, P. N. ve Garner J. P. (2009).The effect of feeder space allocation on productivity and physiology of Hy-Line W-36 hens housed in conventional cages. *Poultry Science*, **88(9),** 1793-1799.

TNAU (2020). Tamin Nadu Agricultural University, Erişim 04.03.2020, www.agritech.tnau.ac.in/expertsystem/poultry/Layer%20Production%20Indices.html

Tong, Q., McGonnell, I. M., Demmers, T. G. M., Roulston, N., Bergoug, H., Romanini, C. E. ve ark. (2017). Effect of a photoperiodic green light programme during incubation on embryo development and hatch process. *Animal*, **12(04)**,765–773.

Traber, M. G. ve Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*, **51(5),** 1000-1013.

Tran, D. Q., Ramos, E. H. ve Belsham, D. D. (2016). Induction of Gnrh mRNA expression by the ω-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid and the saturated fatty acid palmitate in a GnRH-synthesizing neuronal cell model, mHypoA-GnRH/GFP. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **5,426**, 125-135.

Tribulova, N., Szeiffova Bacova, B., Egan Benova, T., Knezl, V., Barancik, M. ve Slezak, J. (2017). Omega-3 ındex and anti-arrhythmic potential of omega-3 pufas. *Nutrients*, **9(11),** 1191.

Trout, J. M. ve Mashaly, M. M. (1994). The effects of adrenocorticotropic hormone and heat stress on the distribution of lymphocyte populations in ımmature male chickens. *Poultry Sciences,* **73(11),** 1694-1698.

Tsahar, E., Arad, Z., Izhaki, I., ve Guglielmo, C. G. (2006). The relationship between uric acid and its oxidative product allantoin: a potential indicator for the evaluation of oxidative stress in birds. *Journal of Comparative Physiology B,* **176(7),** 653–661.

Tsiouris, V., Georgopoulou, I., Batzios, C., Pappaioannou, N., Ducatelle, R. ve Fortomaris, P. (2015). The effect of cold stress on the pathogenesis of necrotic enteritis in broiler chicks. *Avian Pathology,* **44(6),** 430–435.

Tucsek, Z., Toth, P., Sosnowska, D., Gautam, T., Mitschelen, M., Koller, A. ve ark. (2014). Obesity in aging exacerbates blood-brain barrier disruption, neuroinflammation, and oxidative stress in the mouse hippocampus: effects on expression of genes involved in beta-amyloid generation and Alzheimer's disease. *The Journals of Gerontology Series A Biological Sciences and Medical Sciences,* **69,** 1212-1226.

Türkoğlu, M. ve Sarıca, M. (2009). *Tavukçuluk Bilimi Yetiştirme, Besleme, Hastalıklar* (3. Baskı), Ankara, Bey Ofset Matbaacılık.

Uma, S. B. ve Richard, R, B. (2008). Impact of dietary components on chicken immune system and salmonella infection. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, **1(6),** 121-135.

Underwood, H., Binkley, S., Siopes, T., ve Mosher, K. (1984). Melatonin rhythms in the eyes, pineal bodies, and blood of japanese quail *(Coturnix coturnix japonica). General and Comparative Endocrinology*, **56**, 70-81.

Unnerstall J. R., Kopajtic T. A. ve Kuhar M. J. (1984). Distribution of alpha 2 agonist binding sites in the rat and human central nervous system: analysis of some functional, anatomic correlates of the pharmacologic effects of clonidine and related adrenergic agents. *Brain Research,* **319(1),** 69-101.

Utnik-Banaś, K., Żmija, J., ve Sowula-Skrzyńska, E. (2014). Economic aspects of reducing stocking density in broiler chicken production using the example of farms in Southern Poland. *Annals of Animal Science*, **14**, 663-671.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology,* **39(1),** 44-84.

Vilvert, E., Lana, M., Zander, P. ve Sieber, S. (2018). Multi-model approach for assessing the sunflower food value chain in Tanzania, *Agricultural Systems,* **159,** 103-110.

Von Borell, E., Dobson, H. ve Prunier, A. (2007). Stress, behaviour and reproductive performance in female cattle and pigs. *Hormones and Behavior,* **52(1),** 130-138.

Vrijkotte, T. G., Van Doornen, L. J. ve De Geus, E. J. (2000). Effects of work stress on ambulatory blood pressure, heart rate and heart rate variability. *Hypertension.* **35**, 880-886.

Wallace, F. A., Miles, E. A. ve Calder, P. C. (2003). Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *British Journal Nutrition.* **89(5),** 679-689.

Wang, H. H., Hung T. M., Wei J. ve Chiang, A. N. (2004) Fish oil increases antioxidant enzyme activities in macrophages and reduces atherosclerotic lesions in apoE-knockout mice. *Cardiovascular Research,* **1;61(1),** 169-176.

Wang, X. ve Erf, G. (2003). Melanocyte-specific cell mediated immune response in vitiliginous Smyth line chickens. *Journal of Autoimmunity,* **21(2),** 149-160..

Watanabe, S., Hayashi, H., Onozaki, K. ve Okuyama, H. (1991). Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on lipopolysacharide-induced tumor necrosis factor production in mouse macrophages, *Life Science,* **48,** 2013-2020.

Webster Marketon, J. I. ve Glaser, R. (2008). Stress hormones and immune function. *Cellular Immunology,* **252(1-2),** 16-26.

Wei, F. X., Hu, X. F., Xu, B., Zhang, M. H., Li, S. Y., Sun, Q. Y. ve ark. (2015). Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. *Genetics and Molecular Research,* **14(2),** 3160–3169.

Weisiger, R. A. ve Fridovich, I. (1973). Mitochondrial superoxide simutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *The Journal of Biological Chemistry,* **248:** 4793-4796.

Weiss, D. J. ve Walcheck, B. (2008). Neutrophil function. İçinde: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. (6th ed.), Burlington, M A: Elsevier Academic Press.

Wells, L. L., Lowry, V. K., Deloach, J. R. ve Kogut, M. H. (1998). Age-dependent phagocytosis and bactericidal activities of the chicken heterophil. *Developmental and Comparative Immunology*, **22(1),** 103-109.

Whitehead, C. C., Bowman, A. S. ve Griffin, H. D. (1991). The effects of dietary fat and bird age on the weights of eggs and egg components in the laying hen. *British Poultry Science*, **32(3),** 565-574.

Wigley, P., Hulme, S. D., ve Barrow, P. A. (1999). Phagocytic and oxidative burst activity of chicken thrombocytes to Salmonella, Escherichia coli and other bacteria. Avian Pathology, **28,** 567-572.

Wilson, S., Duff, S. R. I. ve Whitehead, C. C. (1992). Effects of age, sex and housing on the trabecular bone of laying strain domestic fowl. *Research in Veterinary Science*, **53,** 52–58.

Winkler, B. S., Orselli, S. M. ve Rex, T. S. (1994). The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective. *Free* Radical *Biology* and *Medicine* **17(4)**, 333-349.

Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł. A. ve Szukiewicz, D. (2014). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*, **2014**, 1-19.

Won, E. ve Kim, Y. K. (2016). Stress, the autonomic nervous system, and the immune-kynurenine Pathway in the Etiology of Depression. *Current Neuropharmacology*, **14(7),** 665-673.

Xu, Y., Lai, X., Li, Z., Zhang, X. ve Luo, Q. (2018). Effect of chronic heat stress on some physiological and immunological parameters in different breed of broilers. *Poultry Science.* 1-10.

Xixuan Hu, Jandacek, R. J., White, W. S. (2000). Intestinal absorption of β-carotene ingested with a meal rich in sunflower oil or beef tallow: postprandial appearance in

triacylglycerol-rich lipoproteins in women, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **71(5),** 1170-1180.

Yahav, S. (2004). Ammonia affects performance and thermoregulation of male broiler chickens. *Animal Research,* **53(4),** 289-293.

Yahav S, ve Plavnik I. (1999). Effect of early-stage thermal conditioning and food restriction on performance and thermotolerance of male broiler chickens. Brtish Poultry Science, **40(1)**.120-126.

Yang, P., Huang, S., ve Xu, A. (2016). The oxidative burst system in amphioxus. *Amphioxus Immunity*, 153-165.

Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P. ve Sahebkar A. (2017) The impact of stress on body function: A review. *EXCLI Journal,* **16**, 1057-1072.

Yimcharoen, M., Kittikunnathum, S., Suknikorn, C., Nak-On, W., Yeethong, P., Anthony, T. G. ve ark. (2019). Effects of ascorbic acid supplementation on oxidative stress markers in healthy women following a single bout of exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, **16(1),** 2.

Yuan, N., Wang, J. P., Ding, X. M., Bai, S. P., Zeng, Q. F., Su, Z. W. ve ark. (2018). Effects of supplementation with different rapeseed oil sources and levels on production performance, egg quality, and serum parameters in layinghens. *Poultry Science*, **98(4),** 1697-1705.

Yurdakoş, E. (2001). *Lecture Notes on Neurophysiology*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

Zamorano, J., Wang, H. Y., Wang, L. M., Pierce, J. H. ve Keegan, A. D. (1996). IL-4 protects cells from apoptosis via the insulin receptor substrate pathway and a second independent signaling pathway. *Journal of İmmunology,* **157,** 4926-4934.

Zhang, J. M. ve An J. (2007). Cytokines, inflammation and pain *International Anesthesiology Clinics*, **45(2),** 27-37.

Zhang, X., Wang, H., Yin, P., Fan, H., Sun, L. ve Liu, Y. (2017). Flaxseed oil ameliorates alcoholic liver disease via anti-inflammation and modulating gut microbiota in mice. *Lipids in Health and Disease,* **16,** 44.

Zinkl, J. G. (1989). Leukocyt Function. İçinde Koneko, J. J. (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (4 th ed.), New York. Acedemic Press Inc; 316-337.

ETİK KURUL KARARI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 191 30/12/2010

Sn. Doç Dr. Erdal MATUR
Veteriner Fakültesi

Karar No: 191
Başvuru :01.12.2010

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Doktora Öğrencisi Mehmet KETEN'e ait "Kısa ve uzun süreli stres uygulanan yumurta tavuklarında yeme katılan Omega-3 ve Omega-6 yağ asitlerinin performans, immun sistem ve antioksidan savunma sistemine etkileri." isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ahmet BELCE
Üye

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A 221 nolu Oda Avcılar –İSTANBUL TEL : (0 212) 4737070/ 17031 E mail : hadyek@istanbul.edu.tr

Tarih ve Sayı: 05/02/2018-51086

* B E 8 V Z C T D 9 *

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

Sayı :35980450-050.01.99-
Konu :Ek süre talebi Hk.

Sayın Veteriner Hekim Mehmet KETEN
Gıda Tarım Hayvancılık İlçe Müdürlüğü
Bandırma/BALIKESİR

İlgi :05.01.2018 tarihli dilekçeniz.

Sorumluluğunu İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Erdal MATUR'un üstlendiği ve Kurulumuzca 28.02.2013 tarih ve 2013/23 sayılı kararı ile uygun bulunan "**Yoğunluk stresi uygulanan yumurta tavuklarında Omega-3 ve Omega-6'nın performans, immun sistem ve antioksidan savunma sistemine etkileri**" isimli doktora tezi projenize yönelik olarak ilgide kayıtlı dilekçeniz incelenmiş olup, dilekçenizde "Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı" tarafından yurtdışında tarım müşaviri olarak görevlendirildiğinizin belirtilmiş olması nedeniyle, sürenizin 05.02.2018 tarihinden itibaren 6 (altı) ay uzatılması uygun bulunmuştur.

Gereği için bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Fatma Alev KAYMAZ
Başkan

05/02/2018 B.İşl. : C.SÖNMEZTÜRK

Doğrulamak İçin:http://194.27.128.66/envision.Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE8VZCTD9
Ayrıntılı bilgi için irtibat : Canan SÖNMEZTÜRK
İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlı
nolu oda Avcılar/İSTANBUL
Tel : (212) 473 7070 Faks : (212) 440 03 77
e-posta : hadyek@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

K-Q TSE-ISO-EN 9000

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İÜC Tarih ve Sayı: 29/08/2019-131135

BE8VE1F21

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
REKTÖRLÜĞÜ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü

Sayı :13022260-302.14.05-
Konu :Mehmet KETEN

FİZYOLOJİ (VETERİNER) ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.08.2019 tarih ve 32 sayılı oturumunda alınan 76 numaralı karar aşağıda belirtilmiştir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Cevza Melek KAZEZYILMAZ ALHAN
Enstitü Müdürü

Karar 76. Fizyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı, Doktora Programına 2702070073 numara ile kayıtlı Mehmet KETEN'in, Prof. Dr. Erdal MATUR danışmanlığında "Yoğunluk stresi uygulanan yumurta tavuklarında keten tohumu yağı ve Ayçiçek yağının performans immun sistem ve antioksidan savunma sistemine etkileri" [The effects of linseed oil and sunflower oil on performance, immune and antioxidant defense system, in laying hens with density stress] teklif edilen tez adı değişikliği öneri formu hakkında Anabilim Dalı Başkanlığı'ndan gelen 10.07.2019 tarih ve 105427 sayılı yazı görüşüldü; Tez adının "Yoğunluk Stresi Uygulanan Yumurta Tavuklarında Keten Tohumu ve Ayçiçek Yağının Performans İmmun ve antioksidan Savunma Sistemine Etkileri" The Effects of Linseed and Sunflower Oil on Performance, Immune and Antioxidant Defense System, in Laying Hens with Density Stress] şeklinde kabulüne oybirliğiyle karar verildi.

Doğrulamak İçin:http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE8VE1F21

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Gülay EREN Dahili : 18933
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Rektörlüğü, 34320 Avcılar-İstanbul
Tel : 0212 404 03 00 Faks : 0212 404 07 01
Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

YOĞUNLUK STRESİ UYGULANAN YUMURTA TAVUKLARINDA KETEN TOHUMU VE AYÇİÇEK YAĞININ PERFORMANS İMMUN SİSTEM VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİLERİ

ORIJINALLIK RAPORU

%6	%4	%1	%4
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
2	Submitted to Ondokuz Mayıs Universitesi Öğrenci Ödevi	<%1
3	acikerisim.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
4	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	www.docstoc.com İnternet Kaynağı	<%1
6	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
7	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<%1
8	www.jivs.net	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mehmet	**Soyadı**	KETEN
Doğ.Yeri	Kayseri	**Doğ.Tar.**	01.09.1977
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	22901488138
Email	mehmetketen@gmail.com	**Tel**	+905337277351

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.	Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2002
Lisans		
Lise	Selimiye Veteriner Sağlık Meslek Lisesi	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Veteriner Hekim	Tarım ve Orman Bakanlığı	17
2.	Veteriner Sağlık Teknisyeni	Tarım ve Orman Bakanlığı	6
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	iyi	iyi	iyi	77,5	

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	65	73	69
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Office	iyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Makaleler

1. **Keten, M.** (2019). Review on the beneficial effects of omega-3 enriched eggs by dietary flaxseed oil supplementation. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences.* **3(3),** 89-94.
2. Matur E., Akyazi İ., Eraslan E., Ergül Ekiz E., Eseceli H., **Keten M**., ve ark. (2016). The effects of environmental enrichment and transport stress on the weights of lymphoid organs, cell-mediated immune response, heterophil functions and antibody production in laying hens, *Animal Science Journal,* **87**, 284-292.
3. Matur E., Eraslan E., Akyazi İ., Ekiz E.E., Eseceli H., **Keten M**. ve ark. (2015) The effect of furnished cages on the immune response of laying hens under social stress", *Poultry Science*, **94**,2853-2862.
4. Aktaran Bala, D. Matur, E., Ergül Ekiz, E., Akyazı,İ., Eraslan, E., Özcan, M., Ergen, E., Erek, M., Esen Gürsel, F., Eseceli, H., **Keten, M.** (2020). Effects of dietary thyme on immune cells, antioxidant defense system, cytokine cascade, production performance, and egg quality in laying hens. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, (İnceleme aşamasında).
5. Aktaran Bala, D. Matur, E., Ergül Ekiz, E., Akyazı,İ., Ergen, E., Erek, M., Atmaca, G., Eseceli, H., **Keten, M**. ((2020). An investigation concerning the effects of dietarysupplementation of dried tomato and red pepper powders on the antioxidant defense mechanisms, immunesystem, cytokine cascade, egg production performance, and egg quality in laying hens. *Europen Poultry Science.* (İnceleme aşamasında).

Kongreler

1. Matur E., Ergül Ekiz E., Akyazi İ., Eraslan E., Eseceli H., **Keten M.** ve ark. (2015) The effect of furnished cage on the immune response of laying hens under social stress. 27th International Poultry Science Conference, Bydgoszcz, Polonya, 14-16 Eylül 2015,.76-77.
2. Günşen, U., **Keten, M**. ve Eseceli, H.(2010) Broilers welfare, stress and meat quality. Kümes Hayvanlari Kongresi, Kayseri / Türkiye.
3. Matur E., Ergül Ekiz E., Akyazi İ., Eraslan E., Eseceli H., **Keten M**. ve ark. (2016). The effects of environmental enrichment and transport stress on the weights of

lymphoid organs, cell mediated immune response, heterophil functions and antibody production in laying hens", The 1st International Conference on Tropical Animal Science and Production (TASP 2016). Bangkok/Tayland, Bankog, Tayland, 26-29 Ağustos 2016, pp.66-66.

4. Eseceli, H., Günşen, U., Demir, E. ve **Keten, M**. (2010) Kanatlılarda karotenoidlerin immun yanıt üzerindeki etkileri. Kümes Hayvanlari Kongresi, Kayseri / Türkiye.

Eğitim ve Sertifikalar

1. Examination of residue monitoring legislation and applications at live animals and animal products in the E.U. 01.01.2016-30.03.2016 / Çekya.
2. Kamu İç Denetçisi 02.11.2015-29.12.2015 /Ankara
3. Residues of Veterinary Medicinal Products 10-13.06. 2014, Krakow, Polonya
4. Quality Management System- Internal Quality Auditor 21-24.05.2013/ Afyonkarahisar
5. Development İmplementation of Haccp system 18-22.05.2009 /Macaristan