

Özge ALTAN¹
Zümrüt AÇIKGÖZ¹
Özer Hakan BAYRAKTAR¹
Fadime AYDIN KÖSE²
Esra KARADUMAN¹

¹ Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü,
35100, İzmir / Türkiye

² Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel
Eczacılık Bilimleri, 35100, İzmir / Türkiye

sorumlu yazar: ozge.altan@ege.edu.tr

***In ovo* T₃ Hormonu Enjeksiyonunun Soğuk Stresine Maruz Kalan Etlik Piliçlerde Performans, Bazı Kan Parametreleri ve Oksidatif Stabilite Üzerine Etkileri**

The Effects of In Ovo Injection of T₃ Hormone on Performance, Some Blood Characteristics and Oxidative Stability in Broilers Exposed to Cold Stress

Alınış (Received): 23.03.2017

Kabul tarihi (Accepted): 02.06.2017

Anahtar Sözcükler:

Etlik piliç, *in ovo* T₃ enjeksiyonu, soğuk stresi, performans, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu

Key Words:

Broiler, *in ovo* T₃ injection, cold stress, performance, oxidative stress, lipid peroxidation

ÖZET

Bu çalışma *in ovo* T₃ hormonu enjeksiyonunun soğuk stresine maruz kalan etlik piliçlerde performans, kan lipid profili, asites oluşumu ve oksidatif stabilite üzerine etkilerini saptamak amacı ile yürütülmüştür. Bu amaçla, kontrol grubu dışındaki dömlü yumurtalara kuluçkanın 17. gününde 25 ng T₃ enjekte edilmiştir. Her iki grupta, civcivlerin yarısı standart sıcaklıklarda yetiştirilirken diğer yarısına erken (4-6. günler arasında 20±1 °C) ve geç (35-37. günler arasında 15±1 °C) yaşlarda düşük sıcaklık uygulanmıştır. *In ovo* T₃ enjeksiyonu etlik piliçlerin performansını önemli düzeyde etkilememiştir. Soğuk stresi uygulaması 21. günde canlı ağırlığı ve yem tüketimini azaltmış ancak yemden yararlanmayı etkilememiştir. Soğuk stresinden kaynaklanan büyüme performanstaki gerileme kesim yaşına kadar telafi edilememiştir. Ölüm oranı bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık oluşmamıştır ve asites kaynaklı ölüm görülmemiştir. Erken yaşlarda, soğuk stresi rektal sıcaklığı azaltırken *in ovo* T₃ enjeksiyonu hematokrit değerini artırmıştır (P<0.05). Soğuk stresine maruz kalan piliçlerde kalp oranı önemli düzeyde yükselmiştir. Glukoz, trigliserit, kolesterol, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve T₃ düzeyleri *in ovo* T₃ enjeksiyonundan önemli düzeyde etkilenmemiştir. Erken yaşta soğuk stresi trigliserit düzeyini azaltmış ve kolesterol, HDL ve LDL konsantrasyonlarını artırmıştır (P<0.05). Geç yaşta soğuk stresi sadece LDL düzeyini önemli düzeyde azaltmıştır. *In ovo* T₃ enjeksiyonu ve soğuk stresi malondialdehit (MDA) ve trolox eşdeğer antioksidan kapasite (TEAK) değerlerini etkilememiştir. *In ovo* T₃ ve soğuk stresi uygulamaları etlik piliçlerde oksidatif hasara neden olmamıştır.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of *in ovo* injection of T₃ hormone on performance, blood lipid profile, ascites and oxidative stability in broilers exposed to cold stress. For this purpose, fertile eggs except control group were injected with 25 ng T₃ on the 17th day of incubation. In both groups, half of the chicks were reared under standart temperatures while the other half was applied low temperature early (20±1°C from 4 to 6 d old) and late (15±1°C from 35 to 37 d old) ages. *In ovo* T₃ injection did not significantly affect broiler performance. At 21 d of age, cold stress treatment decreased body weight and feed intake but did not affect feed conversion ratio. Growth depression due to cold stress might not be compensated until slaughter age. There was no a significant difference in terms of mortality and no deaths from ascites have been observed. At an early age, *in ovo* T₃ injection increased hemotocrit value while cold stress reduced rectal temperature (P<0.05). In broilers exposed to cold stress, heart ratio significantly raised. The levels of glucose, triglyceride, cholesterol, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL) and T₃ were not significantly affected by *in ovo* T₃ injection. Cold stress at an early age decreased triglyceride level and increased cholesterol, HDL and LDL concentrations (P<0.05). Cold stress at late age only significantly reduced LDL level. *In ovo* T₃ injection and cold stress did not affect malondialdehyde (MDA) and trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) values. *In ovo* T₃ and cold stress treatments did not cause oxidative damage in broilers.

GİRİŞ

Troid hormonları kanatlılarda büyüme, üreme, termoregülasyon gibi birçok fizyolojik olayda etkin rol alır, metabolik hızı düzenler ve yüksek vücut sıcaklığının sürdürülmesini sağlar. Kanatlılarda troid bezleri erken embriyonik dönemde gelişir. Embriyonun kese solunumundan akciğer solunumuna geçtiği dönemde troid aktivitesinde belirgin bir artış olur (Wentworth and Ringer, 1986; Darras et al., 2000; Malan et al., 2003; McNabb, 2006).

Troid hormonlarının protein ve lipit metabolizması üzerine etkileri çift yönlüdür. Düşük konsantrasyonlarda anabolik, yüksek konsantrasyonlarda katabolik etki gösterir (Darras et al., 2000; Decuypere et al., 2005).

Etlik damızlıklarda uzun yıllardır canlı ağırlık ve yemden yararlanma yönünde yapılan seleksiyon troid fonksiyonunu olumsuz etkilemiş ve hipotroidizme neden olmuştur. Bu durumun özellikle düşük sıcaklıklarda büyütülen etlik piliçlerde asites duyarlılığını artırdığı bilinmektedir (Decuypere et al., 2003; Luger et al., 2001; Malan et al., 2003; Hassanzadeh, 2009). Yaşanan bu olumsuz değişimin en büyük nedeni hızlı gelişen etlik piliçlerin düşük çevre sıcaklıklarında oksijen ihtiyaçlarını karşılayamamalarıdır.

Decuypere et al. (1994) yeme troid hormonu eklenmesinin artan metabolik hız ve oksijen tüketimine bağlı olarak asites oluşumunu artırdığını bildirmişlerdir. Luger et al. (2002) ve Akhlaghi et al. (2012) hipertroid piliçlerde asites duyarlılığının azaldığını saptamışlardır. Konu moleküler düzeyde incelendiğinde soğuğa maruz kalan civcivlerde UCP (uncoupling protein-eşleşme bozucu protein) ekspresyonu (mRNA) ve ısı üretiminin arttığı ve bunun plazma T_3 konsantrasyonundaki yükselme ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Collin et al., 2003).

Çevresel stresörler (soğuk, sıcak vb) kanatlı performansını olumsuz etkiler ve önemli ekonomik kayıplara neden olur. Genelde düşük sıcaklıklarda büyütülen etlik piliçlerde canlı ağırlık azalır, yem tüketimi artar ve yemden yararlanma geriler (Deaton et al., 1996; Pakdel et al., 2005; Pan et al., 2005; Akşit et al., 2008). Etlik piliç üretiminde soğuk stresinin performans üzerindeki etkileri stresin şiddetine, maruz kalma süresine, piliçin yaşına ve genotipine bağlı olarak değişebilir.

Embriyonik dönemde hormon sistemleri ve gen ekspresyonu metabolizmayı ve davranışları etkileyen kritik etmenlerdir (McNabb, 2007). Bu bağlamda, prenatal ve erken postnatal dönemlerde epigenetik adaptasyon ile tavukların ileri yaşlardaki soğuk veya sıcak koşullara uyum yeteneği geliştirilebilir (Altan et al., 2000; Shinder et al., 2002; Tzschentke, 2007). Nitekim, erken yaşlarda soğuk stresine maruz kalan civcivlerde

soğuğa toleransın arttığı ve termotolerans yeteneğinin geliştiği saptanmıştır (Shinder et al., 2002; Yardımcı et al., 2006; Shahir et al., 2012).

Bahadoran and Hassanzadeh (2010) erken yaşlarda soğuk stresi uygulamasının ileri yaşlarda soğuğa mukavemeti arttırdığını, ilk (3-4. gün) soğuk stresine göre ikinci soğuk stresi uygulamasının (28. gün) daha düşük T_3 ve kortikosteron düzeyine neden olduğunu, bu durumun asites sendromunu azaltan bir adaptasyona yol açtığını bildirmişlerdir.

Tzschentke and Basta (2002) civcivlerde çıkış sonrası 5. güne kadar soğuğa dayanıklılığın yüksek olduğunu (yaklaşık %30), 5. günden 10. güne kadar soğuğa duyarlılığın %30'dan %14'e azalırken, yüksek sıcaklığa duyarlılığın %5'den %14'e arttığını öne sürmüşlerdir.

Sunulan literatür bilgileri doğrultusunda planlanan bu çalışmanın amacı;

-Kuluçkanın 17. gününde T_3 *in ovo* enjeksiyonunun etlik piliç performansı üzerine etkilerini incelemek,

-*in ovo* T_3 enjekte edilen yumurtalardan çıkan civcivlere erken yaşlarda soğuk stresi uygulamasının etlik piliç performansı, asites oluşumu ve oksidatif stabilite üzerine etkilerini saptamaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Hayvan Materyali ve Deneme Düzeni

Çalışmada 40 haftalık yaştaki Cobb 500 genotipine ait etlik damızlık tavuklardan elde edilen 440 adet kuluçkalık yumurta kullanılmıştır. Standart koşullarda kuluçkalanan bu yumurtalar arasından 17. günde lamba kontrolü ile seçilen 390 adet dömlü yumurtanın yarısına hiçbir uygulama yapılmazken, diğer yarısına 0.1 ml de-iyonize su çözeltisi içinde 25 ng T_3 hormonu (Sigma-Aldrich®) enjekte edilmiştir. T_3 çözeltisi 1ml'lik (26Gx $\frac{1}{2}$ ") insülin enjektörleri kullanılarak yumurtanın doğrudan hava kesesine enjekte edilmiştir. Kabukta oluşan delik sıvı mum ile kapatılıp yumurtalar tekrar kuluçka makinasına yerleştirilmiş ve çıkışa kadar tüm yumurtalara standart kuluçka prosedürleri uygulanmıştır. Her 2 deneme grubunda yumurtalardan çıkan civcivler (160'ar adet) çalışmanın hayvan materyalini oluşturmuştur. Toplam 320 adet civcive kanat numarası takılarak bireysel olarak tartılmış ve her biri 4 tekerrürlü (20 civciv) 4 muamele grubuna ayrılmıştır. Bu gruplar:

Standart kontrol (K): Kuluçkada kontrol grubundan elde edilen civcivler deneme süresince standart büyütme koşullarında yetiştirilmişlerdir.

Standart T_3 (T_3): Kuluçkada *in-ovo* T_3 uygulanan yumurtalardan çıkan civcivler deneme süresince standart büyütme koşullarında yetiştirilmişlerdir.

Soğuk Stresi Kontrol (SSK): Kuluçkada kontrol grubundan elde edilen civcivlere 2 kez 3'er günlük periyotta düşük sıcaklık (4-6.günler arasında 20±1°C ve 35-37.günler arasında 15±1°C) uygulanmıştır.

Soğuk Stresi T₃ (SST₃): Kuluçkada *in-ovo* T₃ uygulanan yumurtalardan çıkan civcivlere 2 kez 3'er günlük periyotta düşük sıcaklık (4-6. günler arasında 20±1 °C ve 35-37. günler arasında 15±1 °C) uygulanmıştır.

Deneme tam çevre denetimli küme gerçeştirilmiştir. Tüm muamele gruplarına deneme süresince sürekli aydınlatma (23K:1A) programı uygulanmış ve su ile yem ad-libitum olarak sunulmuştur. Hayvanlar 0-10., 11-24. ve 25-42. günler arasında sırasıyla başlatma (3025 kcal/kg ME ve %23,59 ham protein), büyütme (3150 kcal/kg ME ve %21,18 ham protein) ve bitirme (3200 kcal/kg ME ve %20,29 ham protein) yemleri ile beslenmiştir.

Piliçlerin canlı ağırlıkları bireysel olarak, yem tüketimleri ise tekerrür düzeyinde belirlenmiştir. Ölümler günlük olarak kaydedilmiştir. Yemden yararlanma canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve ölümler dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Rektal Sıcaklık Ölçümü ve Kan Analizleri

Denemenin 6. ve 37. gününde her muamele grubundan rastgele 10 hayvan seçilmiş ve rektal sıcaklıklar dijital termometre (HANNA HI 9040) kullanılarak ölçülmüştür. Rektal sıcaklık ölçümü yapılan hayvanlardan kan örnekleri alınmış, bu amaçla denemenin 6. günde 24 civcivden (6 civciv/grup) servikal dislokasyon ile, 37. günde ise 28 civcivin (7 piliç/grup) kanat damarından kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örneklerinde hematokrit, T₃, glukoz, trigliserit, toplam kolesterol, HDL, LDL, MDA ve TEAK analizleri yapılmıştır.

Glukoz, trigliserit, kolesterol, HDL, LDL ve T₃ hormonlarının analizlerinde ticari kitlerden (Roche Diagnostics, Roswell, GA, USA) yararlanılmıştır. MDA düzeyleri Draper and Hadley'in (1990) çift ısıtma yöntemine göre belirlenmiştir. Troloks eşdeğer antioksidan kapasite tayini (TEAK), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit'e (Troloks) eşdeğer total antioksidan kapasiteyi gösteren yöntem ile (Re et al., 1999) saptanmıştır.

İstatistik Analizler

Tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak yürütülen denemeden elde edilen veriler JMP paket programında "Doğrusal Model" kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur (JMP, 2007). Grup ortalamaları arasındaki farkların karşılaştırılmasında t-testi, interaksiyon etkilerinin

karşılaştırılmasında ise LSD testi uygulanmış, önem düzeyi 0.05 olarak kabul edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

In ovo T₃ enjeksiyonunun ve soğuk uygulamasının etlik piliç performansı üzerine etkisi Çizelge 1'de sunulmuştur.

Grupların deneme başı (0.gün) canlı ağırlıkları birbirine benzerlik göstermiş ve önemli bir istatistik farklılık oluşmamıştır (P>0.05). Soğuk uygulaması piliçlerin canlı ağırlığını önemli düzeyde etkilemiştir (P<0.05). Standart koşullarında yetiştirilenlere (K ve T₃ grupları) göre soğuk stresine maruz kalan piliçlerin (SSK ve SST₃ grupları) 21. ve 42.gün ortalama canlı ağırlıkları sırasıyla 761.50 g'dan 690.30 g'a ve 2811.84 g'dan 2702.01 g'a düşerek önemli düzeyde azalmıştır (P<0.05). Denemenin 21. gününde soğuk stresi**in ovo* T₃ interaksiyonunun önemli olduğu belirlenmiş T₃, SSK ve SST₃ gruplarının canlı ağırlıklarının (747.12 g, 682.10 g ve 698.50 g) K grubuna (775.88 g) kıyasla önemli düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır (P<0.05).

Soğuk stresi piliçlerin sadece 0-21.günler arasındaki yem tüketimlerini önemli düzeyde etkilemiştir. Denemenin 4-6.günleri arasında soğuk uygulanan gruplardaki piliçler (SSK ve SST₃) önemli düzeyde daha az yem (965.73 g'dan 892.45 g'a) tüketmişlerdir (P<0.05). Denemenin 0-21. günleri arasındaki yem tüketim değerleri bakımından da soğuk stresi**in ovo* T₃ interaksiyonunun önemli olduğu belirlenmiştir. Çizelge 1'de görüldüğü üzere piliçlerin yem tüketimleri K grubuna (992.43 g) kıyasla T₃ grubunda (939.03 g) azalma eğilimi gösterirken SSK ve SST₃ gruplarında (883.62 g ve 901.29 g) önemli düzeyde gerilemiştir. Yemden yararlanma ve ölüm oranı ise gerek soğuk uygulamasından, gerekse *in ovo* T₃ enjeksiyonundan önemli düzeyde etkilenmemiştir (P>0.05).

Soğuk ve *in ovo* T₃ uygulamalarının karkas, göğüs ve but randımanları ile abdominal yağ oranını etkilemediği ancak soğuk stresine maruz kalan gruplarda kalp oranının önemli düzeyde (P<0.05) arttığı saptanmıştır (Çizelge 2). Bunun yanı sıra, karaciğer oranı bakımından soğuk stresi**in ovo* T₃ interaksiyonunun önemli olduğu ve T₃ grubuna göre SST₃ grubunda karaciğer oranının önemli düzeyde yükseldiği saptanmıştır (P<0.05).

Çizelge 3'deki 6. güne ait rektal sıcaklık ve hemotokrit değerleri incelendiğinde rektal sıcaklığın soğuk uygulanan gruplarda önemli düzeyde düştüğü, hematokrit değerlerinin ise *in ovo* T₃ uygulanan gruplarda önemli düzeyde arttığı görülmektedir (P<0.05). Buna karşın denemenin 37. günündeki rektal sıcaklık ve hematokrit değeri ise soğuk veya *in ovo* T₃ uygulamalarından etkilenmemiştir (P>0.05).

In ovo T₃ enjeksiyonu denemenin 6. ve 37. günlerinde alınan kan örneklerinde saptanan biyokimyasal parametreleri (Çizelge 4 ve 5) önemli düzeyde etkilememiştir (P>0.05). Soğuk uygulaması ise 6. günde trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL konsantrasyonlarında ve 37. gün LDL düzeyinde önemli düzeyde değişikliklere neden olmuştur (P<0.05). Soğuk stresine maruz kalan piliçlerin kan trigliserit düzeyleri azalırken (131.67 mg/dL'den 73.25 mg/dL'ye) toplam kolesterol (156.25 mg/dL'den 185.17 mg/dL'ye) ve HDL (133.25 mg/dL'den 162.0 mg/dL'ye)

konsantrasyonları artmıştır. Soğuk uygulaması 6. gün LDL düzeyinde yükselmeye (19.33 mg/dL'den 25.58 mg/dL'ye), 37. günde ise düşüşe (29.43 mg/dL'den 21.71 mg/dL'ye) neden olmuştur (P<0.05). Toplam kolesterol bakımından soğuk stresi**in ovo* T₃ interaksiyonunun önemli olduğu ve T₃ grubuna ait kolesterol düzeyinin SSK ve SST₃ gruplarınıninkine göre önemli düzeyde düşük olduğu saptanmıştır (P<0.05). Soğuk stresi veya *in ovo* T₃ uygulamasının kandaki T₃, MDA ve TEAK düzeylerine etkisi istatistiksel olarak önemli değildir (P>0.05).

Çizelge 1. Soğuk stresi ve *in ovo* T₃ uygulamasının etlik piliç performansı üzerine etkileri (\bar{x} ±SE)

Table 1. The effects of cold stress and *in ovo* T₃ treatment on broiler performance

Grup	Canlı Ağırlık, g			Yem tüketimi, g			Yemden Yararlanma, g/g			Ölüm Oranı, %
	0. gün	21. gün	42. gün	0-21. gün	22-42. gün	0-42. gün	0-21. gün	22-42. gün	0-42. gün	0-42. gün
Soğuk stresi										
Stres -	47.60±0.42	761.50 ^a ±7.18	2811.84 ^a ±27.37	965.73 ^a ±13.81	3287.65±53.56	4253.39±49.52	1.35±0.03	1.60±0.02	1.54±0.01	4.06±0.10
Stres +	48.10±0.27	690.30 ^b ±6.97	2702.01 ^b ±28.62	892.45 ^b ±8.88	3223.61±52.97	4116.07±57.04	1.39±0.01	1.64±0.02	1.58±0.02	2.50±0.10
<i>In ovo</i> T₃										
T ₃ -	47.58±0.40	728.91±7.08	2748.53±27.75	938.03±22.34	3269.51±56.18	4207.54±62.12	1.38±0.01	1.63±0.02	1.57±0.02	2.81±0.10
T ₃ +	48.13±0.30	722.81±7.08	2764.21±29.12	920.16±11.45	3241.76±52.50	4161.91±55.23	1.36±0.03	1.62±0.02	1.55±0.01	3.75±0.10
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T₃										
K	47.30±0.72	775.88 ^a ±10.12	2826.44±37.63	992.43 ^a ±12.61	3284.43±94.52	4276.86±90.72	1.36±0.01	1.60±0.03	1.54±0.02	3.75±1.41
T ₃	47.90±0.43	747.12 ^b ±10.20	2797.00±39.99	939.03 ^{ab} ±15.98	3290.88±66.68	4229.91±53.57	1.34±0.06	1.60±0.02	1.54±0.01	4.38±1.41
SSK	47.86±0.34	682.10 ^c ±9.90	2672.99±38.73	883.62 ^b ±14.04	3254.59±75.15	4138.21±81.09	1.39±0.00	1.66±0.03	1.59±0.02	1.88±1.41
SST ₃	48.35±0.42	698.50 ^c ±9.83	2731.94±42.21	901.29 ^b ±10.90	3192.63±82.50	4093.92±91.01	1.39±0.02	1.63±0.04	1.57±0.03	3.13±1.41
Varyasyon kaynağı										
Önemlilik (P değeri)										
Soğuk stresi	0.3159	<.0001	0.0063	0.0002	0.4410	0.1140	0.2994	0.2415	0.0774	0.2685
<i>In ovo</i> T ₃	0.2115	0.5377	0.7102	0.2107	0.7358	0.5816	0.6789	0.6626	0.5071	0.5066
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T ₃	0.9179	0.0249	0.2663	0.0220	0.6779	0.9871	0.8387	0.6473	0.6331	0.8248

^{a-c}: Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 2. Soğuk stresi ve *in ovo* T₃ uygulamasının kesim özellikleri üzerine etkileri (\bar{x} ±SE)

Table 2. The effects of cold stress and *in ovo* T₃ treatment on slaughter characteristics

Grup	Karkas Randımanı, %	Göğüs Randımanı, %	But Randımanı, %	Abdominal Yağ Oranı, %	Karaciğer Oranı, %	Kalp Oranı, %
Soğuk stresi						
Stres -	75.60±0.31	27.55±0.38	20.41±0.21	1.04±0.06	2.14±0.05	0.52 ^b ±0.02
Stres +	74.87±0.24	27.50±0.29	19.78±0.28	1.22±0.08	2.25±0.05	0.60 ^a ±0.20
<i>In ovo</i> T₃						
T ₃ -	74.99±0.25	27.03 ^b ±0.31	20.29±0.22	1.12±0.08	2.19±0.06	0.55±0.02
T ₃ +	75.48±0.31	28.02 ^a ±0.34	19.90±0.28	1.14±0.06	2.20±0.04	0.57±0.02
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T₃						
K	75.65±0.28	26.64±0.47	20.90±0.21	1.08±0.09	2.21 ^{ab} ±0.08	0.50±0.02
T ₃	75.56±0.56	28.46±0.46	19.93±0.30	0.99±0.07	2.08 ^b ±0.04	0.55±0.03
SSK	74.34±0.32	27.42±0.38	19.69±0.29	1.15±0.14	2.17 ^{ab} ±0.08	0.61±0.03
SST ₃	75.39±0.29	27.58±0.47	19.87±0.50	1.29±0.08	2.32 ^a ±0.05	0.60±0.02
Varyasyon kaynağı						
Önemlilik (P değeri)						
Soğuk stresi	0.0601	0.9097	0.0712	0.0762	0.1321	0.0056
<i>In ovo</i> T ₃	0.2131	0.0334	0.2625	0.8237	0.9045	0.5351
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T ₃	0.1456	0.0718	0.1011	0.2554	0.0465	0.2389

^{a-b}: Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 3. Etlik piliçlerde soğuk stresi ve *in ovo* T₃ uygulamasının rektal sıcaklık ve hematokrit değerleri üzerine etkileri (\bar{x} ±SE)

Table 3. The effects of cold stress and *in ovo* T₃ treatment on rectal temperature and hematocrit values of broilers

Grup	6. gün		37. gün	
	Rektal sıcaklık, °C	Hematokrit, %	Rektal sıcaklık, °C	Hematokrit, %
Soğuk stresi				
Stres -	41.06 ^a ±0.10	23.05±1.17	41.42±0.05	21.05±0.70
Stres +	40.51 ^b ±0.10	24.10±1.40	41.44±0.06	21.10±0.56
<i>In ovo</i> T₃				
T ₃ -	40.67±0.13	21.20 ^b ±1.28	41.43±0.05	21.15±0.75
T ₃ +	40.90±0.10	25.95 ^a ±1.06	41.42±0.05	21.00±0.49
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T₃				
K	41.05±0.12	19.70±1.69	41.46±0.09	20.60±1.33
T ₃	41.07±0.16	26.40±0.65	41.37±0.05	21.50±0.05
SSK	40.29±0.15	22.70±1.89	41.40±0.07	21.70±0.73
SST ₃	40.72±0.11	25.50±2.08	41.47±0.09	20.50±0.85
Varyasyon kaynağı				
Önemlilik (P değeri)				
Soğuk stresi	0.0003	0.5333	0.7933	0.9563
<i>In ovo</i> T ₃	0.1106	0.0073	0.8957	0.8694
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T ₃	0.1448	0.2504	0.2980	0.2541

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4. Etlik piliçlerde soğuk stresi ve *in ovo* T₃ uygulamasının bazı kan parametreleri üzerine etkileri (6.gün) (\bar{x} ±SE)

Table 4. The effects of cold stress and *in ovo* T₃ treatment on some blood parameters of broilers (6th day)

Grup	Glukoz, mg/dL	Trigliserit, mg/dL	Kolesterol, mg/dL	HDL, mg/dL	LDL, mg/dL	T ₃ , ng/mL	MDA, nmol/ml	TEAK, mM
Soğuk stresi								
Stres -	258.33±4.34	131.67 ^a ±16.65	156.25 ^b ±7.31	133.25 ^b ±7.37	19.33 ^b ±2.11	2.80±0.20	3.09±0.49	1.93±0.06
Stres +	256.00±5.16	73.25 ^b ±7.78	185.17 ^a ±4.75	162.00 ^a ±4.43	25.58 ^a ±1.72	2.82±0.24	2.65±0.67	1.90±0.07
<i>In ovo</i> T₃								
T ₃ -	258.50±5.12	88.58±13.12	173.83±5.92	152.33±6.52	23.50±1.46	2.63±0.22	2.63±0.64	2.00±0.06
T ₃ +	255.83±4.39	116.33±16.90	167.58±8.79	142.92±8.05	21.42±2.62	2.99±0.21	3.14±0.48	1.83±0.06
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T₃								
K	264.83±3.53	120.83±17.16	168.50 ^{ab} ±8.93	143.50±9.78	22.83±1.92	2.87±0.20	2.91±0.66	1.98±0.09
T ₃	251.83±7.32	142.50±29.64	144.00 ^b ±9.77	123.00±10.07	15.83±3.31	2.74±0.37	3.26±0.76	1.88±0.09
SSK	252.17±9.32	56.33±6.84	179.17 ^a ±7.93	161.17±7.77	24.17±2.34	2.39±0.40	2.35±1.16	2.02±0.09
SST ₃	259.83±4.98	90.17±10.24	191.17 ^a ±4.67	162.83±5.04	27.00±2.59	3.24±0.16	3.00±0.61	1.76±0.07
Varyasyon kaynağı								
Önemlilik (P değeri)								
Soğuk stresi	0.7299	0.0044	0.0018	0.0027	0.0257	0.9693	0.6349	0.6584
<i>In ovo</i> T ₃	0.6933	0.1430	0.4474	0.2763	0.4311	0.2455	0.5650	0.0561
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T ₃	0.1368	0.7417	0.0349	0.2026	0.0724	0.1151	0.8588	0.3570

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 5. Etlik piliçlerde soğuk stresi ve *in ovo* T₃ uygulamasının bazı kan parametreleri üzerine etkileri (37.gün) (\bar{x} ±SE)

Table 5. The effects of cold stress and *in ovo* T₃ treatment on some blood parameters of broilers (37th day)

Gruplar	Glukoz, mg/dL	Trigliserit, mg/dL	Kolesterol, mg/dL	HDL, mg/dL	LDL, mg/dL	T ₃ , ng/mL	MDA, nmol/ml	TEAK, mM
Soğuk stresi								
Stres -	236.36±2.87	89.43±7.10	106.64±4.49	84.71±3.68	29.43 ^a ±3.17	3.03±0.16	2.91±0.82	1.92±0.07
Stres +	239.00±3.78	84.69±10.91	103.64±4.38	90.29±3.47	21.71 ^b ±1.78	2.86±0.13	2.85±0.77	2.01±0.09
<i>In ovo</i> T₃								
T ₃ -	238.14± 3.96	84.79± 8.75	105.64±4.15	86.64±3.91	27.64±3.00	2.96±0.12	2.57±0.76	2.00±0.09
T ₃ +	237. ± 2.66	89.69±9.41	104.64±4.74	88.36±3.36	23.50±2.42	2.92±0.17	3.19±0.82	1.93± 0.07
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T₃								
K	235.71±4.64	85.71±10.04	108.29±7.76	83.43±6.77	33.57±4.79	2.92±0.20	1.66±0.19	1.85±0.06
T ₃	237.00±3.75	93.14±10.62	105.00±5.14	86.00±3.49	25.29±3.87	3.13±0.25	4.15±1.53	1.98±0.13
SSK	240.57±6.67	83.86±15.18	103.00±3.64	89.86±4.15	21.71±2.10	3.00±0.14	3.47±1.49	2.15±0.15
SST ₃	237.43±4.06	85.67±17.21	104.29±8.43	90.71±5.90	21.71±3.05	2.71±0.23	2.23±0.47	1.87±0.06
Varyasyon kaynağı								
Önemlilik (P değeri)								
Soğuk stresi	0.5958	0.7928	0.6493	0.2986	0.0420	0.4188	0.9602	0.3855
<i>In ovo</i> T ₃	0.8518	0.7325	0.8793	0.7466	0.2599	0.8559	0.5734	0.4985
Soğuk stresi * <i>in ovo</i> T ₃	0.6565	0.8351	0.7287	0.8715	0.2599	0.2510	0.1009	0.0796

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, *in ovo* T₃ enjeksiyonu ile oluşturulan hipertroididen yararlanarak civcivlerin soğuk stresine mukavemetlerinin artırılması amaçlanmıştır.

Erken yaşlarda uygulanan soğuk stresi. optimum sıcaklıkta büyümeye göre 21. gün canlı ağırlığı ve yem tüketiminde azalmaya neden olmuş fakat. yemden yararlanma değerini etkilememiştir. Soğuk stresi uygulanan etlik piliçlerin 42. gün canlı ağırlıklarının önemli düzeyde düşük olması erken yaşlarda oluşan performanstaki gerilemenin ileri yaşlarda telafi edilemediğini göstermektedir. Bulgularımızın aksine. Yardımcı et al. (2006) kısa süreli soğuk stresinin etlik piliç performansını değiştirmedini, Shahir et al. (2012) erken yaşlarda soğuk stresi uygulamasının canlı ağırlık. yemden yararlanma ve karkas özelliklerini olumlu etkilediğini, Nguyen et al. (2015) ise soğuğa adapte olan etlik piliçlerde ileri yaşlarda canlı ağırlığın arttığını ve yemden yararlanmanın iyileştiğini bildirmişlerdir. Shinder et al. (2002) ile Bahadoran and Hassanzadeh (2010) erken yaşlarda soğuk stresi uygulamasının performans üzerinde önemli bir etkisi olmadığını, ancak final canlı ağırlığının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Bu araştırmada *in ovo* T₃ enjeksiyonunun canlı ağırlık üzerine önemli bir etkisi saptanamamış, buna karşın soğuk stresi**in ovo* T₃ enjeksiyonu interaksiyonunun, 21. gün canlı ağırlığı ve yem tüketimine olan etkileri önemli bulunmuştur. Standart büyütme sıcaklığında T₃ *in ovo* enjeksiyonu 21. gün canlı ağırlığında önemli düzeyde (P<0.05) azalmaya neden olurken, soğuk stresi koşullarında T₃ *in ovo* enjeksiyonu ile canlı ağırlıktaki ve yem tüketimindeki bu azalma telafi edilebilmiştir.

Chang et al. (2003) yeme T₃ ilave edilen civcivlerde 7-15 günlük dönemde canlı ağırlığın ve yem tüketiminin azaldığını, yemden yararlanmanın iyileştiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bulgularımızı kısmen desteklemektedir. Benzer olarak Akhlaghi et al. (2009) hipotroid grupta canlı ağırlığın. kontrol ve hipertroid gruplara göre daha yüksek olduğunu, canlı ağırlıktaki artışın vücutta daha fazla su tutulmasına, yağ dokusundaki artışa veya lipid metabolizmasındaki ve mobilizasyonundaki azalmaya bağlı olduğunu ifade etmişlerdir.

Shahir et al. (2012) erken yaşlarda soğuk stresine uyum sağlayan piliçlerde düşük T₃ konsantrasyonunun enerji tasarrufu sağlayarak canlı ağırlık ve yemden yararlanmayı iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Akhlaghi et al. (2012) içme suyuna T₄ ilave ederek oluşturulan

hipertroidizmin soğuk stresinin neden olduğu asites oluşumunu azalttığını, 42. gün canlı ağırlığının maternal hipertroidizmden etkilenmediğini, fakat soğuk stresinin hem hipertroid, hem de kontrol grubunda canlı ağırlıkta azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızda saptanan bulgularla uyumludur.

Soğuk stresi uygulanan piliçlerin kalp oranında önemli düzeyde bir artış saptanmasına rağmen, deneme gruplarının hiçbirinde asites kaynaklı ölüm gözlenmemiştir. *In ovo* T₃ hormonu enjeksiyonu etlik piliçlerde kalp oranını etkilememiş ve asitese neden olmamıştır. Oysa literatür bilgileri T₃ ilavesinin kalp ağırlığında artışa neden olduğunu göstermektedir (Chang et al., 2003; Decuypere et al., 1994). Çalışmadaki ölüm oranları etlik piliç yetiştirme standartları ile uyumludur.

In ovo T₃ enjeksiyonu ile hipertroid civciv üretilerek soğuk stresine duyarlılığın azaltılması amaçlanan bu çalışmada, T₃ *in ovo* enjeksiyonunun civcivlerde (6. gün) ve piliçlerde (37. gün) plazma T₃ düzeyinde bir artışa neden olmadığı görülmüştür.

Soğuk stresi uygulanan dönemde civcivlerin rektal sıcaklıkları azalmıştır. Fakat T₃ *in ovo* enjeksiyonu ile rektal sıcaklıklardaki bu azalma (yaklaşık 0.5°C) kısmen telafi edilebilmiştir. Etlik piliçlerin (37. gün) rektal sıcaklıkları bakımından gruplar arasında fark bulunmaması civcivlere erken yaşlarda uygulanan soğuk stresine adapte olduklarını göstermektedir.

Çalışmanın 6. gününde yapılan kan analizlerinde soğuk stresi uygulamasının civcivlerin lipid metabolizmasını önemli düzeyde etkilediği, *in ovo* T₃ enjeksiyonu etkisinin ise önemli olmadığı belirlenmiştir. Erken yaşlarda soğuk stresi uygulaması 6. günlük yaştaki civcivlerin plazma trigliserit düzeyinde azalmaya, Kolesterol, HDL ve LDL konsantrasyonlarında ise artışa neden olmuştur. Bulgularımızla uyumlu olarak Zhang et al. (2014) soğuk stresine maruz kalan etlik piliçlerde karaciğer dokusunun hasar gördüğünü ve kan HDL ile LDL düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Fakat Chen et al. (2012) yağ metabolizmasının vücut sıcaklığının sürdürülebilmesi için çok önemli olduğunu, soğukta vücut sıcaklığının korunması için lipid katabolizmasının arttığını, dolayısıyla etlik piliçlerde 24 saat soğuk stresinden sonra kan lipidlerinin (trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL) azaldığını ifade etmişlerdir. Shim et al. (2006) ise, trigliseritlerin en önemli enerji kaynağı olduğunu bildirerek ısı stresine maruz kalan etlik piliçlerde kolesterol düzeyi artarken trigliserit düzeyinin azaldığını saptamışlardır.

Bulgularımızı destekleyen Nguyen et al. (2015) soğuk stresine maruz kalan etlik piliçlerde kolesterol

ve kreatin kinaz değerlerinin arttığını belirtmişlerdir. Cordeiro et al. (2013) tiroid hormonlarının lipid sentezi ve lipid oksidasyonu arasındaki dengeyi düzenleyerek lipid metabolizmasını etkilediğini, hipotroidizmin kolesterol düzeyini artırdığını bildirmişlerdir. Ancak bu bulgu, T₃ *in ovo* enjeksiyonunun kan lipidleri düzeyini etkilemediği bulgumuzla uyumlu değildir.

Organizmada oksidasyon/antioksidan dengesinin bozulması oksidatif strese neden olur. MDA düzeyi doku ve organlardaki lipid peroksidasyonunu gösteren önemli biyoparametredir. Çalışmamızda *in ovo* T₃ enjeksiyonu ve erken yaşlarda soğuk stresi uygulaması gerek civciv döneminde gerekse ileri yaşlarda MDA ve TEAK düzeyleri üzerinde önemli bir etki yaratmamıştır. Bu bulgular *in ovo* T₃ uygulamasının ve soğuk stresinin deneme süresince etlik piliçlerde oksidatif hasara neden olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde Lin et al. (2008) uzun süreli hipertroidizmin tavuklarda lipid peroksidasyonuna neden olmadığını ve kanatlılarda hipertroidizmin neden olduğu oksidatif strese duyarlılığın memelilere göre daha az olduğunu bildirmişlerdir.

KAYNAKLAR

- Akhlaghi, A., Shahneh, A.Z., Zamiri, M.J., Javaremi, A.N. and Rahimi Mianji, G., 2009. Effect of transient postpubertal hypo- and hyperthyroidism on reproductive parameters of Iranian broiler breeder hens. *African Journal of Biotechnology*. 8 (20):5602-5610.
- Akhlaghi, A., Zamiri, M.J., Zare Shahneh, A., Jafari Ahangari, Y., Najati Javaremi, A., Rahimi Mianji, G., Mollasalehi, M.R., Shojaie, H.A., Akhlaghi, A., Deldar, H., Atashi, H., Ansari Pirsaraei, Z., and Zhandi, M., 2012. Maternal hyperthyroidism is associated with a decreased incidence of cold-induced ascites in broiler chickens. *Poultry Science*. 91:1165-1172.
- Akşit, M., Altan, Ö., Büyükköztürk Karul, A., Balkaya, M. and Özdemir, D., 2008. Effects of cold temperature and vitamin E supplementation on oxidative stress. Troponin-T level. and other ascites-related traits in broilers. *Archiv für Geflügelkunde*. 72 (5):221-230.
- Altan, O., Altan, A., Oğuz, I., Pabuccuoglu, A. and Konyalioglu, S., 2000. Effects of heat stress on growth, some blood variables and lipid oxidation in broilers exposed to high temperature at an early age. *British Poultry Science*. 41 (4): 489-493.
- Bahadoran, S. and Hassanzadeh, M., 2010. Effect of early cold exposure on the endocrine responses of broiler chickens and the incidence of ascites syndrome. *International Journal of Veterinary Research*. 4 (1):11-16.
- Chang, S.C., Lin, M.J., Croom, J. and Fant, Y.K., 2003. Administration of triiodothyronine and dopamine to broiler chicks increases growth, feed conversion and visceral organ mass. *Poultry Science*. 82 (2):285-293.
- Chen, X., Jiang, R. and Geng, Z., 2012. Cold stress in broiler: global gene expression analyses suggest a major role of CYP genes in cold responses. *Molecular Biology Report*. 39:425-429.
- Collin, A., Buyse, J., van As, P., Darras, V.M., Malheiros, R.D., Moraes, V.M., Reyns, G.E., Taouis, M. and Decuyper, E., 2003. Cold-induced enhancement of avian uncoupling protein expression, heat production, and triiodothyronine concentrations in broiler chicks. *General and Comparative Endocrinology*. 130(1):70-77.
- Cordeiro, A., Souza, L.L., Einicker-Lamas, M., Pazos-Moura, C.C., 2013. Non-classic thyroid hormone signalling involved in hepatic lipid metabolism. *Journal of Endocrinology*. 216:47-57.
- Drapar, H.H. and Hadley, M., 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 186:421-431.
- Darras, V. M., Van der Geyten, S. and Kühn, E.R., 2000. Thyroid hormone metabolism in poultry. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 4(1):13-20.
- Deaton, J.W., Branton, S.L., Simmons, J.D. and Lott, B.D., 1996. The effect of brooding temperature on broiler performance. *Poultry Science* 75:1217-1220.
- Decuyper, E., Bruggeman, V., Barbato, G.F. and Buyse, J., 2003. Growth and reproduction problems associated with selection for increased broiler meat production. In *Poultry Genetics, Breeding and Biotechnology* (ed. W.M. Muir and S.E. Aggrey). CAB International. pp 13-27.
- Decuyper, E., Van As, P., Van der Geyten, S. and Darras, V.M., 2005. Thyroid hormone availability and activity in avian species: a review. *Domestic Animal Endocrinology*. 29:63-77.
- Decuyper, E., Vega, C., Bartha, T., Buyse, J., Zoons, J. and Albers, G.A.A., 1994. Increased sensitivity to triiodothyronine (T₃) of broiler lines with a high susceptibility for ascites. *British Poultry Science*. 35:287-297.
- Han, B., Yoon, S.S., Han, H.R., Qu, W.J. and Nigussie, F., 2005. Effect of low ambient temperature on the concentration of free radicals related to ascites in broiler chickens. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 18:1182-1187.

- Hassanzadeh, M., 2009. New approach for the incidence of ascites syndrome in broiler chickens and management control the metabolic disorders. *The Journal of Poultry Science*. 8 (1):90-98.
- JMP 2007. Statistic and Graphics Guide. Release 7. SAS Institute Inc.. Cary. USA.
- Lin, H., Decuyper, E. and Buyse, J., 2008. Effect of Thyroid Hormones on the Redox Balance of Broiler Chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 21 (6):794-80.
- Luger, D., Shinder, D., Rzepakovsky, V., Rusal, M. and Yahav, S., 2001. Association between weight gain, blood parameters, and thyroid hormones, and the development of ascites syndrome in broiler chickens. *Poultry Science* 80:965-971.
- Luger, D., Shinder, D. and Yahav S., 2002. Hyper- or hypothyroidism: its association with the development of ascites syndrome in fast-growing chickens. *General and Comparative Endocrinology* 127:293-299.
- Malan, D.D., Scheele, C.W., Buyse, J., Kwakernaak, C., Siebrits, F.K., van der Klis, J.D. and Decuyper, E., 2003. Metabolic rate and its relationship with ascites in chicken genotypes. *British Poultry Science*. 44 (2):309-315.
- McNabb, F.M., 2006. Reprint of "Avian thyroid development and adaptive plasticity" [*Gen. Comp. Endocrinol.* 147: 93-101]. *General and Comparative Endocrinology*. 148: 290-298.
- McNabb, F.M.A., 2007. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in birds and its role in bird development and reproduction. *Critical Reviews in Toxicology*. 37 (1-2):163-193.
- Nguyen, P., Greene, E., Ishola, P., Huff, G., Donoghue, A., Bottje, W. and Dridi, S., 2015. Chronic mild cold conditioning modulates the expression of hypothalamic neuropeptide and intermediary metabolic-related genes and improves growth performances in young chicks. *Plos ONE*. 10(11): e0142319. doi:10.1371/journal.pone.0142319.
- Pakdel, A., van Arendonk, J.A.M., Vereijken, A.L.J. and Bovenhuis, H., 2005. Genetic parameters of ascites-related traits in broilers: effect of cold and normal temperature conditions. *British Poultry Science* 46:35-42.
- Pan, J.Q., Tan, X., Li, J.C., Sun, W.D. and Wang, X.L., 2005. Effects of early feed restriction and cold temperature on lipid peroxidation, pulmonary vascular remodelling and ascites morbidity in broilers under normal and cold temperature. *British Poultry Science*. 46(3):374-381.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26 (9-10):1231-1237.
- Shahir, M.H., Dilmagani, S. and Tzschentke, B., 2012. Early-age cold conditioning of broilers: effects of timing and temperature. *British Poultry Science*. 53:538-544.
- Shim, K.S., Hwang, K.T., Son, M.W. and Park, G.H., 2006. Lipid metabolism and peroxidation in broiler chickens under chronic heat stress. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 19:1206-1211.
- Shinder, D., Luger, D., Rusal, M., Rzepakovsky, V., Bresler, V. and Yahav, S., 2002. Early age cold conditioning in broiler chickens (*Gallus domesticus*): Thermotolerance and growth responses. *Journal of Thermal Biology*. 27:517-523.
- Tzschentke, B., 2007. Attainment of thermoregulation as affected by environmental factors. *Poultry Science*. 86:1025-1036.
- Tzschentke, B. and Basta, D., 2002. Early development of neuronal hypothalamic thermosensitivity in birds: Influence of epigenetic temperature adaptation. *Comparative Biochemistry and Physiology* 131:825-832.
- Wentworth, B.C. and Ringer, R.K., 1986. Thyroids. In: *Avian Physiology*. 4th ed. (Eds:P.D. Sturkie) Springer-verlag New York. Inc., pp 452-465.
- Yardımcı, M., Şengör, E., Şahin, E.H., Bayram, İ. and Çetingül, İ.S., 2006. The influence cold conditioning on the performance of the broiler chicken. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Science*. 30:583-588.
- Zhang, Z.W., Bi, M., Yao, H., Fu, J., Li, S. and Xu, S., 2014. Effect of Cold Stress on Expression of AMPK α -PPAR α Pathway and Inflammation Genes. *Avian Diseases*. 58:415-426.
- Zhang, Z.W., Lv, Z.H., Li, J.L., Li, S., Xu, S.W. and Wang, X.L., 2011. Effects of cold stress on nitric oxide in duodenum of chicks. *Poultry Science*. 90 (7):1555-1561.
- Zhao, F.Q., Zhang, Z.W., Qu, J.P., Yao, H.D., Li, M., Li, S. and Xu, S.W., 2014. Cold stress induces antioxidants and Hsps in chicken immune organs. *Cell Stress and Chaperones*. 19:635-648.