

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.

Proje No:T577/240698

**İ.C. YÜKSEK ÖĞRETİM MURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

1. İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. İÇİNDEKİLER	
2. TEŞEKKÜR	
3. GİRİŞ ve AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER.....	3
4.1. Enzim Tanımı ve Tarihçesi	3
4.2. Amilaz Enzimleri, Sınıflandırması ve Bulunduğu Yerler ...	4
4.3. α -Amilaz Enziminin Yapısal Özellikleri	5
4.4. α -Amilaz Enziminin Etki Mekanizması	9
4.5. Sindirim Kanalında α -Amilaz Aktivitesi	10
4.6. Tükürükte α -Amilaz Aktivitesi	10
4.7. Kumsakta α -Amilaz Aktivitesi	11
4.8. Ön Mide ve Taşlıkta α -Amilaz Aktivitesi	14
4.9. Bağırsaklarda α -Amilaz Aktivitesi	15
4.10. Pankreasta α -Amilaz Aktivitesi	17
4.11. Plazma ve Serumda α -Amilaz Aktivitesi	20
5. GEREÇ ve YÖNTEM	23
5.1. Gereç	23
5.2. Yöntem	25

80025

5.2.1. Uygulanan Genel Yöntem	25
5.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
5.2.3. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	26
5.2.4. Kan, Doku ve İçerik Örneklerinin Toplanması	28
5.2.5. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması	29
5.2.6. α-Amilaz Analizinin Yapılması	30
5.2.6.1. Teknik	30
5.2.6.2. Enzim Aktivitesinin Hesaplanması	31
5.2.7 İstatistik Değerlendirme	32
6. BULGULAR	33
7. TARTIŞMA	43
8. ÖZET	51
9. SUMMARY	53
10. KAYNAKLAR	55
11. ÖZGEÇMİŞ	64

2. TEŞEKKÜR

Tezimin gerçekleşmesinde bilgi ve önerileriyle beni yönlendiren, çalışmamın her aşamasında yakın ilgi, destek ve hoşgörüsünü esirgemeyen doktora danışmanım Hocam, Sayın Prof. Dr. lker telioglu'na, çalışmam süresince büyük bir özveri ile bana yardımcı olan Fizyoloji Anabilim Dalı'nda görevli Doç.Dr. Mukaddes zcan'a, Araş. Gör. Dr. Murat Arslan'a, Araş. Gör. Sevcan zer'e, Laborant Nilgün Kuş'a ve diğer değerli arkadaşlarıma, Labaratuvar ve cihazlarını kullanmama izin veren Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Muammer Uğur'a, Deneysel Tıbbi Araştırmalar Merkezi Sinir Bilim Anabilim Dalı ğretim yesi Sayın Prof. Dr. Bora Güvener'e, deneyde kullandığım civcivleri veren Pak Tavuk Gıda Sanayi ve Ticaret A.ř.'ne ve çalışmamın her aşamasında beni maddi ve manevi yönden destekleyen Aileme içtenlikle teşekkür ederim.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Tavuk rasyonunun önemli bir bölümünü oluşturan ve metabolize edilebilir enerjinin esas kaynağı olan nişastanın sindirilebilmesi için, sindirim kanalında buna etkili enzimlerin bulunması gereklidir (67). Kanatlı ve memeli türlerinde yapısal ve fonksiyonel yönden benzer özelliklere sahip olan amilaz, nişasta sindirimini sağlayan tek enzimdir (33). Çeşitli memeli türlerinde ve kanatlılarda yapılan çalışmalarda sindirim kanalının farklı bölümlerinde α -amilaz aktivitesi saptanmıştır (38,68). Cıvciv, hindi ve serçelerin tükürük bezlerinde (73), tavukların kursağında (44), hindilerin sekum ve duodenumunda (50), yine cıvcivlerin jejunum başta olmak üzere tüm bağırsak doku ve içeriğinde α -amilaz aktivitesi bildirilmiş (42), 4-10 günlük hindilerde ise pankreatik amilaz sekresyonunun sınırlı olmasına rağmen kursakta önemli oranda nişasta sindirimi olduğu belirlenmiştir (50). Belirlenen bu α -amilazın kaynağına yönelik yapılan çalışmalarda mide sonrasındaki aktivitenin pankreas kökenli olduğu açığa çıkarılmıştır (38). Ancak tane yemle beslenen kanatlı hayvanlarda nişasta sindiriminde önemli bir fonksiyonu olan kursakta, α -amilaz varlığına ilişkin araştırma sayısı hem çok az olup, hem de buradaki amilaz aktivitesinin nereden kaynaklandığı kesinlik kazanmamıştır (44).

Kursak amilazının alınan besinlerden, tükürükten, regürgitasyonla gelen bağırsak içeriğinden veya bakterilerden köken alabileceği gibi doğrudan kursak dokusundan da sentez edilebileceği ifade edilmektedir (10). Champ ve ark. (11) kursaktan izole edilen bakterilerin önemli oranda α -amilaz aktivitesine sahip olduklarını, Öztürkcan (44) kursak sıvısındaki amilazın doğrudan kursak dokusundan salgılandığını, Pritchard (54) ise kursak dokusunun sindirim enzimi salgılamadığı ileri sürmektedir. Rodeheaver ve Wyatt (59) da sindirim kanalının farklı bölümlerinde tespit ettikleri α -amilazın asıl kaynağının pankreas olduğunu ve sentez edilen α -amilazın kan yoluyla karaciğer, safra salgısı ile diğer vücut sıvılarına dağıldığını ileri sürmektedirler.

α -Amilazın pankreas ve sindirim kanalının çeşitli kısımlarında yaşa bağlı değişimi bildirilmesine rağmen (4,24,56) plazma (59) ve kursakta bu konudaki çalışma sayısı sınırlıdır. Ayrıca pankreas ve sindirim kanalını etkileyen pek çok hastalıkta kandaki α -amilaz değişiminin önemli olduğu da bildirimler arasındadır (49,69).

Literatürlerden de izlenebileceği gibi kursak ve plazmadaki araştırma raporları çok sınırlı olup, kursağa ilişkin bildirimler çelişkilidir. Bu nedenle çalışmamızda, broilerlerde plazma ve kursak dokusunda α -amilaz aktivitesinin belirlenmesini, plazma, pankreas, kursak dokusu ve içeriğindeki α -amilaz aktiviteleri arasındaki ilişkiyi ve yaşa bağlı değişimini araştırmayı amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Enzim Tanımı ve Tarihçesi

Enzimler biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların canlıya zarar vermeyecek ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörlerdir (47).

Bütün enzimler protein yapısındadırlar. Kendileri reaksiyona girmedikleri halde reaksiyon için gerekli olan aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonları hızlandırır (47).

Sütün ekşimesi, şarabın sirkeleşmesi, idrardan amonyağın, şekerden alkolün oluşması gibi olaylar eski zamanlardan beri insanların ilgisini çekmiş, ancak bu kimyasal reaksiyonlardan enzimlerin sorumlu olduğu 18.yüzyılın ikinci yarısında ortaya konmuştur. 1833 yılında malt ekstresinden şekeri parçalayan aktif maddenin kısmen saflaştırıldığı ve bugün amilaz olarak bilinen enzime o dönemde diastaz adının verildiği bildirilmektedir (5).

α -Amilazın saflaştırılmasından kısa süre sonra gastrik sıvıdan pepsin izole edildi. 1926 yılında Sumner soya fasulyesinden üreazı kristalize olarak elde etmeyi başardı. Bundan sonraki yıllarda pek çok enzim kristalize olarak elde edilmiştir. Enzimlerin sayısının hızla artması ve her araştırmacının elde ettiği enzimi kendi kurallarına göre isimlendirmesi ise

karışıklıklara neden olmuştur. 1956 yılında Uluslararası Biyokimya Birliğine (IUB) bağlı Uluslararası Enzim Komisyonu kurularak, enzimlerin isimlendirme ve sınıflandırma kuralları belirlenmiştir (47).

4.2. Amilaz Enzimleri, Sınıflandırılması ve Bulunduğu Yerler

Amilazlar nişasta ve glikojen gibi polisakkaritlerdeki α -1,4 glikozidik bağları parçalayarak onları monosakkaritlere indirgeyen enzimlerdir (5).

IUB Komisyonunun sınıflandırma sistemine göre hidrolazların glikozil bileşiklerine etki eden enzimler grubunda yer alan amilazların alfa (α), beta (β) ve gama (γ) amilaz olmak üzere üç farklı türü bulunmaktadır. Bu komisyonun belirlediği kurallara göre α -amilaz α -1,4-D glukon glukonhidrolaz (E.C. 3.2.1.1), β -amilaz α -1,4-D glukon maltohidrolaz, (E.C. 3.2.1.2) γ -amilaz ise α -1,4-D glukon glukohidrolaz (E.C. 3.2.1.3) olarak isimlendirilmiştir (5).

İnsanlarda pankreas ve tükürük başta olmak üzere plazma, idrar, ter, süt, semen, gözyaşı gibi sıvılarda, testis, ovaryum, düz kaslar ve akciğerler gibi doku ve organlarda α -amilaz aktivitesi bildirilmektedir (74). Domuz, sıçan, kobay, maymun, kanatlı ve daha birçok hayvan türünün pankreas ve tükürüğünde α -amilaz enzimi olduğu halde at, köpek, kedi (6), ve ruminantların (10) tükürüğünde enzimin olmadığı ifade edilmektedir. Ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada (20) İsveç Çoban Köpeği'nin tükürüğünde düşük düzeyde α -amilaz aktivitesi belirlendiği ileri sürülmektedir. α -Amilaz enzimi patates, mısır, arpa ve yulaf gibi bitkilerin özellikle filizlenmiş tohumları ile (6), *Basillus subtilis*,

Aspergillus oryzae (72), *Basillus polymyxa* (57) ve *Streptococ* türleri (21) gibi mikroorganizmalarda bulunmaktadır.

Bitki amilazı da denilen ve hayvansal dokularda bulunmayan β -amilaz patates, mısır, soya fasulyesi, arpa, yulaf ve çavdar gibi bitkilerin filizlenmiş ve filizlenmemiş dokularında yer alır (6).

Gulukoamilaz yada amiloglukozidaz olarak da isimlendirilen (EC:3.2.1.3) γ -amilazın sıçan, tavşan, maymun, civciv, güvercin gibi memeli ve kanatlı türlerinin bağırsaklarında (68) ile *Aspergillus*, *Rhizopus* ile *Clostridium acetebutylicum* gibi mikroorganizmalarda da bulunduğu (5) bildirilmektedir.

4.3. α -Amilaz Enziminin Yapısal Özellikleri

α -Amilazın fiziksel özelliklerini belirlemek için yapılan çalışmalarda molekül ağırlığının insanda (74) 55.000-60.000, domuzda (14) 51.000-54.000, tavukta (26,33) 53.000-55.000, *Aspergillus oryzae*'da (13) 52.000, *Aspergillus flavus*'ta (1) 75.000 dalton olduğu belirlenmiştir. Diğer enzimlere göre oldukça küçük yapılı olan α -amilazlar bazı patolojik hallerde immünoglobulinlerle (IgG, IgA) birleşerek molekül ağırlığı 200.000-1.000.000 dalton olan makroamilazları oluştururlar. Bu yüksek moleküller ağırlıklı amilazlar glomerulusdan filtre edilmediği için sürekli olarak plazmada kalırlar (71).

Domuz pankreatik amilazında yapılan bir araştırmada glikoprotein yapısındaki enzimin , 496 Amino asitten oluşan tek zincirli bir polipeptit olduğu ve her molekülünde sıkıca bağlı bir Ca^{+2} iyonu ile 2-SH grubunun bulunduğu bildirilmektedir (61). Kanatlılardaki α -amilazın da domuzdakine benzer olduğu belirtilmektedir (33).

Bilindiği üzere polipeptit zincirindeki amino asitlerin diziliş farklılıkları izoenzimlerin oluşmasına neden olmaktadır (12). Elektroforetik analizler sonucunda pankreas amilazının insanda 6 (74), bildircında 9 (28), tavukta 3 (26), domuz (14) ve köpekte (20) ise birden fazla izoenzimi belirlenmiştir. Ayrıca civciv embriyosunda yapılan bir çalışmada (17) kuluçkanın 15. gününde pankreatik amilazın 2 izoenzimi bildirilirken, 21. günde izoenzim sayısının 3'e çıktığı ifade edilmiştir. Keza insan tükürüğünde de 12 izoenzim belirlenmiştir (74).

α -Amilaz aktivitesi üzerine pH'nın etkisine ilişkin yapılan çalışmalarda insanda pankreatik amilazın 4-9.5 arasında (8), tükürük amilazın 3.8-9.4 arasında (32) aktivite gösterdiği ve her ikisinin de optimum pH'sının 6.9 olduğu belirlenmiştir (8,32). Domuz pankreas amilazının 4.1-11 arasında aktivite gösterdiği ve optimum pH'nın 7 olduğu, tavuklarda enzimin 4-9.5 arasında aktivite gösterdiği optimum pH'nın pankreasta 7.5 bağırsaklarda 6.9 olduğu bildirilerek (42), maymun ve sıçanlarda da tavuklardakine benzer α -amilaz aktivitesi olduğu ileri sürülmektedir (42).

Bir metalloenzim olan α -amilazın fonksiyonel bütünlüğü Ca^{+2} iyonlarının bulunmasına bağlıdır. Ayrıca enzimin optimum aktivite gösterebilmesi için kalsiyumdan başka Cl^- , Br^- , nitrat ya da H_2PO_4 gibi anyonların olması da gereklidir. Cl^- ve Br^- un en önemli aktivatörler olduğu bildirilmektedir (74).

İyon konsantrasyonu ile enzim aktivitesi arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak için yapılan bir çalışmada (42) civcivlerde pankreas ve bağırsak homojenatında Cl^- iyonlarının α -amilaz aktivitesini artırdığı ve optimum iyon konsantrasyonunun 7.5 mM olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada (42) Cl^- yokluğunda pankreasta amilaz aktivitesinin sadece

% 5'inin kaldığı, bağırsaklardaki aktivite kaybının ise % 40 olduğu ifade edilmiştir. Maymun bağırsağından saflaştırılan amilazın optimum aktivitesi için Cl^- yoğunluğunun 7 mM olması gerektiği vurgulanmıştır (60). Safra tuzlarının amilaz aktivitesi etkisine ilişkin yapılan bir çalışmada (40) sodyum kolat, tavrokolat ve dezoksikolat gibi tuzların aktiviteyi % 150-160 oranında artırdığı rapor edilmiştir.

Toralballa ve ark. (75) enzim inaktivasyonuna ilişkin yaptıkları çalışmada guanidin, 1.3 dimetilüri, tetrametilüri, gibi amidler ile ürenin düşük konsantrasyonlarda bile enzimi geri dönüşümsüz inaktive ettiğini bildirmektedirler. Başka bir çalışmada (52) mantar, bakteri ve pankreastan kristalize edilen α -amilazın yüksek molekül yapılı sentetik deterjanlarla inaktive olduğu kanıtlanmıştır.

Maymun ince bağırsağından elde edilen amilaza EDTA ve bazı ağır metallerin etkisinin incelendiği bir çalışmada (60), 0.2 mM EDTA, α -amilazı % 50 inaktive ederken çinko ve civanın % 100'e yakın, nikel, gümüş ve kobaltın ise % 57-63 oranında aktivasyon kaybına neden olduğu saptanmıştır. Pomeranz (53) ise çeşitli kobalt bileşiklerinin enzimi değişen oranlarda inaktive ettiğini bildirmektedir.

Domuz pankreatik ve insan tükürük amilazına yönelik yapılan çalışmalarda Be^{++} ve Al^{+++} iyonlarının 10^{-2} - 10^{-5} gibi çok küçük konsantrasyonlarda bile aktiviteyi düşürdüğü ifade edilmektedir (33). Yine aynı araştırmada (33) Actinomycetes ile Streptomycetes kültürlerinden sentez edilen bazı spesifik karbonhidratların ve hububat taneleri ile baklagillerde bulunan bazı proteinlerin de aktiviteyi inhibe ettikleri belirtilmiş, ama ısıyla denatüre oldukları için pratikte bir sorun oluşturmadıkları vurgulanmıştır.

Isının α -amilaz aktivitesine etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada (8) insan tükürüğünde kristalize edilen enzimin düşük sıcaklıklarda bile aktivite gösterebildiği ve optimum ısısı 40 °C olan enzimin 60 °C'de büyük oranda aktivite kaybına uğradığı belirtilmektedir.

Rodeheaver ve Whayt (58) farklı analiz metotlarını karşılaştırdıkları çalışmaların tavuk serum α -amilazında optimum ısının 45-50 °C, inaktivasyon ısısının ise 70 °C olduğunu bildirmektedirler.

Seetharam ve ark.. (60) maymunların pankreas ve ince bağırsağından elde ettikleri amilaza ilişkin verdikleri bilgilerde 55 °C de bağırsaktaki enzimin pankreastakine oranla daha hızlı inaktive olduğunu belirtmişlerdir.

α -Amilaz aktivitesi için optimum ısının mikroorganizmalardan *Aspergillus flavus*'da 30 °C (1), *Clostridium acetabutylicum*'da 45 °C (46) ve *Aspergillus oryzae*'da ise 50 °C (13) olduğu bildirilmektedir.

Substrat konsantrasyonu ile enzim aktivitesi arasındaki ilişki de dikkate değerdir. Maymunlarda yapılan bir araştırmada (60) bağırsaklardan elde edilen α -amilazın farklı substrat konsantrasyonlarında aktivitesi belirlenerek, maksimum aktivitenin 10 mg/ml substrat konsantrasyonunda elde edildiği, bunun da rutin enzim analizlerinde kullanılan yoğunluğa uygun olduğu ifade edilmektedir.

Osman (42) civcivlerde yaptığı çalışmada pankreas ve bağırsak homojenatlarındaki α -amilaz aktivitesi ile nişasta konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi incelemiş ve pankreasta substrat yoğunluğunun artışıyla düzenli bir satürasyon eğrisi oluşurken, bağırsaklarda 10 mg/ml'nin üstündeki substrat (nişasta) yoğunluğunda enzimin inhibisyona uğradığını bildirmiştir.

4.4. α -Amilaz Enziminin Etki Mekanizması

Amilaz enzimlerinin doğal substratı olan nişasta, amiloz ve amilopektin denilen iki poliglükozun karışımından oluşan büyük moleküler yapılı bir karbonhidrattır (77). Amiloz, glüköz ünitelerinin birbirine α -1-4 glükozid bağlarıyla bağlandığı düz bir yapıya sahiptir. Amilopektin ise bu düz yapıya α -1-6 glükozid bağlarıyla bağlanmış yan dalları da içerir (5,77).

Amilaz enziminin amiloz ve amilopektine etki mekanizmaları birbirinden farklıdır.

α -Amilaz enzimi, düz zincir yapılı amilozda öncelikle substratın iç kısımlarındaki α -1-4 glükozid bağlarına rast gele saldırarak bağları hidrolize eder. Bu aşamada ara ürün olarak maltoz ve maltotetroz karışımı oluşur. Enzim etkisinin devam etmesiyle birlikte son ürün olarak % 87 maltoz, % 13 oranında glüköz oluşur. α -Amilaz enzimi, amilopektinde ise düz zincirdeki α -1-4 glükozid bağlarını aynı şekilde hidrolize ederken, yan dalları gövdeye bağlayan α -1-6 glükozid bağlarına ulaştığında etkisi durur. Böylece son ürün olarak % 73 maltoz, % 19 glüköz ve % 8 izomaltoz oluşur (6).

4.5. Sindirim Kanalında α -Amilaz Aktivitesi

Kanatlı (42) ve memelilerde (31) diyetin önemli bir bölümünü oluşturan nişasta başlıca enerji kaynağıdır. Nişasta ve diğer polisakkaritlerin bağırsak epitelinden emilmesi için monosakkaritlere kadar yıkılması zorunludur (31). Amilaz ise memeli ve kanatlılarda nişastayı hidrolize eden tek enzimdir (33).

Çiğneme sırasında tükürükteki amilazın etkisiyle ağızda başlayan karbonhidrat sindirimi, midedeki yüksek asitten dolayı kesintiye uğrar. Asidik mide içeriği ince bağırsaklara ulaştığında pankreas tarafından salgılanan bikarbonatla nötralize edilerek, pankreatik α -amilazla nişasta sindirimine devam edilir (12).

Kanatlılarda yapılan çalışmalarda tükürük (73), kursak, ön mide, taşlık, duodenum, jejunum, ileum ve sekumda değişen oranlarda amilaz aktivitesi belirlenmesi (38), sindirim kanalı boyunca nişasta sindiriminin olduğunu göstermektedir.

4.6. Tükürükte α -Amilaz Aktivitesi

Tükürüğün alınan yiyecekleri ıslatma, yumuşatma ve kayganlaştırma gibi başlıca görevlerinden başka özellikle insan, maymun, domuz, sıçan ve tavşanda salgıladığı α -amilazla nişasta sindirimine de yardımcı olduğu eskiden beri bilinmektedir (10).

Kanatlılarda tükürük α -amilazı ile ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır.

Türk (76) tavuklarda alt çene, yanaklar, dil ve farinkste bulunan tükürük bezlerinin günde 7-30 ml kadar muköz karakterli salgı ürettiğini ve bileşiminde α -amilaz ile inaktif lipaz olduğunu, fakat miktarın enzimatik sindirim için yeterli olmadığını ifade etmektedir.

Steven ve William (73) serçe, civciv ve hindilerde tükürük bezlerini inceleyerek her bir bezdeki α -amilaz aktivitesini belirlemişlerdir. Serçede Gl. mandibularis externa'da en fazla olmak kaydıyla 0.071 ile 0.148 U/g düzeyinde α -amilaz aktivitesi olduğunu belirterek, bunun aynı hayvanlardaki serum α -amilaz aktivitesinden daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Civciv ve hindilerde ise serçelerden daha düşük seviyede (0.002-0.008 U/g) α -amilaz varlığından söz ederek, bunun aynı hayvanlardaki serum α -amilaz düzeyinin altında olduğunu belirtmişlerdir.

Kanatlılarda alınan yemler ağızda çok kısa süre kaldığı için α -amilaz sindiriminin olmadığı, hatta bazı türlerde besinlerin yumuşatılmasının dahi gerçekleşmediği de bildirimler arasındadır (10).

4.7. Kursağa α -Amilaz Aktivitesi

Anatomik yapısı türler arasında farklılıklar gösteren kursorak (23), özellikle tane yemle beslenen tavuk, ördek, güvercin gibi türlerde oldukça iyi gelişmiştir (10). Başlıca görevi alınan yemlerin depolanması, ıslatılması ve yumuşatılması olan kursorakta (10,76), mukus salgılayan bezlerin bulunmadığı, fazla miktarda gıdaya uyum sağlayabilecek kıvrımlı ve çok katlı keratinize yassı epitellerin olduğu ifade edilmektedir (76).

Kanatlıların kursağında karbonhidrat sindirimi ve α -amilaza ilişkin bildirimler çelişkilidir. Kursakta bakterilerden kaynaklanan fermantasyon ve az miktarda α -amilaz aktivitesi dışında sindirim faaliyetinin olmadığı bildirilmektedir (76). Ancak bazı Galliform ve Columbiaform türlerinin kursaklarında diyetin özellikleri ile ilişkili olarak karbonhidrat sindirimi olabileceği, tavuk, hindi ve güvercinlerin kursağında ise nişasta sindirimi olduğu ifade edilmektedir (54).

Pinhcasov ve Noy (50), 0-10 günlük hindilerde pankreastaki α -amilazın ilk günlerde önemli oranda azaldığını ancak 4. günden sonra başlangıç seviyesine ulaştığını bildirilmektedirler. Aynı çalışmada (50) 2. günden itibaren kursaktaki nişasta oranında azalma, indirgenmiş şeker oranında ise önemli derecede artma olduğu rapor edilerek, pankreatik sekresyonun sınırlı olduğu ilk günlerde kursaktaki nişasta sindiriminin önemi vurgulanmıştır.

Nitsan ve ark. (38) çiğ ve pişirilmiş soya fasulyesiyle besledikleri civcivlerin kursağında ince bağırsaklara göre daha düşük seviyede α -amilaz aktivitesi belirlemiş ve çiğ soya fasulyesiyle beslenenlerin kursağında 45 U/g, pişirilmiş soya fasulyesiyle beslenenlerin kursağında 2.2 U/g α -amilaz aktivitesi olduğunu bildirerek, buradaki amilazın büyük bir kısmının alınan yiyeceklerden kaynaklanmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tavuk, hindi ve serçelerde yapılan bir çalışmada (73) kursağın yem depolama yeteneğinin türler arasında farklı olduğu vurgulanarak, büyük kursaklı türlerde, kursakta uzun süre bekletilen yemlerin bitkilerden gelen eksojen amilazla reaksiyona girdikten sonra mideye iletiildiği, özellikle tane yemle beslenen küçük kursaklı kuş türlerinin kursağında eksojen amilazdan yeterince yararlanılmadığı, bunu telafi etmek için de söz konusu

hayvanların tükürük bezlerinden daha fazla amilaz salgılandığı ifade edilmektedir.

Hindilerde yapılan bir çalışmada (56) ise kursakta belirlenen α -amilaz aktivitesinin pankreas ve bağırsak içeriğinin regurgitasyonundan kaynaklandığı ileri sürülmektedir.

Öztürkcan (44) deney öncesi 24 saat aç bıraktıktan sonra histamin enjekte ettiği (1mg/kg) Beyaz Leghorn ırkı tavuk kursağında 11.762 U/ml (Wohlgemuth ünitesi) α -amilaz aktivitesi belirlemiştir. Yine aynı araştırmacı (45) Golden Comet ırkı tavuklarda yaptığı başka bir çalışmada kursak sıvısında 12.580 U/ml α -amilaz aktivitesi olduğunu rapor etmektedir. Her iki çalışmada özefagus-kursak, kursak-ön mide arasına ligatür uyguladıktan sonra elde ettiği kursak sıvısında α -amilaz aktivitesini belirleyen Öztürkcan (44,45) , buradaki aktivitenin tükürük ya da regurgitasyonla gelen mide içeriğinden kaynaklanmadığını, bizzat kursak dokusu tarafından salgılandığını ileri sürmektedir.

Pritchard (54) civcivlere yem verildikten 2, 4, 6, 8 saat sonra aldığı kursak içeriklerinde, nişastanın yıkılma ürünü olan maltoz ve glikozun, yemlerin kursakta kalış sürelerine bağlı olarak arttığını belirlemiştir. Yine aynı çalışmada (54) yem verildikten hemen sonra alınan içerik örneklerine kloroform-touluen ile bakterisit etki uygulandıktan sonra uygun ısı , nem ve azot ortamında 8 saat süreyle inkübasyona bırakıldığı halde çok az miktarda maltoz ve glikoz açığa çıktığı rapor edilerek, kursaktaki α -amilaz aktivitesinin tükürük ve bakterilerden kaynaklandığı vurgulanmıştır.

Champ ve ark. (11) civciv kursağında izole ettikleri Lactobacillus türlerinin (LEM 202, LEM 207, LEM 220) amilolitik aktiviteye sahip olduklarını belirterek, türlere göre değişmekle birlikte $1.24-13.8 \times 10^{-2}$ IÜ total amilaz aktivitesine sahip olduklarını bildirmektedirler. Aynı çalışmada

(11) ortama nişasta veya amilopektin ilave edildiğinde bu aktivitenin 169×10^{-2} IU'ye çıkabileceği de rapor edilmektedir.

Ritz ve ark. (56) , 0-56 günlük erkek hindilerde rasyona bitkisel kaynaklı α -amilaz enzimi ekleyerek yaptıkları çalışmada kursaktaki α -amilaz aktivitesinin rasyona eklenen amilaz (Avizyime TK 0492-1)'dan etkilenmediğini vurgulamaktadırlar. Ayrıca bu çalışmada (56) kursaktaki α -amilaz aktivitesinin yaşa bağlı olarak 7, 19, 28, 50 ve 56. günlerde artma eğilimi göstermekle birlikte önemli dalgalanmaların olduğu da belirtilmektedir.

4.8. Ön Mide ve Taşlıkta α -Amilaz Aktivitesi

Ön mide duvarının mukoza tabakalarında memeli midesinde bulunan pariyetal hücrelere benzeyen hücreler yer almaktadır. Endoplazmik retikulum, golgi aygıtı, mitokondri gibi salgı yapan hücrelerde bulunması gereken organellere sahip olan ve hidroklorik asit ile pepsinojen salgıladığı bildirilen (76) bu hücrelerin α -amilaz salgıladığına ilişkin bilgi bulunmamaktadır. Dışı longitudinal ve sirküler kas tabakaları, iç yüzeyi ise keratinize bir tabaka ile kaplı olan ve dakikada iki üç kez gerçekleştirdiği güçlü kontraksiyonlarla yemlerin parçalanmasını ve ön mideden gelen sıvıyla karışmasını sağlayan taşlıkta (76) da α -amilaz salgılandığına ilişkin bilgi bulunmamaktadır.

Nitsan ve ark. (38) civcivlerin sindirim kanalında α -amilaz aktivitesine ilişkin yaptıkları bir çalışmada ön midede 7,5-92 U/g, taşlıkta ise 0.8-1.3 U/g düzeyinde α -amilaz aktivitesi olduğunu bildirerek, buradaki amilazın rasyon orijinli olduğunu vurgulamışlardır.

Kuluçkadan yeni çıkmış hindilerde yapılan başka bir araştırmada (50) ise 10 günlük gelişme periyodu süresince kursakta önemli oranda nişasta sindirimi olmasına rağmen ön midedeki amilolitik aktivitenin minimum düzeyde olduğu rapor edilmiştir.

Kursaktaki α -amilaz aktivitesinin ön mide ve taşlıkta inaktive olmasının bu organlardaki düşük pH'dan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (38).

Nitekim tavuklarda ön mide ve taşlık pH'sı 2-4 arasında değişirken (63,64,65), α -amilazın aktivite gösterdiği pH sınırlarının 4-9.5 olduğu bilinmektedir (42).

4.9. Bağırsaklarda α -Amilaz Aktivitesi

Kanatlı türlerinde yapılan çalışmalarda hindi (66), kaz (39), ördek (51) ve tavuk (35,37,42) gibi kümes hayvanlarının bağırsaklarında α -amilaz aktivitesi bildirilmektedir. Özellikle tavuklarda yapılan çalışmalarda bağırsaktaki α -amilaz aktivitesi değişik yönleriyle ele alınmıştır.

Tavuklarda her bir bağırsak bölümünün doku ve içeriğinde α -amilaz aktivitesinin belirlendiği bir çalışmada (42), duodenumda 120-210 U/g, jejunumda 210-270 U/g, ileumda 30 U/g, sekum ve kolonda ise 30 U/g'ın altında doku α -amilaz aktivitesi bulunduğu, duodenumda 400 U/g, jejunumda 4000 U/g, ileum, sekum ve kolonda ise 400 U/g'ın altında içerik α -amilaz aktivitesi olduğu rapor edilmiştir.

Nitsan ve ark. (37) erişkin canlı ağırlıkları birbirinden farklı olan üç tavuk ırkının civcivlerinde, bağırsak içeriği α -amilaz aktivitesinin ırklar

arasında farklılık gösterdiğini ve yaşla birlikte değiştiğini ortaya koymuşlardır.

Nitsan ve ark. (35) 0-23 günlük civcivlerde bağırsak içeriğinde hem α -amilaz aktivitesinin hem de relatif α -amilaz aktivitesinin (U/kg vücut ağırlığı) yaşa bağlı olarak arttığını, α -amilaz aktivitesinin 14. relatif aktivitenin ise 17. günde pik yaptığını belirlemişlerdir.

Rasyonun ve aşırı yedirmenin α -amilaz aktivitesine etkisini araştırmak için kazlarda yapılan bir çalışmada (39), rasyon protein oranındaki değişikliklerin bağırsak segmentlerindeki enzim aktivitesini etkilemediği halde, aşırı yedirmenin enzim aktivitesini önemli derecede azalttığı bildirilmiştir.

Civcivlerde yapılan benzer bir çalışmada (36) ise aşırı yedirmenin ince bağırsağın ön kısmında α -amilaz aktivitesini artırdığı, sekumda ise tam tersi olarak aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir.

Yumurtacı ve etçil tavuklarda ısı stresinin bağırsaklardaki α -amilaz aktivitesine etkisini incelemek için yapılan bir araştırmada (43), ısı stresinin yumurtacı tavuklarda ilk günlerde duodenum ve jejunumda aktiviteyi artırırken bağırsağın diğer kısımlarında azalttığı, etçil tavuklarda ise artışın sadece duodenumda görüldüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada (43) uzun süreli ısı stresinin yumurtacı tavuklarda duodenum ve jejunumda ilk günlerde görülen artışı ortadan kaldırdığı, diğer günlerde ise düşürdüğü belirtilerek, bağırsağın tüm bölümlerinde α -amilaz aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir.

Bağırsaklardaki α -amilaz enziminin kaynağına ilişkin çalışmalar birbiriyle çelişkilidir.

Pisharody ve Nair (51) civciv ve ördeklerde bağırsağın çeşitli bölümlerindeki mukoza tabakasında önden arkaya doğru gittikçe azalan oranlarda α -amilaz aktivitesi belirlediklerini rapor etmişlerdir.

Nitsan ve Madar (38) ise, civcivlerde yaptıkları bir çalışmada pankreatik salgının jejunuma akışını engelledikten sonra ne ince bağırsak hücrelerinin ne de mikrofloranın jejunumdaki amilaz seviyesini etkilenmediğini gözleyerek, bağırsaklardaki α -amilaz enziminin pankreas orijinli olduğunu ileri sürmüşlerdir.

4.10. Pankreasta α -Amilaz Aktivitesi

Ekzokrin pankreasın asinar hücrelerinde üretilen α -amilazın, diğer sindirim enzimleriyle birlikte akıtıcı kanallar aracılığıyla duodenuma iletiildiği klasik bilgilerdendir (55). Civcivlerde pankreastan izole edilen hücrelerin in vitro koşullarda da α -amilaz üretebildiği bilinmektedir (19). Civcivlerde yapılan bir çalışmada (25) 8 günlük embriyo pankreasında in vitro ortamda üretilen α -amilazın yaş ile birlikte arttığı ve kolinerjik preparatlarla stimüle edildiği belirtilmiştir.

Pubols (55) civciv pankreas ekstraktında sindirim enzimlerinin miktarını belirlemek için yaptığı bir çalışmada, α -amilazın pankreastaki toplam proteinin % 28.9'unu oluşturduğunu bildirmiştir.

Kanatlılarda pankreatik α -amilaz aktivitesine ilişkin çalışmalar kuluçkanın ilk günleriyle birlikte enzim sentezinin başladığını ortaya koymuştur.

Ikeno ve Ikeno (17) civciv pankreasında kuluçkanın 6. gününde α -amilaz sentezinin başladığını, enzim aktivitesinin kuluçka sonuna kadar artarak devam ettiğini ve 19-22. günlerde maksimuma ulaştığını

bildirmektedirler.

Marchaim ve Kulka (29) kuluçka ve sonrasını kapsayan 13-23. günlerde, pankreatik amilaz sentezine ilişkin çalışmalarında, total α -amilazın pankreastaki morfolojik gelişmeye paralel olarak 23. günde arttığını, spesifik aktivitenin (1mg proteindeki enzim aktivitesi) ise 22. günde ani bir düşüş gösterdiğini belirtmektedirler.

Kulka ve Duksin (24) de kuluçka sonrasındaki 5 günü kapsayan çalışmalarında benzer sonuçlar elde ederek , α -amilaz aktivitesinin çok hızlı arttığı 18-22. günleri ekzokrin pankreasın 2. gelişme evresi olarak tanımlamışlardır. Ayrıca kuluçka sonrası 5 günlük dönemde pankreastaki total α -amilazda önemli bir değişiklik olmadığı halde, spesifik aktivitede 22. günden sonra bariz bir azalma olduğu da bu araştırmada vurgulanmıştır.

Sell ve ark. (62) hindilerde yaptıkları çalışmada spesifik α -amilaz aktivitesinin kuluçka evresinde oldukça düşük olduğunu, kuluçka sonrasında artış ve azalışlar olmakla beraber, 6. günde 1. günün üç katına ulaştığını ifade ederek, total α -amilaz aktivitesinin kuluçkanın son günlerinden itibaren pankreasın gelişmesine paralel olarak arttığını ve cinsiyetin α -amilaza aktivitesine etkili olmadığını rapor etmektedirler.

Pankreatik α -amilaza ilişkin yapılan çalışmalarda yaş (15,35,36,56 59), ırk (34,37,41), rasyon (27,39,56), beslenme programı (36,48) ve çevre ısısı (43) gibi pek çok faktörün enzim aktivitesini etkilediği ortaya konulmuştur.

Nitsan ve ark. (35) erkek broiler civcivlerde pankreatik α -amilazın 11. günde başlangıçtakine göre % 10-20 oranında arttığını belirleyerek, civcivlerin embriyonal dönemde üretilen α -amilaz yedeği ile yumurtadan çıkmasına rağmen, bu rezervin bağırsak salgısı için yeterli olmadığını, bu

yüzden pankreatik α -amilaz aktivitesinin ilk günlerde düşük olduğunu ileri sürmektedirler.

Rodeheaver ve Wyatt (59) erkek broilerlerde yaptıkları çalışmada pankreatik α -amilazın yaş ile birlikte arttığını vurgulayarak 49. günde 11. günün yaklaşık 5 katı fazla α -amilaz aktivitesi olduğunu belirtmişlerdir.

Gertler ve Nitsan (15)'in civcivlerde yaptıkları bir araştırmada 7, 21 ve 35. günlerde pankreastaki enzim düzeyi değerlendirilerek, 7. günde 145-224 U/g, 21. günde 223-281 U/g, 35. günde 291-320 U/g α -amilaz aktivitesi olduğu belirlenmiştir.

Civcivlerde yapılan başka bir çalışmada (36) ise ad libitum beslenen hayvanlarda 29. günde pankreatik α -amilazın 94 U/g, total amilazın 132 U/g olduğu bildirilmektedir.

Ritz ve ark. (56) hindilerde yaşın ve diyetle α -amilaz enzimi eklemenin, pankreatik α -amilaz düzeyine etkisini inceledikleri bir çalışmada aktivitenin 8 haftalık sürede yaşa bağlı olarak lineer bir şekilde arttığını, diyetle enzim eklenmesinin ise etkili olmadığını bildirmektedirler.

Nitsan ve ark. (39) farklı konsantrasyonda protein içeren (% 16, % 21) diyetlerle besledikleri 4 haftalık kazlarda ise 295-368 U/g arasında değişen pankreatik α -amilaz aktivitesi belirlemişlerdir.

Nir ve ark. (34) hafif ve ağır olarak tanımlanan iki farklı tavuk ırkını pankreatik α -amilaz yönünden karşılaştırarak, hafif ırkta total α -amilazın 63 ünite, ağır ırkta ise 115 ünite olduğunu saptamış, enzim düzeyinin ırka bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir.

Erişkin canlı ağırlıkları birbirinden farklı olan üç ırka ait 0-15 günlük civcivlerin kullanıldığı bir araştırmada (37), yumurtadan çıktıktan sonra pankreatik α -amilaz düzeyinde görülen değişikliklerin ırklara göre farklılıklar gösterdiği bildirilerek bu durumun genetik etkilerden

kaynaklandığı ifade edilmektedir.

O'Sullivan ve ark. (41) erişkin canlı ağırlıklarına göre seleksiyon yapılmış 4 farklı civciv ırkında total pankreatik α -amilazın bütün ırklarda yaşla birlikte arttığını belirterek, hafif ırklarda ağırlara oranla enzim aktivitesinin daha düşük olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar (41) bağırsak duvarının mekanik olarak uyarılmasının sindirim enzimlerinin sentezini arttırdığını ifade ederek az yem yiyen türlerde pankreatik α -amilaz üretiminin düşmesini mekanik uyarım yetersizliğine bağlamışlardır.

Lepkovsky ve ark. (27) rasyonun pankreatik α -amilaz sekresyonuna etkisini araştırdıkları 8 haftalık civcivlerde çiğ soya fasulyesinin enzim düzeyini önemli oranda artırdığını , metiyonin eksikliğinin ise azalttığını belirterek, pankreasta α -amilaz sentezinin metiyonine bağımlı metabolik tepkimeler üzerinden yürüyebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Palo ve ark. (48) besin kısıtlaması uyguladıkları civcivlerde en yüksek aktivitenin 7. günde belirlendiğini 14. günde bir azalma olduğunu ve nihayet 21. günde en düşük değerin elde edildiğini , 42. günde ise başlangıç düzeyine yakın α -amilaz aktivitesi gözleendiği ifade edilmiştir.

Yumurtacı ve etçi tavuklarda günde 4 saat süreyle 42 °C ısı stresi uygulanan çalışmada, pankreatik α -amilaz oranının her iki türde de arttığı rapor edilerek, çevresel ısı ile α -amilaz aktivitesi arasındaki ilişki ortaya konulmuştur (43).

4.11. Plazma ve Serumda α -Amilaz Aktivitesi

Pankreas ve tükürük bezlerinde üretilerek bunların akıtıcı

kanallarıyla sindirim boşluğuna verilen α -amilazın bir kısmı da kana geçerek idrarla atılır (3) . Kandaki α -amilazın asıl kaynağı pankreas ve tükürük bezleri olmakla birlikte karaciğer, fallop tüpleri, çizgili kaslar ve adipoz dokunun da dolaşımdaki α -amilaza bilinmeyen miktarlarda katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (18). Nitekim sıçanlarda yapılan bir çalışmada pankreasın ve tükürük bezlerinin çıkarılmasından sonra serum ve dokulardaki ekstrasellüler α -amilaz düzeyinin değişmediği rapor edilmiştir (30).

McGeachin ve ark. (30) serum α -amilaz aktivitesinin türler arasında önemli farklılıklar gösterdiğini belirterek, en yüksek aktivitenin farede sonra sırasıyla sıçan, kobay, civciv ve köpekte görüldüğünü ifade etmektedirler.

α -amilaz aktivitesinin kan damarlarındaki dağılımına ilişkin yapılan bir çalışmada (18) pankreatik vende, periferik venlerde ve torasik lenf damarlarında α -amilaz düzeyinin yaklaşık olarak aynı olduğu ifade edilmiştir.

Tavuklarda plazma ve serum α -amilaz aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı da bildirilmiştir (58).

Janowitz ve ark. (18) insanda serum α -amilaz aktivitesinin yeni doğan bebeklerde bulunmadığını genellikle ilk kez 2. aydan sonra görüldüğünü ve bir yıl sonra normal erişkin düzeyine ulaştığını ifade ederek bireyler arasındaki farklılığa da dikkat çekmektedirler.

Kanatlılarda plazma veya serum α -amilaz aktivitesine ilişkin bildirimler oldukça sınırlıdır.

Rodeheaver ve Wyatt (59) erkek broiler civcivlerde 7 haftalık yaşa kadar serum α -amilaz aktivitesinin yaşa bağlı olarak önemli değişiklikler gösterdiğini belirterek, 1 günlük yaşta 321 U/100 ml olan α -amilaz

aktivitesinin, iki haftalık yaşıta önemli bir düşüşle 269 U/100 ml'ye azaldığını, 3. Haftada 373.8 U/100 ml ile en üst düzeye çıktığını, daha sonra düzenli bir şekilde azalarak 7. haftada 245 U/ml ile en düşük seviyeye ulaştığını rapor etmektedirler.

İki haftalık Hubbard ırkı erkek broiler civcivlerde yapılan ve farklı analiz metotlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada (58), Bernfield'in (7) metodunun kullanıldığı analizlerde 674.8-728.5 U/100ml arasında değişen α -amilaz aktivitesi belirlenmiştir.

Pegram ve ark. (49) Japon bıldırcınlarda erkek ve dişiler arasında serum α -amilaz aktiviteleri yönünden bir farklılık olmadığını bildirmektedirler.

Keza insanlarda serum α -amilaz aktivitesi yönünden cinsiyetler arasında fark olmadığı da ifade edilmektedir (22).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. GEREÇ

Çalışmada 336 adet ISA-15 broiler hibrit civciv kullanıldı. Hayvanlar 224'ü erkek, 112'si dişi olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Kuluçkadan çıktıkları gün ticari bir işletmeden satın alınan civcivler tel kafesler içerisinde barındırıldı. Kafeslerin yer aldığı oda sıcaklığı ilk üç gün 35 °C iken, sonraki her gün 1'er °C azaltılarak 18. günden itibaren 20 °C'ye indirildi. Deneme süresince odanın bağıl nemi higrometre ile ölçülerek, nem oranının % 70-80 arasında olduğu belirlendi. Aydınlatma periyodu 23 saat aydınlık 1 saat karanlık olmak üzere tüm hayvanlara uygulandı.

Hayvanlar 18. güne kadar ticari etlik civciv yemi, 18. günden deney sonu olan 42. güne kadar piliç yemi ile beslendi (Tablo 1). Yem ve su bütün hayvanlara adlibitum verildi.

Tablo 1: Araştırmada kullanılan yemlerin içeriği

	Civciv Yemi	Piliç Yemi
Ham protein (%)	22.00	21.00
Ham selüloz (%)	3.17	2.76
Ham küll (%)	6.02	5.61
Ham yağ (%)	9.00	9.00
Kalsiyum (%)	1.00	1.00
Toplam fosfor (%)	0.72	-
Yararlanılabilir fosfor (%)	0.50	0.50
Metabolik enerji (Kcal / kg)	3150.00	3250.00
Lizin (%)	1.30	1.20
Metiyonin (%)	0.55	0.53
Metiyonin+ sistin (%)	0.90	0.90
Sodyum (%)	0.14	0.14
Linoleik asit (%)	2.25	3.85
Vitamin A	12 500 000 IU	
Vitamin D ₃	2 500 000 IU	
Vitamin E	40 000 IU	
Vitamin K ₃	4 500 mg	
Vitamin B ₁	2 000 mg	
Vitamin B ₂	7 000 mg	
Vitamin B ₆	4 000 mg	
Vitamin B ₁₂	20 mg	
Biotin	50 mg	
Folik asit	750 mg	
Kalsiyum D Pantotenat	8 000 mg	
Niasin	40 000 mg	
Kolin klorür	400.000 mg	
Mangan	100.000 mg	
Demir	60.000 mg	
Çinko	60.000 mg	
Bakır	5.000 mg	
Kobalt	200 mg	
İyot	2 000 mg	
Selenyum	150 mg	
Antioksidan	12 500 mg	

5.2. YÖNTEM

5.2.1. Uygulanan Genel Yöntem

Mortalite oranları günlük olarak kaydedildi. Erkeklerden 3'er gün, dişilerden ise 12. güne kadar 3'er gün, 12. günden deneme sonuna kadar 9'ar gün arayla her seferinde 16'şar hayvan tartılarak canlı ağırlıkları belirlendi, her bir hayvandan pankreas, kursak dokusu, kursak içeriği ve kan örnekleri alındı. Kan örnekleri hemen santrifüj edilerek plazmadan ayrıldı. Organ ve içerik numuneleri tartıldıktan sonra analizler yapılncaya kadar plazmalar ile birlikte -20 °C'de saklandı. Analiz yapılacağı gün derin dondurucudan çıkartılan doku ve içeriklere homojenizasyon ve santrifüj işlemleri uygulanarak süpernatantları ayrıldı. Oda ısısına getirilen süpernatant ve plazma örneklerin α -amilaz aktivitesi belirlendi. Bütün örnekler çift çalışıldı.

Deneyde kullanılan numune ve ekipmanların tükürük ve ter ile temas etmemesine özen gösterildi.

Tüm verilerin istatistiksel analizleri Machintosh Statwievs paket programında yapıldı.

5.2.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 3.5- Dinitrosalisilik Asit ($C_7H_4N_2O_7$)
- Nişasta (Çözünebilir)
- Sodyum Fosfat Monobazik ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)
- Sodyum Fosfat Dibazik ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)
- Sodyum Potasyum Tartarat Tetrahidrat ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$)
- Sodyum Hidroksit ($NaOH$)
- Heparin
- Sodyum Klorür ($NaCl$)
- Distile Su

5.2.3 Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

- Bilgisayar
- Ultrasantrifüj (Sorvall)
- Santrifüj (Heraus Instruments, Labofuge 400)
- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1201)
- Homojenizatör (Art-Miccra, D-8)
- Derin Dondurucu (AEG)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Distile Su Cihazı (Schot Mainz)
- pH Metre (Hanna Instruments, HI 9321)
- Hassas Terazî (Shimadzu)
- Terazî
- Vorteks Mikser (Elektromag)
- Manyetik Karıştırıcı (Elektromag)

- Etüv (Nüve, FN 400)
- Su Banyosu (Nüve BM 600)
- Otomatik Pipet (Oxford)
- Spektrofotometre Küveti
- Dispensır (Oxford)
- Termos
- Termometre
- Çeşitli Cam Malzemeler
- Çeşitli Otopsi Malzemesi
- Steril Enjektör
- Deney Tüpü (22 ml, 10 ml)
- Steril Plastik Tüp (50 ml'lik)
- Polipropilen Tüp
- Otomatik Pipet Ucu
- Steril Eldiven

5.2.4. Kan, Doku ve İçerik rneklerinin Toplanması

Her kan alımından önce hayvanlar tartılarak canlı ağırlıkları belirlendi. Hayvanlardan 18. güne kadar kalpten, 18. günden sonra ise v. Subcutanea ulnaris'den heparinli enjektörle 3 ml kan alındı. Örnekler 3500 g'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı.

Kan akıtılarak öldürülen hayvanlara otopsi yapıldı. Ovaryum ve testislere bakılarak cinsiyetleri onaylandı (2) hayvanların pankreas ve kursakları hızlı bir şekilde çıkarıldı. Kursak dokusu makasla kesilerek kursak içeriği ağırlığı belirlenmiş plastik torbaya bir spatülle alındı. Kursakları boş olan hayvanlardan içerik alınamadı. Elde edilen organ ve içerik örnekleri tartılarak ağırlıkları belirlendi. Pankreas, kursak ve içerik örnekleri plastik torbalarda, plazmalar ise polipropilen tüplerde analizler yapılıncaya kadar -20 C'de saklandı (63).

Derin dondurucudan çıkarılan içerik ve doku örnekleri 50 ml'lik plastik tüplere konuldu. Üzerlerine ağırlığının 20 katı soğuk distile su ilave edildikten sonra, 25.000 devirde homojenize edildi (42). Homojenizatlar ultrasantrifjde 70.000 g'de +4 C'de 20 dakika süreyle santrifüj edilerek, süpernatantları ayrıldı (15) ve otomatik pipetle propilen tüplere aktarıldı. Homojenizat ve süpernatantlar olası enzim kayıplarını engellemek için analizler yapılıncaya kadar özel bir termosda buz içerisinde bekletildi (56).

5.2.5. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

- **0.0067 M NaCl Çözeltisi** : 0.3915 g NaCl hassas terazide tartılıp bir ölçü kabına konularak distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı.
- **2 N NaOH Çözeltisi** : 80 g NaOH hassas terazide tartılıp ölçü kabına konularak distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı ve manyetik karıştırıcı da karıştırıldı
- **0.02 M pH 6.9'luk Sodyum Fosfat Tampon Çözeltisi** : 0.02 M monobazik ve dibazik sodyum fosfat çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltileri hazırlarken saf su yerine daha önceden hazırlanan 0.0067 M'lık NaCl çözeltisi kullanıldı. Monobazik sodyum fosfat çözeltisinin 55 ml'si, dibazik sodyum fosfat çözeltisinin 45 ml'si ile karıştırılarak sodyum fosfat tampon solüsyonu elde edildi. Bu karışımda kullanılan oranlar Bilgehan'ın (9) tarif ettiği tablodaki değerlerden interpolasyon yapılarak hesaplandı. Hazırlanan karışım pH metre ile kontrol edilerek 0.2-0.3 düzeyindeki sapmaları gidermek için pH 6.9 oluncaya kadar 1/10 N'lik HCl ilave edildi.
- **% 1'lik Nişasta Çözeltisi**: Hassas terazi ile tartılan 1 g nişasta bir ölçü kabına konularak üzerine daha önceden hazırlanan pH 6.9'luk 0.02 M sodyum fosfat tampon çözeltisinden 100 ml eklendi. Elde edilen karışım manyetik karıştırıcıda kaynayıncaya kadar karıştırılarak çözündürüldü. Ardından oda ısısına kadar soğutulan çözeltiliye distile su ilave edilerek tekrar hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

- **3. 5-Dinitrosalisilik Asit Renk Çözeltisi :** 1 g 3.5-Dinitrosalisilik asit 50 ml distile suda çözündürüldü. Bu çözeltiye 30 g sodyum potasyum tartarat tetrahidrat yavaş yavaş eklendikten sonra 2 normal NaOH'den 20 ml karıştırılarak ilave edildi, distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Karışım manyetik karıştırıcıda kaynatılmaksızın ısıtıldı (7).

5.2.6. α -Amilaz Analizinin Yapılması

Plazma ve süpernatant örneklerinde α -amilaz aktivitesi Gertler ve Nitsan (15)'in Bernfield (7)'den modifiye ettiği yöntemle belirlendi.

5.2.1.1. Teknik

- 1- Numaralanmış deney tüplerine 1'er ml plazma veya süpernatant pipetlendi.
- 2- Oda ısısına gelmesi için 3-4 dakika beklenildi.
- 3- Plazma veya süpernatant örnekleri üzerine 1'er ml % 1'lik nişasta solüsyonu pipetlendi.
- 4- Tüpler vorteks mikserde 10-15 saniye süreyle karıştırıldı,
- 5- Karışım etüvde 37 °C de 3 dakika bekletilerek inkube edildi.
- 6- Her tüpe 2 ml 3.5-dinitrosalisilik asit renk solüsyonu pipetlendi.
- 7- Tüpler tekrar vorteks mikserden geçirildikten sonra ağızları parafilm ile kapatıldı.
- 8- Kaynayan su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra akan su altında oda ısısına kadar soğutuldu.
- 9- Her tüpe 20 ml distile su ilave edildikten sonra tüpler vorteks mikserde karıştırıldı.

10-Kör için hazırlanan tüpe plazma veya süpernatant yerine 1 ml distile su pipetlendikten sonra diğer işlemler aynen uygulandı.

11-Hazırlanan örneklerin absorbansı spektrofotometrede 550 nm de köre karşı okundu.

5.2.6.2. Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

α -Amilaz aktivitesi, enzimin 37 °C'de pH 6.9'da 3 dakikalık inkübasyon süresi sonunda % 1'lik nişasta çözeltisinden indirgediği maltozun spektrofotometredeki absorbansına göre ünite olarak belirlendi.

Bir Ünite (U) α -amilaz ; spektrofotometrede 550 nm'de 1 cm ışık yollu kuvvetler kullanılarak ölçülen absorbanstaki artışın 1×10^2 katı olarak tanımlandı (15).

Pankreas, kursak içeriği ve kursak dokusu örnekleri için hesaplanan üniteler homojenizasyonda kullanılan sulandırma oranından dolayı 20 ile çarpılarak 1 g doku veya içerikteki α -amilaz aktivitesi U/g olarak hesaplandı. Total aktivite, α -amilaz aktivitesinin doku veya içerik ağırlığı ile çarpılmasıyla hesaplandı. Plazma α -amilaz aktivitesi için hesaplanan üniteler 100 ile çarpılarak sonuçlar U/100 ml olarak ifade edildi.

5.2.7. İstatistik Değerlendirmeler

Canlı ağırlık, pankreas, kursak içeriği ve kursak dokusu ağırlıkları ve α -amilaz aktiviteleri ile plazma α -amilaz aktivitesine ilişkin ortalamalar ortalamaların standart hataları saptandı. Ortalamalar arası farkın önem kontrolleri erkek ve dişiler arasında t-testi ile yaşa bağlı değişimler ise varyans analizi yöntemi ile belirlendi (70).

Plazma ile pankreas ve kursak dokusu arasında, ayrıca kursak dokusu ile kursak içeriği arasında korrelasyonlar hesaplandı (70).



5. BULGULAR

Erkek ve dişi civcivlerde canlı ağırlık ile pankreas, kursak içeriği ve kursak dokusu ağırlıklarına ilişkin ortalamalar ve ortalamaların standart hataları Tablo 2’de verilmiştir. Civcivlerde yaşa bağlı canlı ağırlık artışları Grafik 1’de gösterilmiştir.

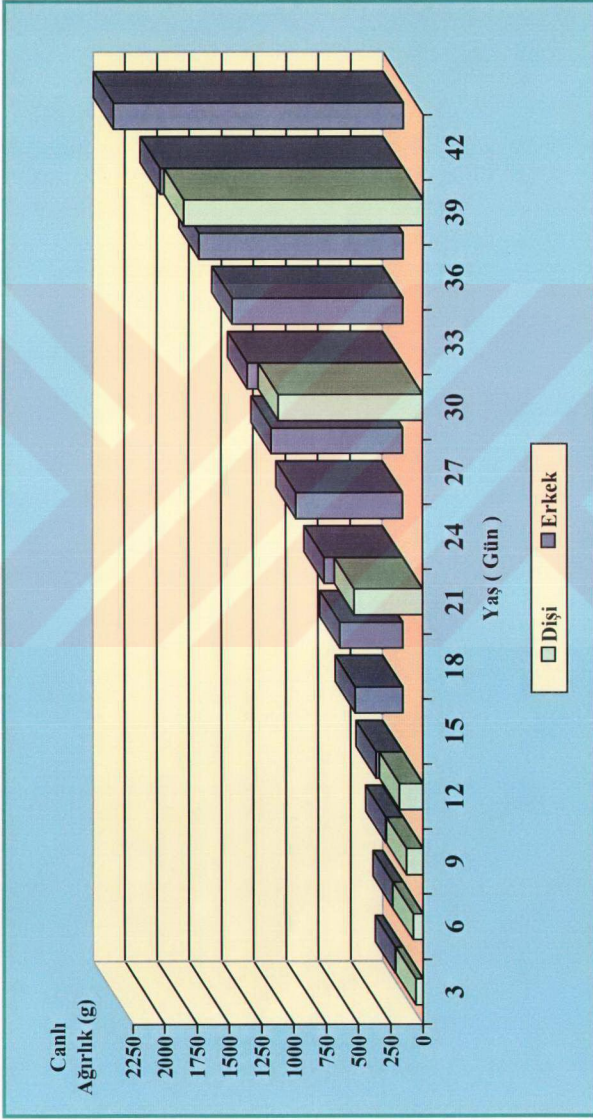
Civcivlerde pankreas, plazma, kursak içeriği ve kursak dokusu α -amilaz aktivitelerinin yaş ve cinsiyete göre değişimlerine ait ortalamalar, ortalamaların standart hataları ve gruplar arası farklılıkların önem kontrolleri Tablo 3’de bildirilmektedir. Pankreas, plazma, kursak içeriği ve kursak dokusu α -amilaz aktivitelerine ait ortalamalar erkek civcivler için Grafik 2, dişiler için Grafik 3’de sunulmaktadır.

Erkek ve dişi civcivlerde pankreas, kursak içeriği ve kursak dokusu total α -amilaz aktivitelerine ilişkin ortalamalar, ortalamaların standart hataları ve gruplar arası farklılıkların önem kontrolleri Tablo 4’de, erkek civcivlerde aynı parametrelere ait ortalamalar Grafik 4, dişilerde ise Grafik 5’de verilmektedir.

Plazma ile pankreas ve kursak dokusu arasında ayrıca kursak dokusu ile kursak içeriği arasındaki korrelasyonlar Tablo 5’de sunulmaktadır.

Tablo 2 : Canlı Ağırlık, Pankreas, Kursak İçeriği, Kursak Dokusu Ağırlıklarına Ait Ortalamalar ve Standart Hataları (g).

	Yaş (Gün)														39	42														
	n	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39																
Canlı Ağırlık	E	16	57.4	2.07	76.9	3.33	131.6	4.17	206.9	8.87	367.5	8.54	486.3	14.21	607.0	35.93	824.3	17.00	1016.6	27.33	1200.3	30.36	1321.9	37.09	1577.4	53.84	1880.9	39.99	2245.8	70.81
	D	16	56.1	1.30	76.9	2.78	127.1	5.66	181.5	7.39				530.0	24.72			1118.3	38.71								1851.2	46.53		
Pankreas	E	16	0.3	0.03	0.6	0.12	0.7	0.03	1.1	0.55	1.6	0.07	1.7	0.10	2.1	0.11	2.5	0.11	2.7	0.09	2.8	0.09	3.2	0.15	3.3	0.16	4.1	0.12	5.0	0.15
	D	16	0.2	0.07	0.5	0.10	0.8	0.04	0.9	0.04					1.7	0.08			2.6	0.07							3.6	0.14		
Kursak İçeriği	E		0.7	0.11	3.6	0.41	0.9	0.15	5.3	0.57	2.6	0.63	1.3	0.16	2.8	0.33	3.5	0.44	2.3	0.56	3.2	0.70	2.0	0.46	8.5	1.08	8.1	0.66	5.7	0.82
	D		0.8	0.14	2.7	0.38	0.7	0.16	4.7	0.38					2.4	0.39			4.4	0.93							7.9	1.19		
Kursak Dokusu	E	16	0.5	0.03	0.8	0.10	0.8	0.04	1.1	0.06	1.6	0.10	1.6	0.08	1.8	0.11	1.9	0.07	2.5	0.07	2.6	0.08	2.7	0.06	3.1	0.11	3.7	0.19	5.1	0.27
	D	16	0.5	0.02	0.7	0.08	0.8	0.04	1.1	0.05					1.6	0.08			2.5	0.04							3.7	0.21		

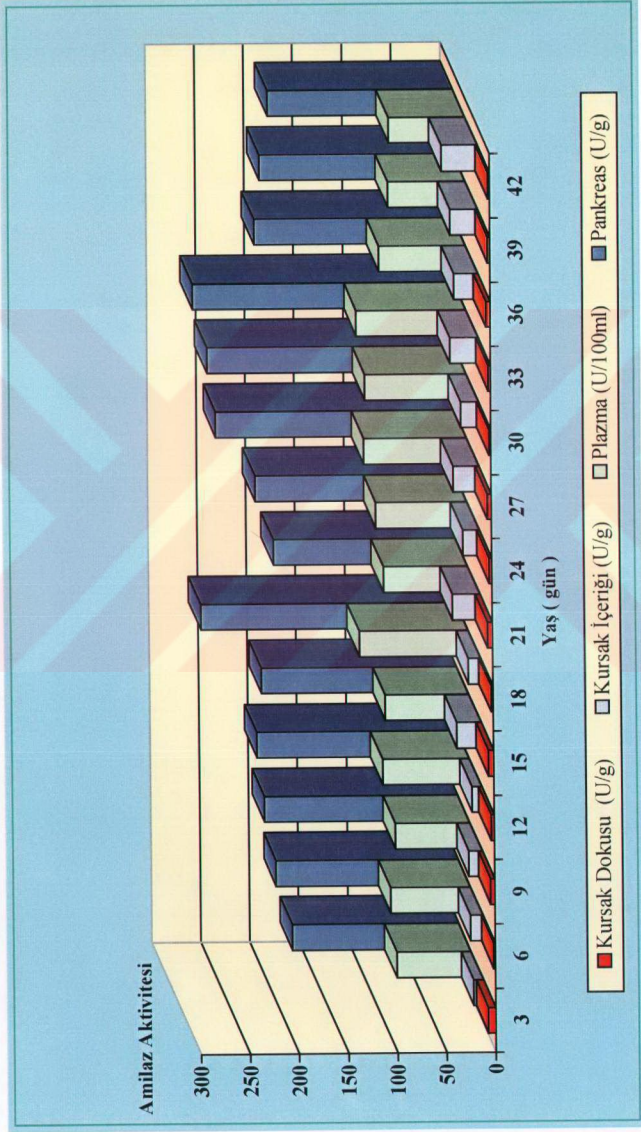


Grafik 1: Erkek ve Dişi Cıvcıvlerde Canlı Ağırlık Artışının Yaşa Göre Değişimi (g)

Tablo 3 : Cıvcıvlerde Pankreas, Plazma, Kursak İçeriği ve Kursak Dokusunda α -Amilaz Aktivitesinin Yaşa ve Cinsiyete Göre Değişimine Ait Ortalamalar, Ortalamaların Standart Hataları ve Gruplar Arası Farkların Önem Kontrolleri.

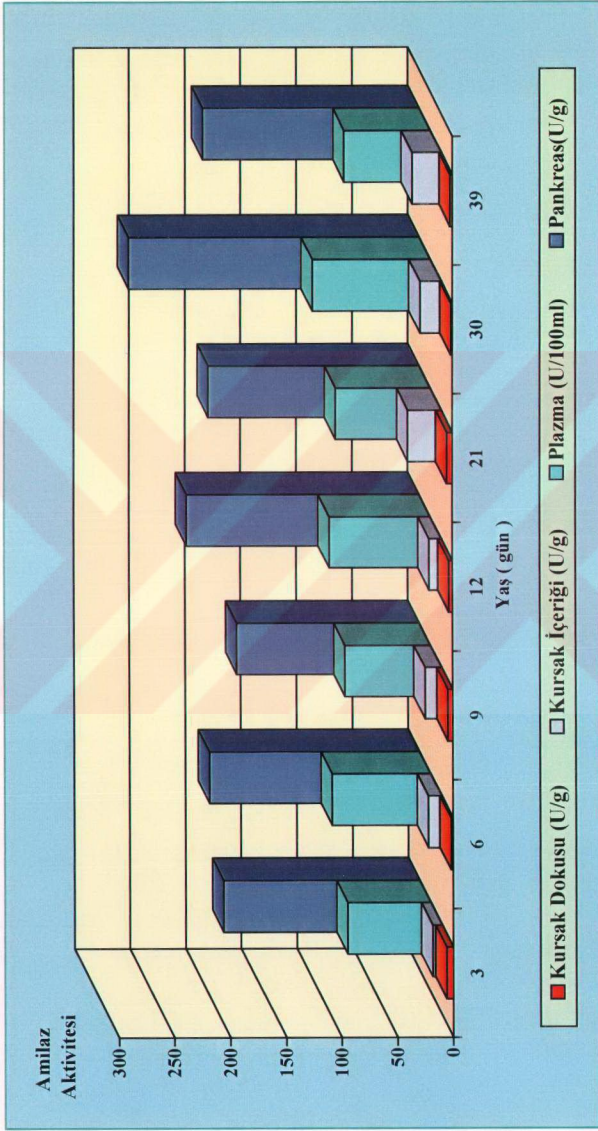
	Cinsiyet	Yaş (Gün)												39	42	
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36			
ankreas J/g)	E 16	169.6 ^e	185.2 ^{de}	169.3 ^e	203.4 ^c	198.1 ^{cd}	259.4 ^{ab}	184.9 ^{de}	203.1 ^c	242.6 ^b	251.1 ^{ab}	265.6 ^a	202.4 ^c	196.9 ^{cd}	188.3 ^{cd}	1.2
	D 16	175.9 ^{de}	188.2 ^{cd}	163.6 ^e	208.4 ^b	198.1 ^{cd}	259.4 ^{ab}	188.7 ^c	203.1 ^c	242.6 ^b	260.3 ^a	260.3 ^a	202.4 ^c	193.8 ^c	1.1	
lazma /100ml)	E 16	754.4 ^f	812.3 ^{def}	759.1 ^f	881.3 ^{cd}	850.0 ^{cde}	1105.7 ^{ab}	855.1 ^{cde}	926.4 ^c	1045.3 ^{ab}	1032.0 ^b	1117.0 ^a	883.1 ^{cd}	791.6 ^{ef}	779.7 ^{ef}	17.1
	D 16	746.1 ^e	833.3 ^{bcd}	766.2 ^{de}	904.5 ^b	849.8 ^{bc}	1105.7 ^{ab}	849.8 ^{bc}	926.4 ^c	1045.3 ^{ab}	1058.0 ^a	1117.0 ^a	883.1 ^{cd}	773.3 ^{cde}	13.2	
ursak eriği J/g)	E	10.2 ^d	12.6 ^{cd}	13.7 ^{cd}	10.1 ^d	25.0 ^{abc}	12.4 ^{cd}	28.1 ^a	16.9 ^{bcd}	26.5 ^{ab}	18.4 ^{bc}	29.2 ^{abcd}	24.7 ^{abc}	28.2 ^{ab}	36.9 ^a	2.8
	D	8.4 ^b	12.2 ^b	15.0 ^b	11.0 ^b	2.5 ^b	12.4 ^{cd}	30.0 ^a	30.0 ^a	19.2 ^{ab}	19.2 ^{ab}	26.2 ^a	26.2 ^a	26.2 ^a	3.4	
ursak J/g)	E 16	7.6 ^a	1.9 ^d	4.5 ^{bcd}	3.4 ^{bcd}	5.5 ^{ab}	2.1 ^{cd}	5.1 ^{abc}	2.9 ^{bcd}	4.4 ^{bcd}	2.0 ^d	2.5 ^{cd}	4.8 ^{abcd}	2.7 ^{bcd}	0.4	0.2
	D 16	6.1 ^a	2.1 ^{bc}	4.6 ^{ab}	3.5 ^{abc}	0.7 ^b	2.1 ^{cd}	5.3 ^a	2.9 ^{bcd}	4.4 ^{bcd}	1.5 ^c	2.5 ^{cd}	4.8 ^{abcd}	2.7 ^{bcd}	0.4	0.2

A a, b, c, d, e, f : Her bir sonda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05).
B *P≤0.05



Grafik 2 : Erkek Cıvcıvlerde Kursak Dokusu, Kursak İçeriği, *Plazma ve Pankreasta α -amilaz Aktivitesinin Yaşa Göre Değişimi

*Grafikte daha net bir görüntü elde edebilmek için plazma örnekleri 10^1 ile çarpılarak gösterildi.



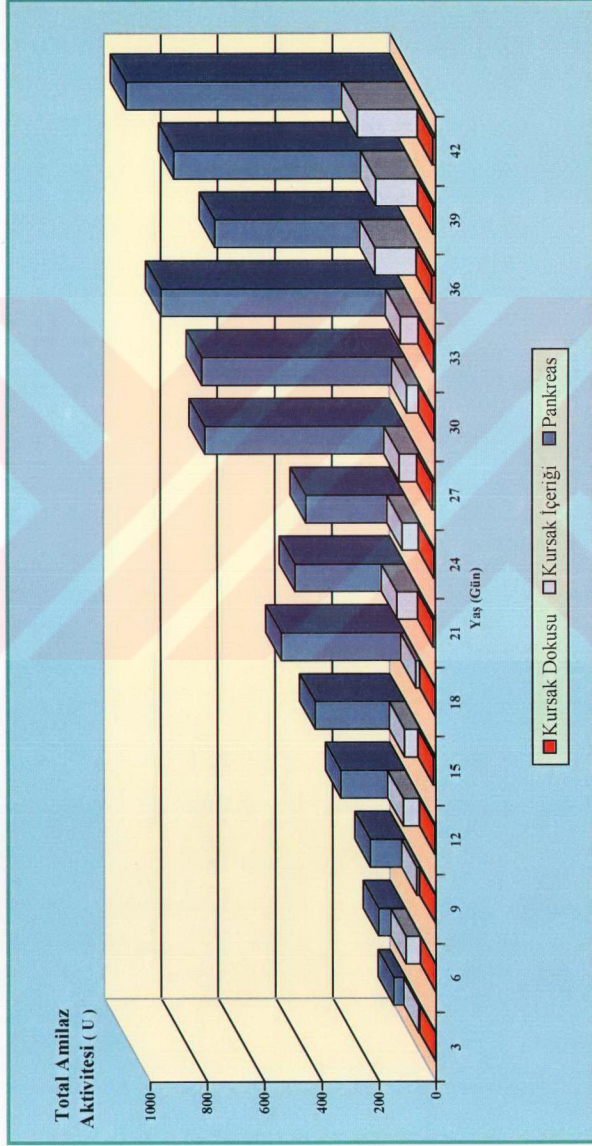
Grafik 3 : Dişi Cıvcıvlerde Kursak Dokusu, Kursak İçeriği, *Plazma ve Pankreasta α -amilaz Aktivitesinin Yaşa Göre Değişimi

*Grafikte daha net bir görüntü elde edebilmek için plazma örnekleri 10^{-1} ile çarpılarak gösterildi.

Tablo 4: Cıvıverlerde Pankreas, Kursak İçerdiği ve Kursak Dokusunda Total α -Amitlaz Aktivitesinin Yaş ve Cinsiyete Göre Değişimine Ait Ortalamalar, Ortalamaların Standart Hataları ve Gruplar Arası Farkların Önem Kontrolleri (U).

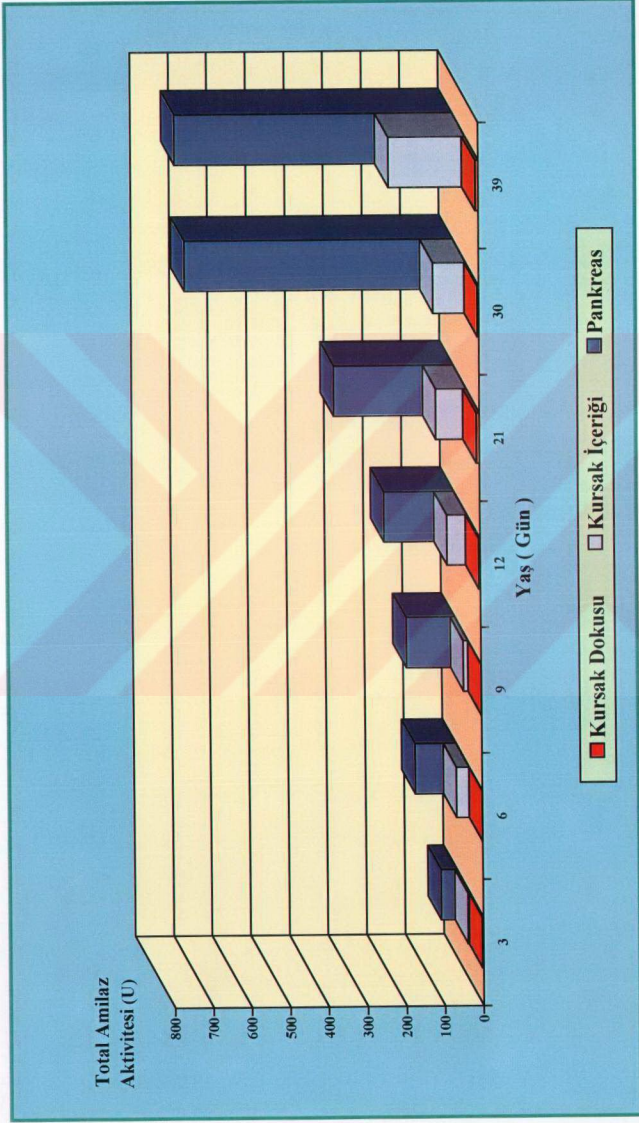
	Cinsiyet	Yaş (Gün)													
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42
	n	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx	X \pm Sx
Pankreas	E 16	41.6 ^a 3.3	92.5 ^a 18.9	122.3 ^b 7.9	225.6 ^c 11.7	315.1 ^d 19.6	431.7 ^d 29.1	384.2 ^d 20.9	345.8 ^d 18.9	698.3 ^e 18.9	708.9 ^c 23.1	851.7 ^{ab} 44.7	663.9 ^c 33.4	807.3 ^{bc} 26.3	957.5 ^a 33.7
	D 16	41.2 ^a 4.0	106.4 ^{de} 17	126.1 ^{de} 3.8	180.5 ^d 8.8	309.3 ^c 15.4	*	*	*	*	694.9 ^b 19.8	*	*	719.4 ^a 30.4	*
Kursak İçerdiği	E	6.8 ^d 1.6	51.9 ^d 9.1	13.2 ^d 3.0	61.6 ^d 15.6	55.9 ^d 11.7	16.1 ^d 2.5	82.5 ^d 12.9	62.3 ^d 15.3	73.4 ^{bd} 19.7	47.1 ^d 11.6	69.7 ^{cd} 23.4	158.7 ^{ab} 25.2	155.9 ^{abc} 20.1	222.2 ^a 43.5
	D	5.5 ^b 1.2	32.9 ^b 5.7	11.4 ^b 3.1	51.4 ^b 11.0	78.9 ^b 17.2	*	78.9 ^b 17.2	*	*	85.2 ^b 3.6	*	*	199.8 ^a 37.8	n 16
Kursak Dokusu	E 16	4.0 ^{efg} 1.0	1.6 ^g 0.4	4.0 ^{efg} 0.4	4.4 ^{defg} 0.8	9.2 ^{bd} 0.7	3.5 ^{fg} 0.5	9.0 ^{bcde} 1.0	5.7 ^{defg} 1.2	11.1 ^{abc} 1.9	5.3 ^{defg} 0.6	7.1 ^{cd} 1.2	15.3 ^a 1.2	9.6 ^{bd} 1.3	12.2 ^{ab} 1.8
	D 16	2.9 ^{ab} 0.5	1.4 ^b 0.3	3.8 ^{ab} 0.5	4.4 ^{ab} 1.0	9.0 ^a 1.1	9.0 ^a 1.1	9.0 ^a 1.1	9.0 ^a 1.1	9.0 ^a 1.1	4.1 ^{ab} 0.8	9.1 ^a 0.8	9.1 ^a 0.8	9.1 ^a 0.8	9.1 ^a 0.8

A, b, c, d, e, f, g : Her bir satura farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P \leq 0.05).
B *P \leq 0.05



Grafik 4 : Erkek Cıvcıvlerde Kursak Dokusu , Kursak İçerdiği ve Pankreasta *Total α -amilaz Aktivitesinin Yaşa Göre Değişimi

*Total α -amilaz Aktivitesi : U/g **X** Organ veya İçerik Ağırlığı.



Grafik 5 : Dişi Cıvcıvlerde Kursak Dokusu, Kursak İçeriği, ve Pankreasta *Total Amilaz Aktivitesi

*Total Amilaz Aktivitesi : Ünite / g **X** Organ veya İçerik Ağırlığı

Tablo 5: Pankreas ile plazma, plazma ile kursak, kursak dokusu ile kursak içeriği arasında korrelasyonlar

	Cinsiyet	r	SI
Pankreas-Plazma	E	0.773*	± 0.04
	D	0.558*	± 0.07
Plazma –Kursak Dokusu	E	0.412	± 0.06
	D	0.519	± 0.03
Kursak dokusu- Kursak İçeriği	E	0.08	± 0.006
	D	0.03	± 0.009

*P ≤ 0.01

7. TARTIŞMA

Etlik piliç yetiştiriciliğinde alınan besinlerin en iyi şekilde değerlendirilerek kısa sürede maksimum gelişme sağlanması amaçlanmaktadır. Tavuk rasyonunun önemli bir bölümünü içeren metabolize edilebilir enerjinin esas kaynağını oluşturan nişastanın sindirilebilmesi için memelilerde olduğu gibi kanatlılardaki tek enzim amilazdır.

Sindirim kanalının gelişimiyle birlikte α -amilaz ve değişimine ilişkin bildirimler olmasına rağmen özellikle kanatlı hayvanlarda α -amilazın kaynaklarına yönelik raporlar sınırlı olmakla kalmayıp aynı zamanda birbirleriyle çelişkilidir.

Bu çalışmada deneme süresi olarak broiler piliçlerin kesim yaşı olan 42 günlük süre dikkate alınmıştır.

Erkek ve dişi broiler civcivlerde canlı ağırlık, pankreas, kursak içeriği ve kursak dokusu ağırlığına ilişkin veriler Tablo 2’de sunulmakta olup, canlı ağırlık, doku ve içerik ağırlıkları klasik bilgilerde yer aldığı gibi yaşa bağlı olarak artmıştır.

Pankreatik α -amilaz aktivitesi 3 günlük erkek ve dişi civcivlerde sırasıyla 169.6 ± 4.9 U/g ve 175.9 ± 3.9 U/g olarak saptandı (Tablo3).

Pankreas α -amilaz konsantrasyonu bu dönemde cinsiyetler yönünden istatistiksel olarak önemli bulunmadı. 3. günden 12. güne kadar her iki cinste de istatistiksel önemde değişiklik göstermeyen α -amilaz aktivitesinin 12. günde 3. güne göre anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır. 21. günde ise bir önceki örnekleme gününe göre her iki cinste de istatistiksel önemde azalma gösteren pankreas α -amilaz aktivitesi, dişilerde 30, erkeklerde 33. güne kadar artmış, sonraki günlerde ise her iki cinste de deney sonuna kadar tedricen azalmıştır.

Araştırmada 12. güne kadar elde edilen pankreatik α -amilaz aktivitesine ilişkin değerler Gertler ve Nitsan (15) 'ın civcivlerde bulduğu sonuçlarla uyusmaktadır. Palo ve ark. (48) ise 7. günde en büyük değeri elde ettiklerini ifade etmektedirler. Bu çalışmada (48) bizde kullanılan metot ve ünite tanımlamasından farklı bir metot kullanıldığı için rakamsal olarak karşılaştırma yapılamadı. Çalışmada 9. günden sonra 12. güne kadar görülen artış, Nitsan ve ark. (35)'nin yumurtadan çıkan civcivlerde pankreatik α -amilaz aktivitesi ilk 3-6 gün azaldıktan sonra 11.günde ilk günlere göre % 10-20 oranında artar şeklindeki bildirimine paralel görünmektedir. Ancak Palo ve ark. (48)'nin 7. günden sonra 21. güne kadar azalma olur ifadesiyle çelişmektedir.

Pankreatik α -amilaz aktivitesinde 21. günde görülen ani düşüş, 7, 14 ve 41. günlere oranla en düşük değerini 21. günde görüldüğünü ifade eden çalışmanın (48) bulgularıyla uyusmaktadır. Nitekim çalışmada 21. gün α -amilaz değeri 7, 14 ve 42. günlere göre daha düşüktür. Öte yandan Gertler ve Nitsan'ın (15) 21. günde belirlediği 223-281 U/g'lık değer de oldukça altındadır.

Pankreatik α -amilaz aktivitesinde 21. günden 33. güne kadar belirlenen artma eğilimi, Rodeheaver ve Wyatt (59)'ın bildirimine uymakla birlikte artış oranı daha düşüktür. Ayrıca 33. günde belirlenen maksimum aktivite Gertler ve Nitsan (15)'in 35. günde belirlediği 291-320 U/g'lık değerinin altındadır. Ancak Nitsan ve ark. (36)'nın başka bir çalışmada 29. günde elde ettiği 94 U/g'lık değer ise bizde 30. gündeki 251.1 U/g 'lık değer (Tablo 3) aşağısındadır.

Çalışmada α -amilazın dişilerde 30, erkeklerde 33. günde pik yaptıktan sonra düzenli bir şekilde azalarak dişilerde 39, erkeklerde 42 günde 6. günün değerine yaklaşması Palo ve ark. (48) bildirimine uyduğu halde, Ritz ve ark. (56)'nın hindilerde 8 haftalık sürede α -amilaz aktivitesinin lineer bir şekilde arttığı ifadesiyle uyuşmamaktadır.

Çalışmadaki pankreatik α -amilaz ile literatürdeki (15, 36) değerler arasındaki farklılıklar denemelerde kullanılan hayvanların tür ve ırklarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim pankreatik α -amilazda görülen değişikliklerin genetik etkilerle belirlendiği ve ırklar arasında aktivitenin değişim modellerinin de birbirinden farklı olduğu bildirilmiştir (37,34). Ayrıca 21. günde α -amilaz düzeyinde belirlenen ani düşüş ,bu dönemde civcivlere verilen rasyonun değiştirilmiş olmasından kaynaklanabilir. Rasyonun enzim düzeyine etkisine ilişkin bildirimler bu düşüncemizi destekler niteliktedir (27).

Erkeklerde 39 ve dişi civcivlerde 42. güne kadar α -amilaz aktivitesinin yaşa bağlı değişimini izlendiği çalışmada , dişilerin α -amilaz aktivitesinin genellikle erkeklerden biraz fazla olduğu belirlendi. Erkek ve dişiler arasındaki aktivite farkı 12. gün hariç istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

Bu bulgu hindilerde olduğu gibi (62) broiler civcivlerde de erkek ve dişiler arasında α -amilaz aktivitesi yönünden fark bulunmadığını ortaya koymaktadır.

Total pankreatik α -amilaz aktivitesi, sindirim kanalına verilen enzimin miktarı konusunda fikir verdiği için bunun yaşa ve cinsiyete göre değişiminin belirlenmesinin ilginç olacağı düşünüldü.

Pankreastaki total α -amilaz aktivitesine ilişkin veriler Tablo 4'de verilmiştir.

Çalışmada total α -amilaz aktivitesine ait en düşük değer erkek ve dişilerde sırasıyla 41.6 ± 3.3 ve 41.2 ± 4.0 U ile 3. günde, en yüksek değer ise erkeklerde 957.5 ± 33.7 U ile 42. günde, dişilerde ise 719.4 ± 30.4 U ile 39. günde belirlendi. Aktivitenin yaşa bağlı olarak artışı total α -amilaz aktivitesinde çok daha bariz olarak görüldü (Grafik 4 ve 5). Erkeklerde pankreatik α -amilaz aktivitesinde bir önceki örnekleme gününe göre 21. gündeki azalma total aktivitede de dikkati çekmektedir.

Pankreas total α -amilaz aktivitesine ilişkin bulgular ünite tanımlamasındaki farklılıktan dolayı rakamsal olarak karşılaştırılamadığı halde elde edilen sonuçlar O'Sullivan ve ark. (41) bildirimine uymaktadır.

Total α -amilaz aktivitesinin cinsiyete göre değişimi de ilginç bulgulardan biridir. Pankreatik α -amilaz aktivitesinde cinsiyet yönünden 12. gün dışında istatistiksel anlamda farklılık olmamasına rağmen, erkeklerdeki total aktivitenin 12. günden itibaren dişilerden daha fazla olduğu belirlendi. Farklılıklar İstatistiksel olarak 12, 21 ve 39. günlerde $P \leq 0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu (Tablo 4).

Cinsiyetin Total α -amilaz aktivitesine etkisine yönelik hiçbir çalışmaya rastlanılmadığından, sonuçlar literatür bilgisiyle karşılaştırılamadı. Bu

farklılığın erkek civcivlerin pankreasının dişilerinkinden daha hızlı gelişmiş olmasından kaynaklandığı düşünüldü. Nitekim Tablo 2’de sunulan pankreas ağırlıklarına ilişkin bulgular bu fikri doğrular niteliktedir.

Erkek ve dişi civcivlerde plazma α -amilaz aktivitesinin yaşa ve cinsiyete göre değişimine ilişkin veriler Tablo 3’de sunulmuştur.

Erkek ve dişi civcivlerde yumurtadan çıktıktan sonra 3. günde sırasıyla 754.4 ± 15.7 ve 746.1 ± 20.5 U/100ml olarak belirlenen α -amilaz aktivitesi aynı zamanda çalışma süresince elde edilen en düşük değeri. En yüksek değer erkeklerde 1117.0 ± 24.7 U/100 ml ile 33., dişilerde 1058.0 ± 11.4 U/100 ml ile 30. günde belirlendi.

Plazma α -amilaz aktivitesinin dalgalanmalar göstermekle birlikte yaşa bağlı olarak arttığı erkeklerde 36, dişilerde 30. günden itibaren araştırma sonuna kadar azaldığı gözlemlendi (Grafik 2,3). Aktivitedeki dalgalanmalar pankreatik α -amilazdaki değişimlere paralellik göstermektedir. Nitekim plazma ile pankreas α -amilaz aktiviteleri arasında erkek ve dişi civcivlerde pozitif korelasyon bulunduğu ve bu korelasyon değerinin $P \leq 0.01$ düzeyinde önemli olduğu saptandı (Tablo 5).

Çalışmada 15. günde erkekler için bulunan 850.0 ± 26.0 plazma α -amilaz düzeyi Rodeheaver ve Wyatt (58)’in 2 haftalık Hubbard ırkı erkek civcivlerde bulunduğu $674.8-728.5$ U/100 ml ‘lik değerden yüksektir. Bu fark kullanılan civciv ırklarının değişik olmasından kaynaklanmış olabilir.

Broiler civcivlerde yapılan diğer bir çalışmada (59) 0-7 günler arasında 321 U/100 ml olan plazma α -amilaz aktivitenin 21. günde 373.8 U/100 ml ile en üst seviyeye ulaştığı ve 49. günde 245 U/100 ml ile en düşük seviyeye indiğini bildirmektedir. Söz konusu çalışmada kullanılan ünite bu

araştırmadakinden farklı olmasına rağmen erişkin yaşta büyüme dönemine göre aktivitenin azalması elde edilen bulguları destekler niteliktedir.

Janowitz ve ark. (18), yeni doğanlarda ilk 2 ay serum α -amilaz aktivitesinin görülmediğini ancak 2. aydan sonra belirlenebildiğini ifade etmesine rağmen çalışmamızda elde edilen veriler, civcivlerin yumurtadan çıktıklarında yüksek düzeyde plazma α -amilaz aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmada erkek ve dişiler arasında plazma α -amilaz aktivitesi yönünden istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmadı (Tablo 3). Bu bulgu Pegram ve ark. (49)'ın Japon bildircinlarda yaptığı araştırma ve King (22)'in insanlarda serum α -amilaz aktivitesinin erkek ve dişilerde farklı olmadığına ilişkin bildirimini ile uyushmaktadır.

Kursak içeriğindeki α -amilaz aktivitesine ilişkin bulgular Tablo 3'de sunulmaktadır. 3. günde erkeklerde 10.2 ± 1.7 U/g dişilerde 8.4 ± 0.7 U/g olan α -amilaz aktivitesi aynı zamanda çalışma boyunca elde edilen en küçük değerlerdir.

21. günde erkeklerde 28.1 ± 3.8 , dişilerde 30.0 ± 3.7 U/g olarak bulduğumuz içerik α -amilaz aktivitesi, Nitsan ve Madar (38)'ın, farklı yemlerle beslenen 21 günlük civcivlerde saptadıkları 2.2 ve 45 U/g değerleri arasındadır.

α -Amilaz aktivitesi yaşa bağlı olarak artmakla birlikte günler arasındaki değişimler dalgalanmalar gösterdi. Bu bulgu Ritz ve ark. (56)'nın, hindilerin kursak içeriğinde belirledikleri α -amilaz aktivitesine ilişkin bildirimleri ile uyumludur.

Kursak içeriğindeki total α -amilaz aktivitesine ilişkin bulgular Tablo 4'de sunulmaktadır. Aktiviteye ilişkin en düşük değer erkeklerde 6.8 ± 1.6 U dişilerde 5.5 ± 1.2 U ile 3. günde en yüksek değer ise erkeklerde 222.2 ± 43.5 U ile 42. günde dişilerde 199.8 ± 37.8 U ile 39. günde elde edildi. Yapılan çalışmada kursak içeriği total α -amilaz aktivitesinin önemli dalgalanmalar göstermekle birlikte yaşa bağlı olarak arttığı belirlendi. Bunun düzenli bir artış olmaması, alınan yem miktarının içerikteki total aktivite üzerine direkt etkili olduğunu düşündürdü. Erişkin hayvanlarda anatomik olarak gelişen kursağın yem depolama kapasitesinin artmasının da, yaşla birlikte artan aktiviteye katkısı olduğu kanısına varıldı. Nitekim Steven ve ark. (73)'nın gelişmiş kursakta yemlerin daha uzun süre bekleme imkanı bulduğu için bitkilerden gelen amilazdan daha iyi yararlandığı şeklindeki bildirimini bu düşüncüyü destekler niteliktedir.

Kursak içeriği ile pankreas total aktiviteleri arasındaki oranlar da pankreastan sonra kursağın da hem yumurtadan yeni çıkmış, hem de erişkin civcivlerde önemli oranda amilolitik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Pincasov ve Noy (50)'un bildirimini de bu fikri desteklemektedir.

Kursak dokusunda α -amilaz aktivitesine ilişkin veriler Tablo 3'de sunulmaktadır. En yüksek değer erkek ve dişilerde sırasıyla 7.6 ± 1.7 U/g, 6.1 ± 1.1 ile 3. günde en düşük değer ise 2.0 ± 0.2 U/g, 1.5 ± 0.2 U/g ile 30. günde elde edildi. 3. gündeki erkek ve dişilerde pankreatik α -amilaz aktivitesi aynı günün kursak dokusu aktivitesinden 20 kat fazladır. 33. günde elde edilen en düşük değer ise aynı güne ait pankreatik aktivitenin 1/200'ün den daha azdır. Kursak dokusundaki total α -amilazda bu farklar daha belirgindir.

Kursak dokusunda belirlenen düşük düzeydeki α -amilaz aktivitesi dokuda enzimin üretilmediğini düşündürmektedir. Nitekim son yıllarda yapılan bir çalışmada (76) kursak dokusunda mukus salgılayan bezlerin dahi olmadığını ifade edilmesi bu düşünceyi desteklemektedir.

Kursak dokusu α -amilaz aktivitesinin kaynağı ise pankreas ve tükürük bezlerinden üretilen enzimin düz kaslar dahil vücuttaki pek çok doku ve organa yayıldığını ifade eden bildirimle (74) açıklanabilir. Bu durumda kursak içeriğinde belirlenen enzim aktivitesinin mikroorganizmalar, yiyecekler ve tükürükten kaynaklanmış olabileceğini düşünüldü. Steven ve ark. (73)'nın kursaktaki amilazın tükürükten kaynaklanmaktadır şeklindeki ifadesi, Nitsan ve ark. (38)'nin enzimin yiyeceklerle birlikte kursağa geldiğini bildirmesi, Pritchard (54) ile Champ ve ark. (11)'nin kursaktaki aktivitenin mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır şeklindeki bildirimleri de bu görüşü doğrular niteliktedir. Öztürkcan (44, 45) ise tavuk kursağında belirlediği α -amilaz aktivitesinin kursak dokusu tarafından üretildiğini ileri sürmesine karşın, bu aktivite oradaki mikroorganizmalardan veya salgıyı stimüle etmek için kullanılan histaminin damarlardaki geçirgenliği artırmasına bağlı olarak plazmadan kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak kursak dokusunun α -amilaz enzimi salınmadığı ve kursak dokusunda belirlenen çok düşük düzeydeki aktivitenin kursaktaki nişasta sindirimine önemli bir katkısı olamayacağı görüşüne varıldı. Kursak içeriğindeki α -amilazın fenotipleri belirlenerek, enzim aktivitesine hangi kaynakların ne oranda katkıda bulduklarının ortaya çıkarılması yeni araştırmaların konusu olabilir.

8. ÖZET

Tavuklarda Plazma, Kursak ve Pankreasta α -Amilaz Aktivitesi

Bu araştırmada broilerlerde plazma, pankreas, kursak dokusu ve içeriğinde α -amilaz aktivitesinin yaşa ve cinsiyete göre değişimi incelendi.

Materyal olarak 336 adet ISA-15 broiler hibrit civciv kullanıldı. Hayvanlar 224' erkek, 112'si dişi olmak üzere iki gruba ayrıldı. Erkeklerden 3'er gün arayla, dişilerden ise 12. güne kadar 3'er gün, 12. günden deneme sonu olan 42. güne kadar 9'ar gün arayla ve her seferinde 16'şar hayvan kullanılmak üzere pankreas, kursak içeriği, kursak dokusu ve kan örneklere alındı. Kan örneklere hemen santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Doku ve içerik örneklere homojenizasyon ve santrifüj işlemleri uygulanarak süpernatantları elde edildi. Plazma ve süpernatant örneklere α -amilaz aktivitesi belirlendi.

Araştırmamızda plazma, pankreas ve kursak içeriği α -amilaz aktivitesinin yaşa bağlı olarak arttığı belirlendi. α -amilaz aktivitesindeki artışlar total aktivite hesaplandığında daha belirgin

olarak görüldü. Kursak dokusunda çok düşük düzeyde α -amilaz aktivitesi belirlenmesine rağmen, bu aktivitenin kursak dışı kaynaklardan kursak dokusuna geldiği düşünöldü.

Plazma α -amilazı ile pankreatik α -amilaz aktivitesinin yaşa bağlı değişimleri arasında yüksek düzeyde korelasyon saptandı.

Pankreas α -amilaz aktivitesi 12. gün için dişilerde erkeklere oranla yüksek, total pankreatik α -amilaz aktivitesi 12. 21. ve 39. günlerde, total kursak içeriği α -amilaz aktivitesi ise 6. günde erkeklerde daha fazla bulundu.



9. SUMMARY

The α -amylase Activity in Plasma, Crop and Pancreas of Broilers.

In this study, the change of α -amylase activity in plasma, pancreas, crop tissue and crop content according to the age and sex was investigated.

33 6 ISA- 15 broiler hibrit chicks were used as material. The chicks were separated in two groups as 224 male and 112 female.

Pancreas, crop content, crop tissue and blood samples, crop content, crop tissue and blood samples were taken prom male chicks every 3 days. The same samples were taken prom females every 3 days till the 12th day and from 12th day to 42nd day samples were taken every 9 days. 16 chicks were used in each trial. The blood samples were centrifuged instantly and their plasma were separated. The tissue and content samples were homogenized and centrifuged and then their supernatants were obtained. The α -amylase activity were determined in plasma and supernatant samples.

In our study we determined that the α -amylase activity in plasma pancreas and crop content increases relating to the age. When the total activities were calculated, the increase in α -amylase activity observed clearly.

A high correlation was determined between the variation of α -amylase activity in plasma and pancreas according to the age.

The pancreatic α -amylase activity of the females were found higher than the males for 12th day.

The total pancreatic α -amylase activity of males in 12th, 21st and 39th days and the α -amylase activity of the crop content of males in 6th day were found higher.



10 KAYNAKLAR

1. Abau-Zeid AM. Production , purification and characterization of an activities on different substrates. Clin Chem 1975 ; 21 3 : 343-346.
2. Aksoy FT. Tavuk Yetiştiriciliği. 2. Baskı Şahin Matbaası, Ankara, 1993 ; 89-117.
3. Aras K, Erşen G. Klinik Biokimya. Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Yayınları, Ankara, 1975 ; 2 : 1-43.
4. Ashild K, Jerry LS. Influence of lipase, and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. Poult Sci 1989 ; 68 : 1561-1568.
5. Berkkan H. Midye amilazlarının saflaştırılması ve başlıca kinetik özelliklerinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Doçentlik Tezi, İstanbul, 1982.
6. Bernfield P. Enzymes of starch degradation and synthesis. In : Nord F.F. eds. Advances in Enzymology Vol XII Interscience Publishers Inc. New York, 1951; 381-426.
7. Bernfield P. Amylases, α and β . In : Colowick SP, Kaplan NO eds Methods in Enzymology Vol I . Academic Press Inc. New York, 1955 ; 146-159.

8. Bernfield P, Duckert F, Fischer EH. Proprieties de l' α -amylase de pancreas humain .Comparison avec les autres α -amylases cristallisees. Helv Chim Acta 1950 ; 33 1 : 1064-1070.
9. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. Şafak Matbaacılık 2. Basım Ankara, 1995 ; 641-704.
10. Bölükbaşı F. Fizyoloji Ders Kitabı A.Ü. Vet. Fak., Ankara, 1989.
11. Champ M, Szylił O, Raibaud P, Abdelkader NA. Amylase production by three lactobacillus strains isolated from chicken crop. J App Bacteriol 1983; 55 : 487-493.
12. Champe PC, Harvey RA. Çeviri Editörleri Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. Lippincott's Illutrated Reviews sersinden Biyokimya . Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti İstanbul, 1997 ; 47-61.
13. Chang CT, Tang MS, Lin CF. Prufication and properties of alpha-amylase from Aspergillus Oryzae ATCC 76080. Biochem Mol Biol Int 1995 ; 36 1 : 185-193.
14. Cozzone P, Pasero L, Beaupoil B, Marcis-Mouren G . Characterization of porcine pancreatic isoamylases chemical and physical studies. Biochm Biophys Acta 1970 ; 207 : 490-504.
15. Gertler A, Nitsan Z. The effect of trypsin inhibitors on pancreatopeptidase E, trypsin, chymotrypsin and amylase in the pancreas and intestinal tract of chicks receiving raw and heated soya-bean diets. Br. J. Nutr. 1970: 24: 893-904.
16. Hughes BL, Suniga RG, Yardley DG. Influence of amylase genotypes on growth rate and conversion of chickens. Poultr. Sci. 1994 ; 73 : 953-957.

17. Ikeno T, Ikeno K . Amylase activity increases in the yolk of fertilized eggs during incubation in chickens . *Poult Sci* 1991; 70: 2176-2179.
18. Janowitz HD, David A, Dreiling MD. The plasma amylase . *Am J Med* 1959 ; 924-935.
19. Johnson AD, Croom WJ, Hagler WM, Ort JF, Henrikson CK. Pancreatic splenic lobe organ culture system: Viability and amylase release. *Poult. Sci.* 1993; 72 :185-192.
20. Keller P, Freudiger U. Enzyme activities in urine , cerebrospinal fluid, bile, saliva and ejaculate of dogs. *Kleintierpraxis* 1984 ; 291 : 15-26.
21. Kilian M, Nyvad B. Ability to bind salivary α -amylase discriminates certain viridans group streptococcal species. *J Clin Microbiol* 1990; 28 11 ; 2576-2577.
22. King J. *Practical Clinical Enzymology* D Van Nostrand Company , London, 1965 ; 208-220.
23. King AS, McLelland J. *Birds Their Structure and Function* 2. ed. Bailliere tindall, 1984; 90-94.
24. Kulka RG, Duksin D. Pattern of growth and α -amylase activity in the developing chick pancreas. *Biochim Biophys Acta* 1964; 91 : 506-514.
25. Kulka, RG, Yalovsky, U. Secretion of α -amylase by the embryonic chick pancreas in vitro. *J Cell, Biol* 1966 ; 29 : 287-292.
26. Lehrner LM, Malacinski GM. Analysis of structural forms of α -amylase present in chicken (*Gallus domesticus*) pancreatic duct juice and intestinal lumen. *Biochem Physiol* 1976 ; 53 B : 61-66.

27. Lepkovsky S, Koike T, Sugiura M, Dimick MK, Furuta F. Pancreatic amylase in chickens fed on soya bean diets. *Br J Nutr* 1966 ; 20 : 421-437.
28. Maeda Y, Washburn KW, Marks H.L. Protein polymorphism in quail populations selected for large body size. *Anim Blood Grps Biochem. Genet* 1980 ;11: 251-260.
29. Marchaim U, Kulka RG. The non parallel increase of amylase chymotrypsinogen and procarboxypeptidase in the developing chick pancreas. *Biochem Biophys Acta* 1967; 146 : 553-559.
30. McGeachin RL, Gleason JR, Adams MR. Amylase distribution in extrapancreatic extrasalivary tissues. *Arch Biochem Biophys* 1958 ; 75 : 403-411.
31. Menevşe A, Menevşe S. *Temel Biyokimya A.İ.T.İ.A. Tıp Fakültesi Yay, Ankara, 1982 ; 144-230.*
32. Meyer HK, Fischer EH, Staub A, Bernfield P. Isolement et cristallisation de l' α -amylase de saliva humaine . *Helv Chim Acta* 1948 ; 31 2 : 2159-2164.
33. Moran ET. Starch digestion in fowl . *Poult Sci* 1982 ; 61 : 1257-1267.
34. Nir I, Nitsan Z, Dror Y, Shapira N . Influence of overfeeding on growth, obesity and intestinal tract in young chicks of light and heavy breeds. 1978 ; 3 : 27-35.
35. Nitsan Z, Ben-Avraham G, Zoref Z, Nir I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *Br Poult Sci* 1991; 32 : 515-523.

36. Nitsan Z, Dror Y, Nir I, Shapira N. The effect of force-feeding on enzymes of the liver, kidney, pancreas and digestive tract of chicks. *Br J Nutr* 1974 ; 32 : 241-247.
37. Nitsan Z, Dunnington A, Siegel PB. Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. *Poult Sci* 1991 ; 70 : 2040-2048.
38. Nitsan Z, Madar Z. The level and origin of amylase (EC 3.2.1.1) in the digestive tract of chicks receiving trypsin inhibitors in their diet. *Br J Nutr* 1978 ; 40 : 236-243.
39. Nitsan Z, Nir I, Dror Y, Bruckental I. The effect of forced feeding and of dietary protein level on enzymes associated with digestion, protein and carbohydrate metabolism in geese. *Poult Sci* 1973 ; 52 : 474-481.
40. O'Donnell MD, McGeeney KF, Gerald FO. Effect of free and conjugated bile salts on α -amylase activity. *Enzyme* 1975 ; 19 : 129-139
41. O'Sullivan NP, Dunnington EA, Larsen AS, Siegel PB. Correlated responses in lines of chickens divergently selected for fifty-six-day body weight. 3. Digestive enzymes. *Poult. Sci* 1992 ; 71 : 610-617.
42. Osman AM. Amylase in chicken intestine and pancreas. *Comp. Biochem. Physiol.* 1982 ; 73B 3 : 571-574.
43. Osman AM, Tanios NI. The effect of heat on the intestinal and pancreatic levels of amylase and maltase of laying hens and broilers. *Comp Biochem Physiol* 1983 ; 75A 4 : 563-567.
44. Öztürkcan O. Determination de la presence d'amylase dans le Jabot chez la poule (leghorn blanc). *Arch Geflugelk* 1984; 48 6 : 222-224.

- 45.Öztürkcan O. Determination de la presence d'amylase dans le jabot chez la poule de race golden comet. Arch Geflügelk 1985 ; 49 6 : 212-213.
- 46.Paguet V, Croux C, Goma G, Soucaille P. Production, purification and characterization of the extracellular alpha-amylase from clostridium acetobutylicum ATCC 824. Appl Environ Microbiol 1991; 57 1 : 212-218.
- 47.Palmer T. Çeviri Editörleri Cengiz S, Cengiz M. Tıp ve Fen Bilimleri Öğrencileri için Enzim Bilgisi. Bilimsel ve Teknik Yayınlar Çeviri Vakfı İstanbul, 1994 ; 1-14.
- 48.Palo PE, Sell JL, Piquer FJ, Vilaseca L, Soto-Salanova MF. Effect of early nutrient restriction on broiler chickens. 2. Performance and digestive enzyme activities. Poult Sci 1995 ; 74 : 1470-1483.
- 49.Pegram RA, Wyatt D, Marks HL. The relationship of certain blood parameters to aflatoxin resistance in Japanese quail . Poult Sci 1986 ; 65 : 1652-1658.
- 50.Pinchasov Y, Noy Y. Early postnatal amylolysis in the gastrointestinal tract of turkey poult meleagris gallopavo Comp. Biochem. Physiol. 1994 ;107 A 1 : 221-226.
- 51.Pisharody CR, Nair SG. Studies on some of the gastrointestinal mucosal enzymes in chicks and ducklings . Indian Vet J 1974 ; 51 : 683-689.
- 52.Pomeranz Y. Inactivation of α -amylase by synthetic detergents. Biochim Biophys Acta 1963 ; 73 : 105-112.
- 53.Pomeranz Y. Inactivation of α -amylase by cobalt complexes. Biophys Acta 1963 ; 77 : 451-454.
- 54.Pritchard PJ. Digestion of sugars in the crop. Comp Biochem Physiol 1972 ; 43 A : 195-205.

55. Pubols MH: ratio of digestive enzymes in the chick pancreas. *Poult Sci* 1991 ; 70 :337-342.
56. Ritz CW, Hulet RM, Self BB, Denbow DM. Endogenous amylase levels and response to supplemental feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. *Poult Sci* 1995 ; 74 : 1317-1322.
57. Robyt J, French D. Purification and action pattern of an amylase from *Bacillus Polymyxa*. *Arch Biochem Biophys* 1964 ; 104 : 338-345.
58. Rodeheaver DP, Wyatt RD. Evaluation of analytical techniques for quantification of poultry α -amylase . *Poult Sci* 1984 ; 63 :1855-1860.
59. Rodeheaver DP, Wyatt RD. Distribution of α -amylase activity in selected broiler tissues. *Poult Sci* 1986 ; 65 : 325-329.
60. Seetharam B, Swaminathan N, Radhakrishnan AN. Purification & properties of α -amylase from monkey small intestine. *Indian J Biochem* 1969; 6 :51-55.
61. Seigner C, Prodanov E, Marcis-Mouren G. On porcine pancreatic α -amylase action : Kinetic evidence for the binding of two maltooligosaccharide molecules (maltose, maltotriose and α -nitrophenylmaltoside) by inhibition studies. *Eur J Biochem* 1985 ; 148 :161-168.
62. Sell JL, Angel CR, Mallarino EG, Al-Batshan HA. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poult Sci* 1991; 70 : 1200-1205.
63. Shapiro F, Mahagna M, Nir I. Stunting syndrome in broilers: Effect of glucose or maltose supplementation on digestive organs, intestinal disaccharidases and some blood metabolites. *Poult Sci* 1997 ; 76 : 369-380.

64. Shapiro F, Nir I. Stunting syndrome in broilers : Physical physiological and behavioral aspects. *Poult Sci* 1995 ; 74 : 33-44.
65. Shapiro F, Nir I. Stunting syndrome in broilers effect of age and exogenous amylase and protease on performance, development of the digestive tract, digestive enzyme activity, and apparent digestibility. *Poult Sci* 1995 ; 74 : 2019-2028.
66. Shapiro F, Nir I, Heller D. Stunting syndrome in broilers: Effect of stunting syndrome inoculum obtained from stunting syndrome affected broilers, on broilers leghorns and turkey poults. *Poult Sci* 1998 ; 77: 230-236.
67. Siddons RS Intestinal disaccharides in the chick. *Biochem J* 1969 ; 839-849
68. Sivikami S, Radhakrishnan AN. A Comparative study of maltase & Glucoamylase in the intestine of various animal species *Indian J Exper Biol* 1975 ; 13 : 238-241.
69. Smart IJ, Barr DA, Reece RL, Foryth WM, Ewing I: Experimental reproduction of the runting stunting syndrome of broiler chickens *Avian Pathol* 1988 ; 17 617-627
70. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. 6 th Ed, The Iowa State University Press, Iowa, 1976.
71. Sodeman WA, Sodeman TM . *Pathologic Physiology Mechanisms of Disease*. 6.ed Saunders Company, London, 1979: 940-941.
72. Stein EA, Junge M, Fischer EH. The amino acid composition of α -amylase from *Aspergillus Oryzae* . *J Biol Chem* 1960 ; 235 2 : 371-378.

UNIVERSITY OF
SRI GANESHA
MADRAS

73. Steven AJ, William RG. Evidence for amylase in salivary glands. *J Morph* 1973 ; 139 : 27-46.
74. Tietz NW. *Fundamentals of Clinical Chemistry* 4. ed. Burtis CA, Aswood ER. eds Wb Saunders, Philadelphia, 1995 : 318-335.
75. Toralballa CG, Eitingon M. Action of urea and certain other amide reagents on crystalline porcine pancreatic amylase. *Arch Biochem Biophys* 1967 ; 119 : 519-525.
76. Turk DE. Symposium : The avian gastrointestinal tract and digestion. *Poult Sci* 1982 ; 61 : 1225-1244.
77. West ES, Wilbert R, Mason HS, Bruggen JT. *Textbook of Biochemistry*. 4. ed. The Macmillan Company, London, 1966 ; 235-241.

11. ÖZGEÇMİŞ

1969 Yılında Erzincan'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi aynı ilde tamamladıktan sonra, 1987 yılında öğrenime başladığım İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 1993 yılında mezun oldum. 1994 yılında İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde doktora eğitimine, 1995 yılında da aynı Üniversitenin Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım.

Halen aynı görevi sürdürmekteyim.