



Holştayn Sığırlarda Kızgınlık Tespitinde Tükürük Kurutma Testlerinin Kullanılması

Mehmet Ferit ÖZMEN^{1,a,✉}

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Sur, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-5531-220X

Geliş Tarihi/Received
08.10.2021

Kabul Tarihi/Accepted
22.10.2021

Yayın Tarihi/Published
31.12.2021

Öz

Sunulan çalışmada uygulanması kolay ve maliyeti düşük olan tükürük kurutma (kristalizasyon) testleri sonucu mikroskopik olarak oluşan ağaçlanma veya eğrelti otu görünümünün yaygınlığının Holştayn ırkı sığırlarda östrusta ve diöstrusta değişip değişmediği dolayısıyla östrus tayininde bu yöntemin kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı. Bu amaçla östrusta olduğu belirlenen (n:14) ve diöstrusta olduğu bilinen (n:11) Holştayn ırkı sığırlardan alınan tükürük numuneleri incelendi. Sonuçlar "yok", "yüzlek" ve "belirgin" olarak 3 gruba ayrıldı. Östrustaki sığırların %71,4'ünde diöstrustaki sığırların %18,2'sinde ağaçlanma veya eğrelti otu görünümünün belirgin olduğu ve aradaki farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir (p= 0.008). Östrustaki sığırların %14,3'ünde diöstrustaki sığırların %63,6'sında ağaçlanma veya eğrelti otu görünümünün yüzlek olduğu ve aradaki farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir (p= 0.011). Östrustaki sığırların %14,3'ünde diöstrustaki sığırların %18,2'inde ağaçlanma veya eğrelti otu görünümünün bulunmadığı ve gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir (p> 0.05). Sonuç olarak Holştayn ırkı sığırlarda östrus döneminin diöstrus döneminden ayırt edilebilmesinde tükürük kurutma testi'nin kullanılabilceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Eğrelti otu, östrus, suni tohumlama zamanı, tükürük

The Use of Saliva Drying Tests for Detection of Oestrus in Holstein Cattle

Abstract

In the present study, it was investigated whether this method can be used in the estrus period, as the prevalence of woody or fern appearance, which is the result of easy-to-apply and low-cost saliva drying (crystallization) tests, changes in estrus and diestrus in Holstein cattle. For this purpose, samples taken from Holstein cattle, which were determined to be in estrus (n:14) and known to be in diestrus (n:11), were examined. The results were divided into 3 groups as "absent", "outlier" and "significant". It was determined that 71.4% of the cattle in estrus and 18.2% of the cattle in diestrus had a woody or fern appearance and the difference was significant (p= 0.008). It was determined that 14.3% of the cattle in estrus and 63.6% of the cattle in diestrus had an outcrop or fern appearance and the difference was significant (p= 0.011). It was determined that 14.3% of cattle in estrus and 18.2% of cattle in diestrus did not have woody or fern appearance, and the difference between the groups was insignificant (p> 0.05). As a result, it was concluded that the saliva drying test can be used to distinguish the estrus period from the diestrus period in Holstein cattle.

Key Words: Artificial insemination time, fern, oestrus, saliva

GİRİŞ

Sığırlarda suni tohumlama uygulamalarında gebelik oranını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerin başında spermanın östrus siklusunun doğru zamanında genital sisteminin uygun bölümüne yeterli miktar ve kalitede depolanması gelmektedir. Dünya genelinde ineklerin %13-48'i östrus dışı dönemlerde tohumlanmakta ve suni tohumlamaların %61-70'i usulüne uygun şekilde yapılmamaktadır (1). Ayrıca günümüzde sürü büyüklüklerinin artması ve süt verim artışına bağlı olarak da östrustaki hayvanların takibi veya belirlenmesi gittikçe zorlaşmaktadır. Östrus tespit oranlarının ve belirlenen östrusta yapılan tohumlamaların gebelik oranlarının düşük olması, sütçü işletmeler için ciddi problem oluşturmaktadır. Östrus tespit oranının düşük olması özellikle

yüksek verimli sütçü işletmelerde suni tohumlama uygulamasını sınırlayan en önemli faktörlerden biridir. Östrus tespitine yardımcı yöntemlerin kullanılması durumunda bile en iyi ihtimalle östrusların %30'u belirlenmemektedir. Bu durum hem buzağılama aralığını uzatarak hem de sürüde belli bir sürede tohumlanan inek oranını azaltarak ciddi ekonomik zarara neden olmaktadır (2).

Günümüzde işletmeler ekonomik kayıplarını azaltmak için ovulasyon zamanının tespitinde kullanılan kuyruk boyası, çene topu işaretleri, video kameralar, pedometreler ve ısı montajlı dedektörler gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler işletmeler için maliyet oluşturmaya karşın ovulasyon zamanının belirlenmesinde istenildiği kadar etkili sonuçlar elde edilememektedir. Sağlıklı ve normal östrus siklusu gösteren sığırlarda infertilite problemlerinin çoğu yanlış

tohumlama zamanlamasından kaynaklanmaktadır (3,4). Birçok canlıda salgıların veya vücut sıvılarının kurutulmasıyla elde edilen mikroskop görüntülerinden yola çıkarak ovulasyon zamanının veya östrus siklusunun dönemlerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Ferning veya ağaçlandırma olarak da adlandırılan kristalizasyon vajinal ve servikal mukusun kristalizasyonu veya arborizasyonu şeklinde ilk olarak insanlarda tanımlanmıştır (5). Garm ve Skjerven (1952) ineklerde serviko-vajinal mukusun kristalleşmesini incelemişler, eğrelti morfolojisine sahip kristallerin östrus siklusunun östrus fazında ortaya çıktığını ve döngünün luteal fazda kaybolduğunu kaydetmiştir (6). Vajinal mukusta (7), nazal mukusta (8), tükürükte (9), gözyaşlarında (10), süt veya kolostrumda (11), kurutma (kristalizasyon) çalışmaları yapılmıştır. Tipik eğrelti otu kristalizasyonu, foliküler aktivitenin zirvesine yakın ve östrojenlerin baskın olduğu ovulasyon zamanı civarında belirgin iken progesteronun kristalleşmeyi baskıladığı bildirilmiştir (12,13). Tükürüğün eğrelti otu deseni dişi doğurganlık dönemine denk gelir ve oluşumuna tükürüğün bileşiminde bulunan NaCl neden olur (14,15). Tükürük doğal, bileşimi karmaşık bir biyolojik sıvıdır (16). Sığır tükürüğünde bir fazdan diğerine niteliksel olarak farklılık gösteren çok sayıda uçucu bileşik tanımlanmıştır (17). Östrus fazı sırasında trimetilamin, asetik asit, propiyonik asit ve fenol 4-propil'in ortaya çıktığını ancak diğer fazlarda bulunmadığı bildirilmiştir (17). Tükürük eğrelti otu testinin yüksek doğruluk, düşük maliyet, uygunluk, tekrar kullanılabilirlik ve doğru östrus tespiti için kolay kullanım gibi birçok avantajı olduğu iddia edilmiştir (18). Sığırlarda östrus tespitinin zorlaşması, gebelik oranlarının düşmesi, östrus tespitinde kullanılan yöntemlerin maliyeti yaygın olarak kullanılabilir maliyeti düşük yöntemleri ihtiyaç haline getirmektedir. Gelişen teknoloji ile birlikte pratik kullanılabilen mikroskopların geliştirilmesi ve bunların hemen hemen tüm veteriner kliniklerinde veya büyükbaş hayvan çiftliklerinde bulunması tükürük kurutma (kristalizasyon) yönteminin saha koşullarında da günümüzde yaygın olarak kullanılmasına imkân sağlamaktadır. Yaptığımız araştırmalarda Holştayn ırkı sığırlarda tükürük kristalizasyonundan sonra oluşan ağaçlanma veya eğrelti otu benzeri oluşumların yoğunluklarına bakarak östrus döneminin belirleyen çalışmaya bulunmamıştır.

Çalışmamızın amacı Holştayn ırkı sığırlarda östrus siklusunun en uzun dönemi olan diöstrus aşaması ile çiftleşme dönemi olan östrus aşamasının kurutulmuş tükürük örneklerinde oluşan görüntüler baz alınarak dönemler arası ayrımının dolayısıyla östrus tayininin yapılabileceğinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada Diyarbakır ili Bismil ilçesinde bulunan bir süt sığıri işletmesinde aynı bakım ve beslenme koşullarına sahip en az bir doğum yapmış 25 adet Holştayn ırkı sığır kullanılmıştır. Östrusta olduğu belirlenen (n:14) ve 10 gün önce tohumlanmış yani diöstrusta bulunan (n:11) Holştayn ırkı sığırlardan tükürük numuneleri alındı. Vajina ve vulvada şişkinlik, çarabakıntısı, böğürme, huzursuzluk ve başka hayvanların üzerlerine atlamasına izin veren sığırların östrusta bulunabileceği kabul edildi. Bu hayvanlarda rektal muayene ve ultrason

(Hasvet 838 Veteriner Ultrason Cihazı, L50/7.5 MHz lineer rektal prob) aracılığıyla yapılan muayenede graf folikülü belirlenenler östrusta kabul edildi. El yardımıyla ağzı açılan ineklerde dilin ucu damağa bastırılarak kanül takılmayan 20 ml'lik tek kullanımlık enjektörler aracılığıyla yaklaşık 5 ml tükürük alındı. Alınan tükürük örneğinden bir damla lam üzerine döküldü ve lamel kapatıldı. Bir saat sonra kurutmaya bırakılan örnek mikroskop altında 40'luk büyütmede lamel ile kapatılan alanının tamamını kapsıyacak şekilde incelendi. Aynı işlem diöstrus aşamasında bulunan ineklerde de yapılmıştır. Görüntüler eğrelti otu-ağaçlanma benzeri oluşumların miktarına göre "yok", "yüzlek" ve "belirgin" olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

İstatistiksel Analiz

Chi-square metodu ile analiz edilmiştir.

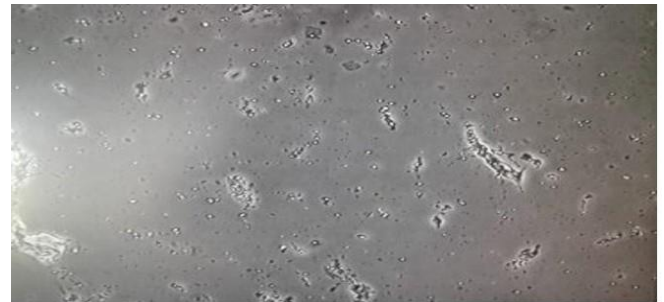
BULGULAR

Çalışmamızın sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Veriler incelendiğinde östrus dönemindeki Holştayn sığırlarda eğrelti otu-ağaçlanma benzeri oluşumların %71.4 oranında belirgin (Şekil 3) olduğu görülmektedir. Diöstrustaki Holştayn sığırlarda ise belirgin görüntü oranı %18.2 olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (P=0.008). Östrus döneminde yüzlek görüntüye (Şekil 2) sahip Holştayn sığırların oranı %14.3 iken diöstrus döneminde bu oran %63.6'ya yükselmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (P=0.011). Görüntü alınmayan (Şekil 1) sığırların oranı östrus grubunda %14.3 diöstrus grubunda %18.2 olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır (P>0.05).

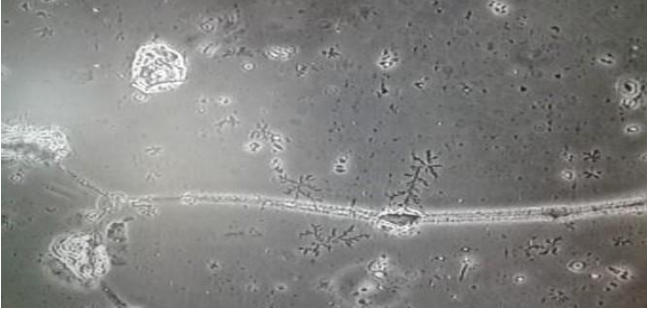
Tablo 1. Östrus döneminde ve diöstrus dönemlerinde alınan tükürük numunelerin görüntü sonuçları

Numunenin alındığı gün	Hayvan Sayısı (n)	Eğrelti otu-ağaçlanma görüntüsü		
		Yok	Yüzlek	Belirgin
Östrus (0. Gün)	14	%14.3 (2) ^a	%14.3(2) ^a	%71.4 (10) ^b
Diöstrus (10. Gün)	11	%18.2 (2) ^a	%63.6 (7) ^b	%18.2 (2) ^a
P		P>0.05	P=0.011	P=0.008

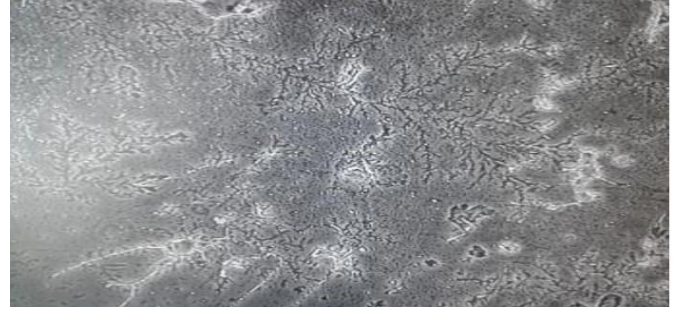
Aynı sütündeki farklı üst simgeler önemli farklılıklar göstermektedir (p<0.05)



Şekil 1. Eğrelti otu veya ağaçlanma görüntüsü yok



Şekil 2. Eğrelti otu veya ağaçlanma görüntüsü yüzlek



Şekil 3. Eğrelti otu veya ağaçlanma görüntüsü belirgin

TARTIŞMA VE SONUÇ

Siğırlarda östrus süresi, ovulasyon zamanı, oositin ve spermatozoonların yaşam süreleri göz önünde bulundurulduğunda suni tohumlamanın başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birinin suni tohumlama zamanı olduğu görülmektedir. Çeşitli nedenlerden dolayı dış östrus belirtilerinin gözlemlendiği zaman aralığının azalması ve östrusun yetiştiriciler tarafından fark edilememesi yardımcı yöntemlerin veya sabit zamanlı suni tohumlama protokollerinin kullanılmasına neden olmaktadır. Bu yöntemler de yetiştiriciler açısından yeni bir maliyet oluşturmaktadır. Tükürük kurutma testleri östrusu belirlemek amacıyla basit ve düşük maliyetle uygulanabilecek yöntemler arasında bulunmaktadır (18). Bu alanda yapılan çalışmalarda bazı araştırmacıların yaptıkları tükürük kurutma testlerinin sonuçlarını ayrıntılı bir şekilde değerlendirdikleri ve bunları çok sayıda gruba ayırdıkları görülmektedir (19,20) Saha koşullarında yöntemin etkin ve pratik kullanımını kolaylaştırmak için kurutma sonrası oluşan ağaçlanma veya eğrelti otu benzeri görüntüler “yok”, “yüzlek” ve “belirgin” olarak 3 gruba ayrılmıştır (21). Elde edilen veriler incelendiğinde östrus döneminde bulunan Holştayn siğırlarda %71.4 oranında “belirgin” görüntü elde edilmiştir. Diöstrusta bulunan siğırlarda bu oran %18.2 olarak bulunmuştur. Yüzlek görünüm ise diöstrustaki siğırlarda %63,6 iken östrus grubunda %14.3 oranında elde edilmiştir. Belirgin görünümün östrustaki Holştayn siğırlarda; yüzlek görünümün diöstrustaki Holştayn siğırlarda anlamlı bir şekilde yüksek olması eğrelti otu görünümünün östrojen varlığında artması, progesteron varlığında ise azalması tespitini desteklemektedir (12,13). Skalova ve ark. (2013) suni tohumlama uygulamasından sonraki 20. ve 29. günler arasında gebe ve gebe olmayan evcil siğırlarda tükürük kristalizasyonu sonucu oluşan desenlerde önemli farklılıklar olduğu dolayısıyla bu yöntemin gebelik teşhisi amacıyla da kullanılabileceğini bildirmişlerdir (19). Araştırmacılar gebe siğırlarda eğrelti otu benzeri görüntülerin muhtemelen progesteron varlığından dolayı baskın olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da diöstrus dönemindeki Holştayn siğırlarda muhtemelen progesteron varlığı ağaçlandırma veya eğrelti otu benzeri oluşumların daha çok yüzlek olarak oluşmasına neden olmuştur. Gnana-muthu ve Rameshkumar (2015) çalışmamızdaki sonuçlara benzer olarak Umblacherry ırkı siğırlarda östrus döngüsü sırasında evcil siğırların tükürük kristalizasyon modelinde meydana gelen bir dizi değişiklik olduğu sonucuna varmıştır. Eğrelti otu deseninin kızgınlık günü boyunca gözlemlendiğini ve kızgınlık döngüsünün diğer günlerinde gözlemlenmediği dolayısıyla Umblacherry ırkı siğırlarda tükürük eğrelti otu

desenleriyle kızgınlık tespitinin mümkün olabileceğini bildirmişlerdir (22). Priya ve ark. (2020) insanlarda yaptıkları çalışmalarında tükürük eğrelti otu deseni ve bazal vücut ısısının birlikte, fertilitite durumunun, gebe kalma şansını artırmak için kullanılabilecek uygun maliyetli bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (20). Çalışmamızda vücut ısıları ölçülmemiş ancak östrus siklusunda östrus dönemi ve diöstrus dönemi arasında tükürükte oluşan desen farklılıklarının östrus teşhisinde kullanılabileceği belirlenmiştir. Surla ve ark. (2021) mandalarda tükürüğün eğrelti otu görünümünün kızgınlığın tespitinde kullanılmasını araştırmış ve çiftlik koşullarındaki mandalar ile halk elinde yetiştirilen mandalarda bu yöntemin kızgınlığı belirlemek için yararlı olduğunu bildirmişlerdir (23). Çalışmamızda da Holştayn ırkı siğırlar için benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Siğırlarda östrus süresi 6-24 saat arasında değişmekle beraber ort. 12-18 saat sürer. Ovulasyon ise östrus bitiminden yaklaşık 10-12 saat sonra şekillenmektedir (24). Bu durum örnek alınma zamanında bazı siğırların östruslarının başında bazılarının ise ileri aşamasında olma ihtimalini meydana getirmektedir. Çalışmamızda östrusta olmasına rağmen az sayıda siğırdan görüntü elde edilememesi veya yüzlek görüntü elde edilmesinin nedeni bu durum olabilir.

Siğırlarda östrustan sonraki 10. günde ovaryumlarda gelişmekte olan foliküllerin yaşı ve büyüklükleri standart değildir. Çünkü siğırların bazılarında 2 dalgalı bazılarında 3 dalgalı foliküler gelişim meydana gelmektedir. İki veya 3 foliküler dalgalı sikluslarda ilk dalga daima ovulasyon günü başlar. İkinci dalga ise; 2 dalgalı sikluslarda 9 veya 10. günlerde, 3 dalgalı sikluslarda ise 8. veya 9. günlerde başlar (2). Siklusun 10. günündeki siğırlarda elde edilen görüntülerdeki farklılığın nedeni ovaryumlarda bulunan foliküllerin gelişmişlik düzeyi olabilir. Çalışmamızda hormon ölçümleri yapılmadığından yüzlek görünüm oluşumu ve östrojen miktarı arasındaki ilişki bilinmemektedir. Ancak 10. günde alınan örneklerde yüzlek görünüm oranının yüksek olması bu dönemde var olan östrojen miktarı ile yüzlek görünüm arasında pozitif bir ilişkinin bulunabilme ihtimalini güçlendirmektedir.

Sonuç olarak Holştayn ırkı siğırlarda diöstrus dönemi ile östrus dönemi ayırımı için tükürük kurutma (kristalizasyon) testlerinin kullanılabileceği ve östrus siklusunun tüm aşamalarını kapsayan daha fazla sayıda siğırdan dahil edildiği, hormon ölçümlerini de içeren yeni çalışmaların faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesine katkıda bulunan Prof. Dr. Ümüt Cirit ve Dr. Öğr. Üyesi Elif Merve Çınar'a teşekkür ederim.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Cirit Ü, Özmen MF, Ak K. (2017). Suni Tohumlamanın Başarısını Etkileyen Faktörler, Sahada Tohumlama Uygulamalarında Sıkça Yapılan Hatalar ve Çözüm Önerileri. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics 3(1),30-43.
2. Cirit Ü, Özmen MF, Nur Z. (2017). Suni Tohumlama Uygulamalarında Karşılaşılan Sorunlar, Çözüm Önerileri ve Sabit Zamanlı Tohumlama. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics 3(1), 1-21.
3. Zoldag L, Kecskemethyl S, Nagy P. (1993). Heat Progesterone Profiles of Bitches with Ovulation Failure. J Reprod Fertl. 1: 562-563.
4. Johnston SD, Olson PN, Root MV. (1994). Clinical Approach to Infertility in Bitches. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal). 9: 2-6.
5. Papanicalou GN (1946). A General Survey of the Vaginal Smear and Its Use in Research and Diagnosis. Am J Obstet Gynecol. 51: 316-328.
6. Garm O, Skjerven O. (1952). Investigation of Cervikal Slim for the Diagnosis of Early Pregnancy and Endocrine Disorders Contingent of Sexual Cycles with Livestock. Nordic. Vet. Medicin. 4: 1098- 1103.
7. Noonan JJ, Schultze AB, Ellington EF. (1975). Changes in Bovine Cervical and Vaginal Mucus During the Estrous Cycle and Early Pregnancy. J Anim Sci. 41: 1084-1089.
8. Peterson DL. (1984). Nasal mucus ferning patterns (Doctoral dissertation, College of Nursing, University of Utah).
9. Pardo-Carmona B, Moyano, MR, Fernandez-Palacios R, Perez-Marin CC. (2010). Saliva Crystallisation as A Means of Determining Optimal Mating Time in Bitches. J Small Anim Pract. 51: 437-442.
10. Golding TR, Brennan NA. (1989). The Basis of Tear Ferning. Clinical and Experimental Optometry. 72: 102- 112.
11. Zondek B, Rozin S. (1954). Cervical Mucus Arborization. Its Use in The Determination of Corpus Luteus Function. Obstet Gynecol. 3: 463-470.
12. Mac Donald RR. (1969). Cyclic Changes in Cervical Mucus. J Obstet Gyn Br Comm. 76: 1090-1099.
13. Linford E. (1974). Cervical Mucus: An Agent or A Barrier to Conception? J Reprod Fertl. 37: 239-250.
14. Roland M. (1971). Can The Fern Test Be Graded? Obstet Gynecol. 37: 792-796.
15. Zondek B. (1959). Arborization of Cervical and Nasal Mucus and Saliva. Obstetrics and Gynecology.13(4): 477-481.
16. Reinhard J, Lacey MJ, Ibarra F, Schroeder FC, Kaib M, Lenz M. (2002). Hydroquinone: A General Phagostimulating Pheromone in Termites. J Chem Ecol. 28: 1-14.
17. Sankar R, Archunan G, Habara Y. (2007). Detection Of Oestrous-Related Odour in Bovine (Bos Taurus) Saliva: Bioassay of Identified Compounds. Animal. 1(9):1321-1327.

18. Kirkman RJ. (1997). Approaches for Incorporating Ovulation Detection Devices and Home Kits Into Learning Nfp - Implications For Service Delivery. Adv Contracept. 13: 269-272.
19. Skalova I, Fedorova T, Brandlova K. (2013). Short Communication Saliva Crystallization in Cattle: New Possibility for Early Pregnancy Diagnosis. Agricultura Tropica et Subtropica. 46(3): 102-104.
20. Priya BS, Pushpaja M, Maruthy KN. (2020). Does the Salivary Fern Pattern Determine Fertile Period in Reproductive Female?. CEGH. 8(3): 698-701.
21. Salmassi A, Schmutzler AG, Püngel F, Schubert M, Alkatout I, Mettler L. (2013). Ovulation Detection in Saliva, Is It Possible. Gynecologic and Obstetric Investigation. 76(3): 171-176.
22. Gnanamuthu G, Rameshkumar K. (2015). Determination of Estrus in Umblachery Cattle (Bos indicus) By Salivary Fern Pattern. History.13(41): 68-78.
23. Surla GN, Hebbar A, Kumar V, et al. (2021). Validation of Salivary Ferning Based Estrus Identification Method in a Large Population of Water Buffaloes (Bubalus bubalis) Using Foldscope. Reprod Biology. 21(3):100528.
24. Sönmez M. (2020). Reprodüksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, s. 117, Elazığ.

✉ Sorumlu Yazar:

Mehmet Ferit ÖZMEN
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Sur, Diyarbakır, TÜRKİYE
E-posta: ferit-ozmen@hotmail.com