

**DONÖR İNEKLERİN BESLEMESİNDE KORUNMUŞ METİYONİN KULLANILMASININ EMBRİYO
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**
**SEARCHING THE EFFECT OF USING PROTECTED METHIONINE ON EMBRYO QUALITY WHILE
FEEDING DONOR COWS**

Kurtuluş GÖK¹, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ²

¹Kayseri İl Tarım, Gıda ve Hayvancılık Müdürlüğü, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD, Kayseri

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, donör ineklerin beslenmesinde rumende korunmuş metiyonin katkısının embriyo kalitesine etkisini araştırmaktır. Çalışmada 14 adet Holştayn ırkı inek kontrol ve deneme grubu olarak ikiye ayrıldı. Donör olarak kullanılan ineklerin canlı ağırlık (500-550 kg), laktasyon dönemi (1-2 laktasyon) ve süt verimi (günlük 30-35 litre) gibi özellikleri benzerdir. Çalışmada alıcı olarak ise 56 tane Holştayn inek kullanıldı (ortalama 550 kg canlı ağırlığında ve 1. laktasyonda). Hayvanlar mısır silajı, yonca kuru otu, saman ve konsantre yemden oluşan bazal rasyon ile beslendi. Deneme grubunda bulunan ineklere deneme süresince kontrol rasyonuna ilave olarak her hayvan için 15 gram/gün korunmuş metiyonin oral yolla verildi. Kontrol ve deneme grubu 20 gün süreyle yukarıda bahsedilen rasyon ile beslendikten sonra "Süperovulasyon Protokolü" uygulamalarına başlandı. Süperovulasyon Protokolü uygulamaları esnasında besleme programında değişiklik yapılmadı. FSH hormonu enjeksiyonu yapılmadan ve uterusu yıkamaya başlamadan önce korpus luteum (Cl) sayısı, yoğunluğu ve çapı ultrason yardımı ile belirlendi. Araştırmanın sonucunda, süperovulasyon sonrası Cl sayısı bakımından gruplar arasında bir farklılığın olmadığı tespit edildi (P>0.05). Embriyolar uterus yıkaması yapılarak toplandı. Bulunan embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırıldı. Gruplar arasında bir farklılık görülmedi (P>0.05). Bulunan embriyolar taşıyıcı hayvanlara transfer edildi. Embriyo transferinden sonra 50. gün de gebelik kontrolleri ultrason ile yapıldı. Gebelik oranı, kontrol ve deneme grubu arasında herhangi bir farklılık göstermedi (P>0.05).

Sonuç olarak, korunmuş metiyoninin toplam embriyo, transfer edilebilen ve edilemeyen embriyo, gebelik ve fertilize olmamış ovum sayıları ve oranları arasında istatistiki bakımından etkisi önemli bulunmadı.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of ruminally protected methionine on embryo quality of donor cows. In this study, a total of 14 Holstein cows were randomly allocated into two groups, one control and one treatment group. The properties of donor cows such as average weight (500-550 kg), lactation period (1-2 lactation), milk production (between 30-35 kg milk/day). Were similar a total of 56 Holstein cows were used as recipient animals (average 550 kg live weight, 1st lactation). Feed with a basal ration was composed of corn silage, alfalfa hay, straw and a concentrate mix. The duration of the study 15 grams/day protected methionine was given orally as an addition to a control ration to the cows in the treatment group. Control and treatment group were fed through 20 days as it was mentioned before. Then, 'Superovulation Protocol' applications were started. During the application of Superovulation Protocol, no change was made in the feeding programme. Before injecting FSH and washing uterus, the numbers of corpus luteum, density of corpus luteum and diameter of corpus luteum (Cl) were determined by ultrasonography. As a result of the research, after the Superovulation, it was seen that there was no difference between the groups in terms of the Cl numbers (P>0.05). Embryos were picked up by flushing the uterus. Found embryos were classified according to their quality and development phase. There was no statistically significant difference between the groups (P>0.05). After the embryos which were found were transferred to the recipient cows, pregnancy control was performed by ultrasound controls in 50th day. No statistically significant difference was detected in pregnancy rates between the control and treated group (P>0.05).

In conclusion, there was not found any statistically significant difference between groups in terms of the number of total embryos, number of transferable embryos and not transferable embryos, pregnancy rate and number of unfertilized ovum.

Anahtar kelimeler: Besleme, Üreme, Genetik, Korunmuş Metiyonin, Embriyo Transferi

Keyword: Feeding, Breeding, Genetics, Protected Methionine, Embryo Transferring

Makale Geliş Tarihi : 07.03.2017

Makale Kabul Tarihi: 11.07.2017

Corresponding Author: Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fak.Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD.Melikgazi/ Kayseri
E-mail berrinkg@hotmail.com

GİRİŞ

Embriyo transferi, yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip damızlıklardan (donör) daha fazla yavru elde edilmesi ve genetik ilerlemenin hızlanmasında değerli bir araç olarak görülmektedir. Embriyo transferinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri de Çoklu Yumurtlatma ve Embriyo Transferi (MOET) tekniğidir (1). Bu tekniğin uygulandığı donör ineklerden alınan transfer edilebilir kalitedeki embriyo sayısı, bu embriyoların nakledildikleri uterusu yaşamını sürdürmesi ve gebelik sürecinin buzağı doğumuyla tamamlanması, birçok faktör (canlı ağırlık, laktasyon sayısı, süt verimi, vücut kondüsyon skoru, mevsim gibi) tarafından etkilenmektedir. Beslenme de bu faktörler arasında ilk sırada yer almaktadır (2,3). Oosit olgunlaşması, fertilizasyon ve implantasyondan önceki dönemde embriyo gelişimi ve gebelik oluşum süreçleri gerekli olan spesifik besin maddelerinin temini ile bu süreçlerde etkili olan hormonların ve metabolitlerinin konsantrasyonları üzerindeki etkisi nedeni ile beslenme hem doğrudan hem de dolaylı olarak fertilitate etkilemektedir (4). Yüksek düzeyde ham protein içeren rasyonların erken laktasyon döneminde yüksek süt üretimini uyandırırken, fertilitenin azalmasına yol açtığı, özellikle rumende yıkılabilir protein oranının fazla olmasının negatif enerji dengesini şiddetlendirerek veya uterus ortamında pH'nın artmasına yol açarak fertilitate problemlerini artırdığı kaydedilmiştir (5,6). Protein düzeyinin eksikliği veya fazlalığı yanında metiyonin gibi sınırlayıcı bazı aminoasitlerin de döl verimi üzerinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (7). Polipeptidler için bir ön madde olarak işlev gören metiyoninin embriyo üzerine etkisi, antioksidan özelliği ve DNA metilasyonunu etkilemesine bağlanmaktadır (8). Embriyo gelişiminde metiyoninin etkisinin belirlenmesine yönelik ilk çalışmayı yapan Coelho ve ark. (9) rat serumunda normal gelişimini (ilk 9 gün) tamamlayan embriyonun sığır serumunda yeterince gelişemediğini, sığır serumuna metiyonin ilave edildiğinde ise embriyo gelişiminin normal olduğunu kaydedilmişlerdir. Daha sonra Ikeda ve ark. (10), sığır embriyo kültürüne metiyonin veya metiyoninin antimetaboliti olan etiyonin ilave ettikleri çalışmada, ortamda etiyonin bulunmasının embriyonun blastosit aşamasında gelişimini inhibe ettiğini, S-adenosylmethionine ilavesinin bu aşamada aksayan embriyo gelişimini kısmen düzelttiğini kaydetmişlerdir. Bundan dolayı embriyonun morula aşamasından blastosit aşamasına gelişimi için metiyoninin esansiyel rol oynadığı ve bununla DNA metilasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Öte yandan Bonilla ve ark. (11) fertilizasyondan sonraki ilk bir haftada embriyonun morfolojik olarak normal gelişimi için ihtiyaç duyulan metiyonin miktarının yüksek olmadığını (14-21 µM/l arasında), ihtiyaç duyulan miktarın reproduktif kanalda bulunan metiyonin konsantrasyonuna benzer veya daha düşük olduğunu ve metiyonin eksikliğinin erken dönem embriyo ölümlerinin sebebi olamayacağını kaydetmişlerdir. Bu çalışmada donör ineklere rasyondakine ilave rumende korunmuş metiyonin verilmesinin, süperovulasyon protokolü ile elde edilen embriyoların kaliteleri ve taşıyıcı ineklerde gebelik oranı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, laktasyonun başında, benzer laktasyon sayı-

sında (1.-2.), benzer süt veriminde (yaklaşık ≥ 35 kg/günlük), benzer canlı ağırlıkta (500-550 kg) ve benzer Vücut Kondisyon Skoru (VKS)'na (3.0-3.5) sahip toplam 14 baş Holştayn inek donör ve 56 baş Holştayn inek (500-550 kg CA, 1. laktasyonda) taşıyıcı olarak kullanıldı. Donör hayvanlar, biri kontrol grubu ve diğeri deneme grubu olmak üzere her birinde yedi baş inek bulunan iki gruba ayrıldı.

Her hayvan için (canlı ağırlık, süt verimi, süt yağı, VKS dikkate alınarak) gerekli kuru madde tüketimi ve besin madde gereksinimi hesaplandı. Çalışmada kontrol ve deneme grubu hayvanlarının beslenmesinde yaklaşık %40 konsantre yem ve %60 kaba yem içeren Toplam Karma Rasyon (TMR: Total Mixed Ration) kullanıldı. TMR de kaba yem olarak; mısır silajı, yonca kuru otu ve saman, konsantre yem olarak; ise süt karma yemi (HP %17.5, ME 2750) ve arpa kullanıldı.

Her bir hayvan için hesaplanan günlük yem miktarı (TMR) hayvanlara iki öğünde (sabah 8:30 ve öğleden sonra 15:00 de) eşit miktarlarda verildi. Korunmuş metiyonin kullanımının etkisinin araştırıldığı deneme grubunda bulunan ineklere deneme ve süperovulasyon süresince (toplamda 50 gün) kontrol rasyonuna ilave olarak her hayvan için 15 gram/gün korunmuş metiyonin ağızdan verildi. Süt ineklerinin metiyonin ihtiyacının metabolik proteinin (MP) % 2,5'i kadar olması gerektiği bildirilmektedir (12). Çalışmada kullanılan rasyonun metabolik proteindeki oranı %2.4 olarak hesaplandı.

Kullanılan korunmuş metiyonin dozu daha önce yapılan çalışmalar incelenerek belirlendi (13). Korunmuş metiyonin ticari bir firmadan temin edildi (Smartamine M™, Adisseo, Antony, France).

Süperovulasyon Protokolü ve Embriyo Transferi

Kontrol ve deneme grubunda bulunan donör inekler 10 günlük bir alıştırma döneminden sonra 20 gün süre ile yukarıda içeriği belirtilen rasyonla beslendi. Çalışmanın 30. gününden sonra süperovulasyon protokolü uygulamalarına başlandı. Süperovulasyon protokolü uygulamaları esasında besleme programında değişiklik yapılmadı. Uygulamanın başında (0. gün) foliküler gelişimin senkronizasyonu amacıyla donörlere kontrollü ilaç salınımı yapan CIDR (5 mg östradiol (E) 17β + 100 mg) progesteron uygulaması yapıldı. Bu uygulamadan 7-8 gün sonra günde iki kez (12 saat ara ile sabah ve akşam) olmak üzere dört gün süreyle azalan dozlarda (80:80 mg, 60:60 mg, 40:30 mg, 30:20 mg) toplam 400 mg FSH kas içi uygulandı. FSH uygulamasının 3. ve 4. günü var olan corpus luteum'un regresyonu ve ovulasyonun sağlanması amacıyla iki kez PGF2α (500 µg Cloprostenol Estrumate) enjeksiyonu yapıldı. FSH uygulamasının üçüncü günü akşamı ilaç CIDR (progesteron) çıkarıldı. FSH uygulamasından sonra östrus gösteren hayvanlar, takip eden 12, 24 ve 48. saatlerde üç kez olmak üzere 0,25 ml payetlerle tohumlandı. Tohumlama sırasında ultrasonla foliküller takip edilecek bu hayvanlara 2 ve 3. tohumlamayla beraber GnRH enjeksiyonuyapıldı. Tohumlamayı takip eden 7. veya 8. günde uterus yıkaması yapıldı. Steril şişede toplanan sıvı, filtrasyon amacıyla 70 µm genişliğinde gözenekleri olan filtreler (EMCON filtre) kullanılarak süzülüp üç adet petri içerisine alındı. Isıtımlı stereo mikroskoplar ile embriyo taramaları yapıldı. Bulunan embriyolar kültür mediumuna aktarılarak %5 CO₂ ve 38.5°C sıcaklıkta-

ki inkubatörde bekletildi. Blastosist aşamasındaki embriyolar kalitelerine göre mükemmel, iyi, vasat ve zayıf olarak değerlendirildi. Ayrıca fertilize olmamış (UFO) ve dejenere olmuş embriyolar da tespit edildi. Embriyo değerlendirmesi sonucunda mükemmel ve iyi kalitedeki embriyolar ayrı bir petriye alındı ve payetlere konularak nakil için hazırlandı. Embriyonun transfer edileceği uterus ortamının embriyonun gereksinimlerine cevap verebilmesi ve implantasyonun gerçekleşmesini sağlaması için senkronize edilen ve östrus sikluslarının 7-8. günlerinde bulunan taşıyıcı ineklere transfer edildi. Embryo transferi yapılan ineklerde gebelik kontrolleri 50. günde ultrason marifeti ile yapıldı (14). Denemede kullanılan yem hammaddeleri ve TMR'de kuru madde, HP, HY ve HS analizleri AOAC (15), ADF, NDF ve ADL analizleri Van Soest ve ark. (16) tarafından bildirilen metotlar doğrultusunda yapıldı.

Tablo I: Denemede kullanılan yemlerin besin madde bileşimleri

Yemler	KM, %	HP, %	HY, %	HS, %	NDF, %	ADF, %	ADL, %
TMR	45.32	14.8	1.75	27.81	56.32	34.03	6.18
Yonca kuru otu	93.03	17.54	1.86	25.55	45.74	33,84	13.57
Mısır silajı	24.37	8.05	2.63	29.46	60.91	38.63	4.42
Arpa	91.96	12.96	2.5	4.95	21.20	7.85	-
Konsantre yem	93.66	17.29	6.88	8.99	24.55	15.83	6.18
Saman	92.87	3.63	1.77	45.53	84.9	55.50	15.07

(TMR: Toplam karma rasyon, KM: Kuru madde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham selüloz, NDF: Nötral deterjan fiber ADF: Asit deterjan fiber, ADL: Asit deterjanlignin)



Fotograf I: Superovulasyon sonrası metiyonin grubu ovumun ultrason görüntüleri



Fotograf II: Superovulasyon sonrası kontrol grubu ovumun ultrason görüntüleri

Denemede Cl sayısı bakımından kontrol ve metiyonin grubu arasında önemli bir farklılık olmamakla birlikte ($P>0.05$), kontrol grubunda daha fazla Cl belirlenmiştir (Tablo II). Metiyonin verilen grupta, Cl sayısının kontrol grubundan az olmasına rağmen elde edilen embriyo

kazanma oranı (%59.6) rakamsal olarak kontrol grubundan (%47.4) daha yüksek bulundu (Tablo II ve III). Çalışmada, metiyoninin transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranına istatistiki anlamda önemli bir etkisi bulunmadı ($P>0.05$). Ancak kontrol grubunda transfer edile-

Tablo II: Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin CL sayısı, embriyo kazanma oranı, transfer edilebilir ve transfer edilemeyen embriyo oranı, UFO oranı ve gebelik oranına etkisi

GRUP	CL sayısı Ort±SH	Embriyo kazanma oranı %	Transfer edilebilir embriyo oranı %	Transfer edilmeyen embriyo oranı %	UFO oranı %	Gebelik oranı %
Kontrol	8.14±1.530	47.4 (27/57)	50.0(9/18)	50.0(9/18)	33.3(9/27)	44.4(4/9)
Metiyonin	6.71±0.918	59.6 (28/47)	55.0(11/20)	45.0(9/20)	28.6(8/28)	36.4(4/11)
P değeri	0.445	0.215	0.758	0.758	0.702	0.714

(CL: Corpus Luteum, UFO: Fertilize olmamış ovum, SH: Standart hata)

Tablo III: Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin elde edilen toplam embriyo sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Elde edilen embriyo sayısı ve oranı	27/57 (%47.37)	28/47 (%59.57)	55
Elde edilemeyen embriyo sayısı ve oranı	30/57 (% 52.63)	19/47 (% 40.43)	49
Toplam	57	47	104

$\chi^2 = 1.540$

$P = 0.215$

bilir embriyo oranı %50 iken metiyonin grubunda % 55 olarak belirlendi (Tablo IV). Kontrol grubunda her bir inek için UFO sayısı 1.29, UFO oranı %33.3, metiyonin grubunda ise UFO sayısı 1.4 ve UFO oranı % 26.8 olarak bulundu (Tablo V).

Metiyonin UFO sayısının azalmasına neden olduysa da, bu azalma istatistiki olarak önemli değildi ($P>0.05$).

Kontrol grubunda donörlerden elde edilen embriyolardan kaliteli olan dokuz embriyonun transfer edildiği taşıyıcı ineklerden dört tanesi gebe kaldı ve gebelik oranı %44.4 olarak belirlendi. Metiyonin grubunda ise 11

sağlayan kimyasal bir reaksiyon olup epigenetik mekanizmanın en iyi bilinenidir. Gen aktivasyonu, baskılanması ve kromatin şekillenmesi gibi epigenetik olayları yani gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlamaktadır (19). Anormal DNA metilasyonunun, DNA kırıkları ve kromozom segregasyonunda kusurlarla sonuçlandığı kaydedilmiştir. DNA'nın metilasyonu "metil transferaz" olarak adlandırılan trans etkili enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bilinen tüm DNA metil transferaz enzimleri metil grubu vericisi olarak S-adenosilmetiyonin (SAM) molekülünü kullanır. SAM

Tablo IV: Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin transfer edilebilen ve edilemeyen embriyo sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranı	9 (% 50.00)	11 (% 55.00)	20
Transfer edilemeyen embriyo sayısı ve oranı	9 (% 50.00)	9 (% 45.00)	18
Toplam	18	20	38

$$\chi^2 = 0.095 \quad P = 0.758$$

Tablo V: Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin UFO oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
UFO sayısı ve oranı	9 (% 33.33)	8 (% 28.57)	17 (% 28.57)
Toplam	9	8	17

$$\chi^2 = 0.146 \quad P = 0.702$$

adet embriyo transfer edildi ve dört adet gebelik belirlendi. Metiyonin grubunda gebelik oranı da % 36.4 ile kontrol grubundan daha düşük olsa bile gruplar arası farklılık önemli bulunmadı ($P>0.05$) (Tablo VI).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Özellikle yüksek verimli süt ineklerinde sınırlayıcı aminoasitlerden bir olan metiyonin fosfolipidler, karnitin, kreatin ve poliaminler gibi pek çok bileşiğin sentezinde rol almaktadır. Metiyoninin türevi S-adenosilmetiyonin

hücrelerde metiyoninadenosiltransferaz enzimi katalizöründe metiyonin üzerinden sentez edilir (20). Donörlerin beslenmesinin fetal genomlarda DNA metilasyonu gibi epigenetik değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir. Donör ineklerin metiyoninle beslenmesinin preimplantasyon embriyoların transkriptom (DNA, RNA) yapısında kayda değer değişikliklere neden olduğunu ancak metiyonin alan ve almayan hayvanlardan elde edilen embriyoların morfolojik görünümünün aynı puana sahip olmasına rağmen transkriptome farklı

Tablo VI: Donör hayvanlara metiyonin verilmesinin gebelik sayısı ve oranına etkisi

	Kontrol grubu	Metiyonin grubu	Toplam
Gebe kalan inek sayısı ve oranı	4 (% 44.44)	4 (% 36.36)	8
Gebe kalmayan inek sayısı ve oranı	5 (% 55.56)	7 (% 64.64)	12
Toplam	9	11	20

$$\chi^2 = 0.135 \quad P = 0.714$$

de enzimatik reaksiyonlarda metil grubu vericisidir. Buradan hareketle metiyoninin döl verimi üzerine etkisinin araştırıldığı son çalışmalarda, metiyoninin DNA metilasyonu üzerinden embriyo kalitesini etkilediği kaydedilmiştir (18). Metilasyon, biyolojik sistemlerde, genomun normal olarak düzenlenmesini ve gelişmesini

gösterdiğini bildirmişlerdir (8).

Metiyonin katılan ve katılmayan yemlerle beslenen ineklerden elde edilen Cl sayısının benzer olduğunu (21) bildiren çalışma sonucu ile paralel olarak denemede de donör ineklere rumende korunmuş metiyonin verilmesinin ovaryumlarda belirlenen folikül ve Cl sayısı

bakımından önemli bir farklılığa neden olmadığı belirlendi. Öte yandan Alonso ve ark. (13) ise korunmuş metiyonin katkısının *Bos indicus* düvelerin üreme performansına olan etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, üre+melas içeren rasyonlara metiyonin ilavesinin ovaryum aktivitesini ve foliküler dinamiği iyileştirdiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, 45 gün boyunca günde 10 g korunmuş metiyonin katkısı yapılan grupta Cl'lu düvelerin oranı %40 iken katkı yapılmayan grupta % 18.7 olarak bulunmuştur.

Denemede elde edilen toplam embriyo sayısı kontrol ve deneme grubunda sırası ile 2.57 ve 2.56 olarak belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde bir yıkamada elde edilen embriyo sayısının 4-11 arasında değiştiği görülmektedir (22). Çalışmada superovulasyona cevabın ve elde edilen embriyo sayısının daha önce yapılan çalışma sonuçlarından daha düşük olması, hayvanların yüksek süt verimine sahip olmasına bağlanmıştır (23-26). Çalışmada kullanılan hayvanların yaşı (düve olması) ve süperovulasyon sayısı da elde edilen cevabın düşük olmasının sebeplerinden olabilir. Tekrarlanan süperovulasyon ile ilgili çalışmalarda ineklerde 1. süperovulasyonda elde edilen transfer edilebilir kalite embriyo sayısı 2.50 iken, 5. süperovulasyonda elde edilen embriyo sayısının 6.00 olduğu saptanmıştır (22).

Çalışmada toplam embriyo sayısı, transfer edilebilir embriyo sayısı ve oranı ile transfer edilemeyen embriyo sayısı ve oranı bakımından korunmuş metiyonin verilen ve verilmeyen inekler arasında önemli bir farklılık bulunmaması Souza ve ark. (21)'nin çalışma bulgularını desteklemektedir. Souza ve ark. (21)'de transfer edilebilir embriyo oranının metiyonin grubunda %56.3 kontrol grubunda %62.5 olduğunu fakat gruplar arası farkın önemli olmadığını saptamışlardır. Acosta ve ark. (27)'de rumende korunmuş metiyonin katkısının ineklerde CL sayısı, embriyo sayısı ve kalitesine önemli bir etkisinin olmadığını ancak embriyo metilasyonu ve lipid miktarını etkilediğini kaydetmişlerdir.

Denemede kontrol ve metiyonin grubunda transfer edilebilir embriyo oranının %50 ve % 55 olarak belirlenmesi literatür bulguları ile uyumludur. Ayaşan ve ark. (23)'de süt veriminin embriyo kalitesine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, transfer edilebilir embriyo oranının farklı süt verimine sahip gruplarda %51.09- 68.64 arasında değerler aldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmada kontrol grubu ve deneme grubu donörlerden elde edilen embriyoların transfer edildiği alıcı ineklerde gebelik oranları bakımından önemli bir farklılık tespit edilmemekle birlikte, gebelik oranları kontrol grubunda (% 44.44) metiyonin grubundan (%36.36) daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada da korunmuş metiyonin takviyesinin gebelik kaybını azaltma eğiliminde olmadığı tespit edilmiştir (28).

Kontrol grubunda her bir inek için UFO sayısı 1.29, UFO oranı %33.3, metiyonin grubunda ise UFO sayısı 1.4 ve UFO oranı % 26.8 bulunmuştur. Döner ineklere ilave metiyonin verilmesi UFO sayısının azalmasına neden olduysa da, bu azalma istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma bulguları donör ineklerin rumende korunmuş metiyonin ile beslenmesinin Cl ve folikül sayısı ile büyüklüğünü, toplam embriyo sayısını, transfer edilebilir embriyo sayısını ve gebelik oranını etkilemediği göstermiştir. Ancak donör ineklerin bes-

lenmesinde metiyonin ve diğer spesifik besin maddelerinin embriyo kalitesine ve embriyo transferinde başarı oranına etkisi tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olup bu konuda daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Smith C. Applications of embryo transfer in animal breeding. *Theriogenology* 1988; 29(1):203-212.
2. Santos JEP, Cerri RLA, Sartori R. Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology* 2008; 69(1):88-97.
3. Ayaşan T, Karakozak E. Donör ineklerin beslenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010; 16(3):523-530.
4. Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JA, Mitchell LM, McEvoy TG. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology* 2006; 126(3):259-276.
5. Ferguson JD, Chalupa W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1989; 72(3):746-766.
6. Butler WR. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1998; 81(9):2533-2539.
7. Nikkah A, Kianzad D, Hajhosseini A, Zaybeyk A. Protected methionine prolonged provision summer production and reproduction of lactating dairy cows. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 16(12):558-563, 2013 ISSN 1028-880 / DOI:10.3923/pjbs.2013.558.563.
8. Penagaricano F, Souza AH, Carvalho PD, et al. Effect of maternal methionine supplementation on the transcriptome of bovine preimplantation embryos. *PloS one* 2013; 8(8): e72302.
9. Coelho CN, Klein NW. Methionine and neural tube closure in cultured rat embryos: morphological and biochemical analyses. *Teratology* 1990; 42 (4):437-451.
10. Ikeda S, Sugimoto M, Kume S. Importance of methionine metabolism in morula- to-blastocyst transition in bovine preimplantation embryos. *Journal of Reproductive and Development* 2012; 58(1):91-97.
11. Bonilla L, Luchini D, Devillard E, Hansen PJ. Methionine Requirements for the Preimplantation Bovine Embryo *Journal of Reproduction and Development* 2010; 56(5):527-532.
12. Rulquin H, Pisulewski PM, Verite R, Gunard J. Milk production and composition as a function of post-ruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. *Livestock Production Science* 1993; 37:69-90.
13. Alonso M, Maquivar M, Galina CS, et al. Effect of ruminally protected methionine on the productive and reproductive performance of grazing *Bos indicus* heifers raised in the humid tropics of Costa Rica. *Tropical Animal Health And Production* 2008; 40(8):667-672.
14. Gök K. Türkiyede Embriyo Transferinin Önemi-2. *Tarım ve Teknik Dergisi Kayseri* 2015; 2(4):56-59.
15. AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed., Inc., Arlington, Virginia 1984.

16. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 1991; 74(10):3583-3597.
17. Minitab Release 14, Statistical Software, Minitab Inc, USA 2004.
18. Wiltbank MC, Garcia-Guerra A, Carvalho PD, et al. Effects of energy and protein nutrition in the dam on embryonic development. *Animal Reproduction* 2014; 11(3):168-182.
19. İzmirli M, Tufan T, Alptekin D. DNA metilasyonu. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2012; 21(4):274-282.
20. Dikmen M. Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enziminin moleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5(2):9-16.
21. Souza AH, Carvalho PD, Dresch AR, et al. Effect of methionine supplementation during postpartum period in dairy cows II: embryo quality. *Theriogenology* 2016; 85(9):1669-1679.
22. Hızlı H, Ayaşan T, Kılıçalp N, ve ark. Verici inek ve düvelerde tekrarlı superovulasyonların embriyo kalitesi üzerine etkisi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012; 23(1):11-14.
23. Ayaşan T, Hızlı H, Çamlıdağ A, Kara U, Gök K, ve ark. The determination of relationship between milk production and the quality of embryo of donor cows. *Indian Journal of Animal Sciences* 2011; 81(9):912-914.
24. Hussein MM, Aziz RA, Abdel-Wahab A, El-Said H. Preliminary study of factors affecting the superovulatory response of high producing dairy cows super stimulate dregardless of thestage of estrouscycle in Egypt. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 2014; 3(4):286-292.
25. Novotny F, Lazar G, Valocky I, et al. Relation ship between milk production in donor cows and the yield and quality of embryos. *Bullet Veterinary Institute Pulawy* 2005; 49:303-305.
26. Nebel RL, Mc-Gilliard ML. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993; 76(10):3257-3268.
27. Acosta DAV, Denicol AC, Skenendore C, et al. Effect of methionine supplementation on methylation and lipid accumulation of the preimplantation embryo in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2014; 97:9-25.
28. Toledo MZ, Baez GM, Garcia-Guerra A, et al. Effect of Supplementation with Rumenprotected Methionine on Reproduction in Lactating Dairy Cows *Dairy Science Showcase* 2015; Nov 3:1-27.