



Koyunlarda Koç Katımı Öncesi Antioksidan Kullanımının Oksidatif Stres ve Bazı Fertilité Parametreleri Üzerine Etkisi

Yasemin KAPLAN BİLMEZ^{1,a,✉}, Nihat ÖZYURLU^{2,b}

¹GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, Diyarbakır, TÜRKİYE

²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-3071-4130; ^bORCID: 0000-0001-8115-2222

Geliş Tarihi/Received
21.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
05.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Bu çalışma, üreme sezonunun olduğu yaz mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde kalan koyunlarda, koç katımı öncesinden verilen antioksidanların (A, D, E ve Se) oksidatif stres ve fertilité parametreleri üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapıldı. Çalışma 71 baş Zom koyunu üzerinde yürütüldü. Koyunlar koç katımından 2 ay öncesinden antioksidan verilen çalışma grubu (Grup I; n=36) ve verilmeyen kontrol grubu (Grup II; n=35) olmak üzere ikiye ayrıldı. Tüm hayvanlardan, total antioksidan statüsü (TAS) ve total oksidan statüsü (TOS) düzeyleri için koç katımından 2 ay önce, 1 ay önce ve koç katım anında, malondialdehit (MDA) için koç katımı sonrası 16. ve 24. günlerde kan örnekleri toplandı. Çalışma süresince bölgenin sıcaklık verileri ve sıcaklık nem indeksi değerleri kaydedildi. Meteorolojik verilere göre koç katımı anında hayvanların sıcaklık etkisiyle, özellikle temmuz ve ağustos aylarında, öğlen saatlerinden akşam saatlerine kadar Sıcaklık Nem İndeksi (SNI)'nin yüksek etkisine maruz kaldığı belirlendi. Yapılan antioksidan uygulamalarının; Grup I ve Grup II'nin aynı günlerdeki oksidatif stres parametreleri sonuçlarını istatistiksel olarak değiştirmedeği görüldü ($P>0.05$) Ancak her iki grubun farklı günlerinde anlamlı bulunan değerler elde edildi ($p<0.05$). Fertilité parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ($P>0.05$). Ancak, ikizlik oranının Grup I'de (%30), kontrol grubuna göre (%10,5) yaklaşık üç kat fazla çıktığı tespit edildi. Gruplar arasında aynı günlerde alınan örneklerin sonuçları arasında oksidatif stres parametreleri açısından herhangi bir fark bulunamadı. Ancak antioksidan uygulamasının ikizlik oranına olumlu bir etkisinin olduğu görüldü. Meteorolojik veriler dikkate alındığında hayvanların üreme mevsimi boyunca sıcaklık stresine maruz kaldıkları görüldü. Sonuç olarak, yazın sıcaklık stresinin olumsuz etkilerine karşı koruyucu önlemler alınmasının ve antioksidan uygulamalarının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, dölverimi, koyun, sıcaklık stresi

The Effect of Using Antioxidant on Oxidative Stress and Some Fertility Parameters in Sheep Before Ram Introduction

Abstract

This study was carried out in order to determine using effects of antioxidants (A, D, E and Se) administration before ram introduction on the oxidative stress and fertility parameters in sheep under the effect of heat stress in the summer season during the breeding season. The study was conducted on 71 Zom sheep. The sheep were divided into two groups as the study group (Group I; n=36), which was given antioxidants 2 months before the ram introduction and control group (Group II; n=35) not given. Blood samples were collected from animals in all animals 2 months before, 1 month before and at the time of ram introduction for TAS and TOS levels, and at 16 and 24 days after ram introduction for MDA. The temperature data and temperature-humidity index values of the region were recorded during the study. According to the meteorological data, animals were exposed to the high effect of THI from noon to evening hours, especially in July and August, with the effect of temperature during ramming. It was observed that antioxidant applications did not statistically change the results of oxidative stress parameters in group I and group II on the same days ($P>0.05$). However, significant values were obtained in terms of TAS, TOS and OSI on different days of both groups ($p<0.05$). There was no difference between the groups in terms of fertility parameters in the study ($P>0.05$). However, the twinning rate was found to be approximately three times higher in Group I (30%) compared to the control group (10.5%). No difference was found between the results of the samples taken on the same days between the groups in terms of oxidative stress parameters. However, it was observed that antioxidant application had a positive effect on twinning rate. According to meteorological data animals were exposed to heat stress during the breeding season. In conclusion, taking protective measures against the negative effects of heat stress in summer and antioxidant applications will be beneficial.

Key Words: Antioxidant, fertility, heat stress, sheep

GİRİŞ

Koyunculuk hem ekonomik hem de sosyo-politik yönleriyle önem arz eden bir hayvancılık dalıdır. Yüksek fertilité kapasitesine sahip olmaları, verime geçiş aralığının uzun olmaması,

daha düşük sermaye ile yürütülebilmesi ve düşük yatırım giderleri gibi avantajlar koyun yetiştiriciliğinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (1). Koyunlarda verimliliği etkileyen en önemli faktörlerin başında beslenme yetersizlikleri ve sıcak iklimlerde meraya dayalı beslenme şeklinde oluşan verim kayıpları gelmektedir (2). Yüksek çevre ısı ile nispi nem

oranı hayvanda stres oluşturan önemli faktörlerdendir (3,4). Özellikle sıcak yaz aylarında kritik seviyelerin aşıldığı bölgelerde gerek beslenme yetersizliği gerekse sıcaklık stresi hayvanların et, süt ve fertilitte verimlerinde azalmalara sebep olmaktadır. Bu da yem tüketiminin azalması ve artan stres ile oluşan oksidatif dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır (3,5). Oksidatif stres hücrenel veya bireysel düzeyde oksidan ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine oluşan dengelessizlik olarak tanımlanır (6). Oksidatif stres, hayvanlarda erken embriyonik ölümler, sepsis, periparturient ve postpartum hastalıklar, luteolizis, follikül gelişim bozukluğu, metabolik hastalıklar ve mastitis gibi problemlere neden olarak çiftlik hayvanlarında önemli verim kayıplarına yol açmaktadır (7,8). Öte yandan, sıcaklık stresi durumunda yem tüketiminin azalması ile enerji dengesi olumsuz yönde etkilendiğinden hayvanlarda insülin, glikoz ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) seviyelerinde azalma olur. Bunun yanında gonadotropin salıverici hormon (GnRH), follikül uyarıcı hormon (FSH), luteinleştirici hormon (LH), progesteron ve östrojen hormonlarının salınım ve sentezinde sorunlar yaşanır. Sıcaklık stresinin etkisiyle; follikül gelişiminde gecikme, oosit kalitesinde azalma, ovulasyonda gecikme veya ovulasyonun şekillenmemesi, embriyonun implantasyonunda başarısızlıklar, embriyonik ölümler ve düşük canlı ağırlığa sahip yavrular, gebelik oranında azalma, östrüs siklusunda aksamalar ve östrüs tespitinde güçlükler, anöstrüs ve uygun olmayan uterus ortamı gibi fertilitte ile direkt ilişkili olumsuzluklar görülmektedir (3,4,9). Bu amaçla, sıcaklık stresinin neden olduğu olumsuz etkileri azaltmak için; bakım ve beslenme koşullarının düzeltilmesi, azalan yem tüketimi kaybının önüne geçilmesi, dengeli rasyon, yem katkı maddeleri ilavesi, antioksidan uygulamaları, serinletme, gölgeleme, genetik seleksiyon, hormon kullanımı ve üremenin denetlenmesi gibi uygulamalar yapılmaktadır (4,5,10,11). Antioksidan olarak da bilinen vitamin, mineral ve iz elementler oksidatif stresin engellenmesi, metabolizmanın düzenlenmesi ve fertilitte verilerinin iyileştirilmesinde önemli rollere sahiptirler (12-14). Antioksidanlar vücuttaki serbest radikallerin hücrelere hem hasar vermesini engeller hem de serbest radikallerin vücuttan temizlenmesine yardım eder (15-17). Organizmada belli bir seviyede üretilen oksidan molekülleri etkisiz hale getiren antioksidanlar; vücutta aşırı miktarda üretilen serbest radikalleri hem azaltarak hem de endojen antioksidan savunma sistemini serbest radikallere karşı uyararak etkinlik göstermektedir. Bazı durumlarda vücuttaki antioksidan seviyesi yeterli gelmediğinden eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulur (16,18). Ayrıca, eksojen antioksidan maddeler, endojen antioksidan maddelerin üretiminde ve yapısında yer aldıklarından antioksidan savunma sistemi için çok önemlidirler (19). Oksidatif stres çalışmalarında, organizma veya çevresel faktörlerden kaynaklı ortaya çıkan oksidanların belirteci olarak total oksidan seviyesine (TOS), vücudun oksidanlara karşı olan antioksidan kapasitesi açısından total antioksidan seviye (TAS) düzeyine bakılmaktadır (20,21). Ayrıca, hücrelerde lipid peroksidasyon sonucu ortaya çıkan malondialdehit (MDA) de hasarın bir göstergesi ve oksidatif stresin bir belirteci olarak değerlendirilmektedir (22).

Koyunlarda çevre sıcaklığı 25-30 °C'nin üzerine çıktığında olumsuz etkiler oluşmaya başlar. Çalışmanın yapıldığı

bölgede üreme sezonuna girişin olduğu yaz aylarında sıcaklık hayvancılık açısından kritik seviyelere erişmektedir. Yapılan çalışmada, üreme mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde olan koyunlarda, koç katımı öncesinden düzenli aralıklarla yapılan antioksidan uygulamalarının fertilitte ile oksidan ve antioksidan seviyeleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın Yapıldığı Bölge ve İklim

Çalışma Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yürütüldü (Enlem; 37° 55' 41" N, boylam; 40° 16' 46" E, rakım; 660 metre). Çalışmanın yapıldığı bölgenin iklimi sert karasal bir iklim özelliğinde olup yaz ayları çok sıcak geçmektedir. Çalışma başlangıcından itibaren çiftliğin lokasyonunun bulunduğu bölgenin sıcaklık ve nem indeksi verileri (gün/en düşük ve en yüksek sıcaklığı ve gün/sıcaklık nem indeksi) çalışma başından çiftleştirme sonrası sıcaklığın devam ettiği ağustos ayı sonuna kadar takip edildi. Veriler Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden (MGM) alındı. Sıcaklık nem indeksi hesaplaması ve stres/risk etkisini gösteren detaylı veriler ulusal araştırma konseyi (NRC) tarafından da ifade edildiği gibi SNİ verileri için aşağıdaki hesaplama yönteminin kullanıldığı ifade edilmiştir (23).

$$SNİ = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T - 26.8)] \quad (23,24).$$

(T : °C olarak hava sıcaklığını, RH ise % olarak nispi nemi ifade etmektedir).

Yukarıdaki hesaplama göre SNİ; 66-71 arası hafif stres, 72-79 arası stres, 80-89 arası yoğun stres olarak ifade edilmiştir (23,24). Diğer bir kaynağa (25) göre de ≤ 74 normal, 75-78 alarm durumu, 79-83 tehlikeli aralık, 84 ve üzeri ise acil ve ağır durum olarak ifade edilmiştir. Bu çalışmadaki SNİ açısından değerlendirilen aralıklar NRC ve MGM referanslarına (23,24) göre ele alındı.

Hayvan Materyali ve Çalışma Düzeni

Çalışmada 71 adet en az bir doğum yapmış Zom koyunu kullanıldı. Çalışma materyalini oluşturan koyunlar klinik olarak sağlıklı ve vücut kondisyon skoru daha önce tanımlanan 5 skalasına (26) göre 2,5-3,5 olan koyunlardan seçildi. Tüm hayvanlara meraya dayalı bir örnek beslenme uygulandı. Koyunlar koç katımından yaklaşık 2 ay öncesinden; Grup I (n=36) antioksidan kullanılan çalışma grubu ve Grup II (n=35) antioksidan uygulaması yapılmayan kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Kontrol grubundaki hayvanların hastalıklarından dolayı fertilitte açısından 2 hayvan, MDA değerleri açısından 3 hayvan çalışma sonuçlarını etkilememesi için çalışmadan çıkarıldı.

Antioksidan Uygulaması ve Kan Alınması

Grup I; bu gruptaki koyunlara çiftleştirmeden 2 ay öncesinden (mayıs ayı) başlanarak 30 gün aralıklarla 3 defa antioksidan olarak A, D, E vitamini ve Selenyum; 500.000 IU A, 75.000 IU D3, 110 mg E vitamini ve 1 mg selenyum baza eşdeğer sodyum selenit (Ademin® 100 ml flakon, Ceva Türkiye, Yelvit® 100 ml flakon Teknovet Türkiye) enjeksiyonu kas içi

yolla yapıldı. Antioksidan enjeksiyonu günlerinde TAS ve TOS değerleri için hayvanlardan vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer) vena jugularisten kan örnekleri alındı. Grup I'den kan alınan günlerde Grup II'deki hayvanların da TAS ve TOS değerlerinin belirlenmesi için koç katımına kadar antioksidan enjeksiyonu yapılan günlerde kan örnekleri toplandı. MDA seviyesinin belirlenmesi için tüm koyunlardan koç katımından sonra 16. ile 24. günlerde kan örneği toplanmaya devam edildi. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dakika'da 10 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Çıkarılan serumlar analiz aşamasına kadar derin dondurucuda (-18 °C) saklandı.

Koyunların Senkronizasyonu

Koç katım tarihinden yaklaşık 2 ay öncesinden koçlar koyunlardan ayrı tutuldu. Koç katımından 9 gün önce tüm hayvanlara senkronizasyon amacıyla vajinal sünger (60 mg medroksiprogesteron asetat, Esponjavet Hipra) uygulandı. Süngerlerin çıkarılması esnasında tüm koyunlara aynı anda 400 IU PMSG (OVISER®, gebe kısarak serum gonadotropini, Hipra, Türkiye) ve 1 ml PGF2α kas içi (Gestavet Prost®, 1 ml'de d-Cloprostenol 75µg, Hipra, Türkiye) yolla verildi. Süngerlerin çıkarılmasını takip eden günde 10 koyuna 1 koç düşecek şekilde koç katımı yapıldı. Östrus tespiti koçun aşımı esnasında koyunun hareketsiz durması ve çiftleşmeyi reddetmemesi ile belirlendi. Kızgınlıklar koç katımı sonrası beş gün boyunca takip edildi. Grup I ve II'deki koyunların fertilité parametreleri aşağıdaki yöntemle belirlendi.

- Östrus oranı: östrusa gelen koyun sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Gebelik oranı: gebe kalan koyun sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Kuzulama oranı: doğan kuzu sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Doğurganlık (fecundity): doğan kuzu sayısı / gebe koyun sayısı
- İkizlik: ikiz doğuran koyun sayısı / doğum yapan koyun sayısı x 100

Gebeliklerin doğrulanması ve gebe olmayanların belirlenmesi amacıyla çiftleşme sonrası 45. günde transrektal ultrasonografi (SIUI, CTS-800, linearprobe, 5 MHz, Guangdong, China) ile gebelik kontrolleri yapıldı.

Kan Parametrelerinin Ölçümü

Elde edilen serum örneklerinden TAS ölçümü için total antioksidant status kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) ve TOS ölçümü için total oksidant status kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. Serum TOS ve TAS düzeyleri kolorimetrik ölçüm yöntemi kullanılarak değerlendirildi. TAS sonuçları mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (mmol Trolox Eq/L). TOS analizinin sonuçları µmol H₂O₂ equivalent/L (µmol H₂O₂ Eq/L) olarak ifade edildi (21,27).

Oksidatif stres indeksi (OSI); TOS'un TAS'a oranı şeklinde hesaplandı (TOS (µmol H₂O₂ Eq/l) / TAS (mmol Trolox Eq/l) x 100). Hesaplama yapılmadan önce TAS sonuçlarının birimi (mmol Trolox equivalent/L), µmol Trolox equivalent/L'e dönüştürüldü (28,29,30). Lipitlerin yıkım ürünü olan MDA, tiyobarbutirik asit ile reaksiyona dayanan bir yöntemle belirlendi.

İstatistik Analizi

Verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogrov-Smirnov testi ile analiz edildi. Çalışma ve kontrol gruplarından alınan kan örneklerinden bakılan oksidatif stres parametrelerinin (TAS, TOS, OSI ve MDA) gruplar arasındaki (Grup I ve Grup II) ve kendi bulunduğu grup içindeki tekrarlayan zaman aralığına göre istatistiki değerlendirmesi için tek yönlü varyans analizi yapıldı. Uygulama grupları arasındaki çoklu karşılaştırma için Tukey testi yapıldı. Gruplar arasında TAS değerleri p<0.05, TOS ve OSI değerleri p<0.01'e göre önemli kabul edildi. Dölverimi parametreleri için gruplar arasındaki karşılaştırmada Ki-kare testi (x² testi) kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiki önemlilik seviyesinde p<0.05 esas alındı ve önemli bulunanlar tabloda farklı harfler ile gösterildi. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiki analizi için SPSS, 2012 (IBM SPSS Statistics for Windows, version 21.0) programı kullanıldı.

BULGULAR

Yapılan çalışmanın yer aldığı Diyarbakır Sur ilçesine ait Mayıs-Ağustos ayları günlük ortalama, maksimum ve minimum sıcaklık değerleri Tablo 1'de verilmiştir (24).

Tablo 1. 2021 yılı Mayıs-Ağustos ayları Diyarbakır ili Sur ilçesi sıcaklık günlük ortalama, minimum ve maksimum sıcaklık verileri (°C)

	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
Günlük ortalama (°C)	22.97	27.43	32.12	30.75
Maksimum (°C)	33.20	36.64	41.00	40.65
Minimum (°C)	12.72	17.17	22.84	21.35

Çalışmada günlük kaydedilen SNI verilerinin aylık ortalamalarına bakıldığında; Mayıs ayında çalışmanın başladığı günden itibaren ay sonuna kadar SNI ortalamasında henüz yoğun bir stres durumunun olmadığı Haziran ayından itibaren stres aralığının (72-79 arası) günün belli saatlerinden itibaren etkili olmaya başladığı görüldü. Temmuz ayında hafif stres aralığının kalmadığı, günün öğlen saatlerine kadar stres ve öğlen saatlerinden itibaren akşama doğru (11:00-17:00 aralığında) yoğun stres (80-89 arası SNI) seviyelerine erişildiği gözlemlendi. Ağustos ayı boyunca da Temmuz ayına benzer biçimde gecenin ilk saatlerinden itibaren yüksek SNI seviyesinin devam ettiği, öğlen saatlerinde (saat 12:00-16:00 aralığında) yoğun stresin etki gösterdiği, sıcaklık stresinin en fazla olduğu saat dilimlerine ulaşıldığı görüldü.

Grup I ve Grup II arasındaki TAS, TOS ve OSI değerleri Tablo 2'de yer almaktadır. Grupların aynı günlerindeki TAS (mmol Trolox Eq/L) ve TOS (µmol H₂O₂ Eq/L) sonuçlarının karşılaştırmalarında istatistiki açıdan bir fark bulunmadı. Ancak çalışma grubunun koç katımından 1 ay öncesi ile (1.10 mmol Trolox Eq/L) kontrol grubunun koç katımından 2 ay önce bakılan TAS sonuçları (1.14 mmol Trolox Eq/L) açısından istatistiki bir fark bulundu (p<0.05). Grup içi ve karşılıklı aynı zamanda alınan kan örneklerinden elde edilen sonuçlar arasında TAS açısından istatistiksel bir fark bulunmadı (Tablo 2). Total oksidatif stres seviyesi açısından kontrol grubunun kendi içinde ilk (-2 ay) ve son (0.gün) kan analizleri ile ikinci kan analizleri (-1 ay) arasında istatistiki bir fark bulundu (p<0.01). Çalışma

ve kontrol grubunun karşılaştırmasında TOS seviyesi açısından antioksidan kullanılan gruptaki hayvanların (Grup I) koç katım anındaki TOS seviyesi ortalamasının (3.11 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L), kontrol grubunun koç katım anından 1 ay önceki değerine göre (5.86 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L) anlamlı çıktığı görülmektedir ($p<0.01$). Diğer grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada ise istatistiki açıdan önemli bir farklılık tespit edilmedi (Tablo 2). Oksidatif stres indeksi açısından, Grup I'in kendi içerisindeki değerleri arasında herhangi bir fark bulunmaz iken kontrol grubunun kendi içinde ilk (-2 ay) ve son (0.gün) kan ana-

lizleri ile ikinci (-1 ay) kan analizleri arasında önemli fark bulundu ($p<0.01$). Oksidatif stres indeksinde grupların karşılıklı karşılaştırılmasında TOS analizinde olduğu gibi Grup I'in koç katım anındaki (0.28) OSI verisinin kontrol grubunun koç katım anından 1 ay önceki değerine (0.52) göre anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$). Bunun dışındaki gruplar arası ve grup içi değerler açısından istatistiksel bir fark bulunmadı ($P>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Grup I ve Grup II arasındaki ve grup içi TAS, TOS ve OSI verilerinin analiz sonuçları

Gruplar	Uygulamalar	TAS*	TOS**	OSI**
		X \pm SD	X \pm SD	X \pm SD
Grup I (n:36)	-2 ay	1.11 \pm 0.06 ^{ab}	4.40 \pm 2.53 ^{ab}	0.39 \pm 0.22 ^{ab}
	-1 ay	1.10 \pm 0.05 ^b	4.48 \pm 2.17 ^{ab}	0.40 \pm 0.20 ^{ab}
	0. gün (koç katım anı)	1.11 \pm 0.04 ^{ab}	3.11 \pm 2.11 ^b	0.28 \pm 0.19 ^b
Grup II (n:35)	-2 ay	1.14 \pm 0.05 ^a	4.01 \pm 2.15 ^b	0.35 \pm 0.18 ^b
	-1 ay	1.13 \pm 0.05 ^{ab}	5.86 \pm 3.69 ^a	0.52 \pm 0.32 ^a
	0. gün (koç katım anı)	1.13 \pm 0.05 ^{ab}	3.63 \pm 2.87 ^b	0.31 \pm 0.25 ^b

TAS (Total antioksidan seviyesi; mmol Trolox Eq/l), TOS (Total oksidan seviyesi); $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/l, OSI (oksidatif stres indeksi). Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak farkın anlamlı olduğunu gösterir, * $p<0.05$; ** $p<0.01$

Hayvanların koç katım sonrası 16. gün ve implantasyon bitimine doğru 24. günlerdeki Grup I ve Grup II'nin MDA değerlerine bakıldı (Tablo 3). Buna ilaveten gruplar içindeki gebe olan ve olmayan hayvanların MDA değerleri de karşılaştırıldı (Tablo 4). Grup I ve Grup II arasında istatistiksel olarak bir önemlilik bulunmadı. Her iki grup dahil tüm hayvanlarda gebe ve gebe olmayanların da belirtilen günlerdeki MDA sonuçları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo 3. Grup I ve Grup II MDA analiz sonuçları

Gruplar	Zaman (gün)	n	MDA
			X \pm SE
Grup I	KKS-16.gün	36	35.42 \pm 3.94
	KKS-24.gün		28.29 \pm 3.79
Grup II	KKS-16.gün	32	40.33 \pm 2.77
	KKS-24.gün		34.15 \pm 2.70

KKS; koç katım sonrası

MDA (Malondialdehit); $\mu\text{mol/L}$; X \pm SE, ortalama \pm standart hata

Tablo 4. Grup I ve Grup II gebe ve gebe olmayanların grup içi ve gruplar arası MDA analiz sonuçları

Gruplar	Zaman (gün)	n	MDA
			X \pm SE
Grup I, Gebelik (+)	KKS-16.gün	20	36.93 \pm 5.72
	KKS-24.gün	20	27.38 \pm 4.93
Grup I, Gebelik (-)	KKS-16.gün	16	33.53 \pm 5.41
	KKS-24.gün	16	29.42 \pm 6.06
Grup II, Gebelik (+)	KKS-16.gün	18	39.19 \pm 4.54
	KKS-24.gün	18	34.56 \pm 2.89
Grup II, Gebelik (-)	KKS-16.gün	14	41.81 \pm 2.63
	KKS-24.gün	14	33.61 \pm 5.07

MDA (Malondialdehit); $\mu\text{mol/L}$; X \pm SE, ortalama \pm standart hata

Fertilite Parametreleri

Çalışmada Grup I ve Grup II'de östrus oranları sırasıyla %83.3 ve %78.8 gebelik oranları ise %55.6 ve %57.6 olarak bulundu. Grup I ve II için kuzulama oranları sırasıyla %72.2 ve %63.6 olarak elde edildi. Doğurganlık (fecundity) Grup I'de 1.3, Grup II'de ise 1.11 olarak belirlendi. Gruplardaki ikizlik oranı ise Grup I için %30, grup II için ise %10.5 olarak görüldü (Tablo 5). Bu parametreler açısından yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo 5. Gruplarda elde edilen fertilite parametreleri

Parametreler	Grup I (n: 36)	Grup II (n: 32)
Östrusa gelme oranı (%)	83.3	78.8
Gebelik oranı (%)	55.6	57.6
Kuzulama oranı (%)	72.2	63.6
Doğurganlık (fecundity)	1.3 (26/20)	1.11 (21/19)
İkizlik oranı (%)	30	10.5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada, üreme mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde olan koyunlarda, sıcaklık stresinin fertiliteye olumsuz etkisini azaltmak amacıyla koç katımı öncesinden olmak üzere düzenli aralıklar (koç katımından 2 ay, 1 ay önce ve koç katım anında) ile yapılan antioksidan uygulamalarının, fertilite ile oksidan ve antioksidan seviyeleri (TOS, TAS) üzerine ne ölçüde etkili olacağı araştırıldı. Buna ilaveten gebelik başlangıcından (çiftleşme anı), kritik dönem olan implantasyon sürecine kadar gebelik ile karakterize olabilen ve oksidatif stresin bir diğer belirteci olan MDA düzeyi de değerlendirildi.

Hayvanların barındığı çevrede yaz aylarında sıcaklığın 25-26.5 °C'nin üzerine çıkması ve artan nispi nem değerinin aşıldığı bölgelerde hayvanlar sıcaklık stresine maruz kalmaktadırlar (3-5,10). Koyunların termonötral aralığı araştırmacılar tarafından farklı şekillerde ifade edilmektedir. Bazı araştırmacılara göre sıcaklığın 25-26.5 °C'nin üzerine çıkması ve SNİ; 66-

71 arası hafif stres, 72-79 arası stres, 80-89 arası yoğun stres (23,24) başka bir veride (25) ≤ 74 normal, 75-78 alarm durumu, 79-83 tehlikeli aralık, 84 ve üzeri ise acil ve ağır durum olarak ifade edilmiştir. Yapılan çalışmada da elde edilen verilere göre SNI değerlerinin 80 ve üzeri seviyelere denk gelen yoğun stres seviyelerine eriştiği görülmüştür. Sıcaklık nem indeksi şekillerine bakıldığında sıcaklık stresinin mayıs ayında fazla etkili olmadığı, haziran ayında daha uzun süreli etkisinin olduğu görülmektedir. Temmuz ayında sıcaklık stresi etkisi günün belli saatlerinde (11:00-17:00) daha fazla olmakta ve yoğun stres seviyelerine erişmektedir. Ağustos ayında ise bu yoğun etkinin günün belli saatlerinde (12:00-16:00) etkili olduğu tespit edildi. Elde edilen sıcaklık ve SNI verilerine göre koyunların üreme mevsimine geçiş yaptığı dönem ve üreme sezonunun içinde bulunduğu süre boyunca sıcaklık stresinin etkisinde kaldıkları tespit edilmiştir. Araştırmacılar sıcaklık stresinin folliküllere ve oosite zarar verdiğini, embriyo ve gebeliği olumsuz etkilediğini ve fertilitede aksamalara sebep olduğunu ifade etmiştir. Buna ilaveten sıcaklık stresinin olduğu dönemlerde hayvanların yem tüketiminde azalma meydana gelmektedir. Bu azalmanın sonucunda da düzensiz kızgınlıklar, follikül gelişiminde yetersizlik, oosit kalitesinde düşüş görülmektedir (12).

Yapılan bu araştırmalarda TAS ve TOS seviyesinin beslenme (30) ve oksidatif stresle bağlantılı hastalıklarda değişebileceği vurgulanmıştır (8,14,31). Tashla ve ark.'nın (33) yaptıkları çalışmada gebe koyunlarda TAS, TOS ve MDA değerleri açısından çalışmalarında önemli farklılığın olduğu gözlemlenmiş olup TOS ve MDA değerinin gebelik öncesine göre gebeliğin erken, orta ve geç aşamalarında arttığı bulunmuştur. Total antioksidan düzeyinin ise gebelik sürecinde azaldığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada her ne kadar gruplar arası sonuçlarda önemli bir fark çıkmasa da total oksidan seviyesi ve OSI değerlerinin antioksidan verilen hayvanların ortalamasının daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun olası nedeninin çalışma grubuna verilen antioksidan uygulamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nawito ve ark.'nın (34) yapmış olduğu çalışmada koyunlarda gebelik döneminde MDA'nın önemli oranda arttığını bildirmektedirler. Yapılan benzer çalışmalarda da iyi veya düşük beslenmeye bakılmaksızın gebelik döneminde MDA açısından aynı sonuçların elde edildiği belirtilmiştir (35). Avellini ve ark.'nın (36) atlarda yaptıkları bir çalışmada antioksidan kullanımının serbest radikal hasarının bir belirteci olan MDA'nın plazma konsantrasyonunun azalmasında etkili olduğu belirtilmiştir. Tashla ve ark.'ı (33) gebeliğin değişik aşamalarında MDA'nın gebe olmayanlara göre önemli düzeyde artmaya başladığını bunun da artan lipid peroksidasyon ve aşırı üretilen serbest radikallerden kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Sunulan çalışmada gebe olan ve olmayan hayvanların MDA değerleri açısından istatistiksel bir farkın olmadığı bulundu. Ancak, çalışma grubundaki gebe hayvanların MDA değerleri kontrol grubundaki gebe hayvanların MDA değerinden sayısal olarak daha düşük çıktığı görüldü. Bunun da çalışma grubuna uygulanan antioksidanlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda oksidan değerleri açısından bir farklılığın bulunması veya bulunmaması

başta endojen kaynaklı olmak üzere hayvanların o anlık antioksidan kapasitesinin durumuyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Birdane ve Avdatek'in (37) yaptıkları çalışmada sıcaklığın 38.7 °C'ye kadar çıkmasına rağmen vitamin enjeksiyonunun (A, D3, E) reproduktif parametreleri etkilemediği bildirilmiştir. Sunulan çalışma, Özyurtlu ve ark.'nın (38) Zom koyunlarında üreme mevsimine geçiş döneminde yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında östrus oranının bir miktar daha düşük, gebelik oranının bir miktar daha fazla olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada antioksidan verilen gruptaki koyunların ikizlik oranının, Özyurtlu ve ark.'nın (38) yaptığı çalışmaya göre bir miktar fazla olması ise çalışmanın üreme mevsiminde olması ve antioksidan uygulamasına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Elde edilen fertilité parametrelerine baktığımızda çalışma ve kontrol grupları arasında kızgınlık, gebelik oranı, kuzulama oranı ve doğurganlık açısından bir fark bulunmamıştır. Bu da koyunların Birdane ve Avdatek'in (37) belirttiği gibi günün sıcak saatlerinde ağıda bulunması ve sıcaklık stresinden daha az etkilenmeleri ile açıklanabilmektedir. Sunulan çalışmada antioksidan uygulamasının fertilité parametrelerine olumlu etkisinin daha yüksek çıkması beklenmekteydi. Ancak fertilitéye pozitif etkisi açısından vitamin ve mineral takviyesi yapılan hayvanlarda istenilen düzeyde etki görülmemesinin sebebi hayvanların bahar aylarından itibaren meraya çıkıp taze otlar ile beslenerek bu ihtiyaçlarını gidermiş olmalarından kaynaklı olabileceği kanısındayız. Fertilité parametreleri açısından değişkenlik olmasının diğer bir sebebi ise koyunların buldukları bölgeye yıllar içinde adapte olmasıyla sıcaklığa karşı dayanıklılık kazanmaları, koyunların ideal ortam sıcaklığına toleransının büyükbaş ruminantlara göre daha esnek olduğu ve SNI'ne göre koyunların değişkenlik gösterebileceklerinden dolayı reproduktif verimlerinin daha az etkilenmeleri ile de açıklanabilmektedir (3,37,39). Koç katımı öncesinden itibaren yapılan antioksidan uygulamalarının oksidatif stres parametreleri açısından elde edilen sonuçları incelendiğinde, uygulama yapılan gruptaki hayvanların belli günlerdeki TOS ve OSI değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük çıktığı tespit edildi.

Antioksidan verilen ve verilmeyen hayvanlar arasında araştırılan fertilité parametreleri sonuçları incelendiğinde; östrusa gelme, gebelik, kuzulama ve doğurganlık oranları arasında herhangi bir farkın olmadığı görüldü. Ancak, antioksidan verilen çalışma grubundaki hayvanların ikizlik oranı uygulama yapılmayan kontrol grubundaki hayvanlara göre yaklaşık üç kat daha fazla bulundu.

Sonuç olarak, yazın sıcaklık stresinin olumsuz etkilerine karşı koyunlarda koruyucu önlemler alınmasının ve antioksidan uygulamalarının faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından Veteriner.21.003 numaralı proje ile desteklenen Doktora Tezinden üretilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Günaydın G. (2009). Koyun Yetiştiriciliğinin Ekonomi Politikliği. U Ü Ziraat Fak Derg. 23(2):15-32.
- Özyurtlu N, Bademkiran S. (2010). Koyunlarda Östrus Senkronizasyonu ve Östrusu Uyarma Yöntemleri. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 1(1):17-22.
- Durmuş M, Kolman N. (2019). Yüksek Çevre Sıcaklığına Maruz Kalan Ruminant Hayvanlarda Meydana Gelen Hormonal Değişimler. J Anim Prod. 60(2): 159-169.
- Topuzoğlu B, Baştan A. (2010). Sütçü İneklerde Isı Stresinin Fertilité Üzerine Etkisi. Vet Hekim Der Derg. 81(2): 29-32.
- Alkoyak K, Çetin O. (2016). Süt Sığırlarında Sıcaklık Stresi ve Korunma Yolları. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi, 5(1):40-55.
- Puppel K, Kapusta A, Kuczyńska B. (2015). The Etiology of Oxidative Stress in The Various Species of Animals, A Review. J Sci Food Agric. 95(11): 2179-2184.
- Lykkesfeldt J, Svendsen O. (2007). Oxidants and Antioxidants in Disease: Oxidative Stress in Farm Animals. The Veterinary Journal. 173: 502-511.
- Durgut R, Sağkan Öztürk A, Öztürk OH, Güzel M. (2016). Evaluation of Oxidative Stress, Antioxidant Status and Lipid Profile in Cattle with Displacement of The Abomasum. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 63: 137-141.
- Ronchi B, Stradaoli G, Verini Supplizi A, et al. (2001). Influence of Heat Stress or Feed Restriction on Plasma Progesterone, Oestradiol-17b, LH, FSH, Prolactin and Cortisol in Holstein Heifers. Liv Prod Sci. 68: 231-241.
- West JW. (2003). Effect of Heat-stress on Production in Dairy Cattle. J Dairy Sci. 86: 2131-2144.
- Çenet Z, Korkmaz Ö. (2020). Şanlıurfa İlinde Isı Stresindeki İneklere Bazı Ovulasyon Senkronizasyon Yöntemlerinin Gebelik Oranlarına Etkisi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 9 (1): 59-63.
- Küçükaslan İ, Kaplan Y, Özyurtlu N. (2021). Koyun ve Keçilerde Beslemenin Üreme Üzerine Etkisi. (İçinde): Koyun ve Keçilerin Rasyonel Beslenmesi ve Beslenme Hastalıkları Baran MS. (editör). Baskı 1. s. 48-52. Türkiye Klinikleri. Ankara, Türkiye.
- Gupta PK. (2021). Minerals Play Role in Reproduction of Animals and Their Deficiency Diseases in Animals: A review article. Journal of Entomology and Zoology Studies. 9(2): 534-536.
- Kurt S, Eşki F, Salar S, Sel T, Baştan A. (2021). The Effect of Heat Stress on Total Oxidant Capacity in Hair Goats. Vet Hekim Der Derg. 92(1): 24-30.
- Kurt S. (2019). İneklere Preparat Antioxidan Uygulamalarının Oksidatif Stres Enerji Metabolizması ve Kolostrum Kalitesine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Şükrü Küplülü).
- Karabulut H, Gülay MŞ. (2016). Antioxidanlar. MAE Vet Fak Derg. 1(1): 65-76.
- Gökpinar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. (2006). Algal antioksidanlar. E Ü Su Ürünleri Derg. 23(1): 85-89.
- Kasapçopor Özel GS, Birdane YO. (2014). Antioxidanlar. Kocatepe Vet J. 7(2): 41-52.
- Kurt S, Koca RH, Hürkul MM, Seker U, Köroğlu A. (2021). The Antioxidant Effect of Michauxia Campanuloides on Rat Ovaries. J Hellenic Vet Med Soc. 72(3): 3163-3170.
- Macun HC, Çınar M, Azkar AH, Kalender H, Erat S. (2018). Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallenberg Virus. Atatürk Üniv Vet Bil Derg. 13(2): 128-134.
- Erel O. (2005). A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status. Clin Biochem. 38(12): 1103-1111.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. (2015). Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. J Clin Exp Invest. 6(3): 331-336.
- National Research Council (NRC). (1971). A Guide to Environmental Research on Animals Natl Acad Sci. Washington, DC, p. 361.
- MGM, (Meteoroloji Genel Müdürlüğü). Erişim; <https://mgm.gov.tr/> Erişim tarihi; 2021.
- LCI (1970). Patterns of Transit Losses. Livestock Conservation Inc., Omaha, NE.
- Baran MS. (2017). Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Birinci Baskı. Dicle Üniversitesi Basım ve Yayınevi. Diyarbakır.
- Erel O (2004). A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. Clin Biochem. 37(4): 277-285.
- Yumru M, Savas HA, Kalenderoglu A, Bulut M, Celik H, Erel O. (2009). Oxidative Imbalance in Bipolar Disorder Subtypes: A Comparative Study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 31;33(6): 1070-4.
- Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. (2005). Increased Oxidative Stress in Children Exposed to Passive Smoking. Int J Cardiol. 100: 61-64.
- Harma M, Harma M, Erel O. (2003). Increased Oxidative Stress in Patients with Hydatidiform Mole. Swiss Med Wkly. Nov 1; 133(41-42): 563-536.
- Mandebvu P, Castillo JB, Steckley DJ, Evans E. (2003). Total Antioxidant Capacity: A Tool for Evaluating the Nutritional Status of Dairy Heifers and Cows. Can J Anim Sci. 83(3): 605-608.
- Atakisi O, Oral H, Atakisi E, et al. (2010). Subclinical Mastitis Causes Alterations in Nitric Oxide, Total Oxidant and Antioxidant Capacity in Cow Milk. Res Vet Sci. 89(1): 10-13.
- Tashla T, Cosic M, Kurcubic V, Prodanovic R, Puvaca N. (2021). Occurrence of Oxidative Stress in Sheep during Different Pregnancy. Acta Agric Serbica. 26(52): 111-116.
- Nawito MF, Abd El Hameed AR, Sosa ASA, Mahmoud KGM. (2016). Impact of Pregnancy and Nutrition on Oxidant/Antioxidant Balance in Sheep and Goats Reared in South Sinai, Egypt. Veterinary World. 9(8): 801-805.
- Mohebbi-Fani M, Mirzaei A, Nazifi S, Shabbooe Z. (2012). Changes of Vitamins A, E, and C and Lipid Peroxidation Status of Breeding and Pregnant Sheep during Dry Seasons on Medium-To-Low Quality Forages. Trop Anim Health Prod. 44: 259-265.
- Avellini L, Chiaradia E, Gaiti A. (1999). Effect of Exercise Training, Selenium and Vitamin E on Some Free Radical Scavengers in Horses. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 123(2): 147-154.
- Birdane MK, Avdatek F. (2020). Effect of Vitamin A, D3, E Treatment on Fertility in the Pırlak Sheep. Kocatepe Vet J. 13(2): 179-184.
- Özyurtlu N, Köse M, Bayrıl T, Küçükaslan İ. (2016). Üreme Mevsimine Geçiş Döneminde Östrus Siklusu Uyarılan İvesi ve Zom Koyunlarında Bazı Fertilité Özelliklerinin Karşılaştırılması. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2(4): 67-72.
- Perez RV, Cruzb UM, Reyes LA, Correa-Calderonb A, Baca MAL, Rivera ALL. (2020). Heat Stress Impacts in Hair Sheep Production, Review. Rev Mex Cienc Pecuarias. 11(1):205-222.

✉ Sorumlu Yazar:

Yasemin KAPLAN BİLMEZ
GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi,
Diyarbakır/TÜRKİYE
E-posta: jasmin-2127@hotmail.com