

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

*Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*



*Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınıdır
Published by Harran University Faculty of Veterinary Medicine*

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Harran University
Journal of The Faculty of Veterinary Medicine



Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınıdır
Published by Harran University Faculty Of Veterinary Medicine

YIL/YEAR:2018

CİLT/VOLUME:7

SAYI/ISSUE:1

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Hakemli

Bir Dergi Olup;

- TÜBİTAK ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veri Tabanı

- Türkiye Atıf Dizini tarafından taranan dergi grubundadır.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine

Harran Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Adına
Sahibi/Owner
Prof. Dr. Murat SEVGİLİ
Dekan/Dean

Baş Editör/Editor in Chief
Prof. Dr. Hisamettin DURMAZ

Editörler/Editors
Doç. Dr. Faruk BOZKAYA
Dr. Öğr. Üyesi Nihat YUMUŞAK
Dr. Öğr. Üyesi Aydın DAŞ

Dergi Sekreteri/Journal Secretary
Arş. Gör. Gülşah GÜNGÖREN

Yayın Kurulu/Editorial Board
Prof. Dr. Murat SEVGİLİ
Prof. Dr. Ali HAYAT
Prof. Dr. Osman Yaşar TEL
Doç. Dr. Şükrü GÜRLER
Dr. Öğr. Üyesi. İrfan ÖZGÜNLÜK
Dr. Öğr. Üyesi Birten EMRE
Dr. Öğr. Üyesi Serap KILIÇ ALTUN
Dr. Öğr. Üyesi M. Yaşar DÖRTBUDAK

Yazışma /Correspondence
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü Eyyübiye Kampüsü,
63200 - Şanlıurfa/TÜRKİYE
Tel: +90 414 318 38 59
+90 414 318 38 55
Faks: +90 414 318 39 22
e-mail: harranvet@gmail.com

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Hakemli Bir Dergi Olup, Yılda 2(iki)
Sayı Olarak Yayınlanır.
Yıl/Year: 2018 - Cilt/Volume: 7 - Sayı/Issue: 1

Danışma Kurulu/Advisory Board

Prof. Dr. Ergun AKÇAY, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, Atatürk Üniv. Vet. Fak. Erzurum, Türkiye.
Prof. Dr. Halil Selçuk BİRİCİK, Aksaray Üniv. Vet. Fak. Aksaray, Türkiye
Prof. Dr. Ali BUMİN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın Türkiye.
Prof. Dr. Hasan EREN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın, Türkiye.
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Anila HODA, Agric. Uni. of Tirana, Fac. of Agric. & Environ. Tirana,
Albania.
Prof. Dr. Osman KUTSAL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniv. Vet. Fak. Kayseri, Türkiye.
Prof. Dr. Manzoor Ur Rahman MIR, SKUAST Kashmir Fac. of Vet. Sci. &
Anim. Husbandry. Kashmir, India.
Prof. Dr. Sema TEMİZER OZAN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Gerald REINER, Justus-Liebig Uni. Fac. of Vet. Med. Giessen,
Germany.
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Atilla ŞİMŞEK, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Mehmet Emin TEKİN, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Ender YARSAN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Halis YERLİKAYA, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Murat YILDIRIM, Kırıkkale Üniv. Vet. Fak. Kırıkkale, Türkiye.

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
2018 Yılı 7. Cilt 1. Sayı Hakem Listesi (alfabetik sıra)
The Referees List of This Issue (in alphabetical order)

Prof. Dr. Abdullah ÖZEN	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdürrahim KOÇYİĞİT	Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Prof. Dr. Akif KARSLI	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Aşkın YAŞAR	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Çağdaş OTO	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Gıda, Tarım ve Hayvancılık MYO
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hüdayi İPEK	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hüseyin NURSOY	Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hüseyin YILDIZ	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. İhsan KELEŞ	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. K. Oya KAHVECİOĞLU	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mustafa ARDIÇ	Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Nazmi YÜKSEK	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Nilüfer SABUNCUOĞLU ÇOBAN	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ongun UYSAL	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Rahşan ÖZEN	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sema BİRLER	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sevil VURAL	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sümbül Serap BİRİNCİOĞLU	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Şahbette SELEK	Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Prof. Dr. Tekin ŞAHİN	Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Veysel SOYDAL ATASEVEN	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yasin TULÜCE	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi
Prof. Dr. Zabit YENER	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Abdülkadir ORMAN	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Esra KOCAKAYA BÜYÜKCANGAZ	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hakan SALCI	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hasan İÇEN	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. M. Cengiz HAN	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. M. Orhun DAYAN	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Mehmet Nuri AÇIK	Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Mehmet Osman ATLI	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Melek KOÇAK	Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Murat KARAHAN	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Oktay YILMAZ	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Osman AYGÜN	Fırat Üniversitesi Keban Meslek Yüksek Okulu
Doç. Dr. Ömer KORKMAZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Ömer VARIŞLI	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Özgecan KORKMAZ AĞAOĞLU	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Özgür İŞLEYİCİ	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Tahir KARAŞAHİN	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet UYAR	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Akın YİĞİN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Cafer Tayer İŞLER	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Evren ESİN	Çukurova Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Hakan SANCAK	Bitlis Eren Üniversitesi Tatvan Meslek Yüksekokulu
Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAPLAN	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Sema ALAŞAHAN	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Zeynep KARAPINAR	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Birten EMRE	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Leyla MİS	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Sayfa /Page

1. **“Malumat-ı Baytariyye” Adlı Eser Üzerine Bir İnceleme**
An Analysis on the Book Named “Malumat-I Baytariyye”
Ayşe MENTEŞ GÜRLER, Ali YİĞİT, Şule SANAL 1-6
2. **Deneysel Ülseratif Kolit Üzerine Yüksek Karbonhidratlı, Yüksek Yağlı ve Aralıklı Beslemenin Etkisi**
Effect of High Carbohydrate, Fat and Intermittent Fasting Diet on Experimental Ulcerative Colitis
Ahmet UYAR, Hüseyin EMLİK, Turan YAMAN 7-14
3. **Elazığ’da Satılan Şavak Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi**
Microbiological Quality of Savak Tulum Cheeses Sold in Elazığ
Pelin DEMİR, Sümeyye ERKAN, Gülsüm ÖKSÜZTEPE 15-20
4. **Effects of Systemically Used Midazolam, Ketamine and Isoflurane Anesthetic Agents on Intraocular Pressure and Tear Production in Rabbits**
Tavşanlarda Sistemik Olarak Kullanılan Midazolam, Ketamin ve İsofluranın Gözyaşı Üretimi ve Göziçi Basıncı Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması
Muharrem EROL, Hanifi EROL, Gültekin ATALAN, Zafer DOĞAN, Muhammed Kaan YÖNEZ, Şule MELEK 21-25
5. **Bıldırcın Rasyonlarına Polen İlavesinin Besi Performansı ve Karkas Parametreleri Üzerine Etkisi**
Effects of Dietary Addition of Pollen on Growth Performance and Carcass Traits of Japanese Quail
Yasin SARIKAYA, Tuncay TUFAN, Memiş BOLACALI 26-31
6. **Sığırlarda Sol Tarafli Abomasum Deplasmanlarının Yemlere Zeolit Minerali Katılarak Önlenmesi**
Prevention of Left Displacements of the Abomasum in Cattle by Adding Zeolite Mineral to Feeds
Gürbüz AKSOY, Halil Selçuk BİRİCİK, Mehmet AVCI, Aydın DAŞ 32-39
7. **Gerze Horoz ve Tavuklarının (*Gallus domesticus*) Tunica Fibrosa Bulbi’si Üzerinde Anatomik, Histolojik ve Elektron Mikroskobik İncelemeler**

- Anatomical, Histological and Electron Microscopic Studies on Tunica Fibrosa Bulbi of Gerze Rooster and Chickens (*Gallus domesticus*)
Nazan GEZER İNCE, Burcu ONUK, Emel ALAN, Sedef SELVİLER SİZER, Aydın ALAN, Murat KABAK **40-44**
8. **Evaluation of Slaughter Weights and Carcass Traits of Bulls Marketed in South Marmara Region of Turkey**
Türkiye'nin Güney Marmara Bölgesinde Pazara Sunulan Erkek Sığırların Kesim Ağırlığı ve Karkas Özelliklerinin Değerlendirilmesi
Sena ARDİCLİ, Deniz DİNCEL, Faruk BALCI **45-50**
9. **Sivas ve Yöresinde Sığır Ayak Hastalıkları Prevalansının Belirlenmesi**
Investigation of Prevalance of Foot Diseases in the Cattle in the Region of Sivas
İbrahim YURDAKUL, İlker ŞEN **51-55**
10. **Sivas Yöresindeki Koyunlarda Schmallerberg Virus Enfeksiyonunun Seroprevalansının Belirlenmesi**
Seroprevalence of Schmallerberg Virus Infection in Sheep in Sivas Province
Adem ELMAS, Öznur ASLAN, Kezban Can ŞAHNA **56-59**
11. **Bazı Kaba Yemlere Farklı Seviyelerde İlave Edilen Söğüt Ağacı (*Salix Alba*) Yaprığının *In Vitro* Sindirim ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi**
The Effect of Willow Tree (*Salix Alba*) Leafs Added at Different Levels to Some Roughages on *In Vitro* Digestibility and Methane Production
Ahmet ORUÇ, Mehmet AVCI **60-66**
12. **Yonca Kuru Otu ve Süt Sığırı Rasyonuna Zeolit ve Meşe Palamudu İlavesinin *In Vitro* Organik Madde Sindirimi ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi**
Effect of Zeolite and Acorn Added to Alfalfa Hay and Dairy Cattle Ration on *In Vitro* Organic Matter Digestibility and Methane Production
Zeynettin ECE, Mehmet AVCI **67-73**
13. **Fırat ve Dicle Nehri'nde Yaşayan *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843) Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin mtDNA cyt b Gen Dizileri Kullanılarak Belirlenmesi**
Determination of Genetic Diversity in *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843) Populations of Euphrates and Tigris River by Using mtDNA cyt b Gene Sequences
Arif PARMAKSIZ, Arslan ALTUNDAĞ **74-78**
14. **Ruminant Abortus Vakalarında *Coxiella burnetii*'nin Real Time PCR ile Araştırılması**

- Investigation of *Coxiella burnetii* by Real-Time PCR in Ruminant Abortus Cases
Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK, Oktay KESKİN, Akın YİĞİN, Osman Yaşar TEL **79-83**
15. **Hipertrofik Kardiyomyopati Kedilerde Trombosit ve Ortalama Trombosit Hacmi Düzeyleri Erken Emboli Oluşumunu Belirlemede Kullanılabilir mi?**
Is It Possible to Use Platelet and Mean Platelet Volume for Early Identification of Thrombus Formation in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy?
Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU, Hadi ALİHOSEİNİ, Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU **84-88**
16. **Döl Tutmayan İneklerde İmmunolojik İnfertilitenin Araştırılması**
Investigation of Immunological Infertility in Repeat Breeder Cows
B. Kemal GÜMÜŞAY, İshak GÖKÇEK, İlker YAVAŞ **89-92**
17. **Teke Spermasının +4 °C'de Payet, Ependorf ve Falkon Tüplerinde Saklanması Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkisi**
Effect of Straw, Eppendorf and Falcon Tubes on Buck Semen Spermatological Parameters at +4 °C Storage
Muhammed Enes İNANÇ, Şükrü GÜNGÖR, Fatıma DİNÇ, Ayhan ATA **93-97**
18. **Martılarda (*Laridae spp.*) Cranium'un Üç Boyutlu Modellemesi**
Three-Dimensional Modeling of Cranium in Seagulls (*Laridae spp.*)
Nazan GEZER İNCE, İsmail DEMİRCİOĞLU, Bestami YILMAZ, Adem AĞYAR, Abdurrahim DUSAK **98-101**
19. **Practical Field Applications for Reducing Infectious Diseases of 0-6 Months Calves and Their Results**
0-6 Aylık Buzagalarda Bulaşıcı Hastalıkların Azaltılması ve Sonuçları için Pratik Saha Uygulamaları
Sevim KASAP, Ethem Mutlu TEMİZEL, Gulsah AKGUL, Sezgin SENTURK **102-107**
20. **Deve (*Camelus dromedarius*) İnce Barsak Mukozasında Plazma Hücreleri ve Eozinofil Granulosit Dağılımının Belirlenmesi**
Determination of the Plasma Cells and Eosinophil Granulocytes Distribution in the Small Intestine Mucosa of the Camel (*Camelus dromedarius*)
Deniz KORKMAZ, İsmail Şah HAREM **108-113**
21. **İneklerde Tohumlama Sonrası Uygulanan Lesirelin Asetat (GnRH Analogu)'ın Gebelik Oranları Üzerine Etkisi**
Effect on Pregnancy Rates of Injected Lecirelin Acetate (GnRH analogue) after Insemination in the Cows
Coşkun CAN, Hamit YILDIZ **114-118**

22. **Ratlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Üzerine Naringenin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**
Investigation of the Protective Effect of Naringenin on the Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats
İsmail KOYUNCU **119-125**
23. **Bazı Aromatik Bitkilerin Geleneksel Lavaş Peyniri Üretiminde Biyosidal Etkileri**
Biocidal Effects of Some Aromatic Plants on the Production of Traditional Lavas Cheese
Serap KILIÇ ALTUN, Hikmet DİNÇ, Hisamettin DURMAZ **126-129**
- Olgu Sunumu/Case Report**
24. **Fine-Needle Aspiration Cytology of Malignant Fibrous Histiocytoma (Giant Cell Type) in an Angora Cat**
Bir Ankara Kedisi'nde Malign Fibröz Histiositomun (Dev Hücreli Tip) İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi
Nihat YUMUSAK, Murat CALISKAN, Osman KUTSAL **130-132**

“Malumat-ı Baytariyye” Adlı Eser Üzerine Bir İnceleme

Ayşe MENTEŞ GÜRLER¹, Ali YİĞİT², Şule SANAL^{3*}

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, 63200 Şanlıurfa, Türkiye.

²Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, 36040 Kars, Türkiye.

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, 55139 Samsun, Türkiye.

Geliş Tarihi: 01.08.2017

Kabul Tarihi: 05.03.2018

Özet: Osmanlı Devleti’nde Tanzimat ile başlayan yenileşme çabaları, basın ve yayıncılık alanında da etkisini göstermiştir. Bu dönemde, batı dünyasındaki bilgilerin halka ulaştırılması amacıyla sade bir dille ve didaktik tarzda yayın yapıldığı görülmektedir. Kişisel girişimler sonucu ya da cemiyetler ile devlet kurumlarının ilk bilimsel ve mesleki dergilerin çıkarılması da ondokuzuncu yüzyılın ortalarından itibaren başlamıştır. Bu çalışmada, “Asır Kütüphanesi Külliyyatı”ndan H. 1312 (M. 1895) yılında, yayımlanan “Malumat-ı Baytariyye” adlı 46 sayfalık kitap incelendi. Bu eserde verilen bilgiler, dönemin ve günümüzün veteriner hekimliği bilgileri çerçevesinde ele alınarak değerlendirildi. Yazarı Necmeddin Sami, kitabı yazma amacının herkesin anlayabileceği bir şekilde “Hayvanları beslemek, sıhhatlerini muhafaza etmek, lazım gelen terbiyeyi vermek, çoğaltmak gibi usulleri göstermekten ibaret” olduğunu ifade etmektedir. Kitapta, hayvan besleme, hıfzıssıhha, ahır temizliği, hayvan refahı konularında neler yapılması gerektiği ifade edilmiştir. Bu bilgilerin, dönemin at yetiştiriciliği, sağlık koruma, halk sağlığı konularında bilgi verdiği ileri sürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Malumat-ı Baytariyye, Hayvan besleme, Hıfzıssıhha, Hayvan refahı, 19. yüzyıl.

An Analysis on the Book Named "Malumat-I Baytariyye"

Abstract: Renovation efforts that started with the Tanzimat in the Ottoman Empire also had an effect in the field of press and publishing. In this period, publications were made in a simple and didactic style in order to transfer information from the western world to the people. The publication of the first scientific and professional journals by the public institutions and personal initiatives began from the middle of the nineteenth century. In this research, a 46-page book titled "Malumat-ı Baytariyye" published among "The Collection of the Asır Library" in 1312 (AD 1895) was studied. The informations given in this book were evaluated in the context of its own period and today's veterinary medical knowledge. The writer Necmeddin Sami states that the purpose of the book is "merely to show the methods like feeding the animals, preserving their health, giving the necessary decency and reproducing them" in a way that everyone can understand. In the book, it is stated what needs to be done in animal nutrition, hygiene, barn cleaning and animal welfare. It can be argued that this information contributed to the development of horse breeding, health protection and public health issues in the period.

Keywords: Malumat-ı Baytariyye, Animal breeding, Health protection, Animal welfare, 19th century.

Giriş

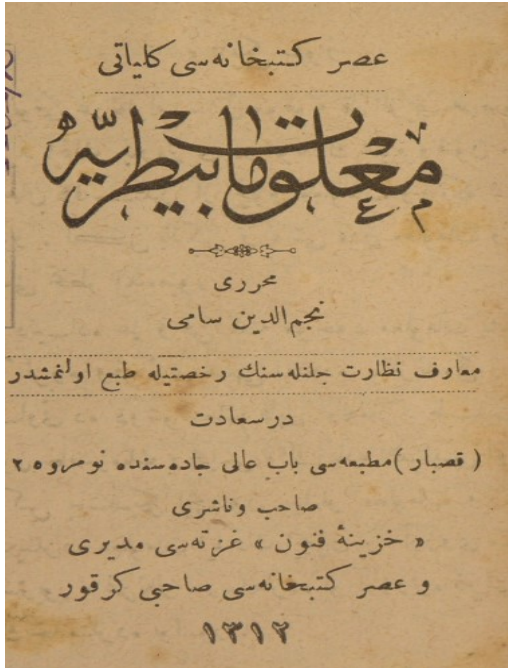
Veteriner hekimliği tarihinde, matbaanın icadına kadar hayvan yetiştiriciliği, hastalıkları ve tedavileri konularının “baytarname” olarak adlandırılan yazma eserlerde ele alındığı ve bu kaynakların 14. yy’dan itibaren Osmanlıcaya çevrilmeye başladığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Dinçer ve ark., 1999; Özen ve Yaşar, 2006). Türkiye’de 1842 yılında başlayan veteriner hekimliği eğitim ve öğretimi için Prusya’dan getirtilen askerî veteriner hekim Godlewsky, bu dönemde hayvan tedavisinin çoğunlukla Türkçeye çevrilmiş baytarnamelerden yararlanan at bakıcıları tarafından yapıldığını ve gerçek uzmanların bulunmadığını bildirmektedir (Godlewsky ve Somer, 1972). İlerleyen zamanda, 19. yüzyılın başları, Osmanlı Devleti’nin ciddi siyasî, iktisadî, hukukî ve sosyal sorunlar yaşadığı bir dönemdir. Askeri alandaki çağdaş teknolojik gelişmeleri ve yenilikleri takip

edebilmek için açılan Mühendishane-i Bahrî-i Hümayûn (1773) ve Mühendishane-i Berrî-i Hümayûn (1795) ile başlayan eğitim reformuna rağmen, tarım ve sanayii alanındaki gelişmelere uyum sağlayacak kalifiye eleman yetersizliği, hala önemli bir sorun oluşturmaktaydı (Doğan, 1993; Quataert, 2006; Ulusoy Nalcioğlu, 2005).

Özellikle Sultan II. Mahmut döneminden başlayarak hukuk, yönetim, eğitim, ekonomi ve sosyal alanda hızlı bir batılılaşmaya gidilmiş, Batı tarzında eğitim yapan yeni okullar açılmış ve Avrupa’ya öğrenciler gönderilmiştir (Erk ve Dinçer, 1970). Avrupa’da 18. yüzyıldan itibaren gazetelerin yayımlanmaya başladığı görülürken, ilk Türkçe (resmi) gazete olan Takvim-i Vekayi 11 Kasım 1831 tarihinde, halkı devlet işlerinden haberdar etmek amacıyla çıkarılmaya başlanmıştır. 1860 yılında özel girişimle kurulan Tercüman-ı Ahvâl, fikir

gazeteciliğinin Osmanlı Dönemindeki öncüsü olarak kabul edilir. Şinasi, bu gazetenin ilk sayısında “halkın kolaylıkla anlayabileceği bir dil” kullanılacağını vurgulamıştır. Bu dönemde Türkçe yayımlanan gazetelerde, İstanbul ve Avrupa’da yayımlanan yabancı gazetelerden siyasî haberler, bilim ve teknikteki gelişmeler ile yeni icatlar hakkında bilgi veren bazı çevirilerin yer aldığı görülmektedir (Akyüz, 1995).

Yine aynı dönemde, ülke ekonomisi açısından önemli bir sorun oluşturan hayvan hastalıkları, özellikle sığır vebası salgınları nedeniyle 1842 yılında askeri veteriner hekimliği eğitim-öğretiminin başladığı bilinmektedir. Halkın elindeki hayvanların sağlığı için görev yapacak veteriner hekim yetiştirilmesi amacıyla, 1889 yılında da sivil veteriner okulu açılmıştır (Bekman, 1940; Özlü, 2014; Polat, 2013). Bu aynı zamanda, veteriner hekimliğe ilişkin ilk bilimsel ve mesleki dergilerin de çıkarılmaya başlandığı dönemdir. Bu dergiler ancak kişisel girişimler sonucu kurulan dernekler tarafından veya devlet kurumlarınca çıkarılmaya başlanmıştır (Melikoğlu Gölcü ve Osmanağaoğlu, 2012).



Şekil 1. Malumat-ı Baytariyye adlı eserin iç kapağı.

Tanzimat döneminde özellikle eğitim-öğretim alanındaki reformların hızlanması; yeni açılan okullarda okutulmak üzere ders kitaplarının basılmaya başlanmasıyla basın ve yayıncılık alanında da canlanma ortaya çıkmıştır. Bu dönemde, batı dünyasındaki bilgilerin halka ulaştırılması amacıyla sade bir dille ve didaktik tarzda yayın yapıldığı görülmektedir (Balsoy, 2014; Baysal, 2010;

Osmanağaoğlu, 2007). İncelenen eserin yazarı olan Necmeddin Sami'nin, 1893-1895 yılları arasında yayınlanan “*Hazine-i Fünûn Mecmuası*”nın kadrosunda yer aldığı ve çeşitli konularda (sağlık, fen, hikaye ve şiir) 15 yazısının bulunduğu bildirilmiştir (Derviş, 2008; Kaya, 2010; Sel, 2004; Şimşek, 2007). Bu çalışmada, dönemin edebiyat yaklaşımının veteriner hekimlik ve hayvan yetiştiriciliği alanındaki örnekleri arasında yer alan “*Malumat-ı Baytariyye*” isimli kitabın içeriğinde yer alan dönemin at yetiştiriciliği, sağlık koruma, halk sağlığı konularının değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Çalışmanın materyalini, Necmeddin Sami'nin Asır Kütüphanesi Külliyyatı'ndan Hicri 1312 (Miladi 1895) yılında, yayımlanan “*Malumat-ı Baytariyye*” (Şeki 1) adlı 46 sayfalık kitabı oluşturdu. Çalışmada, İstanbul Büyükşehir Belediyesi, Atatürk Kitaplığı'nın “Belediye Osmanlıca Kitaplar Koleksiyonu” nundan temin edilen 1312 (1895) tarihli nüsha esas alındı. Ancak yapılan araştırmalarda bu kitabın daha önce 1893-1895 yılları arasında çıkarılan “*Hazine-i Fünûn Mecmuası*” isimli derginin, 2. Yılı'nın (1894) 44, 45, 46, 47, 48 ve 52. sayılarında beş bölüm olarak yayımlandığı tespit edildi. Arap alfabesi kullanılarak yazılmış olan kitabın transkripsiyonu yapılarak ve günümüz Türkçesine özetlenerek çevrildi. Verilen bilgiler dönemin ve günümüzün veteriner hekimliği bilgileri çerçevesinde ele alınarak değerlendirildi.

Bulgular

Kitabın Önsöz'ünde (Sayfa 2-10), günlük gazetelerde ilim ve fen konularında az çok bilgi verildiği ancak hekimlik ile ilgili bilgilerin verilmemesi; hekimliğin bilimin en önemli konusu olduğu ve herkesin bu konuda bilgi almak istediği; tababetin (hekimliğin) ikiye ayrıldığı birine “tababet-i beşeriye”, diğerine de “tababet-i baytariyye” denildiğini ve uygulayıcılarının ise “tabip beşer”, “tabip baytar” olarak isimlendirildiği iki hekimliğin eş olduğu, birbirlerine karşı üstünlüğü olmadığı; ancak bir üstünlük aranması gerekirse “tababet-i baytariyye”nin daha geniş hayvan türlerine sahip olduğu için öneminin daha da artacağı; bununla birlikte her iki hekimlik alanının birbirinden yararlandığı ve veteriner hekim sayısının arttıkça beşeri hekimliğe katkılarının çok olacağı; geçmişte veteriner hekimliği mesleğine gereken önemin verilmemesi ancak kitabın kaleme alındığı günlerde bilimsel yönden güçlü veteriner hekimlerin yetiştiği ve bunların başarılarının görülmeye başlandığını; “Kuş Palazı” gibi tehlikeli hastalık etkeninin

veteriner hekimler tarafından keşfedilmesinin hayret uyandırdığı ve bu sayede tedavi yönteminin de başarılı olduğunun vurgulandığı tespit edildi. Necmeddin Sami, bu bilgilerin günlük gazetelerde yayımlanmasının öneminin altını çizmekte; ayrıca, hasta ve acı çeken hayvanlara yardım edilmemesinin mümkün olamayacağını ve hayvanlara merhamet göstermeyecek insanların olmasını düşünemediğini bildirmektedir (Sayfa 2-10).

İnsanların, hayvanların hem dirisinden hem de ölüsünden yararlandığı; kemiklerinin sanayide, derilerinin giysilerde kullanıldığı ifade edilmiştir. Hayatımızı devam ettirmemizi sağlayan hayvanlara karşı görevlerimiz olduğu ve bunların sadece beslemek ve tımar etmekle kalmadığı anlatılmış; hastalıklar konusunda da çalışılması gerektiği söylenmiştir. Hayvan sahiplerinin genelde, bu konuya özen gösterdiği, ancak az sayıda da olsa, “ölürse bir daha alırım” diyenlerin olduğu bildirilmiştir. Hayvan sahiplerinin bu iyi niyetlerine karşın hızıssihha, yetiştirilme ve hastalıkların tedavisine ilişkin bilgi verilmediği için hayvan bakımının hakkı ile yapılamadığı vurgulanmıştır.

“Ben bir menfaat azîme düşünerek aczimi unutuporum. Fakat bir acizin teşbisatı (girişimi) tababet baytariyye mütehasısını gayrete getireceği şüphesiz olduğundan tasavvur ettiğim menfaatin bir kat daha artacağı variste-i izahtır. Zaten cümlemizin maksadı dahi bundan ibarettir. Umumun anlayacağı bir usulü takip ederek vereceğimiz malumat herkese lazımdır. Çünkü hayvan beslemekle meşgul olmayanlar pek azdır” ve son olarak da *“Vereceğimiz malumat da hayvanları beslemek, sıhhatlerini muhafaza etmek, lazım gelen terbiyeyi vermek, çoğaltmak gibi usulleri göstermekten ibarettir. Ümit ederim ki erbâb-ı ihtisasın himmet ve gayretleriyle verebileceğim malumat bir kat daha tevessü eder, herkes de tababet baytariyye'nin bu derece-i terkisinden artık müstefid olmaya başlar.”* ifadeleriyle önsöz bitirilmiştir.

Necmettin Sami'nin Malumat-ı Baytariyye isimli kitabı, atlarla ilgili bilgiler veren üç bölümde oluşmuştur. 1- Bargirleri ilk defa daire-i terbiyeye alan kimlerdir? Bunlar nereden gelmiş? Dünyanın her tarafına nasıl yayılmıştır? (sayfa no: 11-15), 2- Ağdiye-i (gıda) Hayvanat Ehliye (sayfa no: 15-27), 3- Hayvanların yatacakları yerler (sayfa no: 27- 46). Birinci bölümünde atların ilk ne zaman evcileştirildiği, nereden geldikleri ve dünyaya nasıl yayıldıklarından bahsedilmiştir. İkinci bölümde atların beslenmesi ve üçüncü bölümde de atların barınacak yerleri anlatılmıştır. İlk bölümde atların kökeninin mağara kalıntılarına dayandırılarak 400.000 yıl önceye kadar tarihlendiğini ancak bundan önce de var olabileceklerini bildirmiştir. Bu

önceki tarihleri de Homeros efsanelerine sonra da Mısır'daki taş üstüne yapılmış resimlere kadar götürmüştür. Hatta Çinlilerin atla Yunanistan'a gidişlerini anlatmış ve Yunanlıların süvarileri üstü insan altı at olarak algıladıklarını ve korktuklarını belirtmiş *“Eğer Yunanistan'da at olsa korkmazlardı”* şeklinde bir çıkarımda bulunmuştur. Atların nereden köken aldığı bilinmemekle birlikte bazı kitaplara göre Sibirya'nın güneyindeki Altay ve Tıyaşan dağları arasında ilk örneklerine rastlanıldığı iddia edilmektedir demıştır. Kitabın bu bölümünde atın kökenine ve diğer yazarların görüşlerine yer vermiş; ve bu bölümü atın evcilleştirildiğini belirterek bitirmiştir.

İkinci bölüm ise atların beslenmesine ilişkindir. Bu konuda Avrupada pek çok girişimin yapıldığı ancak hazırlanan rasyonun ya çok maliyetli olduğunu ya da yeterli besleyici özelliğe sahip olmadığını belirtmiştir. Atların beslenmesinde kuru otun tek başına yetmeyeceği, hayvanın bunu hazmedebilmesi için çok uzun zaman gerektiği ve bu süre zarfında da hayvanın çalıştırılmayacağını örneklerle açıklamıştır. Bu yüzden maliyeti düşük kuru ot ile yulafın birlikte verilmesini, kuru ottan 7500 gr ve yulaftan da 2270 gr verildiğinde bunun kısa sürede sindirileceğini ve hayvanın da ağır iş görmesi için yeterli olacağını söylemiştir. Bu bölümde yemlerin içeriklerinden de bahsetmiş, bir Fransız veteriner hekimliği gazetesinden aldığı, tablolar ile besinlerin içerdiği azot, yağ ve karbon miktarı ve kuru otların içeriklerini göstermeye çalışmıştır.

Arpa posasının rasyonlara yeni yeni girdiğini çok yararlı olduğunu, bira yapımından arta kalan bir ürün olduğunu ve Avrupa'da arpa posası üretmek için fabrikaların kurulduğunu söylemiştir.

“Kuru otların iyilikleri, kokularının güzel, tatlarının tatlı, renklerinin soluk ve pek yeşil olmamasıyla fark olunur. Hele kuru otlar yulaf, çavdar, yabancı burçak, kaba yonca gibi otlarla karışık bulunacak olursa hayvanların fevkalade bir iştiha ile yiyecekleri bir gıda olmuş olur.”

Saman – samanlar “buğday, arpa, yulaf samanı” namıyla yad olunur. Samanlar iyi olmak için layıkıyla döğülmüş olmak lazımdır. Yumuşak ve renklerinin beyaza mail sarı olması samanın iyiliğine delalet eder. Esmer renkli, keskin kokulu samanlar iyi değildir. Hele eski samanlar hayvana asla verilmemelidir; çünkü karaciğer, mide hastalıklarını mucip olabilir.”

Arpa – Arpaların iyiliği ekseriya renklerinin saman sarılığında bulunması ve ağır olması ile anlaşılır. İyi arpanın bir hektolitresi 75 yeni okka gelebilir. Bir de elde tutup da ovuşturulacak olursa arpa danelerinin parmaklar arasında kaydığı görülür.”

Yulaf – Yulaf da arpa gibi ağır, parlak olmalı ve elde sıkıldığı vakit kaymalıdır. Bunun bir hektolitresi 49-50 yeni okka olabilir.

Kepek – kepeğin iyisini intihap etmek için el için de veya iki parmak arasında azıcık tazyik etmeli. Eğer parmaklarda bir beyazlık görülürse iyidir. Bir de koklayıp kokusu olup olmadığını muayene etmeli. Eğer kokusu varsa iyi değildir.

Kepeklerin su ile karıştırılıp verilmesi hazmın adem (yokluk) intizamına karşı güzel bir tedbir sayılır.”

Bunlara ek olarak hayvanlara rasyonlarda bir miktarda tuz verilmesini önermiştir.

“Hayvanların Yatacak Yerleri” başlığındaki üçüncü bölüme, “hıfzıssıhha kurallarına uymak insanlar için ne kadar önemli ise hayvanlar içinde aynı öneme sahiptir” demekle başlamıştır. Binaların inşaatının öneminden bahsettikten sonra temiz havanın niçin gerekli olduğunu örnekler vererek açıklamıştır. Bu arada da hayvan sahiplerinin hayvana kendilerinin bakmaları gerektiğini eğer bu mümkün değilse mutlaka düzenli kontrol etmeleri gerektiğini söylemiştir. Hayvana bakmanın çok önemli olduğunu, oluşabilecek kötü sonuçların yalnızca hayvana değil aynı zamanda ev halkına da zarar verebileceğini, hastalıkların isimlerini vermeden örneklerle detaylı bir şekilde anlatmıştır.

Bilimsel verilere göre bir ata 24 saatte 20 m³ temiz havanın gerekli olduğunu ve ahırların, bu durum göz önüne alınarak yapılması gerektiğini söylemiştir. Buna göre her hayvan için bir buçuk metre uzunluk, altı metre genişlik verilerek üzere yapılacak ahırın uygun olduğunu bildirmiştir. “Ahırların uzunluğu her hayvana bir buçuk metre olmak koşulu ile hayvanların adedine göre her sıra için altışar metre eklenmesi gerekmektedir. Örneğin on hayvan için yapılacak ahırın uzunluğu hayvanların sayısının bir buçuk misli yani onbeş metre olmalı, genişliği de altı metre olmalıdır. Eğer iki sıra olmak üzere bağlanacak ise o zaman altının iki misli olan on iki metre yer verilmelidir. Ahırların daima yüksek ve rutubetli olmayan yerlerde yapılmasına özen gösterilmelidir. Ahırlara açılacak pencereler ya tavana yakın yani zeminden oldukça yüksekte olmalı, yahut tavanlarda genişçe menfezler açılmalıdır; çünkü bu yükseklikte açılacak pencerelerden hava girip aşağıya ininceye kadar ısınacağından hayvanlara zararı olmayacaktır. Pencereler zemine yakın yapılmış olursa soğuk hava doğrudan doğruya hayvanın vücuduna çarparak birtakım hastalıklara neden olabilir. Ahırların zemini düz olacak olursa hayvanların idrarları toplanıp kötü kokuya neden olur. Bu durumu önlemek için ahırların zeminini meyilli yapmaya başlamışlarsa da bu cihetin hayvanları rahatsız ettiği anlaşılacak başka çareler düşünülmeğe başlanmış. Nihayet

idrarın toplanıp kalmaması için atın bağlı bulunduğu yere bir lağım açıp üzerine delikli bir kapak koymak tedbiri alınmıştır. Hayvanların yemlikleri kemirmemeleri için taştan yahut demirden yapılmalıdır; yükseklikleri de bir metreden aşağı olmamalıdır.”

Dezenfeksiyon için “Hamız Fenikli su ile her gün ahır birkaç defa sulamak güzel bir tedbirdir. Bir kabin içine bir parça Klor Keles (Clorur de chaux) koyup bulamaç kıvamına gelinceye kadar su ile karıştırdıktan sonra ahırın bir tarafına bırakmalı, klor gazı intişar etmek için de arasına karıştırmalıdır” şeklinde bir tavsiyede bulunmuştur.

Kitap, atların vücut özelliklerinin aşağıdaki gibi anlatılmasıyla sona ermiştir: “Hayvanın başı ne düz nede amûd (dik) olmamalı, Baş küçük veya çok büyük olmamalı, vücutla güzel bir nispette bulunmalıdır. Bununla beraber kuru ve hacimlice olmalıdır. Hayvanın gözüyle kulakları beyindeki (arasındaki) mesafe bir dört köşe olmalıdır. Çene altı çukurluğu ne kadar geniş olursa o kadar iyidir. Burun üstünün çukur olması solunumu bozacağından oranın düz olmasına dikkat edilmelidir. Burun delikleri geniş olmalıdır. Kulaklar kısa ve dik olmalı. Kulakların düşük olması hayvanın kuvvetsizliğine delalet eder. Göz çukurluklarının derin olması hayvanın ihtiyarlığına bir alamet ise de hayvanın semizliğini veya zayıflığını nazar dikkate almayı unutmamalıdır.

Ağız orta bir halde yarı olmalı. Aksi halde hayvanın kemden müteessir olması mümkün olamaz. Gözleri parlak ve ayrı, dudakları ince, ağız küçük, alt dudağı nazik ve sivri ve üzerinde uzun ve sert kıllar bulunmalıdır. Dişleri muntazam olmalıdır. Boyun mail olmalı. Uzun olmamasına, etli olmasına dikkat edilmelidir. Bir de cidagdan uzaklaştıkça inceleşerek yakın bir şekil olmalıdır. Cidago yüksek olmalı, arka cüz-i miktar, bel kısa geniş, sağrı uzun afaki olmalı. Kuyruk mümkün merteye sağrının yukarısından başlamalıdır. Göğüs, ba-husus ağır yük taşıyan hayvanlarda, ne kadar geniş olursa o kadar iyi olur. Omuz kuru, mail, uzun olmalı. Ön ayakları uzun ve etleri güzelce teşekkül etmiş olmalı. Dirseklerin geri tarafı basık olmamalı, müdevver (yuvarlakça) olmalıdır. Tırnakların dış tarafı siyah, parlak ve sert olmalıdır.”

Tartışma ve Sonuç

Malumat-ı Baytariye'nin, önce basında sansürün yoğun olarak yaşandığı bir dönemde (II. Abdülhamit dönemi), toplumun eğitilmesi amacıyla güncel konular üzerinde faydalı bilgiler yayımlama amacıyla çıkarılan “edebî ve fennî gazete” tanımlamasıyla çıkarılan Hazine-i Fünûn'da

yayınlandığı anlaşılmaktadır (Kaya, 2010; Şimşek, 2007).

Hazine-i Fünûn'da beş ayrı sayıda ele alınan veteriner hekimlik ve hayvan yetiştiriciliğine ait bilgilerin, "Malumat-i Baytariyye" başlığı altında toplanarak bir arada tekrar basıldığı saptanmıştır. Kitabın önsözünde eserin, halka/yetiştiriciye bilgi aktarmak amacıyla kaleme alındığı belirtilmiştir. Yapılan taramalarda ve ilgili çalışmalarda kitabın yazarı "Necmeddin Sami" hakkında herhangi bir bilgiye ulaşılamamıştır. Çalışmanın konusunu oluşturan bu kitabın dışında 1895 yılında "Sevda Çiçekleri yahud İzdivacın Ehemmiyeti" adlı bir çeviri roman ile 1895 yılında Violet- Kabus isimli bir çeviri hikaye kitabı yayınladığı saptanmıştır (Yağcı ve Selin, 2011). "Hazine-i Fünûn Mecmuası" isimli derginin çeşitli sayılarında sağlık, fen, hikaye ve şiir olmak üzere çeşitli konularda 15 yazısı bulunduğu bildirilmiştir (Şimşek, 2007). Mesleğinin ne olduğu belirtilmemekle birlikte, veteriner hekim olduğuna ilişkin herhangi bir bilgi bulunamamıştır (Bekman, 1940). Önsözde yer alan "bir aczin teşbisatı" ifadesinin veteriner hekim olmadığı kanısını güçlendirdiği söylenebilir. Bununla birlikte, kitabın içeriğinden entelektüel yönünün olduğu ve Fransızca veteriner hekimliğe ilişkin basılı materyalleri takip ettiği anlaşılmaktadır.

Kitabın adı her ne kadar "Malumat-ı Baytariyye" olsa da içeriği ağırlıklı olarak at yetiştiriciliği ile ilgilidir. Atlarda rasyon hazırlanmasını detaylı olarak aktarmış ama bu bilgileri nereden aldığını yazmamıştır.

Kitabın önsözünde veteriner hekimlik ve beşeri hekimliğin birbirinden yararlandığı ve veteriner hekim sayısının arttıkça bu durumun beşeri hekimliğe daha fazla katkı sağlayacağı ifade edilmiştir. Bu durum günümüzde "Tek Tıp Tek Sağlık" olarak isimlendirilmekte ve bu konu üzerinde dünyada yeni bir akım gelişmektedir (Temizyürek, 2007). Necmeddin Sami'nin ilk kez Sir William Osler tarafından, (Cardiff ve ark., 2008; Gyles, 2016) 1800'lü yıllarda "veteriner tıbbı ile insan tıbbı birbirini tamamlamaktadır ve bu konsept tek tıp konsepti olarak algılanmalıdır" şeklinde ifade edilen bu kavramdan haberdar olduğu ve döneminin bilimsel literatürünü yakından takip ettiği ileri sürülebilir.

Hasta ve acı çeken hayvanlara yardım edilmesi ve hayvanlara merhamet gösterilmesi konularına yaptığı vurgu hayvanları koruma ve hayvan refahı konuları ile ilişkilendirilebilir. Hayvanların insan yaşamında kullanıldığı alanları belirtmesi ve "hayatımızı devam ettirmemizi sağlayan hayvanlara karşı görevlerimiz olduğu ve bunların sadece beslemek ve tımar etmekle kalmadığı; hastalıklar konusunda da çalışılması gerektiğini"

söylemesinden hareketle, yazarın, günümüz hayvan refahı çalışmalarında ele alınan hususların (Duncan ve Fraser, 1997; Yaşar ve Yerlikaya, 2004) farkında olduğu iddia edilebilir.

Hayvan sahiplerinin bu iyi niyetlerine karşın hızıssihha, yetiştirilme ve hastalıkların tedavisine ilişkin bilgi verilmediği için hayvan bakımının hakkı ile yapılamadığı vurgulaması, hayvan yetiştiricilerinin eğitilmesine verdiği önemi göstermektedir.

"Hayvanların Yatacak Yerleri" başlığındaki üçüncü bölümde aktarılan bilgiler dönemin ve günümüzün hızıssihha bilgileriyle uyumludur (Aritürk, 1986; Arpacık, 1996). Hayvana bakmanın çok önemli olduğunu, oluşabilecek kötü sonuçların yalnızca hayvana değil aynı zamanda ev halkına da zarar verebileceğini vurgulaması, hastalık adlarını vermese de zoonozlar hakkında bilgi sahibi olduğu kanısını güçlendirmektedir.

Sonuç olarak, çalışmanın temelini oluşturan bu kitabın, halkı; atların beslenmesi, hızıssihha, ahır temizliği, hayvan refahı konularında doğru bilgilendirmek amacı taşıdığı ve bilgilerin, dönemin at yetiştiriciliği, sağlığın korunması, halk sağlığı konularının gelişmesine katkı sağladığı ileri sürülebilir. Ayrıca, kaleme alındığı yıllardaki batılılaşma ve aydınlanma çabalarına katkı sağlama amacını yansıttığı söylenebilir.

Kaynaklar

- Akyüz K, 1995: Modern Türk Edebiyatının Ana Çizgileri (1860-1923). İnkılap Kitabevi, İstanbul.
- Aritürk E, 1986: Genel Zootekni II-Hayvan Barınakları. Ankara Üniv.Veteriner Fak.Yay., Ankara.
- Arpacık R, 1996: At Yetiştiriciliği. Şahin Matbaası, Ankara.
- Balsoy G, 2014: Geç osmanlı öğüt kitaplarında kısırlık. OTAM, 35, 41-64.
- Baysal J, 2010: Müteferrika'dan birinci meşrutiyete kadar Osmanlı Türklerinin bastıkları kitaplar: 1729-1875 (kitapların tam listesi ile) / geniş. göz. geçrl. 2.bs. / Hasan S. Keseroğlu, İlkin Mengülek - Hiperlink, İstanbul.
- Bekman M, 1940: Veteriner tarihi. Ankara Basım ve Ciltevi, Ankara.
- Cardiff RD, Ward JM, Barthold SW, 2008: One medicine— one pathology: are veterinary and human pathology prepared? *Laboratory Investigation*. 88, 18–26.
- Derviş E, 2008: Hazine-i Fünun Dergisi (3. Yıl 27-52. sayılar), (İnceleme ve Seçilmiş Metinler), Cumhuriyet Üniversitesi, Yüksek Lisans, Sivas.
- Dinçer F, Özgür A, Yaşar A, Özen A, 1999: Osmanlı Döneminde Veteriner Hekimliği Alanında Te'lif, Tercüme ve Yayın Faaliyetleri. Osmanlı Dünyasında Bilim ve Eğitim Milletler Arası Kongresi, Tebliğler Kitabı, IRCICA, Osmanlı Tarihi Kaynak ve İncelemeleri Dizisi: 7, İstanbul: 375-399.

- Doğan İ, 1993: Osmanlı bilimsel topluluklarının Türkiye'deki bilim eğitime etkileri. *Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi Dergisi*. 26, 131-149.
- Duncan IJH, Fraser D, 1997: Understanding animal welfare. In: "Animal Welfare." Ed; Appleby MC and Hughes BO, University Press, Cambridge.
- Erk N, Dinçer F 1970: Türkiye'de Veteriner Hekimliği Öğretimi ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Tarihi. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Godlewsky ve Sommer, 1972: Veteriner Hekimlik (19'uncu Yüzyıl Ortalarında) (Çev. N. Erk). Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 281, Çalışmalar: 183, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Gyles C, 2016: One Medicine, One Health, One World, *CVJ*, 57, 345-346.
- Kaya M, 2010: Hazine-i Fünûn Dergisi (3. yıl, 1-26. sayılar) inceleme ve seçilmiş metinler, Cumhuriyet Üniversitesi, Yüksek Lisans, Sivas.
- Melikoğlu Gölcü B, Osmanağaoğlu Ş, 2012: Mecmûa-i Fünûn-i baytariyye: inceleme ve özetli bibliyografya, *Osmanlı Bilimi Araştırmaları*. XIV, 46-88.
- Osmanağaoğlu C, 2007: Osmanlı modernleşmesi bağlamında, Osmanlı Devleti'nin eğitim ve öğretim sisteminde yapılan değişiklikler (Reformlar). *İÜHFİM*, LXV, 143-222.
- Özen A, Yaşar A, 2006: Evaluation of oldveterinarymanuscripts in islamicperiod. I. Ulusal Veteriner Hekimliği Tarihi ve Mesleki Etik Sempozyumu Bildirileri (Ed. Abdullah Özen): s.531-558, 30 Mart-1 Nisan, Elazığ.
- Özlu Z, 2014: 19. yüzyıl sonlarında Osmanlı Devletinde hazırlanan iki risale: Vebâ-yı Bakarî ve Zâtülceb. *Askerî Tarih Araştırmaları Dergisi*, 12 (23): 99-114.
- Polat H, 2013: Mülkiye Baytar Mektebi: 1894-1922, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Türkiyat Araştırmaları Enstitüsü, İstanbul.
- Quataert D, 2006: Tanzimat Döneminde Ekonominin Temel Problemleri, (Çev. Fatma Acun) İç: Tanzimat Değişim Sürecinde Osmanlı İmparatorluğu, Eds. Halil İnalçık ve Mehmet Seyitdanlıoğlu, Phoenix Yayınevi, 447-455.
- Sel S, 2004: Hazine-i Fünûn dergisi (2. yıl, 1-26. sayılar) (inceleme ve seçilmiş metinler), Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Sivas.
- Şimşek E, 2007: Hazine-İ Fünûn Dergisi (2. Yıl, 27-52. Sayılar) (İnceleme Ve Seçilmiş Metinler) Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Sivas.
- Quataert D, 2006: Tanzimat Döneminde Ekonominin Temel Problemleri, (Çev. Fatma Acun) İç: Tanzimat Değişim Sürecinde Osmanlı İmparatorluğu, Eds. Halil İnalçık ve Mehmet Seyitdanlıoğlu, Phoenix Yayınevi, 447-455.
- Temizyürek A, 2007: Veteriner hekimler ile insan hekimleri tek sağlık konseptine geri dönüyorlar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78, 16-23.
- Ulusoy Nalcıoğlu B, 2005: Tanzimat dönemi Türk gazeteciliği ve Türk basınının ilkleri. *MANAS Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 7, 253-267.
- Yağcı E, Selin A, 2011: Catalogue of Indigenous and Translated Novels Published Between 1840 and 1940. http://kisi.deu.edu.tr/selin.erkul/Erkul_Catalogue_July_2011.pdf, Erişim tarihi; 29.11.2017.
- Yaşar A, Yerlikaya H, 2004: Hayvan Gönenci - Veteriner Hekimliği İlişkisi ve Avrupa Birliğindeki Yasal Düzenlemeler Üzerine Bir Araştırma. *Avrasya Veteriner Bilimleri Dergisi*, 20 (4), 17-24.

*Yazışma Adresi: Şule SANAL

Department of Veterinary History and Deontology,
Faculty of Veterinary Medicine, Ondokuz Mayıs
University, 55139 Samsun- Turkey.
E-mail: suleo@omu.edu.tr

Deneysel Ülseratif Kolit Üzerine Yüksek Karbonhidratlı, Yüksek Yağlı ve Aralıklı Beslemenin Etkisi

Ahmet UYAR^{1*}, Hüseyin EMLİK², Turan YAMAN³

^{1*} Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

Geliş Tarihi: 03.11.2017

Kabul Tarihi: 28.12.2017

Özet: Bu çalışmada, dünyada görülme sıklığı artan inflamatuvar bağırsak hastalıklarının (İBH) bir tanesi olan Ülseratif kolit (ÜK) hastalığının Wistar albino türü ratlarda deneysel oluşumu üzerine beslenme şekli ve sıklığının karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla; Kontrol (n=7), Kolit (n=7), Kolit-Yüksek Karbonhidratlı Diyet (K-YKD) (n=7), Kolit-Yüksek Karbonhidratlı Aralıklı Diyet (K-YKAD) (n=7), Kolit-Yüksek Yağlı Diyet (K-YYD) (n=7), Kolit-Yüksek Yağlı Aralıklı Diyet (K-YYAD) (n=7) olacak şekilde çalışma grupları oluşturuldu. Gruplardan aralıklı besleme gruplarına haftada sadece 2 gün (ardarda olmayan) diyet verilmesine 24 saat ara verildi. 7 haftalık beslemeden sonra deneysel kolit modeli; kolit ve tedavi gruplarındaki (Kolit, K-YKD, K-YKAD, K-YYD, K-YYAD) ratlara anestezi altında 30° trendelenburg pozisyonunda 8 mm'lik kateterin rektal yoldan 8 cm ileriye asetik asidin (pH 2.4, % 4) intrarektal (i.r.) olarak uygulanması ile oluşturuldu. 72 saat sonra ratlar sakrifiye edilerek histopatolojik örnekler %10 tamponlu formaldehite alındı. Histopatolojik incelemelere göre asetik asitin ciddi kolit hasarlarına neden olduğu buna karşın aralıklı olarak verilen diyet gruplarında bu hasarların oldukça minimal düzeyde kaldığı görülmüştür. Sonuç olarak kolit modelinde aralıklı diyet uygulamasının olumlu etkileri olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Yüksek Karbonhidratlı, Yağlı ve Aralıklı Diyet, Kolit, Rat.

Effect of High Carbohydrate, Fat and Intermittent Fasting Diet on Experimental Ulcerative Colitis

Abstract: In this study, it was aimed to comparatively investigate the effect of diet type and feeding frequency on occurrence of experimental ulcerative colitis (UC), in Wistar albino rats. For this purpose, 7 rats were randomly selected and 6 groups were formed as Control (n=7), Colitis (n=7), Colitis-High Carbohydrate Diet (C-HCD) (n=7), Colitis - High Carbohydrate Diet with Intermittent Feeding (C-HCIFD) (n=7), Colitis -High Fat Diet (C-HFD) (n=7), Colitis-High Fat Diet with Intermittent Feeding (C-HFIFD) (n=7). In intermittent feeding groups the feeding was interrupted twice in a week for 24 hours. After 7 weeks of feeding, experimental colitis model was induced in colitis and treatment groups rats by intrarectal administration of acetic acid (pH 2.4, 4 %). After the 72 hours rats were sacrificed and colon samples were taken into 10% formalin solution. Histopathological studies have shown that acetic acid caused severe colitis damage, whereas the damage remained at minimal levels in groups with intermittent feeding. As a result, it was concluded that intermittent feeding administration in the colitis model had positive effects.

Keywords: High Carbohydrate, Fat and Intermittent Fasting Diet, Colitis, Rat.

Giriş

İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (İBH) gastrointestinal kanalın kronik, idyopatik inflamasyonu ile karakterize hastalığı olup Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) olmak üzere iki klinik formdan oluştuğu belirtilmektedir. ÜK genellikle kolon ve rektumu etkilemesine karşın, CH gastro-intestinal kanalın herhangi bir kısmında görülebilmektedir (Daneshmand ve ark., 2011; Nagib ve ark., 2013). Hastalığın her iki formunun ortak özelliği başta gastrointestinal kanal olmak üzere tüm vücut sistemlerini etkileyebilmesidir (Griffiths ve Buller, 2000).

İnflamatuvar barsak hastalıklarının etiyolojisinde çeşitli enfeksiyöz etkenler, allerjenler, beslenme alışkanlıkları, psikosomatik faktörler ve otoantijenlere karşı gelişen immun yanıt (Ordás ve ark., 2012; Podolsky, 2002), patogenezinde ise mukoza koruyucu faktörlerin dengesinde bozulma, aşırı bakteri çoğalması,

sitokin ve mediatör sentezindeki değişiklikler sorumlu tutulmaktadır (Dieleman, 1994).

Sağlıklı bir beslenme düzeninde günlük olarak gereksinim duyulan enerjinin %50-55'i karbonhidratlardan, % 25-30'si yağlardan (%15 tekli doymamış, %15 çoklu doymamış) geri kalan % 15'i de proteinlerden karşılanmalıdır (Hopfer, 1997). Yetersiz beslenmeye ve organizmanın ihtiyacı olan besinlerin eksikliğine sebebiyet vermeden diyetin azaltılması aralıklı besleme veya kalori kısıtlaması şeklinde çeşitli inflamatuvar hastalıklarda uygulanmaktadır (Akman ve ark., 2004; Longo ve Panda, 2016). Bu yöntemlerde glikolizis azalmakta, glikoneogenesis ve transaminasyon mekanizmaları hızlanmaktadır. Dolayısı ile glikolitik mekanizmalardan öte diğer besin maddelerinin oksidasyonu hızlanmaktadır (Hagopian ve ark., 2005). Diyetin inflamatuvar barsak hastalığı etiyolojisinde rolü

tam olarak ortaya konmasa da çok az yapılan çalışmada artan karbonhidrat, şeker, nişasta alınımı ile kolit arasındaki ilişki araştırılmıştır (Chan ve ark., 2014).

Yapılan bu çalışmada yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı diyetlerle aralıklı beslemenin asetik asit ile deneysel olarak kolit oluşumu üzerine etkisi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deney hayvanları, deney düzeni ve diyet hazırlanması: Yapılan bu çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nden temin edilen 200-250 g ağırlıklı 2-2,5 aylık yaşta olan 42 adet erkek Wistar albino türü rat kullanıldı. Ratlar % 50-60 nem oranı, 22 ± 1 °C oda ısısı, ışık düzeni 12 saat gündüz/12 saat gece olan ortamda tutuldu. Deneme, YUHADYEK (Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu) tarafından onay alınarak (30.07.2015 tarih ve 09 sayılı kararı) gerçekleştirildi.

Her grupta 7'er adet olacak şekilde ratlar Kontrol, Kolit, Kolit-Yüksek Karbonhidratlı Diyet (K-YKD), Kolit-Yüksek Karbonhidratlı Aralıklı Diyet (K-YKAD), Kolit-Yüksek Yağlı Diyet (K-YYD), Kolit-Yüksek Yağlı Aralıklı Diyet (K-YYAD) olarak 6 gruba ayrıldı. Deneysel kolit oluşturmak amacıyla ketalar (50 mg/kg) ve rompun (10 mg/kg) ile anesteziye alınarak 30° trendelenburg pozisyonuna getirilen ratlara 8 mm'lik kateter, rektal yoldan 8 cm ileriye uzanacak şekilde yerleştirildi. Kolit, K-YKD, K-YKAD, K-YYD, K-YYAD grubu ratlara 1 ml, pH 2.4, % 4'lük asetik asit intrarektal (ir) olarak uygulandı. Kontrol grubundaki ratlara ise eş zamanlı olarak ir yoldan 1 ml serum fizyolojik (nötr pH'da % 0.9'luk NaCl) verildi. Uygulanan maddelerin geri kaçmasını engellemek için denekler 30 sn süreyle kuyruktan kaldırılarak baş aşağı şekilde tutuldu ve sonrasında yine trendelenburg pozisyonunda anesteziden çıkana kadar yaklaşık 30 dk bekletildi. Tüm gruplardaki ratlar ir asetik asit veya serum fizyolojik uygulamasından 72 saat sonra sakrifiye edildi. Tüm grupların nekropsileri yapılarak transvers kolonun ortasından rektumun distaline kadar uzanan yaklaşık 10 cm'lik kolon segmenti çıkarıldı ve fekal içeriği serum fizyolojik ile temizlendi. Kolon hasarının derecesi Morris ve ark. (1989)'nın Tablo 1'de belirtilen sınıflandırmasına göre lup kullanılarak makroskopik skorlama yapıldı. Kolon dokularında makroskopik hasarın en fazla olduğu kısımlar histopatolojik inceleme amacıyla % 10'luk tamponlu formaldehit içine alınarak 72 saat süreyle tespit edilmeleri sağlandı. Rutin takip işlemi kapsamında; doku örnekleri alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyonları; ksilol serilerinden geçirilerek şeffaflandırılmaları sağlandı ve daha sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan mikrotomda (Leica RM 2135) 4

mikron kalınlığında alınan seri kesitler Hematoksilin-Eozin (H.E.) ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-Rİ2) Appleyard ve Wallace (1995) tarafından Tablo 2'de belirlenen mikroskopik kriterlere göre incelenerek fotoğrafları çekildi. Günlük yüksek yağlı diyet hazırlamak amacıyla 100 gram standart pellet yeme 25 g yağ yağ eritilerek eklendi (Zhou ve ark., 1998). Yüksek karbonhidratlı diyet ile beslenecek ratlara standart diyetle beraber sularına sükröz (300 g/l) takviyesi yapıldı (Malafaia ve ark., 2013). Deneysel süreç 7 hafta sürdürüldü. Bütün gruplar bu süreç boyunca yiyebildikleri kadar uygun diyet ve su ile beslendiler. Gruplardan aralıklı besleme grubuna haftada sadece 2 gün (Pazartesi ve Perşembe günleri) diyet verilmesine 24 saat ara verildi.

Tablo 1. Kolon dokusu makroskopik sınıflandırma kriterleri (Morris ve ark., 1989).

Skor	Makroskopik inceleme
0	Normal görünümlü mukoza
1	Lokalize hiperemi, ülser yok
2	Belirsiz inflamasyonlu linear ülser
3	Bir bölgede inflamasyonlu linear ülser
4	İki yada daha fazla inflamasyon ve/veya ülserasyon bölgesi
5	İki veya daha fazla major inflamasyon ve ülserasyon bölgesi yada kolonda 1 cm'den daha büyük bir tane inflamasyon ve ülserasyon bölgesi

Tablo 2. Kolon dokusu mikroskopik değerlendirme kriterleri (Appleyard ve Wallace, 1995).

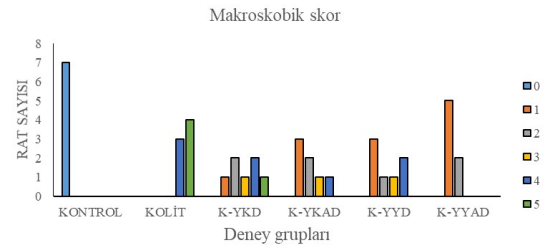
Skor	Mikroskopik inceleme			
	Mukozal yapı kaybı	Hücresel infiltrasyon	Kript apsesi	Goblet hücre azalması
0	Yok	Yok	Yok	Yok
1	<%5	Az	Var	Var
2	%5-%10	Orta	-	-
3	>%10	Belirgin	-	-

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel analiz, SPSS yazılımı (Ver. 22; IBM-SPSS) kullanılarak yapıldı. Ölçüm verileri ortalama \pm standart hata şeklinde sunuldu. Gruplar arasındaki verilerin farklılaşmasının önemi tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) ile belirlendi.

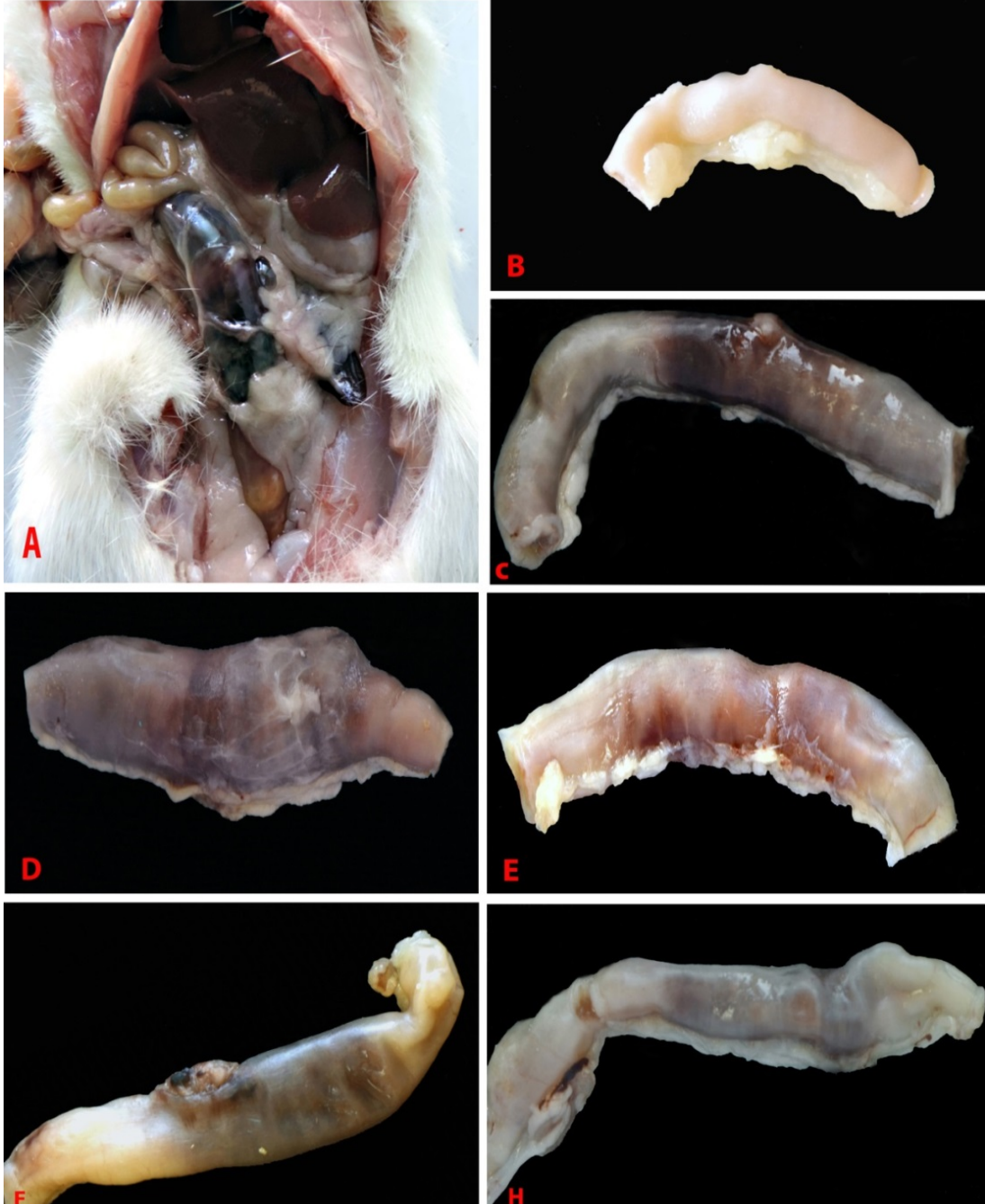
Bulgular

Makroskopik bulgular: Makroskopik sınıflandırma kriterlerine göre (Morris ve ark., 1989) skor değerlendirmesi Şekil 1'de sunulmuştur. Kontrol grubu ratların kolonlarında herhangi bir makroskopik bulguya rastlanılmamıştır. Kolit grubunda hasar skoru 4 olan 3 rat ve hasar derecesi 5 olan 4 rat tespit edilmiştir. K-YKD

grubunda hasar skoru 1, 3 ve 5 olan birer rat bulunurken 2 ve 4 olan ikişer rat, K-YKAD grubunda ise hasar skoru 1 olan üç rat, 2 olan iki rat ve 3, 4 olan birer rat tespit edilmiştir. K-YYD grubunda hasar skoru 1 olan üç rat, 2, 3 olan birer rat ve 4 olan bir rat, K-YYAD grubunda ise hasar skoru 1 olan beş rat ve 2 olan iki rat tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre kolitli tüm beslenme gruplarının kolon dokularında makroskobik olarak farklı derecelerde hasar olduğu görülmüştür. Gruplara ait makroskobik olarak kolon görünüşleri Şekil 2 A-H'de sunulmuştur.

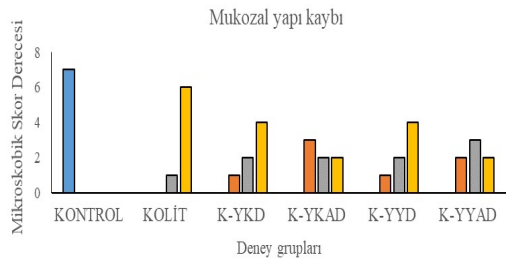


Şekil 1. Tüm gruplarda makroskobik hasarın dağılımı



Şekil 2. A-H. Laparotomi sırası ve sonrası gruplara göre kolon dokusunun makroskobik görünümü. A: Kolit grubu ratın laparotomi sırasında görünümü. B: Kontrol grubu C: Kolit grubu D: K-YYD grubu E: K-YYDA grubu F: K-YKD grubu H: KYKDA grubu.

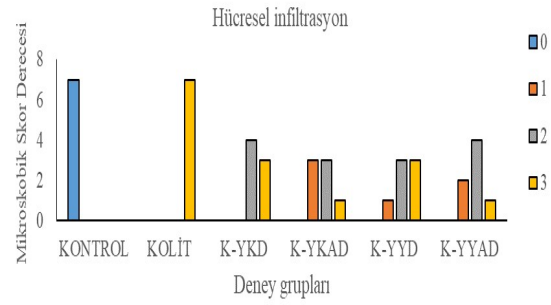
Mikroskopik bulgular: Mikroskopik sınıflandırma kriterlerine göre (Appleyard ve Wallace, 1995) skor değerlendirmeleri Şekil 3, 4, 5 ve 6'da sunulmuştur. Kontrol grubu ratların kolonlarının mikroskopik incelenmesinde normal histolojik yapıya sahip kriptler görüldü. Kolit grubunda ise kriptlerde çok şiddetli erozyon, mukozal ve submukozal yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve çok şiddetli yaygın hemoraji, submukozal ödem, vaskülit ve mukozal epiteldeki lezyonlar sonucunda bezlerden koparak bağırsak lümenine dökülen piknotik nükleuslu nekrotik hücrelere rastlanıldı. YKD ve YYD grubunda kolit grubundaki bulgulara yakın derecede kriptlerde erozyon, hafif derecede mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji ve yaygın submukozal ödem görüldü. Aralıklı diyetin uygulandığı K-YKDA ve K-YYDA gruplarında kriptler normal histolojik yapısını korumakla birlikte Kolit, YKD ve YYD gruplarına oranla daha çok daha hafif derecede kriptlerde erozyon, mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal hemoraji fokal submukozal ödeme rastlanılmıştır. Kolon hasarının mikroskopik görüntüleri Şekil 7 A-F'de sunulmuştur.



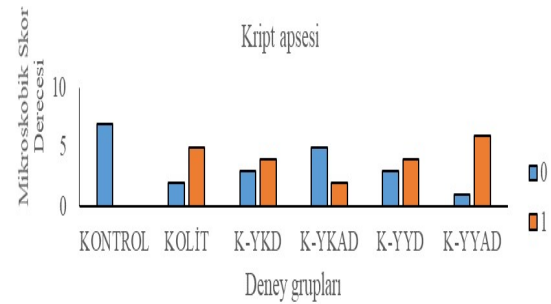
Şekil 3. Tüm gruplarda mukozal yapı kaybı skorları.

Tartışma ve Sonuç

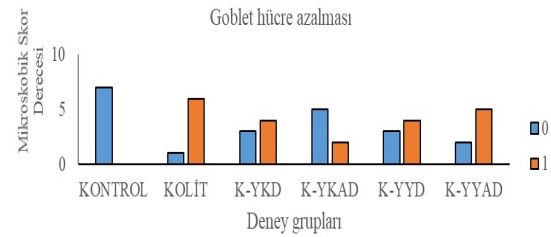
Gelişmiş olan ülkeler ile bu ülkelerdeki kentsel yaşam tarzı, gelişmekte olan ülkelerdeki kırsal yaşam tarzına göre daha yüksek bir İBH insidansına sahip olduğu, bu etkinin popülasyonların yaşam biçimindeki değişikliklerle ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Chapman-Kiddell ve ark., 2010; Ordás ve ark., 2012). Deneysel hayvan modelleri ile intestinal inflamasyon oluşturularak İBH'nin patogenezi ve yeni tedavi yöntemlerinin etkisi araştırılmıştır (Ewaschuk ve Dieleman, 2006). İBH'si olan hastalar, hastalıklarını kontrol etmek için farmakolojik olmayan yaklaşımlara giderek daha fazla yönelmektedir. Son 20 yılda ucuz, lezzetli ve yüksek yağ içeren birçok gıda maddesinin ortaya çıkmasıyla diyetteki yağ miktarı hızla artmıştır (Schrauwen ve Westertep, 2000). Yüksek yağ içeren diyet (YYD) ile beslenme, insan ve hayvanlarda başta obezite olmak üzere birçok metabolik hastalıkları indükleyebilmektedir. İnsanlarda ve diğer canlı



Şekil 4. Tüm gruplarda hüresel infiltrasyon skorları.

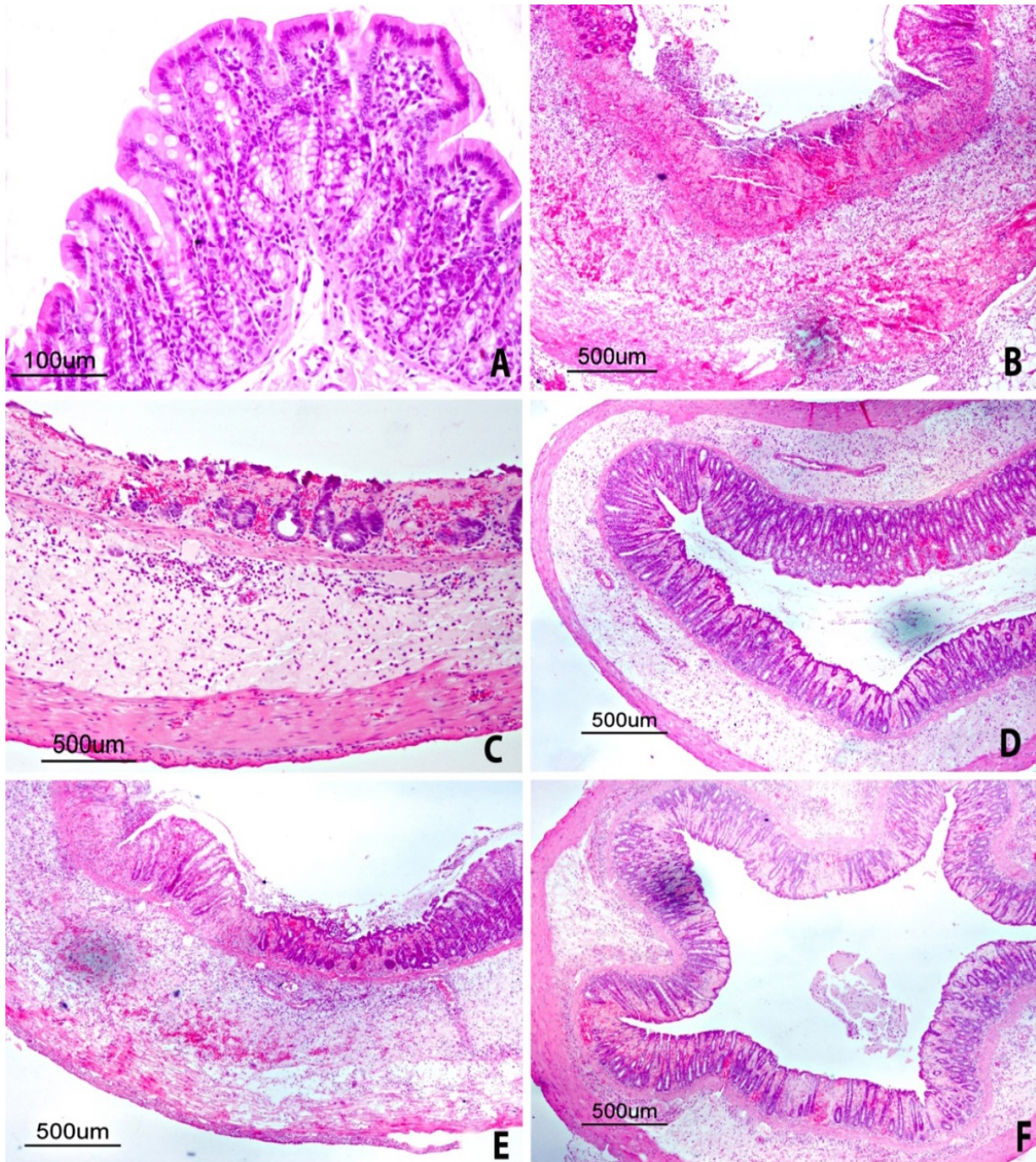


Şekil 5. Tüm gruplarda kript apsisi skorları.



Şekil 6. Tüm gruplarda goblet hücre azalması skorları.

türlerinde vücut homeostazını bozmadan alınan kalori miktarı kısıtlanabilir. Kalori kısıtlamasının obezite, kardiyovasküler hastalıklar, Diabetes mellitus (DM), kanser, otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalıkların ortaya çıkmasını engellediği bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2007). Bu çalışmada yüksek karbonhidratlı ve yüksek yağlı ve aralıklı beslenmenin deneysel olarak kolit oluşumu üzerine etkisinin histopatolojik sonuçları irdelendi. Araştırmacılar kolit oluşturmak amacıyla yaptıkları deneysel çalışmalarda iritanları lümenal olarak (asetik asit, oksazolon, trinitrobenzen sulfonik asit) veya içme suyuna katarak (dekstran sodyum sülfat) kullanmaktadırlar. Yapılan bu çalışmada literatürde (Hagar ve ark., 2007) belirtilen yöntemle göre ratlara yumuşak pediatrik sonda, rektal yolla 8cm ileriye ulaşacak şekilde yerleştirildi. Hayvanlar bu işlem sırasında trendelenburg pozisyonuna getirildi. %4'lük asetik asit çözeltisi (1 ml, pH:2,3) yavaş şekilde intrarektal kateterle rektuma uygulanarak deneysel kolit oluşturuldu.



Şekil 7. A-F. Kolonun mikroskopik görünümü (H&E). **A:** Kontrol grubu. Kolonun normal histolojik görünümü. **B:** Kolit grubu. Kolon kriptlerinde çok şiddetli erozyona bağlı yaygın kript kaybı, mukozal ve submukozal şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve çok şiddetli yaygın hemoraji, submukozal ödem ve vaskülitis. **C:** K-YKD grubu. Kolon kriptlerinde erozyon, orta derecede mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mukozada hafif hemoraji, yaygın submukozal ödem. **D:** K-YKDA grubu. Genel mukozal yapı ve kript bütünlüğü korunmuş olan kolon kriptlerinde hafif derecede erozyon, mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal mukozal hemoraji, submukozal ödem. **E:** K-YYD grubu. Kolon kriptlerinde orta derecede erozyon, mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji, yaygın submukozal ödem. **F:** K-YYDA grubu. Genel mukozal yapı ve kript bütünlüğü korunmuş olan kolon kriptlerinde hafif derecede erozyon, mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal mukozal hemoraji, submukozal ödem.

Yüksek oranda doymuş yağ ve karbonhidrat içeren batı tipi (fast food) beslenmenin İBH gelişiminde ve prognozunda çok ciddi bir rolü olduğu uzun yıllardır tartışılmış (Ananthakrishnan ve ark., 2013; Chapman-Kiddell ve ark., 2010; Cope, 2015), bu amaçla yüksek yağlı diyet (Gruber ve ark.,

2013; Lam ve ark., 2012) ile rafine karbonhidrat, suni tatlandırıcı, şeker, pasta ve ticari tatlılar gibi aşırı miktarda alınan monosakkaritin İBH gelişimi üzerine etkisi yapılan deneysel çalışmalarda tespit edilmiştir (Jakobsen ve ark., 2013; Riordan ve ark., 1998; Sakamoto ve ark., 2005). Aralıklı diyet uygulamasının

bazı inflamasyon markır seviyelerini azaltıcı etkisi düşünüldüğünde toplumsal bazda kolay ve uygulanabilir aralıklı diyet periyotlarının tespit edilmesi ve toplum sağlığını koruma, hayat standardını arttırma adına büyük adımlar atılmasına sebep olabilir. Patterson ve ark. (2015), insanda uzun süreli günlük aralıklı diyetler yerine gece boyunca herhangi bir diyet alınmayarak gün içerisinde belirli bir süre açlık dönemi uygulamasının da benzer etkiler sunabileceğini belirtmişlerdir. Bu sayede farmakolojik herhangi bir müdahaleye gerek kalmaksızın veya farmakolojik uygulamalara takviye olarak uygulanacak bir aralıklı diyetin hem hastalıkların oluşmasında gecikmeye hem de hastalığa yakalanmış bireylerde çeşitli etkilerle iyileştirme sürecine katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Deneysel kolit geliştirmek için % 4'lük asetik asit kullanılarak meydana getirilen kolit üzerine yüksek yağlı, yüksek karbonhidratlı ve aralıklı beslemenin araştırıldığı bu çalışmada aralıklı diyetin yüksek yağlı ve karbonhidratlı gruplara göre daha hafif kolit şekillendirdiği görüldü.

Deneysel çalışmalarda intrarektal asetik asit uygulanan grupların kolon dokularında makroskopik olarak lokalize hiperemi, ödem, linear ülserler ve inflamasyon bulunması makroskopik olarak inflamatuvar barsak hastalığının varlığına işaret etmektedir (Özgün ve ark., 2013). Özütemiz ve ark. (1997)'nin diltiazem, Galvez ve ark. (2001)'nin morin ile yaptıkları çalışmada kolit grubunda makroskopik olarak görülen hiperemi, linear ülserlerin kolitle birlikte diltiazem ve morin verilen gruplarda daha hafif şekillendiğini bildirmişlerdir. Öztürk (2013) yaptığı deneysel kolit çalışmasında koruyucu olarak nesfatin-1 ve atosiban uygulamış, nesfatin-1'in kolite bağlı gelişen makroskopik hasarı azalttığını ancak atosiban uygulamasının hasarı arttırdığını vurgulamıştır. Benzer şekilde Yıldırım ve ark. (2014)'nin deneysel kolitte kolşisinin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında da oral ve intraperitoneal olarak verilen kolşisinin, asetik asitle oluşan kolitte makroskopik hasarı engelleyemediğini belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada asetik asit ile oluşturulan kolit grubu ratların kolonlarında araştırmacıların belirttiği belirgin makroskopik hasarların meydana geldiği, yüksek karbonhidratlı ve yağlı gruplarda kolit grubuna benzer bulgular görüldüğü ancak aralıklı olarak verilen yüksek karbonhidratlı ve yağlı gruplarda ise bu makroskopik hasarların bariz bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre aralıklı olarak verilen yüksek karbonhidratlı ve yağlı diyetin kolite bağlı makroskopik hasarları azaltmada etkinliğinin olduğu düşünüldü.

Mikroskopik incelemelerde mukozal bariyerde bozulma, goblet hücrelerinde ve kriptlerde azalma, yaygın kriptit ve kript absesi, lamina propria inflamatuvar hücre artışı ve mukus kaybı ÜK tanısı için önemli histopatolojik bulgular olarak tanımlanmaktadır (Cross ve Harison, 2002). Araştırmacıların farklı

yöntemler uygulayarak gerçekleştirdikleri deneysel çalışmalarında da kolit oluşturulan gruplarda yukarıda bahsedilen bulgulara benzer mikroskopik bulgular görüldüğü bildirilmiştir. Obermeier ve Kojouharoff (1999) goblet hücrelerinde ve kriptlerde azalma, nötrofil, lenfosit ve makrofajların infiltrasyonu, Torres ve ark. (1999) mukoza epitelinde ülserasyon ve deskuamasyon, lamina propria PNL infiltrasyonu, ödem, transmural inflamasyon ve çeşitli derecelerde lenfosit infiltrasyonu gözlemlendiği bildirilmiştir. Yine Aslan ve ark. (2008) ile Yılmaz ve ark. (2010)'nın yaptıkları çalışmada da hemoraji, şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal ödem ve fokal ülserasyon, epitelyal hücre kaybı, kript absesi ve Goblet hücre hasarı görüldüğü belirtilmektedir. Yapılan bu çalışmada kolitli ratlarda kriptlerde çok şiddetli erozyon, mukozal ve submukozal yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, yaygın submukozal ödem, hemoraji, vaskülit, epitelyal hücre kaybı, kript absesi ve goblet hücre hasarı gibi araştırmacıların çalışmalarına benzer bulgular görülmüştür.

Beslenme tipi ve ÜK risk ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda yüksek yağlı veya karbonhidratlı diyetlerin bu riski belirgin olarak arttırdığı vurgulanmıştır. (Thornton ve ark., 1979; Tragnone ve ark., 1995; Reif ve ark., 1997; Sakamoto ve ark., 2005) Trans yağ ihtiva eden YYD ile yapılan birçok çalışmada indüklenen kolitin olumsuz olarak etkilendiği vurgulanmış (Ananthkrishnan ve ark., 2014; Gulhane ve ark., 2016; Montrose ve ark., 2011; Teixeira ve ark., 2011) ve bu etkinin bağırsaklarda salgı yapan goblet hücrelerinde oksidatif stres oluşturarak koruyucu mukus bariyerini oluşturan proteinlerin sentez/sekresyonunu azaltarak yangıyı tetiklediği, proteinlerin yanlış katlanmasına yol açtığı ve böylece mukozal bariyer bütünlüğünün bozulduğu varsayılmıştır (Gulhane ve ark., 2016). Benzer şekilde diyetlerinde yüksek oranda karbonhidrat içeren diyetlerin de İBH oluşumunda olumsuz bir etkisi olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Hansen ve ark., 2011; Hou ve ark., 2011; Jakobsen ve ark., 2013; Maconi ve ark., 2010). Oysaki gerek aralıklı besleme gerekse günlük kalori kısıtlaması, doku ve organların fonksiyonel hücrelerinde proliferasyona neden olarak (Troyer ve ark., 1998) kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, otoimmün hastalıklar, katarakt, osteoporozis, nörodejeneratif bozukluklar ve özellikle de bir çok kanser formları gibi önemli hastalıkların başlamasını geciktirdiği veya hastalıkların zararlı etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Masoro, 2001; Merry 2005; Reiser ve ark 1995; Speakman ve Mitchell, 2011). Bu etkiyi antioksidan kapasiteyi artırarak veya çok farklı seviyelerden immün sistemi harekete geçirerek gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (Rame ve ark., 1998). Benzer şekilde kolitli deney hayvanlarında aralıklı beslenmenin inflamasyonun azalmasına neden olarak bağırsak epitel hücrelerinde rejenerasyon üzerine olumlu etki gösterdiği araştırmacılar tarafından ifade

edilmiştir (Okada ve ark., 2017; Savendahl ve ark., 1997). Bu çalışmada yüksek karbonhidratlı ve yağlı beslenen gruplarda kolit grubundakine benzer bulgular gözlemlendi. Aralıklı diyet uygulanan gruplarda ise kripterler normal histolojik yapısını korumakla birlikte K-YKD ve K-YYD gruplarına oranla daha hafif derecede bulgular olan kripterlerde çok hafif erozyon, mukozal ve submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, fokal mukozal hemoraji, fokal submukozal ödeme rastlanılmıştır.

Bu çalışmada saptanan bulgular değerlendirildiğinde makroskobik ve mikroskobik bulguların özellikle hastalığın aktivitesi ile ilişkili yapılan diğer çalışmalarla korelasyon gösterdiği ve aralıklı diyetin patolojik olarak kolit gelişiminde önleyici bir role sahip olduğu sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Akman C, Zhao Q, Liu X, Holmes GL, 2004. Effect of food deprivation during early development on cognition and neurogenesis in therat. *Epilepsy and Behavior*, 5, 446-454.
- Ananthkrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Korzenik JR, Fuchs CS, Willett WC, Richter JM, Chan AT, 2013: A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 145 (5): 970-7.
- Ananthkrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Fuchs CS, Willett WC, Richter JM, Chan AT, 2014: Long-term intake of dietary fat and risk of ulcerative colitis and crohn's diseas. *Gut*, 63 (5), 776-784.
- Appleyard CB, Wallace JL, 1995: Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *Am J Physiol*, 269, 119-25.
- Aslan A, Polat G, Atik E, Temiz M, Bağdatoğlu ÖT, Aban N, 2008: Deneysel ülseratif kolitte selenyumun etkinliği. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg*, 1 (2), 7-11.
- Chan SS, Luben R, van Schaik F, Oldenburg B, Bueno-deMesquita HB, Hallmans G, Karling P, Lindgren S, Grip O, Key T, Crowe FL, Bergmann MM, Overvad K, Palli D, Masala G, Khaw KT, Racine A, Carbonnel F, Boutron-Ruault MC, Olsen A, Tjonneland A, Kaaks R, Tumino R, Trichopoulou A, Hart AR, 2014: Carbohydrate intake in the etiology of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 20, 2013-2021.
- Chapman-Kiddell CA, Davies PS, Gillen L, Radford-Smith GL, 2010: Role of diet in the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 16, 137-151.
- Cope G, 2015: Overview of dietary choices for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastrointestinal Nursing*, 13,1, 33-37.
- Cross SS, Harison RF, 2002: Discriminant histological feature in the diagnosis of chronic idiopathic inflammatory bowel disease: analysis of a large dataset by a novel data visualisation technique. *J Clin Pathol*, 55, 51-7.
- Daneshmand A, Mohammadi H, Rahimian R, 2011: Chronic lithium administration ameliorates 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats; potential role for adenosine triphosphate sensitive potassium channels. *J Gastroenterol Hepatol*, 26 (7), 1174-1181.
- Dieleman LA, Ridwan BU, Tennyson GS, 1994: Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology*, 107, 1643-52.
- Ewaschuk, J.B. ve Dieleman, L.A., 2006. Probiotics and prebiotics in chronic inflammatory bowel dis-eases. *World J Gastroenterol*, 12 (37), 5941-5950.
- Galvez J, Coelho G, Crespo ME, Cruz T, Rodriguez-Cabezas ME, Concha A, 2001: Intestinal anti-inflammatory activity of morin on chronic experimental colitis in the rat. *Aliment Pharmacol Ther*, 15, 2027-39.
- Griffiths AM, Buller HB, 2000: Inflammatory Bowel Disease In: *Pediatric Gastrointestinal Disease*. Eds: Walker, Durie, Hamilton, 3rd ed.; B.C. Decker Inc, Ontario, p. 613- 52.
- Gruber L, Kising S, Lichti P, Martin FP, May S, Klingenspor M, Lichtenegger M, Rychlik M, Haller D, 2013: High fat diet pathogenesis of murine Crohn's disease-like ileitis independently of obesity. *PLoS One*, 8(8), e71661.
- Gulhane M, Murray L, Lourie R, Tong H, Sheng YH, Wang R, Kang A, Schreiber V, Wong KY, Magor G, Stuart D, Begun J, Florin TH, Perkins A, Cuív PÓ, McGuckin MA, Hasnain SZ, 2016: High fat diets induce colonic epithelial cell stress and inflammation that is reversed by IL-22. *Scientific Reports*, 6, 28990.
- Hagar H, Medany A, Eter E, 2007: Ameliorative effect of pyrrolidinedithiocarbamate on acetic acid-induced colitis in rats. *Eur J Pharmacol*, 554, 69-77.
- Hagopian K, 2005: Krebs cycle enzymes from livers of old mice are differentially regulated by caloric restriction. *Physiol and Behavior*, 85, 581-592.
- Hansen TS, Jess T, Vind I, Elkjaer M, Nielsen MF, Gomborg M, Munkholm P, 2011: Environmental factors in inflammatory bowel disease: a case-control study based on a Danish inception cohort. *J Crohns Colitis*, 5, 577-584.
- Hopfer U, 1997: Digestion and Absorbtion of Basic Nutritional ConstituentsIn: Devlin Thomas M, Editor. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations 4th ed*. New York: Von Hoffmann Press, p. 1056-1083.
- Hou JK, Abraham B, El-Serag H, 2011: Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol*, 106(4), 563-573.
- Jakobsen C, Paerregaard A, Munkholm P, Wewer V, 2013: Environmental factors and risk of developing paediatric inflammatory bowel disease -- a population based study 2007-2009. *J Crohns Colitis*, 7, 79-88.
- Kumar V, Abbas K.A, Fausto M, 2007: *Robbinson's Basic Pathology 8. Edition*. 612-616.
- Maconi G, Ardizzone S, Cucino C, Bezzio C, Russo AG, Bianchi Porro G, 2010: Pre-illness changes in dietary habits and diet as a risk factor for inflammatory bowel disease: a case-control study. *World J Gastroenterol*, 16, 4297-4304.
- Lam YY, Ha CW, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A, Oscarsson J, Cook DI, Hunt NH, Caterson ID, Holmes AJ, Storlien LH, 2012: Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PLoS One* 7(3): e34233. doi:10.1371/journal.pone.0034233.

- Longo VD, Panda S, 2016: Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. *Cell Metab*, 23, 1048–1059.
- Malafaia AB, Nassif PAN, Ribas CAPM, Ariede BL, Sue KN, Cruz MA, 2013: Obesity Induction With High Fat Sucrose In Rats. *ABCD Arq Bras Cir Dig*, 26, 1, 17-21.
- Masoro EJ, 2001: Physiology of aging. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 218-22.
- Merry BJ, 2005: Dietary restriction in rodents- delayed or retarded ageing? *Mech Aging Dev*, 126, 951-959.
- Montrose DC, Horelik NA, Madigan JP, Stoner GD, Wang LS, Bruno RS, Park HJ, Giardina C, Rosenberg DW, 2011: Anti-inflammatory effects of freeze-dried black raspberry powder in ulcerative colitis. *Carcinogenesis*, 32 (3), 343-350.
- Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, 1989: Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96 (3), 795-803.
- Nagib MM, Tadros MG, ELSayed MI, Khalifa AE, 2013: Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of olmesartan medoxomil ameliorate experimental colitis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 271 (1), 106-113.
- Obermeier F, Kojouharoff G, 1999: Interferon-gamma (IFN- γ)- and tumour necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol*, 116, 238-245.
- Okada T, Otsubo T, Hagiwara T, Inazuka F, Kobayashi E, Fukuda S, Inoue T, Higuchi K, Kawamura YI, Dohi T, 2017: Intermittent fasting prompted recovery from dextran sulfate sodium induced colitis in mice. *J Clin Biochem Nutr*, 61, 2, 100–107.
- Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ, 2012: Ulcerative colitis. *Lancet*, 380, 1606-1619.
- Özgün E, Özgün GS, Eskiocak S, Yalçın Ö ve Gökmen SS, 2013: Effect of L-carnitine on serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and oxidative status in experimental colitis. *Turk J Biochem*, 38 (2), 145–153.
- Öztürk Ç, 2013: Nesfatin-1'in sıçanda asetik asit ile indüklenmiş kolitte anti-inflamatuvar etkisi ve alta yatan mekanizma. Yüksek Lisans Tezi, MU Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Özütemiz AÖ, Ünsal B, Alkanat M, Aksöz K, Dinçer Ç ve Batur Y, 1997: Sıçanlardaki asetik asit kolitinde diltiazemin etkisi. *Turk J Gastroenterol*, 8, 300-3004.
- Patterson RE, Laughlin GA, Sears DD, LaCroix AZ, Marinac C, Gallo LC, Hartman SJ, Natarajan L, Senger CM, Martínez ME, and Villaseñor A, 2015: Intermittent Fasting And Human Metabolic Health. *J Acad Nutr Diet*, 115 (8), 1203–1212.
- Podolsky DK, 2009: Inflammatory bowel disease. *N Engl Med*, 347 (6), 417-29.
- Rame LT, Hart RW, Leakey JEA, 1998: Calorie restriction as a mechanism mediating resistance to environmental disease. *Environ. Health Perspect*, 106, 313–324.
- Reif S, Klein I, Lubin F, 1997: Pre-illness dietary factors in inflammatory bowel disease. *Gut*, 40, 754-60.
- Reiser K, Mcgee C, Rucker R, McDonald R, 1995: Effect of aging and caloric restriction on extracellular-matrix biosynthesis in a model of injury repair in rats. *J of Geront Series A- Biol Sci and Med Sci*, 50, B40-B47.
- Riordan AM, Ruxton CH, Hunter JO, 1998: A review of associations between Crohn's disease and consumption of sugars. *Eur J Clin Nutr*, 52, 229-238.
- Sakamoto N, Kono S, Wakai K, 2005: Dietary risk factors for inflammatory bowel disease: a multicenter case-control study in Japan. *Inflamm Bowel Dis*, 11, 154-63.
- Savendahl L, Underwood LE, Haldeman KM, Ulshen MH, Lund PK, 1997: Fasting prevents experimental murine colitis produced by dextran sulfate sodium and decreases interleukin-1 and insulin-like growth factor-1 messenger ribonucleic acid. *Endocrinology*, 138, 734–740.
- Schrauwen P, Westerterp KR, 2000: The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr*, 84 (4), 417-27.
- Speakman JR, Mitchell SE, 2011: Caloric restriction. *Molec Aspects of Med*, 32, 159-221.
- Teixeira LG, Leonel AJ, Aguilar EC, Batista NV, Alves AC, Coimbra CC, Ferreira AV, de Faria AM, Cara DC, Alvarez Leite JI, 2011: The combination of high-fat diet-induced obesity and chronic ulcerative colitis reciprocally exacerbates adipose tissue and colon inflammation. *Lipids Health Dis*, 10, 204.
- Thornton JR, Emmett PM, Heaton KW, 1979: Diet and Crohn's disease: characteristics of the pre-illness diet. *Br Med J*, 2, 762-4.
- Torres MI, Garcia-Martin M, Fernandez MI, Nieto N, Gil A, Rios A, 1999: Experimental colitis induced by trinitrobenzenesulfonic acid: an ultrastructural and histochemical study. *Dig Dis Sci*, 44, 2523-9.
- Tragnone A, Valpiani D, Miglio F, 1995: Dietary habits as risk factors for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 7, 47-51.
- Troyer DA, Venkatraman JT, Fernandes G, 1998: Effects of calorie restriction and ω -3 dietary fat on aging in short- and long-lived rodents. *Age*, 21, 175–182.
- Uygun A, Saka M, 2005: Spesifik gastrointestinal sistem hastalıklarında beslenme. *Güncel Gastroenteroloji*, 9 (2), 145-155.
- Yıldırım B, Tuncer C, Şahin D, Dinçel AS, Göçün FPU, Leventoğlu S, Sancak S, Altan N, Dursun A, 2014: Effect of colchicine on experimental acetic acid induced colitis. *Turk J Biochem*, 39 (1), 63–69.
- Yılmaz A, Eskiocak S, Altaner Ş, Turan N, 2010: Asetik asitle Kolit Geliştirilen Sıçanlarda N-asetilsisteinin Protein Oksidasyonuna Etkisi. *J Turk Clin Biochem*, 8(1), 23-33.
- Zhou X, J De Schepper, D De Craemer, M Delhase, G Gys, J Smits, E L Hooghe Peters, 1998: Pituitary growth hormone release and gene expression in cafeteria-diet-induced obese rats. *J Endocrinol*, 159, 165–172.

*Yazışma Adresi: Ahmet UYAR,
Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji
Anabilim Dalı, 31040 Antakya/Hatay, Türkiye.
e-mail: uyarahmet@hotmail.com

Elazığ'da Satılan Şavak Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi**

Pelin DEMİR¹, Sümeyye ERKAN¹, Gülsüm ÖKSÜZTEPE^{1*}

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye.

Geliş Tarihi: 07.12.2017

Kabul Tarihi: 22.03.2018

Özet: Bu çalışma, Elazığ'da satılan Şavak tulum peynirlerinin bazı mikrobiyolojik kalite parametrelerini incelemek için planlı. Bunun için çeşitli satış merkezlerinden toplanan Şavak tulum peyniri adı altında satışı arz edilen ticari firmalara ait orijinal ambalajlarında satılan 100 adet tulum peyniri örneği kullanıldı. İncelenen tulum peyniri örneklerinde ortalama olarak toplam aerob mezofilik bakteri (TAM) sayısı $6.85 \pm 2.11 \log_{10}$ kob/g, koliform grubu bakteri sayısı $4.49 \pm 0.12 \log_{10}$ kob/g, *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı $3.81 \pm 0.23 \log_{10}$ kob/g, fekal streptokok sayısı $2.19 \pm 0.56 \log_{10}$ kob/g, maya-küf sayısı $5.06 \pm 1.34 \log_{10}$ kob/g, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* sayısı $6.40 \pm 2.34 \log_{10}$ kob/g, laktik streptokok sayısı $6.35 \pm 2.45 \log_{10}$ kob/g, *Staph. aureus* sayısı $1.42 \pm 0.14 \log_{10}$ kob/g, *E. coli* sayısı $1.10 \pm 0.09 \log_{10}$ kob/g ve *C. perfringens* sayısı ise $1.03 \pm 0.05 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiği zaman bakteri sayılarının (*E.coli*, *Staph. aureus*, *C. perfringens*) halk sağlığı açısından riskli olabilecek seviyelerde oldukları görüldü. Bundan dolayı bu ürünlerin yapımında kullanılan sütlerin uygun derecelerde ve uygun sürelerde pastörize edilmesi gerektiği, yapımında starter kültür kullanılmasının zorunlu olduğu ve HACCP sistemine uygun endüstriyel ortamlarda yapılarak halk sağlığı bakımından sağlıklı, kaliteli ve raf ömrü uzun ürünler elde edilmesinin gerekli olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Şavak tulum peyniri, Mikrobiyolojik, Kalite.

Microbiological Quality of Savak Tulum Cheeses Sold in Elazığ

Abstract: This study was planned to examine some microbiological quality parameters of Savak tulum cheeses sold in Elazığ. For this, 100 pieces of tulum cheese sold in the original packages belonging to the commercial firm which was sold under the name of Savak tulum cheese collected from various sales centers were used. On average, analyzed tulum cheese samples was detected total aerobic mesophilic bacteria count $6.85 \pm 2.11 \log_{10}$ cfu/g, coliform bacteria count $4.49 \pm 0.12 \log_{10}$ cfu/g, *Staphylococcus- Micrococcus* count $3.81 \pm 0.23 \log_{10}$ cfu/g, fecal streptococci count $2.19 \pm 0.56 \log_{10}$ cfu/g, yeast-molds count $5.06 \pm 1.34 \log_{10}$ cfu/g, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* count $6.40 \pm 2.34 \log_{10}$ cfu/g, lactic streptococci count $6.35 \pm 2.45 \log_{10}$ cfu/g, *Staph. aureus* count $1.42 \pm 0.14 \log_{10}$ cfu/g, *E. coli* count $1.10 \pm 0.09 \log_{10}$ cfu/g and *C. perfringens* count $1.03 \pm 0.05 \log_{10}$ cfu/g. When the results obtained were evaluated, it was seen that bacterial numbers were at levels that could be at risk for public health. Therefore, it has been concluded that milks used in construction of these products must be pasteurized at appropriate grades and appropriate times, that it is necessary starter culture use in the production and that it is necessary to obtain healthy, quality and long shelf life products in case of public health by producing industrial environments accordance with the HACCP system.

Keywords: Savak tulum cheese, Microbiological, Quality.

Giriş

Süt ve süt ürünlerinin insan yaşamındaki yeri ve rolü tartışılmazdır. Süt ürünleri içerisinde önemli bir yer tutan peynirin hem sütün değerlendirilmesindeki rolü hem de yeterli ve dengeli beslenmedeki rolü onun değerini artırmaktadır. Peynirler içerisinde önemli bir yer alan çeşidi ise tulum peyniridir. Bu çeşit peynirler genellikle küçük aile işletmelerinde üretilen peynir tiplerindedir (Morul ve İşleyici, 2012). Tulum peynirleri hem besleyici değerlerinin üstün olması hem de diğer peynirlerden farklı bir lezzet-aromaya sahip olmasından dolayı halkımız tarafından oldukça sevilmektedir. Yöresel olarak farklı yapım tekniklerine ve kullanılan çiğ sütlerin kalitelerine göre kuru ve salamuralı tulum peyniri dışında yöresel isimlerle anılan tulum peynirlerimiz de bulunmaktadır. Bunlar içerisinde yer alan Şavak

tulum peyniri daha çok Doğu Anadolu Bölgesi'nde (Elazığ, Tunceli, Bingöl, Erzincan, Malatya, Erzurum) genellikle ilkel şartlarda ve çiğ süttten yapılmakta ve satılmaktadır (Akyüz, 1981; Kara ve Akkaya, 2015; Kurt ve Öztekin, 1984). Geçimini hayvancılıkla sağlayan yöre halkı elde ettikleri sütü kendi imkanlarıyla peynire dönüştürmektedirler. Bu nedenle bölgenin özelliklerine, peyniri yapan kişinin tecrübesine, bilgisine ve çiğ sütün kalitesine göre yapılan peynirlerin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri farklı olabilmektedir (Patır ve Ateş, 2003). Peynirlerin mikrobiyolojik yükü hem halk sağlığını riske edebilecek durumda olabilir hem de peynirin yapısı ve kalitesini bozarak arzu edilmeyen kusurlara yol açabilir. Kaliteli ve standart Şavak tulum peyniri genellikle beyaz ve krem renkte, kendine has tereyağı aromasında olup

ağızda kolayca dağılabilen, yarı sert, kuru madde ve yağ oranı yüksek, kendine has asidik bir tat yapısına sahip olan bir peynir çeşididir (Tekinşen ve ark., 1998). Sürekli olarak piyasadan aynı kalitede ve aynı lezzette tulum peyniri temin etmek oldukça zordur. Bunun nedenleri arasında yapım tekniğinin bireyden bireye, aileden aileye, imalathaneden imalathaneye göre farklılık göstermesi, kullanılan peynir mayasının farklı kalitelerde olması, pastörize süt kullanılmayışı, olgunlaştırma şartlarının ve sürelerinin birbirlerinden farklılık arz etmesi ve kullanılan ambalaj materyallerinin kaliteleri ve büyüklükleri de sayılabilir. Şavak tulum peynirleri bazı ailelerde koyun sütü, bazı ailelerde ise hem keçi hem de koyun sütü karışımı ile genellikle çiğ süttten üretilmektedir. Çiğ sütler mayalama sıcaklığında mayalanmakta ve pıhtı oluştuktan sonra telemeye göz kararı tuz ilave edilerek ufalanmakta ve bez torbalara alınarak üzerine ağırlık bırakılmakta ve ertesi gün nemli iken özellikle plastik ambalajlara doldurularak muhafazaya alınmaktadır. Muhafaza esnasında olgunlaşma süresi olan 90 gün beklenmeden piyasaya arz edilmektedir. Bu şekilde üretimleri yapıldığı için tulum peynirleri hem halk sağlığı açısından riskli olabilmekte hem de peynirin kalitesini bozabilecek bazı patojen ve istenmeyen diğer mikroorganizmaları yüksek oranda içerebilmektedir (Arıcı ve Şimşek, 1991; Tekinşen ve ark., 1998). Bu nedenle tulum peynirlerinin kalitesi onların mikrobiyel florasına bağlıdır.

Bu çalışma Elazığ'da Şavak tulum peyniri adı altında piyasada satılan peynirlerin mikrobiyolojik kalite parametrelerini incelemek için plandı.

Materyal ve Metot

Araştırmada çeşitli satış merkezlerinden toplanan Şavak tulum peyniri adı altında satışa arz edilen ticari firmalara ait orijinal ambalajlarında satılan 100 adet tulum peyniri örneği kullanıldı. Firmalara ait olan örnekler yaklaşık olarak 250-300 gr arasında olan örneklerdi. Kapakları açılmadan laboratuvara getirildi ve analize alınincaya kadar buzdolabında saklandı. İncelenen tulum peynirlerinden 10 g alınarak bir homojenizatörün (Bag Mixer Interscience 78860 St. France-Stochmaer) özel steril poşetine bırakıldı. Üstüne steril ¼ Ringer (Merck1.5525 - Darmstadt - Germany) solüsyonundan 90 mL bırakıldı. Homojenizatörde iyice parçalandı. Bu şekilde numunenin 10^{-1} (1/10)'lik dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanarak numuneni 10^{-9} 'a kadar diğer dilüsyonları yapıldı. Numunelerin her bir sdilüsyonundan 1'er mL kullanılmak suretiyle çift paralelli şekilde dökme plak metoduyla ve yayma yöntemiyle ekimleri yapıldı. 30-300 koloni içeren plakların sayımı yapıldı (Harrigan, 1998).

Örneklerdeki TAM mikroorganizmaların sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Merck, Germany) ($35\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat) (Maturin ve Peeler, 2011), koliformların sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB) (Sharlav, Spain) ($30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat) (Halkman, 2005), *Staphylococcus-Micrococcus*'ların sayımı için Mannitol Salt Agar (MSA- LAB, UK) ($37\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 36-48 saat) (Halkman, 2005), maya-küf sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar besi yeri (LAB, UK) ($25\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 5 gün) (ICMSF, 1982), fekal streptokokların sayımı için Barnes'in Thallous Acetate Tetrazolium Glucose Agar (TITA) ($45\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat) (Barnes, 1959; Harrigan, 1998), L.L.P sayımında de Man Rogosa Sharpe Agar (Biokar, France) ($37\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat) (APHA, 1995), laktik streptokoklar için M17 Agar (Liofilchem, Italy) ($30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48-72 saat) (Halkman, 2005; Terzaghi ve Sandine, 1975), *E. coli* sayımı için Tryptone Bile X-Glucuronide Medium (Oxoid-CM945) (30°C 'de 4 saat, daha sonra 44°C 'de 18 saat) (ISO 16649-2, 2001) kullanıldı. Koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayımı için Egg Yolk Tellurite Emulsion (Oxoid SR54) katılmış Baird Parker Agar (Oxoid CM275) ($36\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 30 saat) besi yerinde üreyen spesifik koloniler Brain Heart Infusion Broth (BHI, CM0225, Oxoid) veya TSB Broth'a aktarıldı ve 37°C 'de 24 saat inkübe edildi. Steril boş tüpler içerisine 0.1 mL Broth'larda üreme gösteren kültürlerden eklendi. Bu tüplerin üzerine üzerindeki tarife göre hazırlanan Bactident Coagulase'dan (Merck, 1.13306-0001, Rabbit Plasma With EDTA, lyophilized) 0.3 mL ilave edildi. Tüpler 37°C 'de 4 saat inkübasyona alındı. Pıhtı veya jel oluşumuna göre değerlendirildi. Koagulaz test sonucu pozitif olan kolonilerin sayısı şüpheli kolonilerin sayısı ile çarpılıp, 5'e bölündü ve koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus*'un sayısı hesaplandı (ISO 6888-1, 2015; Lancette ve Beneett, 2001). Sülfite indirgeyen anaerobların sayımı için Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar (SPS-Conda Pronadisa, Spain) kullanılarak "rol tüp" tekniği ile 37°C 'de 24 saat inkübe edilen petrilereki siyah koloniler sayılarak değerlendirildi. *C. perfringens*'in sayısının tespiti için bu kolonilerden rastgele seçilen 5 tanesi % 0.3 agarlı nitratlı peptonlu suya inoküle edilerek tüpler anaerobik koşullarda 37°C 'de 24 saat inkübe edildi ve daha sonra pozitif tüpler değerlendirmeye alındı. *C. perfringens*'in sayısı pozitif tüplerin sayısının 5'e bölünmesinden elde edilen sayının, sülfite indirgeyen mikroorganizmaların sayısı ile çarpılarak bulundu (Anonim, 2011).

Bulgular

Analiz edilen toplam 100 adet Şavak tulum peyniri adı altında piyasada satılan tulum peyniri örneklerine ait mikrobiyolojik sonuçlar Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Şavak Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik Değerleri (log₁₀kob/g).

Mikroorganizma	En az	En çok	Ortalama ± Std Hata
Top. Aerob Mez.	3.12	8.03	6.85 ± 2.11
Koliform	1.00	5.98	4.49 ± 0.12
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	1.06	4.78	3.81 ± 0.23
Fekal Streptokoklar	1.00	3.54	2.19 ± 0.56
Maya-küf	1.00	7.34	5.06 ± 1.34
<i>Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus</i>	2.56	7.89	6.40 ± 2.34
Laktik Streptokoklar	3.08	7.94	6.35 ± 2.45
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.00	2.05	1.42 ± 0.14
<i>Escherichia coli</i>	1.00	2.65	1.10 ± 0.09
<i>Clostridium perfringens</i>	1.00	2.31	1.03 ± 0.05

Tablo 2. Şavak Tulum Peynirlerindeki Mikroorganizmaların Dağılımları (log₁₀kob/g).

Mikroor.	<1.00		1-1.99		2-3.99		4-5.99		6-7.99		>8.00	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Top. Aerob Mez.	-	-	-	-	14	14	16	16	28	28	42	42
Koliform	6	6	27	27	32	32	35	35	-	-	-	-
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	-	-	40	40	31	31	29	29	-	-	-	-
Fekal Streptokoklar	31	31	53	53	16	16	-	-	-	-	-	-
Maya-küf	29	29	17	17	35	35	10	10	9	9	-	-
<i>Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus</i>	-	-	-	-	23	23	41	41	36	36	-	-
Laktik Streptokoklar	-	-	-	-	25	25	43	43	32	32	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	82	82	11	11	7	7	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	79	79	13	13	8	8	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	95	95	3	3	2	2	-	-	-	-	-	-

Tartışma ve Sonuç

Toplam aerobik mezofil bakteri sayısı incelenen tulum peyniri örneklerinde ortalama olarak 6.85±2.11 log₁₀kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Elde edilen bu değer tulum peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda (Bostan ve ark., 1992; Demir ve ark., 2017; Dığrak ve ark., 1994; Kurt ve ark., 1991; Patır ve ark., 2000; Patır ve ark., 2001) elde edilen ortalama değerlerden (7.08-9.50 log₁₀kob/g) düşük seviyelerde olduğu belirlendi. Ancak Afyon tulum peynirlerinde yapılan bir çalışmada (Kara ve Akkaya, 2015) elde edilen 6.60 log₁₀kob/g ile Divle tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Morul ve İşleyici, 2012) saptanan 6.78 log₁₀kob/g ile aynı seviyelerde bulunduğu görüldü. Genellikle tulum peynirlerinde toplam aerob mezofilik mikroorganizma sayısının yüksek olması, üretimde çiğ süt kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca 100 adet Şavak tulum peyniri örneklerinin 42 tanesinde toplam aerobik mezofil bakteri sayısının 8 log₁₀kob/g'dan fazla olduğu görüldü (Tablo 2).

Koliform grubu bakteriler hijyen indikatörü olarak kabul edilmekte ve genellikle peynirlerde lezzet ve yapı bozukluklarına neden olmaktadır. İncelenen tulum peyniri örneklerinde ortalama olarak koliform grubu bakteri sayısı 4.49±0.12 log₁₀kob/g olarak saptandı (Tablo 1). Bu değer yapılan bir çalışmada (Demir ve ark., 2017) çiğ

sütten üretilen vakum paketlerde olgunlaştırılan tulum peynirlerinde tespit edilen ortalama 3.69 log₁₀kob/g değerinden ve Divle tulum peynirlerinde (Morul ve İşleyici, 2012) saptanan 3.04 log₁₀kob/g değerinden ise yüksek olduğu görülmektedir. Ancak tulum peynirleri üzerinde yapılan bazı çalışmalarda (Bostan ve ark., 1992; Kurt ve ark., 1991; Patır ve ark., 2000; Patır ve ark., 2001) elde edilen değerlerden (5.29-7.71 log₁₀kob/g) ise oldukça düşük seviyelerdedir. Tespit edilen değerin Afyon tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Kara ve Akkaya, 2015) saptanan 1.23 log₁₀kob/g değerinden ise oldukça yüksek seviyelerde olduğu görülmektedir. Tablo 2'ye bakıldığında zaman 94 adet tulum peyniri örneğinde ortalama olarak bu grup bakterilerin 1 log₁₀kob/g'dan fazla olduğu, 35 adet örnekte ise sayının 4-6 log₁₀kob/g arasında seyrettiği tespit edildi. Koliform grubu bakterilerin yüksek sayılarda bulunması peynir yapımında çiğ süt kullanıldığının, sanitasyon işlemlerinin ve ürüne uygulanan ısı işlemlerinin yetersiz olduğunun yada işlem sonrası rekontaminasyonun mevcut olduğunun işaretidir. *Staphylococcus*'lar insan yada hayvan kaynaklı oldukları için gıdalarda yüksek sayılarda bulunmaları sanitasyon işlemlerinin ve uygulanan ısı işlemlerinin yetersiz olduğunun bir göstergesidir. *Micrococcus*'lar ise toz, toprak, su, insan ve hayvanların derilerinde bulunmakta ve bozulmada önemli rol oynamaktadırlar (Banwart,

1989; Jay, 2000). Şavak tulum peynirlerinde *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı ortalama olarak $3.81 \pm 0.23 \log_{10} \text{kob/g}$ olarak saptandı (Tablo 1). Bu değer tulum peynirleri üzerinde yapılan araştırmalarda (Kurt ve ark., 1991; Morul ve İşleyici, 2012; Patır ve ark., 2000; Patır ve ark., 2001) bulunan değerlerden ($4.38-7.69 \log_{10} \text{kob/g}$) nispeten düşük değerlerdir. Ancak Afyon tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Kara ve Akkaya, 2015) bulunan $2.91 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden ise yüksek olduğu görüldü. Ayrıca tablo 2 incelendiğinde bu grup mikroorganizmaların $1-6 \log_{10} \text{kob/g}$ arasında sayıldıkları ve özellikle 29 örnekte $4-6 \log_{10} \text{kob/g}$ seviyesinde buldukları görülmektedir.

Gıda teknolojisi alanında olumsuz etkilere neden olan, insan ve hayvan barsak kökenli patojen bakteri grubundan sayılan Fekal streptokok grubu bakteriler son yıllarda hijyen indikatörü olarak da ifade edilmektedirler. Doğada çok yaygın olarak buldukları için çeşitli kaynaklardan peynir işlenecek süte geçebilmekte ve çok önemli sorunlara neden olabilmektedirler. Bu nedenle son üründe bu grup mikroorganizmaların hiç bulunmaması halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. İncelenen 100 adet tulum peyniri örneğinde ortalama olarak fekal streptokoklar $2.19 \log_{10} \text{kob/g}$ seviyesinde bulundu (Tablo 1). Bu grup bakterilerin dağılımına bakıldığı zaman 31 örnekte sayının $<1.00 \log_{10} \text{kob/g}$ düzeyinde 69 örnekte ise sayının $1-4 \log_{10} \text{kob/g}$ arasında olduğu görülmektedir (Tablo 2). Bu değerlerin Divle tulum peynirlerinde tespit edilen değerden ($7.75 \log_{10} \text{kob/g}$) (Keleş ve Atasever, 1996), İstanbul'da satışa sunulan tulum peynirlerinde yapılan çalışmada (Bostan ve ark., 1992) elde edilen değerden ($3.46 \log_{10} \text{kob/g}$), Elazığ'da satışa sunulan tulum peynirlerinde yapılan başka bir çalışmada saptanan değerden ($6.89 \log_{10} \text{kob/g}$) ve yine Elazığ ilinde Dığrak ve ark tarafından yapılan bir çalışmada Dığrak ve ark. (1994) tespit edilen değerden ($3-5 \log_{10} \text{kob/g}$) oldukça düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi. Bu durum muhtemelen peynir yapımında kullanılan sütlerin kalitesi ve peynir yapım aşamasının hijyenik durumundan kaynaklanmaktadır. Maya-küfler tüm gıda maddelerinin dayanma süresi, kalitesi ve lezzetine üzerine etkili olan mikroorganizma gruplarındandır. İncelenen tulum peyniri örneklerinde ortalama olarak $5.06 \pm 1.34 \log_{10} \text{kob/g}$ düzeyinde bulundu (Tablo 1). Maya ve küfün sayısal dağılımlarına bakıldığı zaman 46 örnekte sayının $2 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan az olduğu 54 örnekte ise sayının $2-8 \log_{10} \text{kob/g}$ arasında bulunduğu görüldü (Tablo 2). Elde edilen bu değerlerin tulum peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda (Bostan ve ark., 1992; Kurt ve ark., 1991; Morul ve İşleyici, 2012; Patır ve ark.,

2001) saptanan değerlerden ($6.04-6.72 \log_{10} \text{kob/g}$) nispeten düşük ancak Elazığ'da tüketime sunulan tulum peynirlerinde yapılan bir çalışmada tespit edilen $4.46 \log_{10} \text{kob/g}$ ile Afyon tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Kara ve Akkaya, 2015) tespit edilen $2.78 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden yüksek olduğu gözlemlendi. Bu durum muhtemelen peynir yapımında kullanılan sütlerin kalitesi ve ambalaj materyallerinin kalitelerinden kaynaklanmış olabilir. Maya ve küf sayısının yüksek olması ürünlerin hijyenik şartlarda yapılmadığının bir göstergesidir.

Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus'lar

ürünlerin kendine has lezzet, aroma ve dayanma süresi üzerine olumlu etkileri olan ve laktik asit bakteri grubunda sayılan bir bakteri grubudur. Bu grup mikroorganizmaların yüksek seviyelerde olması süttten gelen laktik asit bakteri sayısının fazla olmasına, peynirin yapım aşamasında havalandırılması esnasında havadan bu mikroorganizmalarla kontamine olma seviyesinden kaynaklanabilir. Laktik asit bakterilerinin Şavak tulum peynirlerinde fazla olması arzu edilen bir durumdur. Aksi halde koliform grubu başta olmak üzere istenmeyen bakteri gruplarının fazla olarak üremesi ve faaliyetleri önlenemez. Dolayısıyla peynirlerde kokuşma, lezzet ve aroma bozukluğu ve insan sağlığını tehdit edebilecek seviyede zararlı bakterilerin çoğalması kaçınılmaz olur (Kurt ve ark., 1991; Tekinşen ve Akar, 2017). Analiz edilen tulum peyniri örneklerinde ortalama olarak $6.40 \pm 2.34 \log_{10} \text{kob/g}$ seviyesinde bulundu (Tablo 1). Bakterilerin genel dağılımlarına bakıldığında 36 adet örnekte sayının $6-8 \log_{10} \text{kob/g}$ arasında olduğu görüldü (Tablo 2). Elde edilen bu değerlerin Kara ve Akkaya'nın (2015) Afyon tulum peynirlerinde buldukları $6.36 \log_{10} \text{kob/g}$ ile hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Ancak tulum peynirleri üzerinde yapılan birçok çalışmalarda (Bostan ve ark., 1992; Dığrak ve ark., 1994; Dinkçi ve ark., 2012; Kurt ve ark., 1991; Morul ve İşleyici, 2012; Patır ve ark., 2000; Patır ve ark. 2001) elde edilen verilerden ($6.93, 8.30, 7.06, 7.75, 6.67, 7.39, 6.93$) ise daha düşük seviyelerde oldukları gözlemlendi. Starter kültür olarak süt ürünleri üretiminde yaygın olarak kullanılan başka bir bakteri grubu ise laktik streptokok grubu bakterilerdir. Bu grup mikroorganizmalar ortalama olarak $6.35 \pm 2.45 \log_{10} \text{kob/g}$ olarak bulundu (Tablo 1). Elde edilen bu değerlerin Şavak tulum peynirlerinde yapılan iki çalışma (Patır ve ark., 2000; Patır ve ark., 2001) sonucundan (7.51 ve $8.37 \log_{10} \text{kob/g}$) daha düşük seviyelerde olduğu görüldü. Genellikle çiğ süttten üretilen ve yapım aşamaları farklılıklar arz eden Kargı tulum peyniri üzerinde yapılan bir çalışmada (Dinkçi ve ark., 2012) elde edilen $7.28 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden de düşük seviyelerde olduğu belirlendi.

Bu durum muhtemelen, tulum peyniri üretiminde çiğ süt kullanılması nedeniyle ortaya çıkan farklılıkların peynirin üretim tekniğinden, peynirin mikrobiyasını oluşturan bakteriler arasındaki etkileşimden ve hammaddenin mikrobiyasından kaynaklanmış olabilir. İncelenen Şavak tulum peyniri örneklerinin 100 tanesinin 82 (% 82) tanesinde *Staph. aureus* sayısının $<1.00 \log_{10} \text{kob/g}$, 18 (% 18) tanesinde ise sayısının $1-4 \log_{10} \text{kob/g}$ arasında olduğu tespit edildi (Tablo 2). Genel olarak değerlendirildiğinde ortalama olarak $1.42 \pm 0.14 \log_{10} \text{kob/g}$ seviyesinde bulundu (Tablo 1). Bu değer tulum peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda (Bostan ve ark., 1992; Dıġrak ve ark., 1994; Morul ve İşleyici, 2012) elde edilen değerlerden (3.92 ve $7.87 \log_{10} \text{kob/g}$) oldukça düşük seviyelerde olduğu görüldü. Bazı *Staphylococcus* suşlarının gıdalarda zehirlenmelere neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle özellikle *Staph. aureus*'un gıdalarda bulunmaması gerekmektedir. *Staph. aureus*'un tespit edildiği 18 örneğin 3 tanesinde koagülaz (+) *Staph. aureus* suşuna rastlanıldı. Elde edilen bu bulguların Dıġrak ve ark. (1994) tarafından Şavak tulum peynirlerinde yapılan bir çalışmada elde edilen bulgularla benzerlik arz ettiği görüldü.

E.coli gıda zehirlenmelerine neden olabilen ve hijyenik kalitenin bir göstergesi olarak kabul edilen bir bakteridir. İncelenen peynir örneklerinde ortalama olarak $1.10 \pm 0.09 \log_{10} \text{kob/g}$ düzeyinde bulundu (Tablo 1). Bu değer Kara ve Akkaya'nın (2015) tespit ettiği $0.65 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden yüksek olduğu görülmektedir. Genel olarak bakteri dağılımına bakıldığında analiz edilen örneklerin % 21 tanesinde *E.coli*'nin tespit edildiği görülmektedir (Tablo 2). Bu sonucun Şavak tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (Dıġrak ve ark., 1994) saptanan % 70.5 *E.coli* değerinden oldukça düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi. Yine bu değer Divle tulum peynirinde (Morul ve İşleyici, 2012) belirlenen $3.61 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden oldukça düşük seviyelerde olduğu görülmektedir.

C. perfringens gıda zehirlenmelerinde önemli rol oynayan bakterilerden biridir. İncelenen tulum peyniri örneklerinde en az $<1.00 \log_{10} \text{kob/g}$, en çok $2.31 \log_{10} \text{kob/g}$ ve ortalama olarak ise $1.03 \pm 0.05 \log_{10} \text{kob/g}$ olarak tespit edildi (Tablo 1). Elde edilen bu değer Divle tulum peynirlerinde saptanan $1.31 \log_{10} \text{kob/g}$ değerinden nispeten düşük seviyede olduğu görülmektedir (Morul ve İşleyici, 2012). Genel dağılıma bakıldığı zaman *C. perfringens* sayısının incelenen 100 örneğin 95 (% 95) tanesinde $<1.00 \log_{10} \text{kob/g}$, 3 (% 3) tanesinde $1-2 \log_{10} \text{kob/g}$ ve 2 (% 2) tanesinde ise $2-4 \log_{10} \text{kob/g}$ düzeyinde oldukları saptandı (Tablo 2). Tespit edilen 5 adet peynir numunesinin halk sağlığı bakımından riskli olduğu söylene bilinir. Çünkü bu bakterinin gıda

maddelerinde hiç bulunmaması gerekmektedir. Demir ve ark. (2017) tarafından deneysel olarak çiğ süttten yapılan Şavak tulum peyniri örneklerinde *C. perfringens* bakterisine rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada yöre halkı tarafından sevilerek tüketilen, çoğunlukla çiğ süttten üretimi yapılan ve farklı firmalara ait olup Şavak tulum peyniri adı altında piyasada satılan bu ürünlerin bazı mikrobiyolojik kalite parametreleri incelendi. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiği zaman bazı bakteri (*E.coli*, *Staph.aureus*, *C.perfringens*) sayılarının halk sağlığı bakımından riskli olabilecek seviyelerde oldukları görüldü. Bundan dolayı bu ürünlerin yapımında kullanılan süttlerin uygun derecelerde ve uygun sürelerde pastörize edilmesi, yapımında starter kültür kullanılmasının zorunlu olduğu ve HACCP sistemine uygun endüstriyel ortamlarda ürünlerin yapılması gerekliliği sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Akyüz N, 1981: Erzincan (Şavak) tulum peynirinin yapılışı ve bileşimi. *Ata Üniv Zir Fak Derg*, 12 (1), 85-111.
- American Public Health Association, 1995: Standarts Methods for the Examination of Dairy Products. 15th ed., American Public Health Association, New York.
- Anonim, 2011: <http://www.fda.gov>, Erişim tarihi; 13.08.2017.
- Arcı M, Şimşek O, 1991: Kültür kullanımının tulum peynirinin duyuşal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. *Gıda*, 16 (1), 53-62.
- Banwart GJ, 1989: Basic Food Microbiology, 1. Food Microbiology. 2nd Edition New York, Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold.
- Barnes EM, 1959: Differential and selective media for the Faecal Streptococci. *J Sci Food Agric*, 10, 656-662.
- Bostan K, Uğur M, Aksu H, 1992: Deri ve plastik bidonlar içinde satışı sunulan tulum peynirlerinin duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Pendik Hayv. Hast. Merk. Araşt. Enst. Derg.*, 23 (1), 75-83.
- ICMSF, 1982: International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganism in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration, London, Univto Toronto Press.
- Demir P, Öksüztepe G, İncili GK, İlhak Oİ, 2017: Vakum paketli Şavak tulum peynirlerinde potasyum sorbatın kullanımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 23 (1), 23-30.
- Dıġrak M, Yılmaz Ö, Özçelik S, 1994: Elazığ kapalı çarşısında satışı sunulan tulum (Şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 19 (6), 381-387.
- Dinkçi N, Ünal G, Akalın AS, Varol S, Gönç S, 2012: Kargı tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Ege Üniv Zir Fak Derg*, 49 (3), 287-292.
- Halkman AK, 2005: Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık, Ankara.

- Harrigan WF, 1998: Laboratory Methods in Food Microbiology. 3rd ed., Academic Press, London.
- ISO 16649-2, 2001: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 2, Colony-count technique a 44°C using 5-bromo-4chloro-3-indoly-beta-D-glucuronide, Geneve, Switzerland.
- ISO 6888 – 1, 2015: 1999 / AMD 1: 2003. Cogulase (+) *Staphylococcus aureus* Identification. http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/. Erişim tarihi; 07.04.2015.
- Jay MJ, 2000: Modern Food Microbiology 6th Edition, Maryland: An Apsen Publication, Inc.
- Kara R, Akkaya L, 2015: Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. AKÜ FEMÜBİD, 15, 1-6.
- Keleş A, Atasever M, 1996: Divle tulum peynirinin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu kalite nitelikleri. *Süt Tek*, 1 (1), 47-53.
- Kurt A, Çağlar A, Çakmakçı S, 1991: Erzincan (Şavak) tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri üzerinde bir araştırma. *Doğa Tr J of Vet and Anim Sci*, 16, 41-50.
- Kurt A, Öztekin L, 1984: Şavak tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar. *Ata Üniv Zir Fak Derg*, 15 (3-4), 65-77.
- Lancette GA, Bennett RW, 2001: *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In "Microbiological Examination of Foods", Ed; Downes FP, American Public Health Association, Washington DC.
- Maturin LJ, Peeler JT, 2001: Bacteriological Analytical Manual. chapter 3. United States Food and Drug Administration (US FDA); 2001. Aerobic plate count. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>. Erişim tarihi; 26.01.2011.
- Morul F, İşleyici Ö, 2012: Divle tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *YYU Vet Fak Derg*, 23 (2), 71-76.
- Patır B, Ateş G, Dinçoğlu AH, Kök F, 2000: Elazığ'da tüketime sunulan tulum peynirinin mikrobiyolojik kalitesi ile laktik asit bakterileri üzerine araştırmalara. *FÜ Sağ Bil Derg*, 14 (1), 75-83.
- Patır B, Ateş G, Dinçoğlu AH, 2001: Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirinin olgunlaşması sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler üzerine araştırmalar. *FÜ Sağ Bil Derg*, 15 (1), 1-8.
- Patır B, Ateş G, 2003: Tulum peynirinin olgunlaşması sırasında laktik asit bakteri florasının değişimi üzerine araştırmalar. *Gıda*, 28 (3), 241-250.
- Tekinşen KK, Akar D, 2017: Erzincan tulum peyniri. *Ata Üniv Vet Bil Derg*, 12 (2), 218-226.
- Tekinşen OC, Nizamloğlu M, Keleş A, 1998: Tulum peyniri üretiminde yarı sentetik kılıfların kullanılabilme imkanları ve vakum ambalajlamanın kaliteye etkisi. *Vet Bil Derg*, 14 (2), 63-70.
- Terzaghi BE, Sandine WE, 1975: Improve medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29, 807-813.
- **7.Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi'nde poster bildiri olarak kabul edilmiş ve yayınlanmıştır.
- *Yazışma Adresi:** Gülsüm ÖKSÜZTEPE
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye
e-mail: gulsumoksuztepe@hotmail.com

Effects of Systemically Used Midazolam, Ketamine and Isoflurane Anesthetic Agents on Intraocular Pressure and Tear Production in Rabbits

Muharrem EROL¹, Hanifi EROL^{2*}, Gültekin ATALAN², Zafer DOĞAN³, Muhammed Kaan YÖNEZ², Şule MELEK⁴

¹Department of Surgery, Balıkesir University, Veterinary Faculty, Balıkesir, Turkey.

²Department of Surgery, Erciyes University, Veterinary Faculty, Kayseri, Turkey.

³Veterinary Surgeon, Istanbul, Turkey.

⁴Department of Surgery, Bingöl University, Veterinary Faculty, Bingöl, Turkey.

Geliş Tarihi: 01.12.2017

Kabul Tarihi: 13.04.2018

Abstract: The aim of this study was to determine of the effects of midazolam, ketamine and isoflurane anesthetic agents on tear production and intraocular pressure in rabbits. In this study twenty healthy (n=20) male white New Zealand rabbits (mean weight 2.20 ± 0.50 kg, age 16 weeks) were used. Anesthesia was performed intramuscular (IM) midazolam 3 mg/kg, and ketamine 30 mg/kg in group I. In second group (Group II), after midazolam and ketamine injections isoflurane 2% was used for general anesthesia. After anesthesia means intraocular pressure (IOP) decreased in both groups. Intraocular pressure in first group (Group I) was 10.3 ± 0.85 mmHg (right eyes), 11.4 ± 0.95 mmHg (left eyes) while it was 8.5 ± 0.85 mmHg (right eyes), 8.3 ± 0.85 mmHg (left eyes) n group II. The result of this study show that systemically used midazolam, ketamine and isoflurane anesthetic agents decrease IOP and tear secretion in rabbits.

Keywords: Anesthesia, Intraocular pressure, Rabbit, Tear production.

Tavşanlarda Sistemik Olarak Kullanılan Midazolam, Ketamin ve İsofluranın Gözyaşı Üretimi ve Göziçi Basıncı Üzerine Olan Etkilerinin Deneysel Olarak Araştırılması

Özet: Bu çalışmanın amacı; tavşanlarda midazolam, ketamin ve isofluran anestezi ajanlarının gözyaşı üretimi ve göziçi basıncı üzerine olan etkilerini belirlemektir. Bu çalışmada yirmi adet (n = 20) sağlıklı, (ortalama ağırlıkları 2.20 ± 0.50 kg, yaşları 16 hafta) erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Birinci grupta intramuskuler (İM) midazolam 3mg/kg, ve ketamine İM 30 mg/ kg uygulanarak anestezi sağlandı. İkinci grupta (Grup 2), midazolam ve ketamine enjeksiyonundan sonra genel anestezi için %2'lik İsofluran uygulandı. Anesteziden sonra her iki grupta da intraoküler basınç değerlerinde düşüşler görüldü. Birinci grupta (Grup I) göz içi basıncı sağ gözde 10.3 ± 0.85 mmHg ölçülürken, sol gözde 11.4 ± 0.95 mmHg olarak ölçüldü. İkinci grupta (Grup II) göziçi basıncı sağ gözde 8.5 ± 0.85 mmHg ölçülürken, sol gözde 8.3 ± 0.85 mmHg (sol göz) vardı. Bu çalışmanın sonucunda tavşanlarda sistemik olarak kullanılan midazolam, ketamin ve isofluran gibi anestezi ajanlarının GİB ve gözyaşı salgısını azalttığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Anestezi, Göz içi basıncı, Tavşan, Gözyaşı üretimi.

Introduction

Intraocular pressure (IOP) is defined as equilibrium production and drainage of humor aqueous in the ciliary processes of the eye. But the control and regulating mechanism of IOP are not fully understood (Ofri et al., 2008; Reitsamer et al., 2004). The conventional (iridocorneal angle) and unconventional (uveoscleral) pathways have an active role in drainage of humor aqueous. It is necessary to nourishment of the avascular intraocular tissues which named cornea and lens (Meekins et al., 2016). The Schirmer tear test (STT) is generally used to evaluate basal and reflex tear production. Since the introduction of applanation tonometer, the measurements of IOP and STT have become common procedure in routine ocular

examinations. Because the ocular diseases can cause significant alterations both IOP and tear production (Gianetto et al., 2009; Swinger et al., 2009). Except these reasons, day time, drugs, age, ocular inflammation, blood circulating and anesthesia can cause to alteration of IOP and tear production (Ofri et al., 2008; Pintor et al., 2001).

In veterinary medicine ketamine hydrochloride and benzodiazepine combinations are usually used for general anesthesia. Ketamine hydrochloride induces increase in cerebral blood flow, intracranial pressure and IOP as a result of cerebral vasodilatation. Benzodiazepines decrease the systemic arterial blood pressure, cerebral blood flow, cerebral pressure and IOP (Hazra et al., 2011;

Kovaljuva and Birgele, 2011). Potent inhalation anesthetics are used widely for maintenance of general anesthesia because of their ease of administration and practicable intraoperative and recovery characteristics. But they decrease IOP by lowering humor aqueous rate formation and increasing the trabecular outflow facility (Sator et al., 1998; Sator- Katzenschlager et al., 2002).

The use of anesthetic agents may cause to change in intraocular pressure (IOP) and tear production (TP) values. In animals chemical restraint is usually required to reduce stress, pain, motion and the other manipulations (Santangelo et al., 2002). The sedatives, tranquilizers and anesthetic drugs can cause lowered IOP. They reduce extra ocular and adnexal muscle tone (Pintor et al., 2001). The aim of this study was to determine of the effects of midazolam, ketamine and isoflurane anesthetic agents on tear secretion and intraocular pressure in normal laboratory New Zealand white rabbits.

Material and Method

Erciyes University local board of ethics committee for animal experiments has approved the study protocol of this research (EUHADYEK decision no: 17/047). In this study twenty healthy male white New Zealand rabbits (Mean weight 2.20 ± 0.50 kg, age 16 weeks) were used. The animals were housed as separate standard cages with no bedding, maintained on a 12-hours light/dark cycle (light from 6 a.m. to 6 p.m.), 21 ± 1 °C temperature in Erciyes University Veterinary Faculty Clinic. The rabbits were fed normal pellet diet and given water ad libitum. Before the application of anesthetic agents the rabbits were randomly separated into two groups of ten. The general health condition, direct and indirect ocular examinations were done prior to IOP (TONOVET, RBT, IcareVet, Helsinki, Finland) and STT I (Vet Eickemeyer, Schimer Strip, Ophthalmic strips) measurements.

Anesthesia was performed intramuscular (IM) Midazolam (3 mg/kg, IM, Demizolam 5 mg/5mL, DEM, TURKEY) and ketamine Hcl (30 mg/kg, IM, 10% Ketasol, Interhas, Turkey) in first group. In second group, after midazolam (3 mg/kg, IM) and ketamine (30 mg/kg, IM) injections ear pinching, palpebral, corneal and pedal reflexes were controlled. Absence of these reflex responses the head and neck was held in atlantooccipital extension to displace the epiglottis for endotracheal intubation. Local anesthetic lidocaine Hcl (Vemcaine 10% pump spray, VEM ilaç, Turkey) was sprayed into to larynx than the mouth was opened. Neonatal endotracheal tube (Internal 2.5 mm

diameter, Chilecom, China) was placed into the larynx with the help of an otoscope (Gowllands Croydon, UK). After that the tube was connected to inhalation anesthetic machine (SMS 2000, Turkey). Isoflurane 2% (Forane, 250 mL, Baxter, USA) was used for general anesthesia. Heart rate, respiratory rate and body temperature were measured manually during anesthesia. After thirty minutes of ketamine injection in first group and isoflurane anesthesia in second group, IOP and STT measured again.

The Measurement: The measurements of IOP and STT were done by the same examiner for each group. All animals were restrained in standing position. During restraint no pressure was applied on neck, head, throat and eyelids. The STTs were placed in the central aspect of ventral conjunctival sacs for one minute. TP as indicated on the strip was recorded in mm/minute immediately up on removal from the sacs. Following removal of strips calibrated Tono Vet (P mode) was performed on each eye. Tono Vet measures IOP by an original method as impact-multiplication (31). Local anesthesia is not necessary before use. The 50 mm stainless steel probe includes 2 coaxial magnet systems with a diameter of 1x1.4 mm. The measurement is made by keeping the tip of the probe at 4-8 mm away from the cornea. During measurement, the voltage is detected by the sensor and converted into a digital signal. This voltage occurs in the magnetic system resulting of contact the probe to the cornea. In this way, the measurement is completed by reading from the screen (Ollivier et al., 2008, Sarıcaoğlu, 2010). The measurements were repeated if the instrument indicated an unacceptable standard deviation as described in the manual. Anesthetic eye drop was not used before the measurements. They were recorded at the same time of day (09.00-10.00).

Statistical Analysis: The obtained datas were statistically evaluated. They were analyzed using Shapiro wilk test for normality than two-way repeated measure ANOVA followed by Tukey or Bonferroni's significant difference tests used to compare intragroup and between group's values. Statistical significance was accepted $p < 0.05$. All analyses were performed using IBM SPSS statistics 21 program. Results are presented as Mean \pm Standart error (SE).

Results

Before anesthetic application, mean IOP values of first group was 14.2 ± 0.75 mmHg (right eyes)

and 14 ± 0.80 mmHg for the left eyes and, 12.0 ± 0.75 mmHg for the right eyes and 12.2 ± 0.80 mmHg the left eyes in the second group. In both groups there was no significant difference obtained in IOP between left and right eyes. The baseline values (preanesthetic measurement) of first group were higher than second group. After anesthesia

mean IOP decreased in both groups. In first group there were 10.3 ± 0.85 mmHg (right eyes), 11.4 ± 0.95 mmHg (left eyes). In second group there were 8.5 ± 0.85 mmHg (right eyes), 8.3 ± 0.85 mmHg (left eyes). The measured differences of values in both groups were statically significant ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 1. Preanesthetic and postanesthetic measurements of IOP and TP.

	Preanaesthesia			Postanaesthesia	
	Eye	IOP	STT	IOP	STT
Group 1	L	$14 \pm 0.80^*$	$12.12 \pm 0.70^{*,a}$	$11.4 \pm 0.95^{*,a}$	$7.62 \pm 0.85^*$
	R	$14.2 \pm 0.75^*$	$13.25 \pm 0.70^{*,a}$	$10.3 \pm 0.85^*$	$9.87 \pm 0.67^{*,a}$
Group 2	L	$12.2 \pm 0.80^*$	$8.12 \pm 0.70^{*,a}$	$8.3 \pm 0.85^{*,a}$	$5.37 \pm 0.85^*$
	R	$12 \pm 0.75^*$	$7.75 \pm 0.70^{*,a}$	$8.5 \pm 0.85^*$	$5.62 \pm 0.70^{*,a}$

IOP: intraocular pressure, STT: schirmer test strips, L: left, R: right, *: $P < 0.05$, a: significantly differences between groups ($P < 0.05$).

The mean value of STT before anesthesia in first group was 13.25 ± 0.70 mL/minute for the right eyes, 12.25 ± 0.70 mL/minute for the left eyes, and, 7.75 ± 0.70 mL/minute for the right eyes and 8.12 ± 0.70 mL/minute for the left eyes in the second group. In both group there was significant difference in STT measurements between left and right eyes ($p < 0.05$). In first group baseline values (preanesthetic measurement) are higher than second group ($p < 0.05$). After anesthesia mean STT measurement decreased in both group and this was statically significant ($p < 0.05$) (Table 1). There was no complication detected and additional injection required in anesthesia.

Discussions

Most anesthetic and hypnotic agents including volatile agents, α -2 adrenoreceptor agonists, ketamine and benzodiazepines have been reported to decrease IOP in humans and domestics (Holve et al., 2013; Sator et al., 1998). The rabbits are docile, easy handle and economical in comparison than the other domestics. In addition, the large size of rabbits eye is ideal and suitable for testing of new technologies in ophthalmic surgery (Hazra et al., 2011). In the present study sedative and general anesthetics were performed to rabbits for investigation of their effects on IOP and TP. The appropriate measurement rebound tonometric method was preferred for IOP in rabbits. To decrease the error values when measuring IOP and TP, the measurements were done with same position and by person. STT is a common method of tear measurement in domestics. It is considered gold standard in veterinary medicine for determining qualitative TP than the other methods

(Ofri et al., 2001; Swinger et al., 2009). We used the STT I test for determining qualitative TP in our study. It has been reported that the normal intraocular pressure measurements using Tonovet in rabbits are ranged between 9.51 ± 2.62 mm Hg (Hazra et al., 2011). In this study, the mean intraocular pressures of baseline values for all rabbits were lower than 9.51 ± 2.62 mm Hg. The preanesthetic measurements values of IOP and TP in left and right eyes were different in groups. Previous studies demonstrated that IOP and TP are affected by the daily time, light cycle and sex in domestics (Alkan et al., 2004; Gianetto et al., 2009). This difference was thought to be due to changes in intraocular pressures and tear secretion during the day time and it supported the previous studies. In ophthalmic surgery general anesthetics are commonly used for central position of the globe, relaxation of the extra ocular muscles, and maintenance of intraocular pressure. In rabbits several anesthetic combinations are used. Xylazine-ketamine anesthetic combination is the popular anesthetics used in rabbit general anesthesia and ocular surgery because of increasing IOP (Dogan et al., 2016; Hazra et al., 2011). In the present study ketamine-midazolam and isoflurane combinations were performed and compared the measurements of IOP and TP.

Holve et al. (2013), reported that intravenous and intramuscular xylazine-ketamine anesthetic combinations significantly decreased IOP from baseline at 10 min after administration. This effect was maintained 25 min after intravenous administration and for at least 45 min after intramuscular administration. The anesthetic effects on IOP and TP investigations are continuing in animals. Inhalation anesthetics such as halothane

and isoflurane decrease IOP by lowering the formation rate of humor aqueous and increasing the trabecular outflow facility (Grundon et al., 2011; Riberio et al., 2010; Sator et al., 1998; Sator-Katzenschlager et al., 2002). The values of IOP and TP were compared and postanesthetic values were significantly lower than baselines in the current study. This assessment showed that midazolam-ketamine and isoflurane combinations decrease the IOP and TP, the effects maintained 30 min during anesthesia. Most anesthetics reduce IOP via their central depressive effects on central nervous system (Schäfer et al., 2002). Ketamine has been shown to increase IOP in cats, dogs and rabbits when used a sole agent for induction of anesthesia (Ghaffari and Moghaddassi, 2010). IOP is determined by the rate of production of humor aqueous, vitreous volume and external pressure. In our study, the anesthetic agents decreased the IOP and TP. The decreases of IOP and TP are more in second group than first group. This was thought due to more powerful effect of isoflurane on central nervous system. Our study supported the using ketamine with the other anesthetics IOP and TP production not increase.

The result of this study show that systemically used midazolam, ketamine and isoflurane anesthetic agents decrease IOP and tear production in rabbits. The anesthesia and anesthetic agents' choice of the animals with eye problems should be careful. Because the increases and decreases of IOP and TP are very important in ophthalmic surgery. Our results suggest that midazolam-ketamine and isoflurane are ideal and safe anesthetic agent for ophthalmic surgery in animals.

Acknowledgements

This study was presented as a poster presentation in 32 nd World Veterinary Congress 13-17 September, Istanbul, Turkey.

References

- Alkan F, Izci C, Tepeli C, Koc Y, 2004: Evaluation of the Schirmer tear test in clinically normal Turkish hunting dogs. *Vlaams Dier. ge nees kun dig. Tijdschrift*, 73, 263-279.
- Dogan E, Yanmaz LE, Senocak MG, Okumus Z, 2016: Comparison of propofol, ketamine and ketofol on intraocular pressure in New Zealand white rabbits. *Revue Med Vet*, 167, 18-21.
- Ghaffari MS, Moghaddassi AP, 2010: Effects of Ketamin-diazepam and ketamin-acepromazine combinations on intraocular pressure in rabbits. *Veterinary Anaesthesia Analgesia*, 37, 269-272.
- Gianetto C, Piccione G, Giudice E, 2009: Daytime profile of the intraocular pressure and tear production in normal dog. *Vet Ophthalmol*, 12, 302-305.
- Grundon RA, Anderson GA, Lynch M, Hardman C, O'Reilly A, Stanley RG, 2011: Schirmer tear tests and intraocular pressures in conscious and anesthetized koalas (*Phascolarctus cinereus*). *Vet Ophthalmol*, 14, 292-295.
- Hazra S, Pauli H, Biswas B, Konar A, 2011: Anesthesia for Intraocular Surgery in Rabbits. *Scand J Lab Anim Sci*, 38, 81-87.
- Holve D, Gum GG, Pritt SL, 2013: Effect of sedation with xylazine and ketamine on intraocular pressure in New Zealand White Rabbits. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 52, 488-490.
- Kovaljuca L and Birgele E, 2011: The effects of some medication and general anesthesia drugs on intraocular pressure and pupil diameter in dog's eyes. *LLU Raksti*, 26, 77-83.
- Meekins JM, Overton TL, Rankin AJ, Roush JK, 2016: Effect of oral administration of carprofen on intraocular pressure in normal dogs. *J Vet Pharmacol Therap*, 39, 344-349.
- Miller PE, 2008: The glaucomas, Maggs DJ, Miller PE, Ofri R (4th. eds): In Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. pp. 230-257. Saunders, St. Louis.
- Ollivier FJ, Plummer CE, Barrie KP (2008). Ophthalmic examination and diagnostics, Section 1: the eye examination and diagnostic procedures. In: Essentials of 86 Veterinary Ophthalmology. 2 nd ed., Gelatt KN, (edt), Blackwell publishing, USA: 3-22
- Ofri R, Horowitz IH, Levison M, Kass PH, 2001: Intraocular pressure and tear production in captive eland and fallow deer. *J Wildl Dis*, 37, 387-390.
- Ofri R, Steinmetz A, Thielebein J, Horowitz IH, Oechtering G, Kass PH, 2008: Factors affecting intraocular pressure in lions. *The Vet J*, 177, 124-129.
- Pereira FQ, Bercht BS, Soares MG, Mota MGB, Pigatto JAT, 2011: Comparison of a rebound and an applanation tonometer for measuring intraocular pressure in normal rabbits. *Veterinary Ophthalmology*, 14, 321-326.
- Pintor J, Martin L, Pelaez T, Hoyle CHV, Peral A, 2001: Involvement of melatonin MT₃ receptors in the regulation of intraocular pressure in rabbits. *Eur J Pharmacol*, 146, 251-254.
- Reitsamer HA, Kiel JW, Harrison JM, Ransom NL, Mckinnon SJ, 2004: Tonopen measurement of intraocular pressure in mice. *Exp Eye Res*, 78, 799-804.
- Riberio AP, Piso DYT, Pauda IRM, Silva ML, Laus JL, 2010: Intraocular pressure and tear secretion in Saanen goats with different ages. *Pesq Vet Bras*, 30, 798-802.
- Santangelo B, Micieli F, Marino F et al, 2015: Plasma concentrations and sedative effects of a dexmedetomidine, midazolam, and butorphanol combination after transnasal administration in healthy rabbits. *J Vet Pharmacol Therap*, 39, 408-411.
- Sarıcaoğlu MS, 2010. Yeni tonometreler ve göz içi basıncı ölçümünde yeni tartışma: korneanın biyomekanik özellikleri. *Glo-Kat*; 5: 67-74.

Sator S, Wildling E, Schabernig C, Akramain J, Zulus E, Winkler M, 1998: Desflurane maintains intraocular pressure at an equivalent level to isoflurane and propofol during unstressed non-ophthalmic surgery. *Br J Anaesth*, 80, 243-244.

Sator-Katzenschlager S, Deusch E, Dolezal S et al, 2002: Sevoflurane and propofol decrease intraocular pressure equally during non-ophthalmic surgery and recovery. *Br J Anaesth*, 89, 764-766.

Schäfer R, Klett J, Auffahrt G. et al, 2002: Intraocular pressure more reduced during anaesthesia with

propofol than with sevoflurane: both comined with remifentanil. *Acta Anaesthesiol Scand*, 46, 703-706.

Swinger RL, Langan JN, Hamor R, 2009: Ocular bacterial flora, tear production, and intraocular pressure in a captive flock of humboldt penguins (Spheniscus humboldti). *J Zoo Wildl Med*, 40, 430-436.

***Corresponding Author:** Hanifi EROL
Department of Surgery, Erciyes University, Veterinary Faculty, Kayseri, Turkey.
e-mail: erolmuharrem@hotmail.com

Bıldırcın Rasyonlarına Polen İlavesinin Besi Performansı ve Karkas Parametreleri Üzerine Etkisi**

Yasin SARIKAYA¹, Tuncay TUFAN^{2*}, Memiş BOLACALI³

¹Ardahan Üniversitesi Nihat Delibalta Göle Meslek Yüksek Okulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı 75002, Ardahan, Türkiye.

²Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 56100 Siirt, Türkiye.

³Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, 56100 Siirt, Türkiye.

Geliş Tarihi: 23.12.2017

Kabul Tarihi: 10.05.2018

Özet: Bu çalışma, bıldırcın (*Coturnix Coturnix Japonica*) rasyonlarına farklı oranlarda arı poleni ilavesinin canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı ve bazı karkas parametreleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapıldı. Araştırmada bir günlük yaşta toplam 300 adet bıldırcın civcivi kullanılmıştır. Araştırma grupları, her biri 100 civcivden oluşan 3 ana gruba ve bu ana grupların her biri 25 civcivden oluşan 4 alt gruba ayrılmıştır. Bıldırcınlar için hazırlanan rasyonlarda, kontrol grubunda herhangi bir yem katkı maddesi kullanılmazken, diğer grupların yemlerine % 0.25 (P1) ve 0.50 (P2) arı poleni ilave edilmiştir. Araştırma 42 gün sürmüştür. Deneme genelinde (1-42. günler) canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$). Karkas parametrelerinden sıcak ve soğuk karkas ağırlıkları, kalp, karaciğer, taşlık, bağırsak, göğüs, but, kanat, sırt+boyun ve diğer ağırlıkları ve bağırsak uzunluğu bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmemiştir. Abdominal yağ ağırlığı ve oranı bakımından P2 grubu kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Sıcak ve soğuk karkas oranları P1 ve P2 gruplarında kontrol grubundan yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.001$). Sonuç olarak, bıldırcın rasyonlarına % 0.25 ve 0.50 düzeylerinde arı poleni ilavesinin; 42 günlük araştırma süresince besi performansı üzerinde kontrol grubuna benzer sonuçlar oluşturması, sıcak ve soğuk karkas oranlarını iyileştirmesi ve abdominal yağ oranında azalmaya neden olmasından dolayı yem katkı maddesi olarak kullanılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Besi performansı, Bıldırcın, Karkas ağırlığı, Arı poleni.

Effects of Dietary Addition of Pollen on Growth Performance and Carcass Traits of Japanese Quail

Abstract: This study was conducted for the purpose of determining the effects of adding bee pollens at different rates to quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) rations on live weight, live weight gain, feed consumption, feed conversion ratio, and some carcass parameters. A total of 300 daily quail chicks were used in the study. The study groups were divided into 3 main groups each of which consisting of 100 chicks; and these main groups were divided into 4 sub-groups each of which consisting of 25 chicks. There were no additives in the ration that was prepared for the control group quails; and bee pollen was added to the rations of the other groups as 0.25% (P1) and 0.50% (P2). The study lasted 42 days. During the course of the study (1st-42nd days) no statistically significant differences were determined among the groups in terms of live weight, live weight gain, feed consumption, and feed conversion ratio ($P>0.05$). No statistically significant differences were determined among the groups in terms of hot and cold carcass weights, and the weights of heart, liver, gizzards intestines, chest, thighs, back-neck and other organs, and in terms of the length of the intestines, which are among the carcass parameters. In terms of abdominal fat weight and rate, the P2 group was determined to have lower values when compared with the control group ($P<0.05$). It was determined that hot and cold carcass rates in P1 and P2 groups were higher than those of the control group ($P<0.001$). As a conclusion, it was concluded that adding bee pollen to quail rations at rates of 0.25% and 0.50% gave similar results with the control group in terms of feeding performance along the 42-day study period. It was also concluded that it would be useful to use bee pollen as an additive to the rations since it improved hot and cold carcass rates; and caused that abdominal fat rates were reduced.

Keywords: Fattening performance, Quail, Carcass, Bee pollen.

Giriş

Çiftlik hayvanlarında uzun yıllar besi performansını artırıcı katkı maddesi olarak antibiyotikler kullanılmıştır. Avrupa Birliği ve ülkemizde 2006 yılında antibiyotiklerin yasaklanması ile beraber araştırmacılar antibiyotiğin gösterdiği etkiyi gösterebilecek alternatif yem katkıları arayışına girmişlerdir (Bolacali ve Irak,

2017; Tuncer, 2007). Antibiyotiklere alternatif olarak genellikle probiyotikler, prebiyotikler, humektanlar, bakteriyosinler, bitkisel ekstraktlar, organik asitler üzerine araştırmalar yapılmıştır (Ergün ve ark., 2014; Griggs ve Jacob, 2005). Son zamanlarda arı ve arı ürünlerinin yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği üzerine araştırmalar da

yapılmaktadır. Polen, propolis, bal, balmumu, arı zehri ve arı sütü gibi spesifik arı ürünleri kimyasal yapısı ve biyolojik özelliklerinden dolayı pek çok alanda kullanılabilir. Özellikle polen ve propolisin hayvan beslemede antibiyotiklere alternatif yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği ile ilgili araştırmalar son zamanlarda bilim adamlarının dikkatini çekmektedir (Doğan ve Hayoğlu, 2012; Popova ve ark., 2005). Arı poleni, proteinler, amino asitler, karbonhidratlar, lipidler, fenolik bileşikler, enzimler, vitaminler, mineraller ve aktif maddeler bakımından oldukça zengin bir üründür (Campos ve ark., 2008; Komosinska-Vashev ve ark., 2015).

Zengin besin madde içeriğine sahip olan arı polenin protein içeriği ortalama %20-30 arasında olup, içerdiği proteinin yaklaşık %10'unu metiyonin, lizin, treonin, histidin, lösin, izolösin, fenilalanin ve triptofan gibi esansiyel amino asitler oluşturmaktadır. Arı polenindeki sindirilebilir karbonhidrat düzeyi ortalama %30 oranında olup, özellikle fruktoz ve glukoz, toplam karbonhidratların yaklaşık %25'ini oluşturmaktadırlar (Almeida-Muradian ve ark., 2005; Roulston, 2000). Linoleik, γ -linoleik ve arhaic asitler gibi esansiyel yağ asitleri bakımından zengin bir içeriğe sahip olan polen, yaklaşık %5-7 düzeyinde ham yağ içeriğine sahip olup önemli miktarda fosfolipidler ve fitosteroller içerir (Campos ve ark., 2008; Szczesna, 2006). Ayrıca arı poleni yaklaşık %1-2 düzeyinde flavonoidler, lökotrienler, kateşinler ve fenolik asitler gibi aktif bileşikler de içermektedir (Asafova ve ark., 2001). Zengin bir kimyasal kompozisyona sahip olan polenin antioksidan özellikte olduğu da bildirilmektedir (Eraslan ve ark., 2009). Apiterapik ürün olarak kullanımı eski tarihlere dayanan arı ürünleri ve polenin besi performansını iyileştirici, antifungal, antimikrobiyal, antiviral, anti-enflamatuar, immünoestimülasyon, lokal analjezik ve yanık yaralarının iyileşmesinde granülasyon sürecini kolaylaştırıcı etkisi bulunmaktadır (Almaraz-Abarca ve ark., 2004; Kroyer ve Hegedus, 2001; Pascoal ve ark., 2014). Babaei ve ark. (2016) polen, propolis ve balın bildircinlerde büyüme performansını iyileştirdiği; Oliveira ve ark. (2013) broyler rasyonlarına polen ilavesinin immunoglobulin düzeyini artırdığını; Hosseini ve ark. (2016) tavuk rasyonuna polen ve propolis ilavesinin sıcaklık ve stresten koruduğunu; Hascik ve ark. (2015) broyler rasyonlarına propolis ilavesinin et kalitesini iyileştirdiğini belirtmişlerdir.

Önceki yıllarda arı ürünleri üzerine yapılan araştırmalar olmasına rağmen antibiyotige alternatif performans artırıcı yem katkı maddesi olarak rasyona hangi oranda polen ilave edilebileceği konusunda sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmada bildircin rasyonlarına farklı oranlarda arı poleni

ilavesinin besi performansı ve karkas parametreleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma, Siirt Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun hayvan deneyleri kullanım kılavuzuna göre yürütüldü (Protokol no: 2017-01). Araştırmada hayvan materyali olarak Siirt Üniversitesi Yaban Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 300 adet bir günlük yaşta, karışık cinsiyette Japon bildircin (*Coturnix Coturnix Japonica*) civcivi kullanıldı. Civcivlerin çıkım ağırlıkları belirlendikten sonra ortalama ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde, her ana grupta 100 civcivin olduğu kontrol, %0.25 arı poleni (P1) ve %0.50 arı poleni (P2) şeklinde gruplandırıldı. Her ana grupta bulunan 100 civciv kendi içinde her birinde 25 civciv bulunan 4 alt gruba ayrıldı. Araştırmada yem katkı maddesi olarak kullanılan arı poleni, Kars il merkezinden arı ve arı ürünleri malzemeleri satan ticari bir üreticiden temin edildi. Bildircinler 1-42. günler arasında besin madde içerikleri NRC (1994)'ye uygun olarak hazırlanan bir rasyon (kontrol grubu) ile beslendi (Tablo 1). Kontrol grubu rasyonuna herhangi bir yem katkı maddesi ilavesi yapılmazken, diğer iki gruba %0.25 ve %0.50 oranlarında polen öğütülerek ilave edildi. 96x46x25 cm ölçülerindeki kafeslerin her birine 25 adet bildircin yerleştirildi. İlk hafta içerisinde kümes ısısının 32-34 °C olması sağlandı. Kafes ısı araştırmanın 4. gününden itibaren her gün kademeli olarak düşürülerek 21 °C de sabitlendi. Kümes ortamında gün ışığı ve yapay aydınlatma uygulanarak 24 saat aydınlatma programı uygulandı. Araştırma 42 gün sürdürüldü. Yem ve su *ad libitum* olarak sağlandı.

Çalışmada civcivler çıkımdan itibaren 6 hafta boyunca 0.01 g hassasiyette elektronik terazi kullanılarak haftalık canlı ağırlıkları (CA) ile canlı ağırlık artışları (CAA) tespit edildi. İki tartım arasındaki canlı ağırlık farkının 7'ye bölünmesiyle grupların ortalama günlük canlı ağırlık artışları (GCAA) belirlendi. Araştırmada haftalık kontrol ile deneme gruplarına verilen yemlerden artan yemler çıkartılıp, bulunan yem tüketim miktarları gruplardaki bildircin sayısına ve gün sayısına (7 gün) bölünerek ortalama bireysel günlük yem tüketimleri (YT) belirlendi. Bütün gruplarda, haftalık olarak yapılan tartımlardan elde edilen ortalama günlük YT'inin, GCAA'na bölünmesi ile yemden yararlanma oranı (YYO) tespit edildi. Araştırma sonunda kesim ve karkas parametrelerinin belirlenmesi için her alt gruptan ortalama CA'a en yakın 5 olmak üzere her ana gruptan toplam 20 bildircin kesildi. Kesilen bildircinlerin abdominal yağ, kalp, karaciğer, taşlık, barsak ağırlıkları ve bağırsak uzunlukları tespit edildi. İç organlar çıkarıldıktan sonra karkas

tartılarak sıcak karkas ağırlığı belirlendi. Sıcak karkas ağırlıkları belirlendikten sonra bildircin karkasları +4°C'de 24 saat bekletildi. Bekletilen bildircin karkasları 24 saatin sonunda tekrar tartılarak soğuk karkas ağırlıkları belirlendi. Sıcak ve soğuk karkas ağırlıklarının kesim ağırlığına oranı ile karkas randımanları tespit edildi. Soğuk karkas ağırlıkları belirlendikten sonra Genchev ve Mihaylov (2008)'a göre karkas parçalaması yapıldı. Karkasta göğüs,

but, kanat, sırt+boyun ve diğer ağırlıkları ve bunların soğuk karkasa oranları tespit edildi. Araştırmada gruplardan elde edilen besi performansı ve karkas verim özelliklerine ait ortalamalar arasında istatistiksel farklılığın olup olmadığının belirlenmesinde varyans analizine bakıldı. Farklılık olan değerler arasındaki farkın önem kontrolü için Duncan Multiple Range (SPSS 23.0) testinden yararlanıldı (SPSS, 2015).

Tablo 1: Araştırmada kullanılan bildircin yeminin bileşimi ve besin madde içeriği.

İçerik	Başlangıç- Büyütme Dönemi (1-42. günler), %	Kuru Madde Bazında Besin Madde İçeriği, %	
Mısır	45.30	Kuru madde	89.85
Buğday	8.91	Metabolik enerji kcal/kg **	2903
Bitkisel Yağ	1.60	Ham protein	24.08
Soya Küspesi (%48HP)	30.00	Ham yağ	3.41
Balık Unu (%64 HP)	3.00	Ham selüloz	4.65
Ayçiçeği Küspesi (%32 HP)	9.00	Ham kül	5.64
Kireç Taşı	1.16	Kalsiyum**	0.81
Vit. Min. prem. *	0.25	P**	0.38
Tuz	0.35	Na**	0.20
DCP	0.20	Cl**	0.28
Antioksidan	0.08	Met+Sis**	0.85
L-Treonin	0.15	Lizin**	1.30
		Treonin**	1.02
		Triptofan**	0.31

*Vitamin-Mineral premiksi (DSM Nutritional Products): Diyet başına 13.000 IU vitamin A, 3.500 IU vitamin D3, 100 mg E vitamini, 3 mg K3 vitamini, 3 mg B1 vitamini, 8 mg B2 vitamini, 6 mg B6 vitamini, 30 mg B12 vitamini, 30 mg Niasin, 8 mg kalsiyum-D-pantotenat, 2 mg folik asit, 70 mg C vitamini, 70 mg D-biotin, 200 mg kolin klorür, 2 mg canthaxanthin, 0.75 mg apokarotenik asit esther, 120 mg Mn, 100 mg Zn, 90 mg Fe, 16 mg Cu, 1.5 mg I, 0.75 mg Co, 0.30 mg Se. **: Hesaplama yoluyla bulunmuştur.

Bulgular

Bildircin rasyonlarına farklı oranlarda polen ilavesinin çeşitli dönemlerdeki bildircin canlı ağırlıkları üzerine etkileri Tablo 2'de verilmiştir. Araştırmada kontrol grubunun 1, 2 ve 3. haftalardaki ortalama CA'ı her iki polen ilave edilmiş deneme gruplarından yüksek olduğu tespit edilirken, çalışmanın son üç haftasında canlı ağırlık ortalamaları bakımından tüm gruplar arasında fark olmadığı belirlendi (P>0.05). Besi performansı parametrelerinin verildiği Tablo 3'te de görüldüğü üzere başlangıç dönemi GCAA bakımından kontrol

grubu P1 ve P2 gruplarından önemli derecede yüksek tespit edilirken (P<0.05), en yüksek YT ise Kontrol grubunda belirlendi (P>0.05). Başlangıç döneminde YYO bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmedi (P>0.05). Büyütme döneminde GCAA bakımından P1 grubu kontrol grubundan yüksek olduğu belirlenirken (P<0.05), YT ve YYO oranı bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edilmedi (P>0.05). Deneme geneline bakıldığında GCAA, YT ve YYO bakımından gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edilmedi (P>0.05).

Tablo 2. Grupların haftalık canlı ağırlık ortalamaları, (g).

Hafta	Deneme Grupları			Önem
	Kontrol	P1	P2	
Çıkım	6.92±0.13	7.02±0.11	7.01±0.03	-
1	15.33±0.57 ^a	12.61±0.40 ^b	13.23±0.22 ^b	**
2	52.47±0.84 ^a	48.29±0.12 ^b	49.06±0.46 ^b	***
3	94.45±1.65 ^a	88.64±0.90 ^b	89.70±0.87 ^b	*
4	133.82±3.09	130.31±0.63	130.64±1.68	-
5	162.30±3.30	158.40±1.70	158.81±1.13	-
6	182.61±3.79	184.08±1.10	178.64±0.45	-

^{a, b}: Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

-: Önemli değil (P>0.05); *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001.

Tablo 3. Grupların başlangıç, büyütme ve deneme geneli ortalama canlı ağırlık artışı (g/gün), yem tüketimi (g/gün) ve yemden yararlanma oranları (g/g).

Grup/Parametreler	Kontrol	P1	P2	Önem
Başlangıç dönemi (1-21. günler)				
GCAA	4.17 ± 0.07 ^a	3.89 ± 0.04 ^b	3.94 ± 0.04 ^b	*
YT	12.12 ± 0.20	11.85 ± 0.30	11.81 ± 0.13	-
YYO	2.91 ± 0.01	3.05 ± 0.04	3.00 ± 0.05	-
Büyütme dönemi (22-42. günler)				
GCAA	4.20 ± 0.11 ^b	4.55 ± 0.03 ^a	4.24 ± 0.13 ^{ab}	*
YT	22.05 ± 0.42	22.52 ± 0.16	21.86 ± 0.13	-
YYO	5.26 ± 0.10	4.95 ± 0.04	5.17 ± 0.10	-
Deneme geneli (1-42. günler)				
GCAA	4.19 ± 0.09	4.22 ± 0.03	4.09 ± 0.01	-
YT	17.10 ± 0.30	17.19 ± 0.19	16.83 ± 0.10	-
YYO	4.08 ± 0.02	4.07 ± 0.03	4.11 ± 0.03	-

^{a,b}: Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

-: Önemli değil (P>0.05), *: P<0.05.

Çalışmada Tablo 4 incelendiğinde abdominal yağ ağırlığı hariç, incelenen kesim ve karkas ağırlıkları bakımından gruplar arasında fark tespit edilmedi (P>0.05). Abdominal yağ ağırlığının en düşük P2 grubunda, en yüksek P1 grubunda olduğu belirlendi. Sıcak ve soğuk karkas oranları değerlendirildiğinde yeme ilave edilen polen ilavesinin oranı arttıkça karkas randımanının arttığı (P<0.001), en yüksek randımanının P2 grubunda

olduğu saptandı. Abdominal yağ oranının P1 grubunda en yüksek olduğu, en düşük değerlerin ise P2 grubunda olduğu belirlendi (P<0.05). Polen ilave edilen gruplardaki but ve kanat oranları kontrol grubundan daha düşük olduğu tespit edildi (P<0.05). Bağırsak uzunlukları incelendiğinde P1 grubu, P2 grubundan daha uzun olmasına karşın polen ilavesinin bağırsak uzunluğu üzerine etkisi önemsiz (P>0.05) bulundu.

Tablo 4. Gruplarda ortalama kesim ve karkas ağırlığı (g) ve oranları.

Parametreler	Kontrol	P1	P2	Önem
Ağırlıklar (g)				
Kesim	184.59±5.06	180.93±2.27	175.07±1.72	-
Sıcak Karkas	128.53±2.40	128.91±1.30	128.05±1.33	-
Soğuk Karkas	127.30±2.43	128.12±1.32	126.70±1.41	-
Abdominal Yağ	1.17±0.13 ^a	1.36±0.17 ^a	0.81±0.08 ^b	*
Kalp	1.59±0.05	1.52±0.03	1.59±0.04	-
Karaciğer	3.84±0.37	3.82±0.25	3.77±0.20	-
Taşlık	3.32±0.13	3.56±0.16	3.58±0.14	-
Bağırsak	4.19±0.42	4.53±0.24	4.05±0.23	-
Bağırsak uzunluğu (cm)	47.22±1.68	47.42±1.03	43.58±1.32	-
Göğüs	45.57±1.26	46.03±0.40	44.43±0.77	-
But	29.40±0.60	28.51±0.38	28.37±0.34	-
Kanat	10.13±0.26	9.93±0.15	9.57±0.13	-
Sırt+Boyun	24.69±0.68	25.57±0.72	26.32±0.58	-
Diğer	17.52±0.49	18.08±0.47	18.02±0.40	-
Oranlar %				
Sıcak Karkas	69.96±0.70 ^c	71.29±0.26 ^b	73.14±0.17 ^a	***
Soğuk Karkas	69.27±0.67 ^c	70.86±0.27 ^b	72.35±0.22 ^a	***
Abdominal Yağ	0.63±0.07 ^{ab}	0.76±0.10 ^a	0.46±0.04 ^b	*
Kalp	0.87±0.03	0.84±0.02	0.91±0.02	-
Karaciğer	2.07±0.19	2.12±0.15	2.15±0.11	-
Taşlık	1.81±0.06	1.98±0.09	2.05±0.08	-
Bağırsak	2.26±0.22	2.51±0.14	2.31±0.13	-
Göğüs	35.75±0.56	35.98±0.42	35.05±0.38	-
But	23.13±0.33 ^a	22.26±0.23 ^b	22.40±0.19 ^b	*
Kanat	7.96±0.14 ^a	7.75±0.09 ^{ab}	7.56±0.09 ^b	*
Sırt+Boyun	19.39±0.38	19.91±0.42	20.77±0.39	-
Diğer	13.78±0.33	14.10±0.29	14.22±0.28	-

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

-: Önemli değil (P>0.05); *: P<0.05; ***: P<0.001.

Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışmada bildirilen rasyonlarına arı poleni ilavesinin deneme geneli GCAA'ı etkilemediği tespit edilmiştir. Bu sonuca benzer

şekilde Canogullari ve ark. (2009) ve Kleczek ve ark. (2014) kanatlı rasyonlarına polen ilavesinin GCAA'ı değiştirmediklerini bildirmişlerdir. Hosseini ve ark. (2016) ise broyler rasyonlarına 20 g/kg polen ilavesinin CA'ı önemli derecede artırdığını bildirmişlerdir. Attia ve ark. (2014) broyler rasyonlarına 300 mg/kg polen, 300 mg/kg propolis, 300 mg/kg polen + 300 mg/kg propolis ve 0.5 g/kg Mannan oligosakkarit ilavesinin GCAA'ı kontrol grubuna göre iyileştirdiğini bildirmişlerdir ($P<0.05$). Çalışmada, bildircin rasyonlarına % 0.25 ve 0.50 oranlarında polen ilavesinin başlangıç döneminde GCAA'nı olumsuz etkilediği ancak büyütme dönemi ve deneme geneli dikkate alındığında polen katkısının GCAA üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı sonucuna benzer olarak Canogullari ve ark. (2009) bildircin rasyonlarına 5, 10, 15 ve 20 g/kg düzeylerinde polen ilavesinin GCAA etkilemediğini bildirmişlerdir. Babaei ve ark. (2016) bildircin rasyonlarına 1000 mg/kg propolis ekstraktı ve 1000 mg/kg polen ilavesinin GCAA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını ve kontrol grubuna benzer sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir. Seven ve ark. (2013) farklı yerleşim sıklığında yetiştirilen bildircin rasyonlarına 1 g/kg polen ilave edilmesinin GCAA rakamsal olarak iyileştirdiğini ancak istatistiksel fark oluşturmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlardan farklı olarak, Farag ve Rayes (2016) bildircin rasyonlarına % 0.6 polen ilavesinin GCAA iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada deneme geneli (1-42. günler) dikkate alındığında ortalama YT bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir ($P>0.05$). Bu araştırma sonucuna benzer olarak Seven ve ark. (2013) bildircin rasyonlarına 1 g/kg polen ilavesinin YT'ini etkilemediğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlardan farklı olarak, broyler rasyonlarına propolis ve polen ilavesinin YT'ini önemli derecede düşürdüğü bildirilmektedir (Attia ve ark., 2014; Zeweil ve ark., 2016). Her iki bildirimden farklı olarak sıcaklık stresine maruz bırakılmış broyler rasyonlarına 20 g/kg polen, 3 g/kg propolis ve 20 g/kg polen + 3 g/kg propolis ilavesinin YT'ini artırdığı bildirilmiştir (Hosseini ve ark., 2016). Bu çalışmada bildircin rasyonlarına polen ilavesinin deneme genelinde YYO'nı etkilemediği belirlenmiştir ($P>0.05$). Bu araştırma sonucuna benzer olarak bildircin (Canogullari ve ark., 2009) ve broyler (Hosseini ve ark., 2016) rasyonlarına arı poleni ilavesinin YYO'nı etkilemediğini bildiren araştırma sonuçları da bulunmaktadır. Bu sonuçlardan farklı olarak, broyler rasyonlarına propolis ya da polen ilavesinin YYO'nı iyileştirdiğini bildiren sonuçlar da bulunmaktadır (Attia ve ark., 2014; Babaei ve ark., 2016).

Araştırma gruplarının kesim ve karkas ağırlıkları ile oranlarının verildiği Tablo 4'te; sıcak karkas ve soğuk karkas oranları ile abdominal yağ ağırlığı ve

oranı, but ve kanat oranları hariç incelenen diğer tüm karkas parametrelerini bakımından gruplar arasında fark belirlenmemiştir. Bu araştırma sonuçlarına benzer olarak bildircin (Canogullari ve ark., 2009) ve broyler rasyonlarına (Haşèik ve ark., 2012) farklı dozlarda arı poleni ilavesinin kesim ağırlığı, soğuk karkas oranı, kalp, karaciğer ve taşlık oranları üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir ($P>0.05$). Bu çalışma sonuçlarına göre bildircin rasyonlarına polen ilavesinin sıcak ve soğuk karkas oranlarını arttırması yönünden Farag ve Rayes (2016) ile Attia ve ark. (2011)'nin sonuçlarına benzer, ancak Canogullari ve ark. (2009), Haşèik ve ark. (2012) ve Hascik ve ark. (2015)'nin sonuçlarından farklı olduğu belirlenmiştir. Hascik ve ark. (2015) broiler rasyonuna propolis ilavesinin karkas, göğüs ve karaciğer oranlarını etkilemediğini ancak but oranını arttırdığını tespit etmişlerdir. Hascik ve ark. (2016)'nın yapmış olduğu başka bir çalışmada, broyler rasyonlarına propolis ilavesinin kesim ve karkas ağırlığı, karkas, kalp, karaciğer ve taşlık oranını etkilememesine karşın abdominal yağ ağırlığını ($P<0.05$) azalttığını tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, bildircin rasyonlarına % 0.25 ve 0.50 düzeylerinde arı poleni ilavesinin; 42 günlük araştırma süresince besi performansı üzerinde kontrol grubuna benzer sonuçlar oluşturması ve olumsuz bir etkisinin olmaması, sıcak ve soğuk karkas oranlarını iyileştirmesi ve abdominal yağ oranında azalmaya neden olmasından dolayı yem katkı maddesi olarak kullanılmasının yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Almaraz-Abarca N, Campos MDG, Avila-Reyes JA, Naranjo-Jiménez N, Herrera-Corral J, González-Valdez LS, 2004: Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia*, 29, 574-578.
- Almeida-Muradian LB, Pamplona LC, Coimbra S, Barth OM, 2005: Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 105-111.
- Asafova N, Orlov B, Kozin R, 2001: Physiologically Active Bee Products. edited by: Y. A. Nikolaev. Russia,
- Attia YA, Al-Hamid AA, Ibrahim MS, Al-Harathi MA, Bovera F, Elnaggar AS, 2014: Productive performance, biochemical and hematological traits of broiler chickens supplemented with propolis, bee pollen, and mannan oligosaccharides continuously or intermittently. *Livestock Science*, 164, 87-95.
- Attia YA, Al-Hanoun A, Tag El-Din AE., Bovera F, Shewika Y, 2011: Effect of bee pollen levels on productive, reproductive and blood traits of NZW rabbits. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 95, 294-303.
- Babaei S, Rahimi S, Torshizi MAK, Tahmasebi G, Miran SNK, 2016: Effects of propolis, royal jelly, honey and bee pollen on growth performance and immune system of Japanese quails. In *Veterinary Research*

- Forum, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. 7, 13-20.
- Bolacali M, Irak K, 2017: Effect of dietary yeast autolysate on performance, slaughter, and carcass characteristics, as well as blood parameters, in quail of both genders. South African Journal of Animal Science, 47, 460-470.
- Campos MG, Bogdanov S, De Almeida-Muradian LB, Szczesna T, Mancebo Y, Frigerio C, Ferreira F, 2008: Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apicultural Research, 47, 154-161.
- Canogullari S, Baylan, M, Sahinler N, Sahin A, 2009: Effects of propolis and polen supplementations on growth performance and body components of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). Arch. Geflugelk, 73, 173-178.
- Doğan N, Hayoğlu İ, 2012: Propolis ve kullanım alanları. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 16, 39-48.
- Eraslan G, Kanbur M, Silici S, Liman BC, Altınordulu Ş, Sarica ZS, 2009: Evaluation of protective effect of bee polen against propoxur toxicity in rat. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 931-937.
- Ergün A, Çolpan İ, Yıldız G, Küçükersan S, Tuncer Ş D, Yalçın S, Küçükersan MK, Şehu A, 2014: Hayvan besleme ve beslenme hastalıkları. Pozitif Matbaacılık, Ankara, s:47.
- Farag Soha A, El-Rayes TK, 2016: Effect of Bee-pollen Supplementation on Performance, Carcass Traits and Blood Parameters of Broiler Chickens. Asian Journal of Animaland Veterinary Advances, 11, 168-177.
- Genchev A, Mihaylov R, 2008: Slaughter analysis protocol in experiments using Japanese quails (*Coturnix Japonica*). Trakia J. Sci. 6, 66-71.
- Griggs JP, Jacob JP, 2005: Alternatives to antibiotics for organic poultry production. J, Appl, Poult, Res, 14 750-756.
- Hascik P, Trembecká L, Bobko M, Kačániová M, Bučko O, Tkáčová J, Kunová S, 2015: Effect of different feed supplements on selected quality indicators of chicken meat. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 9, 427-434.
- Hascik P, Trembecká L, Bobko M, Kačániová M, Čuboň J, Kunová S, Bučko O, 2016: Effect of diet supplemented with propolis extract and probiotic additives on performance, carcass characteristic sand meat composition of broiler chickens. Potravinarstvo, 10, 223-231.
- Haščík P, Elimam I, Garlík J, Kacániová M, Cuboň J, Bobko M, Abdulla H, 2012: Impact of bee pollen as feed supplements on the body weight of broiler Ross 308. African Journal of Biotechnology, 11, 15596-15599.
- Hosseini SM., Azghandi MV, Ahani S, Nourmohammadi R, 2016. Effect of bee pollen and propolis (bee glue) on growth performance and biomarkers of heat stress in broiler chickens reared under high ambient temperature. J Anim Feed Sci, 25, 45-51.
- Kleczek K, Wilkiewicz-Wawro E, Wawro K, Makowski W, Murawski D, Wawro M, 2014: The effect of dietary propolis supplementation on the growth performance of broiler chickens. Pol J Natur Sc, 29, 105-117.
- Komosinska-Vassev, K, Olczyk P, Kaźmierczak J, Mencner L, Olczyk K, 2015: Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (Erişim Tarihi:21.11.2017) (<http://dx.doi.org/10.1155/2015/297425>).
- Kroyer G, Hegedus N, 2001: Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2, 171-174.
- NRC. (1994). Nutrient Requirements of Poultry 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Oliveira MC, Da Silva DM, Loch FC, Martins PC, Dias DMB, Simon GA, 2013: Effect of bee pollen on the immunity and tibia characteristics in broilers. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 15, 323-327.
- Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A, Feás X, Estevinho LM, 2014: Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. Food and Chemical Toxicology, 63, 233-239.
- Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V, 2005: Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, Phytomedicine, 12, 221-228.
- Roulston TH, Cane JH, 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. Plant Systematics and Evolution, 222, 187-209.
- Seven İ, Seven PT, Aslan AS, Yıldız N, 2013. Farklı yerleşim sıklığında yetiştirilen Japon bıldırcınlarının (*Coturnix coturnix japonica*) performans parametreleri üzerine rasyona katılan multi enzimin etkileri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 27, 155-158.
- SPSS 2015: SPSS Base 23.0 for Windows User's Guide, Chicago, Illinois
- Szczesna T, 2006: Long chain fatty acids composition of honeybeecollected pollen. Journal of Apicultural Science, 50, 65-79.
- Tuncer Hİ, 2007: Karma yemlerde kullanımı yasaklanan hormon, antibiyotik, antikoksidiyal ve ilaçlar. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 47, 29-37.
- Zeweil HS, Abd El-Rahman MHA, Dosoky WM, Abu Hafsa SH, Abdulhamid ABA, 2016: Effects of ginger and bee propolis on the performance, carcass characteristics and blood constituents of growing japanese quail. Egyptian Poultry Science Journal, 36, 143-159.

*Bu çalışma birinci isim yazarın Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir

*Yazışma Adresi: Tuncay TUFAN

Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 56100 Siirt, Türkiye
e-mail: tuncay-tufan@hotmail.com.

Sığırlarda Sol Tarafli Abomasum Deplasmanlarının Yemlere Zeolit Minerali Katılarak Önlenmesi**

Gürbüz AKSOY^{1*}, Halil Selçuk BİRİCİK², Mehmet AVCI³, Aydın DAŞ⁴

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye.

³Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

⁴Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 19.01.2018

Kabul Tarihi: 07.05.2018

Özet: Abomasum deplasmanlarının patogeneğinde gaz birikimi anahtar rol oynamaktadır. Zeolit, gazları absorbe eden doğal bir mineraldir. Bu çalışmanın amacını, sığırlarda yemlere katılan zeolit mineralinin sol tarafli abomasum deplasmanı insidansına ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine olan etkisini incelemek oluşturmıştır. İlk aşamada, yemlerine zeolit katılmayan 10 adet (Kontrol-1 Grubu) ve yemlerine % 2.5 oranında zeolit katılan 10 adet (Deneme-1 Grubu) toplam 20 sığırda bazı hematolojik, serum biyokimyasal parametreler ve rumen metabolitleri incelenmiştir. Yeme zeolit katılan grupta kolesterol ve fosfor düzeyleri kontrol grubuna göre düşük (P<0.05), kalsiyum düzeyi ise yüksek (P<0.05) bulunmuştur. Ayrıca, rumen sıvısı amonyak düzeyinde kontrol grubuna göre P<0.05 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. İkinci aşamada zeolit mineralinin sığırlarda abomasum deplasmanı insidansına etkisi incelenmiş; yemlerine zeolit katılmayan 60 adet sığırda (Kontrol-2 Grubu) 2 hayvanda sol tarafli abomasum deplasmanı olgusu ortaya çıkarken, yemlerine % 2.5 oranında zeolit katılan 120 hayvanda (Deneme-2 Grubu) bu hastalığa rastlanmamıştır. Sonuç olarak, çalışma kapsamında incelenen parametreler açısından sığırlarda rasyona ilave edilen zeolitin herhangi bir yan etkisinin olmadığı; sol tarafli abomasum deplasmanı ve hipokalsemi oluşma riskini azalttığı, rumen hareketlerini ve iştahı arttırdığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Abomasum deplasmanı, Profilaksi, Zeolit, Sığır.

Prevention of Left Displacements of the Abomasum in Cattle by Adding Zeolite Mineral to Feeds

Abstract: Gas accumulation plays a key role in the pathogenesis of abomasum displacements. Zeolite is a natural gas adsorbing mineral. The aim of this study was to investigate the effects of zeolite addition to feeds in cattle on incidence of left displaced abomasum and some biochemical parameters. In the first step, the effects of zeolite minerals were investigated on the hematological, serum biochemical parameters and rumen metabolites in a total of 20 cattle. Trial Group-1(n=10) was fed with a ration supplemented with zeolite at 2.5 percent while Control Group-1 consumed a ration without zeolite supplementation. Cholesterol and phosphorus levels were lower (P <0.05) and calcium levels were higher (P <0.05) in the trial group to compared control group. In addition, zeolite lowered the ammonia level in the rumen fluid (P <0.05). In the second step, the effect of zeolite mineral supplementation on the incidence of abomasum displacement in cattle was investigated. Among 60 animals fed with a ration without zeolite supplementation (Control Group -2) left-sided abomasum displacement was observed in two animals While abomasum displacement was not observed among 120 animals (Trial-2 Group) consumed a ration supplemented with zeolite at 2.5 per cent. As a result, in terms of the parameters examined in the study; zeolite addition to feed hasn't any side effect, decrease the risk of occurrence of left-sided abomasal displacement and hypocalcemia, increase ruminal movements and appetite.

Keywords: Abomasal displacement, Prophylaxis, Zeolite, Cattle.

Giriş

Abomasum deplasmanları, sığırlarda görülen en önemli metabolik kökenli hastalıklardan birisidir. Sol tarafli abomasum deplasmanı; normalde karın boşluğunun sağ ventralinde yer alan abomasumun, özellikle gaz ile dolarak abdomenin sol üst kısmına doğru hareket etmesi ve karın duvarı ile rumen arasına gelip yerleşmesidir (Rosenberger, 1990). Abomasum deplasmanının insidansı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, ortalama % 0-7 arasında seyretmektedir (Kelton ve ark., 1998). Bir ülkede, hastalığın insidansı açısından sürü düzeyinde büyük

farklılıklar gözlenebilmektedir. Öyle ki, bazı sürülerde sadece bir vakaya rastlanırken, diğer çiftliklerde bu oran % 20'ye kadar çıkmaktadır (Dawson ve ark., 1992; Rosenberger, 1990). Bu durum, hastalığın ortaya çıkmasında beslenme faktörlerinin önemini göstermektedir. Bir abomasum deplasmanı vakasının getirdiği ekonomik kayıp yaklaşık olarak 250 - 450 dolar arasında değişmektedir. Kuzey Amerika'da yapılan bir çalışmada, adı geçen hastalığa bağlı olarak hesaplanan yıllık kaybın 220 milyon dolara ulaştığı bildirilmektedir (Geishauser ve ark., 2000).

Hastalığın nedenleri multifaktoriyel olup, abomasum atonisi ve gaz oluşumu deplasmanın gelişmesine ön ayak olmaktadır. Abomasum gazla dolu olduğunda, musküler katı tonusunu kaybetmekte, biriken gazın da etkisiyle organ rumenin sol tarafına doğru yer değiştirmektedir. Hastalığın oluşumunda rol oynayan diğer faktörler olarak; hipokalsemi, mastitis, metritis, ketozis gibi hastalıklar, intraabdominal organların pozisyonundaki değişiklikler ve genetik yatkınlık sayılabilir. Olgulara çoğunlukla, 'geçiş periyodu' olarak tanımlanan doğum öncesi 2 hafta ile doğum sonrası 2-4 hafta arasında rastlanmaktadır (Zadnik ve ark., 2001). Klinik semptomlar olarak; iştahsızlık, süt veriminde ani ve hızlı düşüşler, zayıflama, sol karın duvarında asimetri, gaitanın koyu renkte ve camcı macunu gibi yapışkan kıvamda olması sayılabilir. Bununla birlikte, semptomsuz seyreden vakalar dahi bildirilmektedir. Hastalığın tanısı; sol karın duvarında aynı anda yapılan oskültasyon-perküsyon muayenesinde, karakteristik ping seslerinin alınması esasına dayanır (Rosenberger, 1990; Zadnik ve ark., 2001). Yüksek verimli süt sığırlarında yaygın olarak görülen abomasum deplasmanlarının patogenezi kaba yemlerin az, konsantre yemlerin fazla verilmesi gibi beslenme faktörleri ön plandadır. Hastalığın önlenmesinde alınabilecek en iyi tedbir, yemlemenin kontrolüdür. 'Geçiş dönemi' olarak adlandırılan doğum öncesi 2 hafta ile doğum sonrası 4 hafta arasında konsantre yem / kaba yem oranı artırılmamalı; kaba lif oranı % 18-20 dolaylarında olmalıdır (Aksoy, 2014; Rosenberger, 1970; Van Winden ve ark., 2003). Bununla birlikte profilakside henüz etkili bir önlem geliştirilememiştir. Tedavide, konservatif olarak ilk kez 1956 yılında Begg ve Whiteford tarafından geliştirilen yuvarlama yöntemi uygulanmaya başlanmıştır. Yuvarlamada hayvan sağ tarafına yatırılarak, ön ve arka ayaklar bağlanır. Daha sonra yavaşça sağdan sola, soldan sağa çevrilerek sol tarafından ayağa kaldırılır. Bu yöntemde; abomasum yerine yerleşmekte, ancak olguların % 80'inde kısa süre içinde nüksler görülmektedir. Bu nedenle, günümüzde artık pek tercih edilmemektedir. Operatif tedavide ise açık ya da kapalı (perkutan) teknikler kullanılmaktadır (Rosenberger, 1990). Bütün tedavi yöntemlerinde temel amaç olarak; içindeki gazın boşaltılması sonrası abomasumun normal anatomik pozisyonuna getirilmesi ve nükslerin önlenmesi için, organın ventral karın duvarına daimi şekilde tesbiti yer almaktadır. Literatürde, abomasumun fikzasyonu için, laparotomi eşliğinde ya abomasopeksi (ventral laparotomi ile abomasopeksi, endoskopi eşliğinde abomasopeksi, sağ paramedian abomasopeksi, sol paramedian abomasopeksi, sol paralumbar abomasopeksi) ya da omentopeksi (sağ taraflı laparotomi ile caudo ventral omentopeksi/Hannover metodu, sol taraflı laparotomi ile ventral

omentopeksi/Utrecht metodu) önerilmektedir (Aksoy ve ark., 1989; Popdecian ve Popdecian, 2001). Yukarıda bildirilen yöntemlere ek olarak; laparotomi yapılmaksızın abomasumun fikzasyonu esasına dayanan perkutan abomasopeksi (Grymer-Sterner) yöntemi geliştirilmiştir (Grymer ve Sterner, 1982). Yöntem, ilk defa 1982 yılında Amerika'da Grymer ve Sterner adlarında iki Veteriner Hekim tarafından uygulanmış olup, literatürde Grymer-Sterner, perkutan paramedian abomasopeksi, perkutan abomasopeksi, toggle pin fikzasyon, Grymer-Sterner toggle dikiş yöntemi, toggle dikişi olarak da adlandırılmaktadır (Grymer ve Sterner, 1982; Popdecian ve Popdecian, 2001). Operasyon yöntemlerinin pahalı olması yanında uzmanlık gerektirdiği dikkate alındığında abomasum deplasmanı hastalıklarının oluşmadan önlenmesi konusu çok daha önem kazanmaktadır.

Zeolit, ilk defa 1756 yılında İsveçli bilim adamı Frederich Cronstedt tarafından bulunmuştur. Zeolit minerallerinin en önemli özelliği sıvı ve gaz moleküllerinin, bünyesindeki boşluklara kolayca alabilmesidir. Bu nedenle, birçok gazları, petro kimyasalları, ağır metalleri, düşük seviyeli radyo aktif elementleri ve çeşitli solusyonları emme ve çekme kapasitesine sahiptir. Gübrelerin kötü kokusunun giderilmesinde, asit volkanik toprakların pH'sının yükseltilmesinde kullanılmaktadır. Yemlerine zeolit ilave edilen tavuk, domuz ve geviş getiren hayvanların, normal yemlerle beslenene oranla, sağlıkları bozulmaksızın ağırlıklarının arttığı belirlenmiştir (Altan ve ark., 1998; Balevi ve ark., 1998). Zeolitin ruminant beslenmesinde yararlı etkisi Na, Mg, K, Ca gibi elementleri içeren bir madde olması yanında azotlu bileşiklerin sindirimi esnasında oluşan fazla amonyağı absorbe ederek daha sonra kontrollü biçimde salıvermesiyle rumendeki mikroorganizmaların, devamlı ve daha kontrollü bir biçimde protein sentezlemesini sağlamasıyla olmaktadır (Demirel, 2010). Türkiye, doğal zeolit kaynakları bakımından zengin bir ülkedir. Ülkemizde mevcut zeolit rezervlerinin 45.8 milyar ton gibi büyük hacimlerde olduğu tespit edilmiştir (Altan ve ark., 1998). Uygulama alanları itibariyle birçok sektörü ilgilendiren zeolitler, gerek bilimsel ve gerekse ticari uygulamalar açısından yer bilimlery, kimya, fizik, ziraat, hayvancılık ve tıbbın ilgi alanına girmiş bulunmaktadır. Molekül yapılarında bulunan boşluklar ve elektrik yüklerinden dolayı absorban özelliği taşıyan zeolitin yüksek bir amonyak absorpsiyon kapasitesine sahip olduğu bilinmekte; nem emici özelliğinden dolayı gübrelerde depolama sırasında oluşan pişme ve sertleşmeyi önlemektedir (Altan ve ark., 1998; Balevi ve ark., 1998; Demirel, 2010). Yapılan bir çalışmada gebeliğin son döneminde olan süt ineklerinin günlük rasyonlarına zeolit ilavesinin, hipokalsemi oluşum riskini belirgin derecede azalttığı tespit edilmiştir (Hansen ve

Jorgensen, 2001). Hipokalsemi abomasum düz kaslarında nöromuskuler ileti bozukluğuna bağlı hipomotilite şekillenmekte ve bu durum deplasman oluşum riskini artırmaktadır. Abomasumda gaz birikimi ve motilite azalması sonucunda organ yer değiştirmektedir. Zeolitin gaz emici ve iştah artırıcı, ayrıca hipokalsemiyi önleyici etkisi göz önüne alındığında, bu mineralin söz konusu hastalığın profilaksisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada; sığırlarda yeme katılan zeolit mineralinin hematolojik, serum biyokimyasal, rumen parametrelerini değerlendirmek suretiyle, saha koşullarında abomasum deplasmanı insidansına etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Çalışma; 2 aşamada yapıldı.

1. Aşama: Sığırlarda yeme katılan zeolit mineralinin hematolojik, serum biyokimyasal

parametreler ve rumen metabolitleri üzerine etkisinin araştırılması,

2. Aşama: Zeolit'in sahada uygulanarak, sığırlarda abomasum deplasmanı insidansına etkisinin incelenmesi.

Bu plana uygun olarak; 3-8 yaşlar arasında, prepartum 3 ay ile postpartum 5 aylık dönemde bulunan 20 adet (10 adet Kontrol-1 ve 10 adet Deneme-1) Holştayn süt sığırında, 3 ay süreyle Zeolit minerali (Rotamin, Rota Madencilik, Gördes, Manisa) % 2.5 oranında yeme katıldı (Deneme-1 grubu). Rasyonlar hazırlanırken hayvanların ihtiyaçları NRC 2001'e göre hesaplanmıştır. Rasyonların bileşimi ve içeriği Tablo 1'de verilmiştir. Süt sığırlarının 10 günde bir kez olmak üzere, rutin klinik muayeneleri (nabız, solunum, vücut sıcaklığı, rumen hareketleri, iştah, ping sesi kontrolü ve karın duvarının inspeksiyonu) yapıldı. Her iki grupta; deneme öncesi ve deneme sonrası 10 günde bir kez olmak üzere, kan örnekleri V. jugularis'ten ve rumen sıvıları ise sonda aracılığıyla rumenden alındı.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan süt sığırı yemlerin bileşimi ve besin madde içerikleri.

Yem Maddeleri	Kontrol (%)	Zeolit Grubu
Buğday Samanı	24.04	20.69
Yonca Kuru Otu	26.19	26.19
Arpa	10.48	10.48
Buğday	4.19	4.19
Mısır	13.10	13.62
Pamuk Tohumu Küspesi	5.24	5.34
Soya Fasulyesi küspesi	10.48	10.74
Buğday Kepeği	5.24	5.24
Kireç Taşı	0.52	0.52
Tuz	0.31	0.31
Mineral-vitamin premix	0.21	0.21
Zeolit	---	2.50
Besin Madde içeriği	%	%
Kuru Madde (KM)	90.73	90.88
Ham Protein (% KM)	18.15	18.15
* Metabolik Enerji (Mcal/kg KM)	2.35	2.34
* Net Enerji Laktasyon (Mcal/kg KM)	1.47	1.46
Kalsiyum (% KM)	0.74	0.73
Fosfor (% KM)	0.37	0.37
Nötral Deterjan Fiber	38.43	35.99
Asit Deterjan Fiber (% KM)	24.82	23.17

*Hesaplanan.

Hematolojik parametreler (hematokrit, hemoglobin, eritrosit ve lökosit sayıları) Ca-610 Model (Stockholm Sweden) otomatik kan sayım cihazında tespit edildi. Kan serumunda ise; AST, ALT, GGT, glukoz, total bilirubin, kolesterol, üre, kreatinin, Ca, Mg, P, Na, K, Cl, total protein, albumin ve amonyak olmak üzere toplam 17 parametrenin analizleri Cobas Integra 800 (Roche) oto-analizörü ile ölçüldü. Serum NEFA (esterleşmemiş uçucu yağ asidi) ise, NEFA-C ticari kitleri kullanılarak spektrofotometrede enzimatik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. 20 sığırdan (10 adet Kontrol-1 ve 10 adet Deneme-1) alınan 200 adet rumen sıvısı

örneğinde, propiyonik asit, asetik asit ve bütirik asit analizleri gaz kromatografi cihazında kapiller kolon kullanılarak yapıldı. Uçucu yağ asidi (asetik, bütirik ve propiyonik asit) tayini için iki paralel 10 ml rumen sıvısı 4000 devirde 15 dk santrifüje edilerek kaba partiküllerin dibe çökmesi sağlandıktan sonra, iki paralel olan rumen sıvılarının üst kısımlarından 5'er ml alınarak birleştirildi ve üzerlerine 0.5 ml formik asit, 1.5 ml metafosforik asit eklenerek tekrar 4000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Sıvının üst kısmından 3'er ml'lik iki paralel tüpe aktararak analizleri yapılmak üzere derin dondurucuda -20 °C'de saklandı. Rumen pH'sı, en geç bir saat içinde

pH metre ile tespit edildi. Rumen amonyak miktarı ise, ticari kitler (Cobas Integra, Roche, Germany) kullanılarak tayin edildi.

Çalışmanın ikinci aşamasında; Zeolit sığırların yemlerine katıldı. Uygulama, sahada her birinde sırasıyla 120, 45 ve 15 hayvan bulunan üç süt sığırcılığı işletmesinde toplam 180 sığır üzerinde 8 ay boyunca sürdü ve 2 grup (Kontrol-2 ve Deneme-2) olarak yapıldı. 60 hayvanın (Kontrol-2 Grubu) yemine zeolit katılmazken, 120 hayvanın (Deneme-2 Grubu) yemine zeolit katıldı. Her iki gruptaki sığırlar, abomasum deplasmanı yönünden 8 ay boyunca klinik bulgu açısından izlendi.

İstatistiksel analizler; SPSS paket programında GLM (General Linear Model) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Çalışmanın birinci aşamasında, süt sığırlarında yeme katılan zeolit mineralinin hematolojik parametreler (eritrosit, lökosit, hematokrit ve hemoglobin) üzerine etkisi Tablo 2'de, serum

biyokimyasal parametreler (glukoz, üre, kreatinin, total protein, albumin, kolesterol, AST, ALT, GGT, total bilirubin, Ca, P, Mg, Na, K, Cl, NEFA, amonyak) üzerine etkisi Tablo 3 'de verilmiştir. Tablo 2'deki hematolojik değerlerde gruplar arasında istatistik açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Tablo 3'deki laboratuvar bulguları irdelendiğinde, rasyona zeolit katılan Deneme-1 Grubunda kolesterol ve fosfor düzeylerinin Kontrol-1 Grubuna göre daha düşük ($P<0.05$), kalsiyum düzeyinin ise daha yüksek ($P<0.05$) olduğu, diğer serum parametrelerinde ise istatistik önemde bir değişiklik bulunmadığı görülmektedir. Yeme katılan zeolit mineralinin rumen metabolitleri (asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit, amonyak, klor ve pH) üzerine etkisi, Tablo 4'te gösterilmiştir. Buna göre, zeolit mineralinin yeme katıldığı grupta (Deneme-1) rumen sıvısı amonyak düzeyi, kontrol hayvanlarına göre (Kontrol-1) istatistik olarak düşük ($P<0.05$) bulunmuştur. Zeolit mineralinin diğer rumen parametreleri üzerinde istatistik önemde etkisi bulunmamıştır.

Tablo 2. Rasyona zeolit ilavesinin süt sığırlarında hematolojik parametreler üzerine etkisi NS: Önemsiz.

	Gruplar	HCT (%)	Hb (g/dl)	RBC (m/mm ³)	WBC (m/mm ³)
Den.Ön.	Kontrol-1	28,19±0,82	9,37±0,23	6,34±0,28	7,41±0,31
	Deneme-1	29,79±0,82	9,60±0,23	6,49±0,28	7,64±0,31
10.gün	Kontrol-1	29,49±0,68	9,67±0,24	6,58±0,18	7,51±0,31
	Deneme-1	29,61±0,68	9,63±0,24	6,75±0,18	7,62±0,31
20.gün	Kontrol-1	29,14±0,94	9,62±0,22	6,56±0,19	7,73±0,32
	Deneme-1	28,85±0,94	9,63±0,22	6,26±0,19	7,65±0,32
30.gün	Kontrol-1	29,10±0,96	9,59±0,18	6,52±0,24	7,78±0,36
	Deneme-1	28,35±0,96	9,70±0,18	6,33±0,24	7,70±0,36
40.gün	Kontrol-1	29,09±1,01	9,61±0,18	6,56±0,19	7,67±0,33
	Deneme-1	29,90±1,01	9,75±0,18	6,58±0,19	7,64±0,33
50.gün	Kontrol-1	29,80±1,00	9,55±0,19	6,41±0,33	7,60±0,40
	Deneme-1	30,18±1,00	9,74±0,19	6,55±0,33	7,61±0,40
60.gün	Kontrol-1	28,77±0,89	9,65±0,14	6,69±0,26	7,56±0,34
	Deneme-1	29,98±0,89	9,66±0,14	6,51±0,26	7,41±0,34
70.gün	Kontrol-1	28,30±1,10	9,46±0,12	6,65±0,26	7,54±0,40
	Deneme-1	30,32±1,10	9,66±0,12	6,66±0,26	7,60±0,40
80.gün	Kontrol-1	29,10±0,96	9,53±0,11	6,61±0,22	7,40±0,33
	Deneme-1	31,30±0,96	9,72±0,11	6,44±0,22	7,47±0,33
90.gün	Kontrol-1	30,64±0,89	9,45±0,13	6,61±0,23	7,52±0,37
	Deneme-1	31,09±0,89	9,62±0,13	6,65±0,23	7,57±0,37
Total	Kontrol-1	29,16±0,66	9,55±0,10	6,55±0,09	7,57±0,13
	Deneme-1	29,94±0,66	9,67±0,10	6,52±0,09	7,59±0,13
P		NS	NS	NS	NS

NS: Önemsiz. *: $P<0.05$.

Çalışmanın ikinci aşamasında saha şartlarında yemlerine zeolit katılmayan 60 sığırdaki (Kontrol-2 Grubu), 2 hayvanda sol taraflı abomasum deplasmanı olgusu saptanırken (% 3.3), zeolit katılan 120 sığırdaki (Deneme-2 Grubu) ise abomasum deplasmanı olgusuyla karşılaşılmadı. Gerek birinci

aşamada, gerekse ikinci aşamada yemlerine zeolit katılan sığırlarda rumen hareketlerinin sayısının % 10-30 oranında arttığı dikkati çekti. Hayvan sahipleriyle yapılan görüşmelerde de zeolit mineralinin hayvanların iştahını bariz olarak artırdığı bilgisine ulaşıldı.

Tablo 3. Rasyona zeolit ilavesinin süt sığırlarında bazı serum biyokimyasal parametreleri üzerine etkisi.

	Gruplar	CRE (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	BIL-T (mg/dL)
Den.Ön.	Kontrol-1	1,40±0,09	89,00±5,17	24,40±2,83	25,10±1,81	0,50±0,02
	Deneme-1	1,38±0,09	88,40±5,17	26,00±2,83	25,80±1,81	0,44±0,02
10.gün	Kontrol-1	1,39±0,06	92,40±4,01	25,10±3,16	25,60±1,60	0,46±0,02
	Deneme-1	1,45±0,06	87,10±4,01	26,60±3,16	25,50±1,60	0,44±0,02
20.gün	Kontrol-1	1,45±0,05	85,90±5,58	25,20±3,60	25,60±1,66	0,44±0,02
	Deneme-1	1,48±0,05	91,10±5,58	25,40±3,60	25,70±1,66	0,47±0,02
30.gün	Kontrol-1	1,49±0,08	93,30±3,99	26,20±4,40	25,80±1,98	0,49±0,03
	Deneme-1	1,40±0,08	93,40±3,99	26,70±4,40	25,60±1,98	0,50±0,03
40.gün	Kontrol-1	1,38±0,07	89,90±3,25	26,50±5,01	26,00±1,35	0,48±0,04
	Deneme-1	1,48±0,07	89,80±3,25	25,10±5,01	25,60±1,35	0,47±0,04
50.gün	Kontrol-1	1,47±0,07	89,30±4,39	24,60±3,61	24,90±1,98	0,47±0,01
	Deneme-1	1,44±0,07	92,40±4,39	25,30±3,61	25,20±1,98	0,45±0,01
60.gün	Kontrol-1	1,45±0,06	92,10±5,84	26,00±3,25	25,50±1,91	0,44±0,02
	Deneme-1	1,44±0,06	89,70±5,84	25,50±3,25	25,40±1,91	0,48±0,02
70.gün	Kontrol-1	1,39±0,10	90,00±4,04	25,50±3,22	25,40±1,67	0,48±0,05
	Deneme-1	1,38±0,10	91,70±4,04	24,70±3,22	25,20±1,67	0,49±0,05
80.gün	Kontrol-1	1,40±0,09	91,30±3,14	26,30±3,09	25,90±1,90	0,48±0,04
	Deneme-1	1,43±0,09	92,90±3,14	26,50±3,09	25,60±1,90	0,46±0,04
90.gün	Kontrol-1	1,41±0,08	85,40±3,51	25,90±3,39	25,70±1,51	0,48±0,03
	Deneme-1	1,41±0,08	91,50±3,51	29,20±3,39	25,40±1,51	0,49±0,03
Total	Kontrol-1	1,42±0,03	89,86±1,75	25,57±1,38	25,55±0,77	0,47±0,01
	Deneme-1	1,43±0,03	90,80±1,75	26,10±1,38	25,50±0,77	0,47±0,01
P		NS	NS	NS	NS	NS

NS: Önemsiz, *: P<0.05.

Tablo 3. Rasyona zeolit ilavesinin süt sığırlarında bazı serum biyokimyasal parametreleri üzerine etkisi (Devamı).

	Gruplar	Glukoz mg/dl	Ure mg/dl	T Prot. g/dl	ALB g/dl	Kol mg/dl	NEFA mmol/l	NH3 µmol/L
Den.Ön.	Kontrol-1	53,10±3,39	15,80±2,25	7,85±0,38	3,67±0,14	133,80±10,52	0,62±0,05	23,81±1,67
	Deneme-1	50,40±3,39	16,10±2,25	7,99±0,38	3,38±0,14	133,10±10,52	0,62±0,05	24,05±1,67
10.gün	Kontrol-1	51,30±3,25	15,50±1,98	7,95±0,26	3,47±0,11	134,20±6,33	0,63±0,06	23,92±1,54
	Deneme-1	50,50±3,25	16,20±1,98	7,95±0,26	3,63±0,11	125,10±6,33	0,63±0,06	24,02±1,54
20.gün	Kontrol-1	52,70±2,95	15,60±1,88	7,71±0,26	3,52±0,11	133,90±7,25	0,62±0,05	24,38±1,27
	Deneme-1	51,50±2,95	16,40±1,88	7,66±0,26	3,83±0,11	126,10±7,25	0,61±0,05	23,26±1,27
30.gün	Kontrol-1	51,90±3,39	15,60±1,67	7,94±0,46	3,77±0,22	133,40±4,91	0,64±0,04	23,77±1,80
	Deneme-1	50,10±3,39	15,90±1,67	7,91±0,46	3,71±0,22	126,30±4,91	0,63±0,04	23,66±1,80
40.gün	Kontrol-1	49,30±3,50	15,80±1,50	7,86±0,44	3,82±0,12	131,40±4,34	0,63±0,05	23,98±1,73
	Deneme-1	49,10±3,50	15,50±1,50	7,46±0,44	3,89±0,12	122,70±4,34	0,63±0,05	22,82±1,73
50.gün	Kontrol-1	50,70±4,56	15,90±1,61	7,81±0,39	3,77±0,09	130,30±6,96	0,65±0,03	23,35±1,11
	Deneme-1	49,90±4,56	16,20±1,61	7,56±0,39	3,81±0,09	124,80±6,96	0,63±0,03	23,70±1,11
60.gün	Kontrol-1	50,40±4,26	16,10±1,57	7,72±0,26	3,70±0,13	134,60±7,44	0,65±0,03	23,90±1,18
	Deneme-1	50,50±4,26	16,20±1,57	7,93±0,26	3,88±0,13	125,30±7,44	0,64±0,03	23,18±1,18
70.gün	Kontrol-1	51,80±3,27	15,80±1,48	7,56±0,24	3,64±0,14	132,90±5,42	0,61±0,03	23,59±1,58
	Deneme-1	50,90±3,27	15,90±1,48	7,81±0,24	3,80±0,14	127,30±5,42	0,62±0,03	23,89±1,58
80.gün	Kontrol-1	49,10±3,08	16,30±0,92	7,76±0,45	3,84±0,13	134,20±4,63	0,64±0,04	24,04±1,13
	Deneme-1	52,90±3,08	15,90±0,92	7,74±0,45	3,74±0,13	125,50±4,63	0,63±0,04	23,53±1,13
90.gün	Kontrol-1	50,40±3,59	16,10±1,01	7,69±0,35	3,64±0,17	135,60±5,77	0,65±0,03	24,10±0,69
	Deneme-1	49,60±3,59	15,80±1,01	7,69±0,35	3,78±0,17	124,70±5,77	0,64±0,03	23,38±0,69
Total	Kontrol-1	51,07±0,98	15,85±0,29	7,79±0,12	3,68±0,04	133,43±2,59	0,63±0,01	23,88±0,41
	Deneme-1	50,54±0,98	16,01±0,29	7,77±0,12	3,75±0,04	126,09±2,59	0,63±0,01	23,55±0,41
P		NS	NS	NS	NS	*	NS	NS

NS: Önemsiz. *: P<0.05.

Tablo 3. Rasyona zeolit ilavesinin süt sığırlarında bazı serum biyokimyasal parametreleri üzerine etkisi (Devamı).

Gruplar		Ca mg/dL	P mg/dL	Mg mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L
Den.Ön.	Kontrol-1	9,83±0,20	6,48±0,45	2,32±0,07	144,90±3,56	4,60±0,17	96,00±0,91
	Deneme-1	9,87±0,20	6,32±0,45	2,46±0,07	142,50±3,56	4,58±0,17	97,10±0,91
10.gün	Kontrol-1	9,89±0,14	6,89±0,26	2,35±0,07	143,10±2,97	4,60±0,17	95,40±1,22
	Deneme-1	9,92±0,14	6,63±0,26	2,46±0,07	142,10±2,97	4,70±0,17	97,70±1,22
20.gün	Kontrol-1	9,73±0,17	6,90±0,31	2,60±0,08	144,90±4,09	4,77±0,13	94,90±1,29
	Deneme-1	9,92±0,17	6,65±0,31	2,56±0,08	142,50±4,09	4,80±0,13	96,20±1,29
30.gün	Kontrol-1	9,63±0,24	6,86±0,18	2,38±0,07	142,30±3,76	4,61±0,16	97,40±1,28
	Deneme-1	9,82±0,24	6,54±0,18	2,37±0,07	141,00±3,76	4,79±0,16	96,30±1,28
40.gün	Kontrol-1	9,86±0,20	6,91±0,23	2,55±0,06	140,50±4,02	4,68±0,13	97,50±1,46
	Deneme-1	10,02±0,20	6,69±0,23	2,55±0,06	142,50±4,02	4,70±0,13	96,70±1,46
50.gün	Kontrol-1	9,88±0,16	6,82±0,31	2,36±0,07	141,80±3,61	4,61±0,13	98,60±1,15
	Deneme-1	10,17±0,16	6,48±0,31	2,49±0,07	141,40±3,61	4,70±0,13	96,10±1,15
60.gün	Kontrol-1	9,94±0,23	6,91±0,29	2,50±0,09	140,90±3,60	4,80±0,14	97,90±1,49
	Deneme-1	10,04±0,23	6,72±0,29	2,49±0,09	142,40±3,60	4,86±0,14	95,40±1,49
70.gün	Kontrol-1	9,68±0,17	6,95±0,29	2,47±0,05	140,50±3,00	4,62±0,15	96,50±1,37
	Deneme-1	10,01±0,17	6,63±0,29	2,53±0,05	141,60±3,00	4,83±0,15	98,30±1,37
80.gün	Kontrol-1	9,63±0,19	6,87±0,21	2,49±0,04	140,80±3,14	4,69±0,12	96,80±1,22
	Deneme-1	9,97±0,19	6,61±0,21	2,55±0,04	141,20±3,14	4,83±0,12	96,70±1,22
90.gün	Kontrol-1	9,58±0,19	6,91±0,20	2,53±0,02	142,40±3,80	4,77±0,18	96,80±1,27
	Deneme-1	9,78±0,19	6,53±0,20	2,45±0,02	141,00±3,80	4,81±0,18	95,80±1,27
Total	Kontrol-1	9,77±0,06	6,85±0,09	2,46±0,02	142,21±1,41	4,68±0,03	96,78±0,36
	Deneme-1	9,95±0,06	6,58±0,09	2,49±0,02	141,82±1,41	4,76±0,03	96,63±0,36
P		*	*	NS	NS	NS	NS

NS: Önemsiz. *: P<0.05.

Tablo 4. Rasyona zeolit ilavesinin süt sığırlarında bazı rumen parametreleri üzerine etkisi.

Gruplar		Asetik mol/100 mol	Propiyonik mol/100 mol	Bütirik mol/100 mol	Asetik/ Prop	Amonyak mmol/l	Klor mmol/l	pH
Den. Ön.	Kontrol-1	63,76±1,69	20,92±1,46	11,77±0,45	3,25±0,28	10,96±0,65	20,44±1,99	6,43±0,11
	Deneme-1	64,29±1,69	20,21±1,46	11,71±0,45	3,32±0,28	10,80±0,65	20,30±1,99	6,42±0,11
10. gün	Kontrol-1	62,21±1,68	22,02±1,52	12,16±0,44	2,98±0,29	11,50±0,62	20,95±1,48	6,38±0,15
	Deneme-1	63,65±1,68	20,93±1,52	11,73±0,44	3,25±0,29	10,83±0,62	21,42±1,48	6,37±0,15
20. gün	Kontrol-1	64,38±1,55	20,22±1,33	12,04±0,31	3,38±0,27	10,11±0,52	21,89±1,43	6,53±0,13
	Deneme-1	63,61±1,55	20,63±1,33	12,25±0,31	3,20±0,27	9,22±0,52	21,16±1,43	6,37±0,13
30. gün	Kontrol-1	62,51±1,56	21,94±1,12	11,64±0,40	2,95±0,24	10,35±0,48	20,01±1,67	6,44±0,11
	Deneme-1	63,50±1,56	20,36±1,12	12,13±0,40	3,24±0,24	9,46±0,48	23,34±1,67	6,42±0,11
40. gün	Kontrol-1	62,71±1,43	21,67±0,92	11,66±0,40	2,96±0,19	10,95±0,56	21,14±1,41	6,43±0,11
	Deneme-1	63,45±1,43	20,71±0,92	11,97±0,40	3,14±0,19	9,48±0,56	20,91±1,41	6,43±0,11
50. gün	Kontrol-1	62,05±1,56	22,72±1,17	11,42±0,35	2,82±0,20	11,23±0,49	20,10±1,13	6,48±0,12
	Deneme-1	62,82±1,56	22,45±1,17	11,63±0,35	2,89±0,20	10,28±0,49	19,80±1,13	6,29±0,12
60. gün	Kontrol-1	61,34±1,40	22,82±0,99	12,14±0,33	2,78±0,18	10,80±0,52	19,30±0,80	6,47±0,12
	Deneme-1	64,09±1,40	21,12±0,99	10,91±0,33	3,08±0,18	9,83±0,52	21,98±0,80	6,42±0,12
70. gün	Kontrol-1	61,58±1,15	22,16±0,87	12,45±0,31	2,82±0,14	11,19±0,51	21,77±1,27	6,50±0,11
	Deneme-1	62,96±1,15	21,15±0,87	12,05±0,31	3,04±0,14	10,92±0,51	20,10±1,27	6,35±0,11
80. gün	Kontrol-1	62,36±1,28	22,58±1,09	11,28±0,37	2,83±0,19	10,92±0,50	19,38±1,36	6,52±0,10
	Deneme-1	60,97±1,28	22,81±1,09	12,07±0,37	2,76±0,19	10,15±0,50	20,22±1,36	6,49±0,10
90. gün	Kontrol-1	62,57±1,38	22,26±1,19	11,17±0,40	2,92±0,23	10,58±0,51	19,25±0,87	6,56±0,11
	Deneme-1	63,23±1,38	21,88±1,19	11,68±0,40	3,01±0,23	10,03±0,51	19,82±0,87	6,40±0,11
Toplam	Kontrol-1	62,55±0,37	21,93±0,28	11,77±0,13	2,97±0,05	10,86±0,14	20,42±0,40	6,47±0,03
	Deneme-1	63,26±0,37	21,23±0,28	11,81±0,13	3,09±0,05	10,10±0,14	20,91±0,40	6,40±0,03
P		NS	NS	NS	*	NS	NS	NS

NS: Önemsiz, *: P<0.05.

Tartışma ve Sonuç

Beslenme faktörleri sol taraflı abomasum deplasmanlarının etiopatogenesinde önemli bir role sahiptir (Rosenberger,1970; Van Winden ve ark., 2003). Yüksek konsantr ve düşük kaba yem oranlı

beslenme, abomasum motilitesinde azalmaya ve bu organ içerisinde gaz birikimine neden olmaktadır. Günümüzde hayvan katkı yemi olarak da kullanılmaya başlayan zeolit önemli bir özelliği, sıvı ve gaz moleküllerini, bünyesindeki boşluklara kolayca alabilmesidir (Demirel ve ark. 2010). Bu özelliğiyle

zeolit abomasum deplasmanlarının önlenmesinde etkili olabilir. Bu konuda yerli ve yabancı her hangi bir çalışma bulunmamaktadır. Literatürde zeolitin metabolik profil üzerinde zararlı bir etkisinin olup olmadığı yönünde bazı çalışmalar (Filya ve ark. 1999; Thilising - Hansen ve ark., 2002; Ural ve Erdoğan , 2016) bulunmakla birlikte; bugüne kadar, önemli rezerv potansiyeline sahip olan ülkemizde zeolit üzerine yapılan çalışmalar çok yetersizdir. Çalışmamızda yeme katılan zeolitin etkisi, hem hematolojik ve biyokimyasal parametreler düzeyinde hem de abomasum deplasmanı profilaksisi yönünden araştırılmıştır. Süt sığırlarında rasyona zeolit ilavesinin hematolojik ve serum biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini yorumlayan çeşitli araştırmalarda zeolitin söz konusu parametreler üzerine önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Ural, 2016). Tablo 2 ve 3 incelendiğinde yaptığımız çalışmada da benzer sonuçlara ulaşıldı. Ölçümü gerçekleştirilen hematolojik (Tablo 2) ve biyokimyasal (Tablo 3) kan parametreleri, genel olarak sığırlar için bildirilen referans değerleri aralıklarında bulunmuştur (Rosenberger, 1990). Sadece, rasyona zeolit katılan Deneme-1 Grubunda kolesterol ve fosfor düzeylerinin Kontrol-1 Grubuna göre daha düşük ($P<0.05$), kalsiyum düzeyinin ise daha yüksek ($P<0.05$) olduğu saptandı. Kolesterol düzeyindeki azalma Deneme-1 grubundaki doğum yapan hayvanlardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim literatürde serum kolesterol değerlerinin doğumda en düşük seviyelere indiği bildirilmektedir (Yıldız, 2005). Zeolitin safra asidi tuzlarını sindirim kanalının yüzeyinde adsorbe ettiği, böylece kan serumundaki kolesterol düzeyini düşürdüğü de belirtilmektedir (Prvulovic ve ark., (2007). Literatürde zeolit takviyesinin, plazma inorganik fosfatı baskıladığı, plazma kalsiyum seviyelerini ise önemli ölçüde artırdığı belirtilmektedir (Hansen ve Jorgensen, 2001; Thilising ve ark., 2002) Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların (Tablo 3) literatür verilerine benzediği görülmektedir. Yapılan çalışmalarda süt ineklerinin günlük rasyonlarına zeolit ilavesinin, hipokalsemi oluşum riskini belirgin derecede azalttığı tesbit edilmiştir (Hansen ve Jorgensen, 2001; Thilising ve ark., 2002). Serum kalsiyum miktarındaki artışlarda zeolitin ihtiva ettiği kalsiyumun da rolü bulunabilir (Demirel, 2010). Özellikle doğumdan hemen önce rasyondaki kalsiyumun zeolit tarafından bağlanmasıyla doğumdan sonra ineklerde plazma kalsiyumu artmakta ve hipokalsemi riski azalmaktadır. Hipokalsemi, abomasum düz kaslarında nöromusküler ileti bozukluğuna bağlı hipomotilite şekillenmekte ve bu durum abomasum deplasmanı riskini artırmaktadır (Goff ve Horst, 1997; Rosenberger, 1970). Bu nedenlerle yeme zeolit katılmasının kan Ca düzeyini yükselterek abomasumda olası hipomotilite sebepli deplasman vakalarını önleyici olacağı düşünülmektedir.

Alumino-silikatların bir etkisi de fosforun kullanılabilirliğini azaltmasıdır. Böylece zeolit tarafından adsorblanan fosforun kandaki düzeyi azalmaktadır (Roland ve ark., 1990). Fosfor düzeyindeki azalma barsaklardaki muhtemel bir emilme problemine bağlı olabileceği gibi, dolaşımdaki paratiroid hormonun yüksek düzeyde olmasıyla da ilişkili olabilir. Çünkü bu hormonun yüksek düzeyleri fosforun böbreklerden atılımında artışa neden olmaktadır (Thilising ve ark., 2002). Çalışmamızda zeolit mineralinin, rumen sıvısında amonyak miktarını düşürdüğü tespit edildi (Tablo 4). Bu sonuç, çeşitli araştırmacıların (Çolpan ve ark., 1995; Filya ve ark.,1999) bulgularıyla uyum içindedir. Bu sonuçlar, yeme katılan zeolitin sığırların rumeninde oluşan amonyağın fazlasını absorbe edebilme özelliği sayesinde hayvanlarda olası amonyak toksisitesine karşı koruyucu bir etkisinin olabileceğini göstermektedir (Filya ve ark.,1999). Çalışmamızda asetik asit miktarında zeolit verilen grupta istatistik açıdan önemli olmamakla birlikte artış gözlenmiş; diğer rumen sıvısı parametrelerinde literatür verilerine (Filya ve ark.,1999) paralel şekilde gruplar arasında önemli farklılıklar bulunmamıştır (Tablo 4).

Yemlerine zeolit katılan 120 sığırdaki (Deneme-2) 8 aylık deneme süresince klinik olarak abomasum deplasmanına rastlanmaması yanında yemlerine zeolit katılmayan Kontrol-2 grubundaki 60 sığırın 2'sinde (% 3.3) sol taraflı abomasum deplasmanı olgusuna rastlanması zeolitin sığırlarda abomasum deplasmanı profilaksisinde kullanma potansiyeli olduğuna işaret etmektedir. Yapılan literatür taramasında ise, zeolitin abomasum deplasmanından koruyucu etkisini inceleyen literatür bilgi tespit edilemedi. Yaptığımız diğer bir çalışmada (Aksoy ve ark., 2008), zeolit mineralinin hem sağ hem de sol taraflı abomasum deplasmanlarının tedavisinde etkili olduğunu ve rumen hareketlerini önemli ölçüde artırdığını belirledik. Literatürde, bu çalışmanın dışında abomasum deplasmanlarının tedavisinde zeolit kullanımıyla ilgili başka bir yayına rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; çalışmamız kapsamında değerlendirilen parametreler açısından rasyona ilave edilen zeolitin herhangi bir yan etkisinin olmadığı; sığırlarda yeme katıldığında sol taraflı abomasum deplasmanı ve hipokalsemi oluşma riskini azalttığı, rumen hareketlerini ve iştahı artırdığı söylenebilir.

Kaynaklar

- Aksoy G, 2014: Abomasum Deplasmanı ve Torsiyonu. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 5(3), 57-60.
- Aksoy G, Biricik HS, Çamkerten I, Das A, 2008: Non-surgical treatment of abomasal displacements with zeolite in cattle. In: 25th World Association for Buiatrics, Congress, Budapest, Hungary, pp: 27.

- Aksoy G, Gül. Y, Ünsaldı S, 1989: Abomazumun sola yer değiştirdiği bir inekte sağ açlık çukurluğundan yapılan omentopeksi tedavisi ve sonrası klinik patolojik bulgular. *Türk Veteriner Hek. Derg.*, 3, 19-24.
- Altan A, Altan Ö, Alçiçek A, Nalbant M, Akbaş Y, 1998: Tavukçulukta doğal zeolit kullanımı, 1. altlığa zeolit ilavesinin etlik piliç performansı, altlık nemi ve amonyak konsantrasyonu üzerine etkileri. *Ege Üniv Ziraat Fak. Derg.*, 35, 1-3.
- Balevi T, Coşkun B, Kurtoglu V, Umucalılar D, 1998: Etlik piliç rasyonlarına katılan zeolitün büyüme performansı ile altlığın ıslaklığı azot amonyak ve fosfor düzeyi üzerine etkisi. *Vet. Bil. Derg.*, 14, 33-38.
- Çolpan İ, Yalçın S, Ergün A, Tuncer ŞD, Küçükersan K, Ünal A, Yıldız G, 1995: Zeolitün hayvan beslemede kullanılması üzerine çalışmalar. Marmara Bölgesi II. Hayvancılık Kongresi, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Kirazlıyayla, Bursa.
- Dawson LJ, Aalseth EP, Rice LE, Adams GD, 1992: Influence of fiber form in a complete mixed ration on incidence of left displacement abomasum in postpartum dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200, 1989-1992.
- Demirel DŞ, Demirel D, Doran İ, 2010: Doğal Zeolitlerin Hayvancılıkta Kullanım Olanakları. *Harran Üniv Ziraat Fak Derg*, 14(2): 13-20
- Filya İ, Karabulut A, Ak İ, Akgündüz V, 1999: Entansif kuzu besisinde zeolit kullanılması kuzuların besi performansı ile bazı kan ve rumen sıvısı metabolitleri üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*, 39-48.
- Geishauser T, Leslie K, Duffield T, 2000: Metabolic aspects in the etiology of displaced abomasum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 16, 255-265.
- Goff JP, Horst RL, 1997: Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.*, 80, 1260-1268.
- Grymer J, Sterner KE, 1982: Percutaneous fixation of left displaced abomasum, using bar suture. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 180, 1458-1461.
- Hansen TT, Jorgensen RJ, 2001: Hot Topic: Prevention of parturient paresis and subclinical hypocalcemia in dairy cows by zeolite administration in the dry period. *J. Dairy Sci.*, 84, 691-693.
- Kelton DF, Lissemore KD, Martin RE, 1998: Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81, 2502-2509.
- Popdecan O, Poddecan SH, 2001: Treatment of left abomasal displacement in dairy cattle by rolling and percutaneous paramedian abomasopexy using toggle pin fixators of cornell wood. *Slov. Vet. Res.*, 38, 327-332.
- Prvulovic D, Jovanovic-Galovic A, Stanic B, Popovic M, Grubor-Lajsic G, 2007: Effects of a clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 159-164.
- Roland DA, Rabon HW and Frost TJ, 1990: Response of commercial leghorn to sodium aluminosilicate when fed different levels and sources of available phosphorus. *Poultry Sci.*, 69, 2157-2164.
- Rosenberger G, 1970: Krankheiten des Rindes. Verlag Paul Parey. Berlin und Hamburg.
- Rosenberger G, 1990: Die klinische Untersuchung des Rindes. 3. Auflage. Verlag Paul Parey. Berlin und Hamburg.
- Thilising - Hansen T, Jorgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T, 2002: The effect of zeolite a supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis. *J. Dairy Sci.*, 85, 1855-1862.
- Van Winden SCL, Jorritsma R, Müller KE, Noordhuizen JPTM, 2003: Feed intake, milk yield, and metabolic parameters prior to left displaced abomasum in dairy cows. *J Dairy Sci.*, 86: 1465-1471.
- Ural DA, Erdoğan H, 2016: Siyah Alaca İneklerde Rasyona %3 ve % 4 Klinoptilolit Takviyesinin Aminotransferaz Enzim Düzeyleri Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniv Vet. Bil. Derg.* 11(3): 319-326
- Yıldız H, Balıkcı E, Kaygusuzoğlu E, 2005: İneklerde gebelik sürecinde ve erken postpartum döneminde önemli biokimyasal ve enzimatik parametrelerin araştırılması. *Fırat Üniv Sağ. Bil. Derg.* 19(2),137-143.
- Zadnik T, Mesaric M, Reichel P, 2001: A review of abomasal displacement- clinical and laboratory experiences at the clinic for ruminants in Ljubljana. *Slov Vet. Res.*, 38, 193-208.

**Tübitak tarafından 106O038 proje numarası ve "Sığırlarda Abomasum'un Sola Deplasmanlarının Zeolit Mineraliyle Profilaksisi ve Grymer-Sterner Yöntemiyle Sağaltımı" ismiyle desteklenmiştir.

*Yazışma Adresi: Gürbüz AKSOY

Harran Üniversitesi, Eyyübiye Kampüsü, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Şanlıurfa, Türkiye.
e mail: gaksy@harran.edu.tr

Gerze Horoz ve Tavuklarının (*Gallus domesticus*) Tunica Fibrosa Bulbi'si Üzerinde Anatomik, Histolojik ve Elektron Mikroskopik İncelemeler

Nazan GEZER İNCE¹, Burcu ONUK^{2*}, Emel ALAN³, Sedef SELVİLER SİZER², Aydın ALAN⁴, Murat KABAK²

¹İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul, Türkiye.

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

³Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.

⁴Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.

Geliş Tarihi: 26.01.2018

Kabul Tarihi: 22.03.2018

Özet: Bu çalışma Gerze horozu ve tavuğunda bulbus oculi'nin tunica fibrosa katmanının anatomik ve histolojik özelliklerinin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 4 dişi ve 4 erkek olmak üzere toplam 8 adet kanatlı kullanıldı. Orbita'dan çıkarılan toplam 16 adet bulbus oculi üzerinde makroanatomik, ışık ve elektron mikroskopik incelemeler yapıldı. Morfometrik ölçümler ile bulbus oculi'nin dikey elips bir görünüme sahip olduğu belirlendi. Işık mikroskopik incelemelerinde total olarak çıkarılan gözler %10 formol-alkol solüsyonunda tespit edildi. Rutin histolojik işlemleri takiben 4 µm kalınlığında alınan kesitlere genel yapıyı belirlemek için Crossman'ın triple boyaması uygulandı. Kan damarları içeren ve saydam olmayan sclera'nın anterior kısmında kemik plakların bulunduğu ve bu kısmın devamında sclera'yı çepeçevre hiyalin kıkırdığın desteklediği tespit edildi. Kubbe şeklinde olan cornea'nın ise damarsız ve saydam olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Bulbus oculi, Cornea, Gerze tavuk ve horozu, Sclera.*

Anatomical, Histological and Electron Microscopic Studies on Tunica Fibrosa Bulbi of Gerze Rooster and Chickens (*Gallus domesticus*)

Abstract: This study was carried out to determine the anatomical and histological features of the tunica fibrosa layer of bulbus oculi in Gerze rooster and chicken. A total of 8 animals including 4 females and 4 males were used in the study. Macroanatomic, light and electron microscopic examinations were carried out on 16 bulbus oculi taken from orbita. With morphometric measurements it was determined that the bulbus oculi has a vertical elliptical appearance. Eyes that were totally removed in light microscopic examinations were fixed in 10% formol-alcohol solution. Following routine histological procedures, Crossman's triple staining was performed to the sections taken 4 µm thickness to determine general structure. In the anterior part of the non-transparent sclera with blood vessels, bone plaques were present and sclera was supported all around by hyaline cartilage in continuation. The dome-shaped cornea was determined to be without vessel and transparent.

Keywords: *Bulbus oculi, Cornea, Gerze chicken and rooster, Sclera.*

Giriş

Kanatlılar mükemmel çözünürlükte görüntü meydana getiren gözlere sahiptir ve bu nedenle görme duyuları çok gelişmiştir (Dursun ve Türkmenoğlu, 2002). Bulbus oculi'nin diğer memeli hayvanlara göre daha büyük şekillenmesi de bundan kaynaklanmaktadır ve türler arasında farklılık gösterir (King ve McLelland, 1984; Brooke ve ark., 1999). Bulbus oculi'nin duvarı dışarıdan içeriye doğru tunica fibrosa, tunica vasculosa ve tunica interna olmak üzere 3 tabakadan meydana gelmiştir (Dursun ve Türkmenoğlu, 2002). Tunica fibrosa'yı cornea ve sclera şekillendirmektedir. Cornea kuşlarda akomodasyonun sağlanmasında rol oynar ve cornea'nın konveks ve kıvrık yapı göstermesi odaklanmanın da o oranda güçlü olduğunun

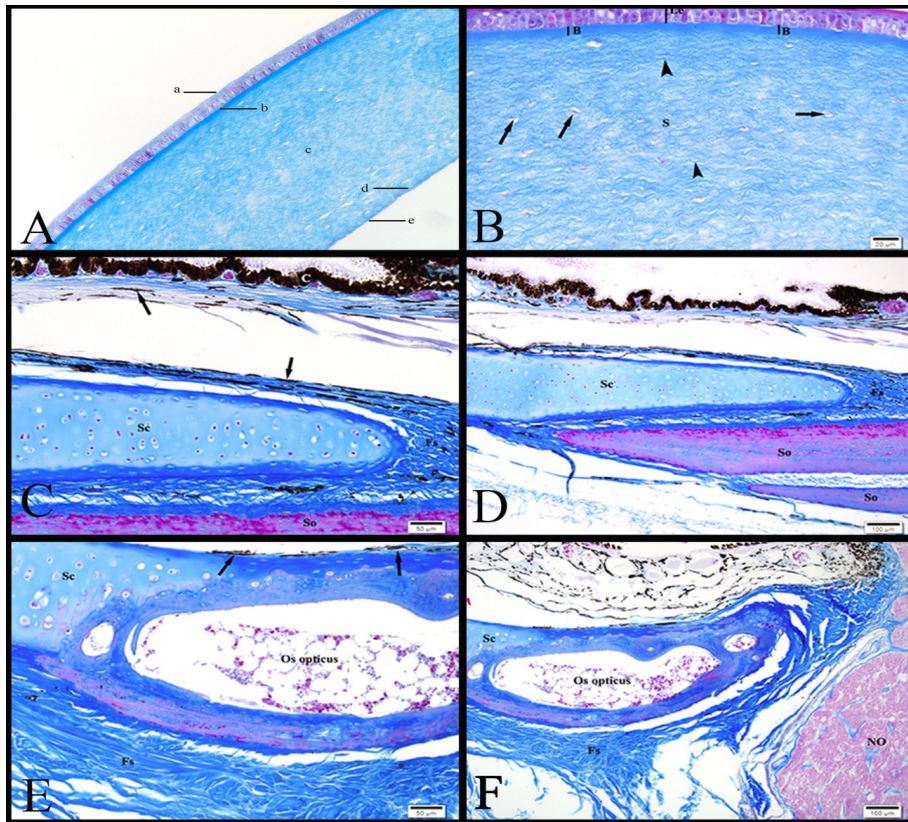
göstergesi olarak kabul edilir (Schaeffel ve Howland, 1987; Glasser ve ark., 1994). Sclera'da kanatlı hayvanlarda hiyalin kıkırdak ve kemik mevcuttur. Bu kemikler bir halka şeklinde düzenlenerek (Franz-Odendaal, 2008) annulus ossicularis sclerae adını alır (Baumell ve ark., 1993). Bu yapılar bulbus oculi'nin dış duvarını şekillendirmekte ve memeli hayvanların sahip olduğu küre şeklindeki yapıdan farklı olarak kanatlı hayvanların bulbus oculi'sine oval ya da fincan benzeri bir form kazandırmaktadır (Nelson, 1942). Genel olarak bulbus oculi diurnal kuşlarda "küre veya yassı", nokturnal kuşlarda ise "tubuler" yapıdadır (King ve McLelland, 1984). Günümüze kadar göz; tavuk (Nelson, 1942; Murphy ve ark., 1995; Shehan, 2012), kınalı keklik (Erdoğan

ve ark., 2012), Brezilya kuşları (Lima ve ark., 2009), şahin (Gültiken ve ark., 2011) gibi kanatlı türünde anatomik ve histolojik olarak incelenmiştir. Çalışma materyalini ülkemizin yerel tavuk ırklarından bir tanesi olan Gerze Tavuk ve Horozları (Anonim, 2004) oluşturmuştur. Yapılan literatür taramalarında bu tavuk ırkı gözü ile ilgili anatomik bilgiye rastlanılmamış olmasından dolayı bu çalışma planlanmış, tunica fibrosa bulbi'sinin anatomik ve histolojik özelliklerinin ortaya konulması ve tavuk ırkları arasında farklılıkların olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda daha önce yapılan çalışmalarda perfüzyon yöntemiyle tespit edilmiş olan 4 dişi ve 4 erkek olmak üzere toplam 8 adet Gerze tavuk ve horozu kullanıldı. Orbita'dan çıkarılan toplam 16 bulbus oculi'den 6 tanesi ışık mikroskobu, 4 tanesi taramalı elektron mikroskobunda (SEM), geriye kalan 6 tanesi ise makroanatomik incelemeler için kullanıldı. Morfometrik ölçümler bulbus oculi'nin axis bulbi externus ve equator bölgelerinden ve cornea'nın

ise dorsoventral-mediolateral uzunlukları değerlendirilecek şekilde Mitutoyo dijital kumpas (Model CD-15D Mitutoyo Corporation, Japan) kullanılarak alındı. Işık mikroskobik incelemeler için orbita'dan total olarak çıkarılan bulbus oculi'ler %10'luk formol-alkol tespit solüsyonunda 12 saat tespit edilmesinin ardından sırasıyla dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol solüsyonlarından geçirilerek parafinde bloklandı. Bu parafin bloklardan Leica RM 2125 rotary mikrotomu ile 4 µm kalınlığında alınan kesitlere genel yapıyı belirlemek için Crossman'ın üçlü boyama tekniği uygulandı (Crossman, 1937). Boyamanın ardından kesitler, BX51 Olympus; Tokyo, Japan marka fotoğraf ataçmanlı mikroskopta görüntüldü. Taramalı elektron mikroskop (SEM)'da incelenecek olan örnekler öncelikle 0,1 M (PH 7,4) PBS ile iki kez yıkandı ve sonrasında %2,5'lük Gluteraldehit solüsyonunda 48 saat süre ile bekletildi. Daha sonra sıralı aseton serilerinden geçirilen dokulara CPD ile kurutma işlemi uygulanarak altın ile kaplandı. Örnekler taramalı elektron mikroskop altında çeşitli büyütme oranlarında (X200 - X10000) incelendi. Nomina Anatomica Avium (1993) kullanılarak isimlendirmeler yapıldı.



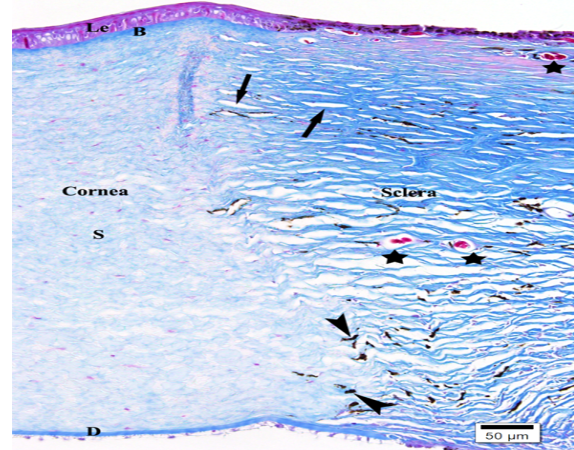
Şekil 1. Cornea (A-B) ve Sclera (C-D-E-F) katmanlarının histolojik yapısı. Çok katlı yassı epitel (A: a, B: Le), Tek katlı yassı epitel katı (A: e), Bowman membranı (A: b, B: b), Stroma (A: c, B: s), Descement membran (A: d), lamina endothelium (A: e), keratoblastlar (B: ok), kollagen iplikler (B: ok başı), scleral kıkırdak (Sc), scleral kemik (So), fibröz sclera (Fs), melanositler (C: ok, E: ok) ve choroidea (C), nervus opticus (NO)

Bulgular

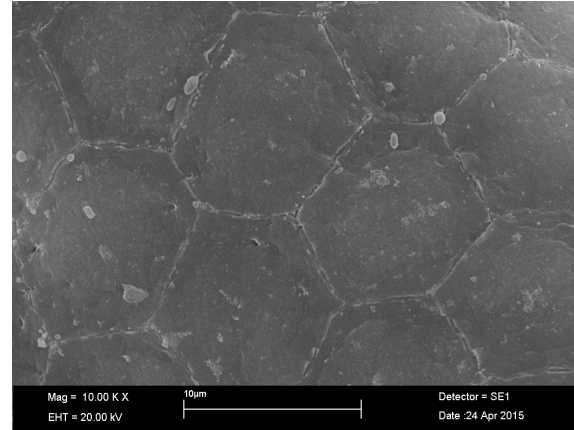
Tunica fibrosa bulbi'nin saydam olan ve ön kısmını oluşturan cornea, sclera'nın devamı olup, konveks, renksiz ve damarsızdı. Cornea'nın dorso-ventral uzunluğu dişide ortalama $9,02 \pm 0,50$ mm, erkekte $9,28 \pm 0,51$ mm; mediolateral uzunluğu ise dişide ortalama $9,05 \pm 0,63$ mm, erkekte $9,27 \pm 0,53$ mm olarak ölçüldü. Bulbus oculi'nin ekvator uzunluğu dişide ortalama $17,04 \pm 1,29$ mm, erkekte $17,43 \pm 0,35$ mm, axis bulbi externus uzunluğu ise dişide ortalama $13,87 \pm 0,88$ mm, erkekte $14,61 \pm 1,16$ mm olarak belirlendi. Bulbus oculi'nin şekli morfometrik ölçümler doğrultusunda dikey elips olarak tespit edildi.

Mikroskopik olarak dıştan içe doğru 5 katmandan oluştuğu gözlemlendi (Şekil 1A-B). Corneanın en dış katmanı (lamina epithelialis, epithelium anterius corneae) çok katlı yassı non-keratinize epitel özelliğindedir. Bazal membran üzerine oturmuş tek sıralı prizmatik hücrelerin üzerinde 2 veya 3 sıralı poligon hücreler ve en üstte de 1-2 sıralı yassı hücreler bulunmaktaydı. İkinci katman olan subepitelyal bazal membran (Bowman membranı, lamina limitans anterior), lamina epithelialis ile corneal stroma tabakası arasında kompakt, asellüler ve kollajenöz matriksden oluşmaktaydı. Cornea'nın en büyük bölümünü oluşturan corneal stroma (substantia propria corneae) tabakasında cornea yüzeyine paralel bir şekilde yerleşmiş kollajen iplik lamelleri tespit edildi. Cornea'nın periferinde daha az oranda elastik ipliklere de rastlandı. Aynı zamanda kollajen iplik lamelleri arasında corneal stroma'nın esas hücreleri olan fibroblastlar (keratoblastlar) gözlemlendi (Şekil 2). İnce, uzun ve az sitoplazmalı olan bu hücreler metakromazi gösterdikleri için kırmızı pembe renkte görülmekteydi. Corneal stroma'nın hemen altında, stroma'yı lamina endothelium katmanından ayıran sınırlayıcı bir membranın (Descemet membran, lamina limitans posterior) bulunduğu belirlendi. Gözün anterior kamarasına bakan cornea'nın kaudal yüzünü, taramalı elektron mikroskopik incelemelerde altıgen şeklinde (Şekil 3) görülen tek katlı yassı epitel hücrelerinin bir araya gelerek oluşturduğu lamina endothelium (Epithelium posterius corneae) katmanının örttüğü tespit edildi. Cornea-scleral bağlantı bölgesinde dallanan ve fenestrasyon gösteren bağ dokudan oluşan lamellerin, aralarında oldukça geniş boşluklar (Fontana yarıkları) bırakarak süngerimsi bir yapıda olan trabeküler ağ meydana getirdiği görüldü (Şekil 2).

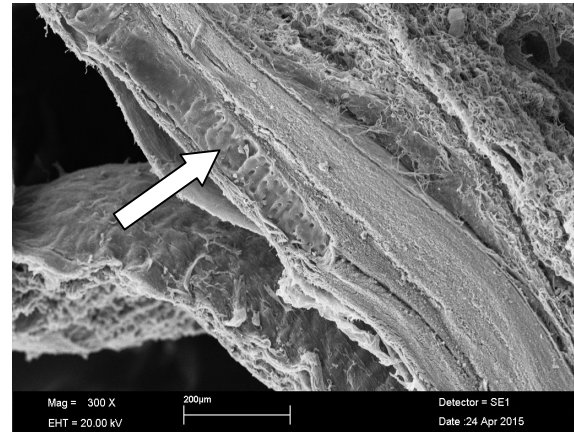
Tunica fibrosa bulbi'nin kan damarlarını içeren ve saydam olmayan arka kısmını sclera şekillendirmekteydi (Şekil 1 C-D-E-F).



Şekil 2. Cornea-scleral bağlantı bölgesi. Lamina epithelialis (Le), Bowman membranı (B), Stroma (S), Descemet membran (D), Melanositler (ok başı), Fontana yarıkları (ok), kan damarları (yıldız).



Şekil 3. Cornea'nın ön göz kamarasına bakan arka yüzündeki lamina endothelium tabakasına ait altıgen şeklindeki yassı epitel hücreler



Şekil 4. Sclera kısmında yer alan hiyalin kırıkarak

Bu katmanda kollajen iplik demetleriyle, bunlar arasına yerleşmiş mekik şekilli fibroblastlar, bol miktarda melanositler ve çok az oranda elastik iplikler tespit edildi. Kollajen iplik demetleri bulbus oculi'nin yüzeyine paralel yerleşim gösterdiği belirlendi. Ayrıca kollajen iplik demetlerinin

oluşturduğu scleral stroma (Fibröz sclera) içinde ve cornea-scleral bağlantısının gerisinde bilateral olarak üst üste yerleşmiş scleral kemiklere rastlandı (Şekil 1D). Bu scleral kemiklerin merkezi kalın, uç kısımları ise daha inceydi. Sclera'nın yaklaşık ön kısmını işgal eden kemiklerin hemen gerisinde, bu bölgeden başlayarak n. opticus'un sclera'yı deldiği bölgeye (area cribrosa sclera) kadar uzanan hiyalin kıkırdak (scleral kıkırdak) dokusunun sclera'yı desteklediği gözlemlendi (Şekil 4). Scleral kıkırdakların, scleral kemiklerde olduğu gibi parçalı ve üst üste binen bir organizasyona sahip olmadığı kesintisiz bir halka şeklinde olduğu belirlendi (Şekil 1 E). Scleral kıkırdak dokunun kesintiye uğradığı n. opticus bölgesinde kemik dokunun (os opticus) bulunduğu tespit edildi (Şekil 1 F).

Tartışma ve Sonuç

Bulbus oculi'nin şeklinin kafa yapısıyla uyumlu olarak yassı kafalı diurnal kanatlılarda yassı, geniş kafalı diurnal kuşlarda küre, nokturnal kuşlarda ise tubular bir yapıya sahip olduğu bildirilmektedir (King ve McLelland, 1984). Nickel ve ark. (1977) ise ördekte bulbus oculi'nin şeklinin kör bir koniye, evcil kuşlarda ise dikey bir elips'e benzediğini belirtmektedir. Yapılan çalışmada equator ve axis bulbi externus uzunlukları değerlendirildiğinde Gerze horoz ve tavuğunda da bulbus oculi şeklinin dikey elips olduğu tespit edilmiştir. Shehan (2012) Basra şehrindeki yerel tavuklarda yapılan gözün anatomik ve histolojik incelenmesi çalışmasında cornea'nın horozlarda uzunluk ve genişliğini sırasıyla 8.3 ± 0.483 mm, 8.4 ± 0.516 mm olarak ölçmüştür. Türkiye'nin yerel tavuk ırklarından olan Gerze horozunda ise bu ölçümler sırasıyla 9.28 ± 0.51 mm, 9.27 ± 0.53 olarak bulunmuştur.

Kanatlı hayvanlar bulbus oculi'ye şeklini veren, destekleyen üst üste binmiş kemik plakalar tarafından şekillendirilen halka formunda anatomik bir oluşuma sahiptir (annulus ossicularis sclerae) (Baumell ve ark., 2003; Franz-Odentaal, 2008; Lima ve ark., 2009). Scleral kıkırdakın suda yaşayan hayvanlarda da bulunduğu ve derinliğe bağlı basınç farklılıklarından bulbus oculi'yi koruduğu bildirilmektedir (Brudenall ve ark., 2008). Araştırmamızda da sclera'nın yaklaşık ön kısmını işgal eden kemiklerin hemen gerisinde, bu bölgeden başlayarak n. opticus'un sclera'yı deldiği bölgeye (area sclera cribrosa) kadar uzanan hiyalin kıkırdak (scleral kıkırdak) dokusunun sclera'yı desteklediği gözlenmiştir. Kınalı keklikte cornea'nın epitel hücre katmanının, basit prizmatik hücre katmanı üzerine oturmuş 1-2 sıralı poligonal hücrelerden ve epitel katın en dış sınırını oluşturan yaklaşık 1-2 sıralı yassı hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir (Erdoğan ve ark., 2012). Gerze horoz ve tavuğunda ise tek sıralı

prizmatik hücrelerin üzerinde 2 veya 3 sıralı poligonal hücreler ve en üstte de 1-2 sıralı yassı hücreler bulunduğu gözlenmiştir. Gündüz avlanan yırtıcı kuşlar, ötücü kuşlar, sinek kuşu ve ağaçkakan gibi türlerde nervus opticus'un etrafında kemikleşmiş U-biçiminde scleral kıkırdak varlığından bahsetmiştir (King ve McLelland, 1984). Çalışmamızda scleral kıkırdak dokusunun kesintiye uğradığı n. opticus bölgesinde kemik dokunun (os opticus) varlığı tespit edilmiştir.

Araştırmamızda ülkemizin yerel tavuk ırklarından olan Gerze horoz ve tavuğunun bulbus oculi'sinin tunica fibrosa bulbi katmanı anatomik, histolojik ve elektron mikroskopik olarak incelenmiş ve özellikleri ortaya konulmuştur. Daha önce böyle bir çalışmanın yapılmamış olması bu eksikliği gidermiş bundan sonra yapılacak olan diğer çalışmalara da veri teşkil edeceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

- Anonim, 2004: Resmi Gazete (25668 sayılı resmi gazetede yayınlanan tescil 2004/39 nolu tebliğin ek: 19).
- Brooke ML, Hanley S, Laughlin SB, 1999: The scaling of eye size with body mass in birds. *Proc Biol Sci*, 266, 405-412.
- Brudenall DK, Schwab IR, Frisches KA, 2008. Ocular morphology of the Leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*). *Vet Ophthalmol*, 11, 99-110.
- Crossman G, 1937: A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat Rec*, 69, 33-34.
- Dursun N, Türkmenoğlu İ, 2002: Duyu organları. In: Dursun, N. (Ed), Evcil Kuşların Anatomisi. 1. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Erdoğan S, Akbalık ME, Sağsöz H, 2012. Kınalı Keklikte (*Alectoris chukar*) Tunica Fibrosa Bulbi'nin Morfolojik Özelliklerinin Araştırılması. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 26(2), 65-71.
- Franz-Odentaal TA, 2008: Toward understanding the development of scleral ossicles in the chicken, *Gallus gallus*. *Dev Dynam*, 237, 3240-3251.
- Glasser A, Troilo D, Howland HC, 1994: The mechanism of corneal accommodation in chicks. *Vision Res*, 34, 1549-1566.
- Gültiken ME, Onuk B, Yıldız D, Yılmaz B, 2011: Şahinde (*buteo buteo*) bulbus oculi ve intraorbital kasların (musculi bulbi) morfolojik incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58, 223-228.
- King AS, McLelland J, 1984: Special sense organs. In: King AS, McLelland J, editors. *Birds: Their structure and function*, 2nd ed. London: BaillieeTindall, 284-314.
- Lima FC, Vieira LG, Santos ALQ, De Simone SBS, Hirano LQL, Silva JMM, Romão MF, 2009: Anatomy of the scleral ossicles in brazilian birds. *Braz J Morphol Sci*, 26, 165-169.
- Murphy CJ, Glasser A, Howland HC, 1995: The anatomy of the ciliary region of the chicken eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 36, 889-96.
- Nelson NM, 1942: The sclerotic plates of the White leghorn chicken. *Anat Rec*, 84(3), 295-306.

Nickel R, Schummer A, Seiferle E, 1977: Anatomy of the Domestic Birds. Verlg Paul Parey, Berlin- Hamburg.
Nomina Anatomica Avium, 1993: International Committee on Avian Anatomical Nomenclature, Handbook of Avian Anatomy;, 2nd. ed. Nuttall Ornithological Club: Cambridge: Mass., USA.
Schaeffel F, Howland HC,1987: Corneal accommodation in the chick and pigeon. *J Comp Physiol A*, 160, 375-384.

Shehan NA, 2012: Anatomical and histological study of eye in local chickens (*Gallus domesticus*) at Basrah city. *Al- Qadisiya Journal of Vet Med Sci*, 11(2), 53-59.

***Yazışma Adresi:** Burcu ONUK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, 55139, Samsun, Türkiye
e-mail: burcuonuk@omu.edu.tr

Evaluation of Slaughter Weights and Carcass Traits of Bulls Marketed in South Marmara Region of Turkey

Sena ARDICLI, Deniz DINCEL, Faruk BALCI*

Laboratory of Genetics, Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, Uludag University, 16059 Nilufer, Bursa, Turkey.

Geliş Tarihi: 25.01.2018

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Abstract: In this study, the slaughter weights and carcass traits of bulls which slaughtered in three abattoirs located in the South Marmara Region of Turkey were evaluated. For this aim, data from a total of 1002 bulls including 812 purebred Holstein-Friesian, 135 purebred Simmental, 29 Holstein crossbred and 26 Turkish Grey Steppe bulls were used. Additionally, slaughter weights and carcass traits were compared between 693 Turkey-born Holstein bulls and 119 Holstein bulls imported from Hungary. Bulls were slaughtered according to standard commercial procedures. Hot and chilled carcass weights, dressing percentage and chilling loss were determined. The data were analysed using the one-way analysis of variance (ANOVA) and Student's t-test. The effect of breed was statistically significant on all the traits analysed ($P<0.001$). The greater slaughter weights, hot and chilled carcass weights, dressing percentage and chilling loss were observed in Simmental bulls. Moreover, imported Holstein bulls had higher dressing percentage compared to Turkey-born Holstein bulls ($P<0.001$). The present results may be useful for meat industry and for evaluation of carcass traits in market of Turkey.

Keywords: Cattle, Holstein, Simmental, Turkish grey cattle.

Türkiye'nin Güney Marmara Bölgesinde Pazara Sunulan Erkek Sığırların Kesim Ağırlığı ve Karkas Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Özet: Bu çalışmada, Türkiye'nin Güney Marmara Bölgesinde bulunan üç mezbahada kesimi yapılan Erkek sığırların kesim ağırlıkları ve karkas özellikleri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 812 baş saf Holştayn-Frizyan, 135 baş saf Simental, 29 baş Holştayn melezi ve 26 baş Boz ırkıdan oluşan toplam 1002 baş boğaya ait veriler kullanılmıştır. Bunun yanı sıra, 693 baş Türkiye-doğumlu Holştayn boğalar ile 119 baş Macaristan'dan ithal edilen Holştayn boğalara ait kesim ağırlıkları ve karkas özellikleri karşılaştırılmıştır. Erkek sığırların kesimi standart kesim prosedürlerine göre gerçekleştirilmiştir. Sıcak ve soğuk karkas ağırlıkları, karkas randımanı ve soğutma firesi belirlenmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi ve Student t-testi kullanılmıştır. Irk etkisi incelenen tüm özellikler üzerine istatistiksel düzeyde etkilidir ($P<0,001$). Kesim ağırlıkları, sıcak ve soğuk karkas ağırlıkları, karkas randımanı ve soğutma firesinin Simental boğalarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, ithal Holştayn Erkek sığırların karkas randımanlarının Türkiye-doğumlu Holştayn sığırlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Elde edilen sonuçların Türkiye'deki et endüstrisi ve pazara sunulan karkas özelliklerinin değerlendirilmesinde yararlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Holştayn, Simental, Boz ırk sığır.

Introduction

The importance of carcass traits for the beef cattle industry is increasing, especially with the determination of more detailed carcass evaluation procedures. To maintain or increase production and to reach a potential of self-sufficient country with respect to red meat production, Turkey must continue to improve the process of carcass assessment. In 2016, 1,173,042 tonnes of red meat was produced from 9,741,786 animals slaughtered, including 3,900,307 cattle, 4,083,620 sheep, 1,756,360 goats and 1,499 water buffaloes in Turkey. Of this production, 1,059,195 tonnes (approximately 91% of total) was compiled of beef (Turkish Statistical Institute: TSI, 2017). However,

demand for red meat has gradually increased with the population growth rate and the economic dynamics. The total number of Turkish cattle population was 14,080,155 in 2016. Among this population, Holstein breed comprises by far the most common cattle breed in Turkey, with 5.5 millions purebreds and 856 thousand crossbreeds and hence beef derived from Holstein breed is a very important source of Turkey beef supply (Turkvat-Turkish Ministry of Food, 2016). Holstein cattle, which are bred mainly for dairy purposes, carry a potential for improvement of beef production due to their genetic variability for beef traits (Ardicli et al., 2017). On the other hand,

possibilities of utilizing from dual-purpose cattle breeds for improving beef production should be considered as an important constituent when evaluating the country's meat industry. Simmental, as a versatile breed, is one of the oldest and also the most widely distributed breed in the world. The importance of Simmental breed, besides its high milk yield and reproduction performance, is also seen in achieving high fattening performance and disease resistance (Koc, 2016). Turkish Grey Steppe cattle is one of the important domestic livestock resources of Turkey (Soysal and Kok, 2006). This breed probably originated from the Iskar or Bulgarian Grey Steppe and in addition the Turkish variety can be evaluated as a dual purpose cattle breed. It is well adapted to harsh environmental conditions and able to survive on low-quality feed (Yilmaz et al., 2012).

There are evident differences between breeds and crossbreeds and between sires within a breed affecting the genetic variation in both quantity and quality of beef (Burrow et al., 2001). Estimating carcass traits for different cattle breeds is a way of achieving better sustainability and outcomes in cattle breeding and, thus, has economic importance at the selection process through meat yield. Turkey's beef production reached 1,014,926 tons in 2015 and 1,059,195 tons in 2016 (Turkish Statistical Institute: TSI, 2017). However, there is still a strong need for studies regarding ways to improve red meat production in Turkey with respect to high prices of beef and red meat deficit in the sector. In the literature, there are studies about the evaluation of carcass traits in Turkey's meat market, but these studies were mostly conducted on limited sample sizes. Therefore, the objective of the present study was to determine and to compare the slaughter weights and carcass traits of large number of bulls slaughtered in the abattoirs of South Marmara Region of Turkey. An additional aim was to evaluate the differences in mentioned traits between Holsteins raised in Turkey and Holsteins imported from Hungary.

Materials and Methods

Animals: Data from a total of 1002 bulls slaughtered in three abattoirs, located in South Marmara region of Turkey was used in the present study. The analysis included 812 purebred Holstein-Friesian, 135 purebred Simmental, 29 Holstein crossbred (Holstein X Turkish native cattle breeds) and 26 Turkish Grey Steppe bulls. Of the Holsteins included to analysis, 693 bulls were born and raised in Turkey; whereas 119 bulls were imported from Hungary. All animals were recorded for the

Pedigree Project of the Turkish Ministry of Food, Agriculture and Livestock, and Cattle Breeders Association. Only animals with relevant data of slaughter and carcass weights were used in subsequent analyses. Moreover, the native Turkish breeds (except Turkish Greys), which were few in number, were excluded from the analysis.

Slaughter Procedures: The duration of transport from farm to abattoirs was approximately 1–2 h. Slaughter weight (SW) was determined as live weight prior to slaughter process and was recorded immediately before slaughter by precision scale (100 g sensitivity). Bulls were slaughtered by means of exsanguination according to standard commercial procedures, after being kept for 24 h in paddocks and deprived of feed but with full access to water. Following slaughter, all of the carcasses were electrically stimulated for a duration of 30 s (60 V). The hot carcass weight (HCW) was defined as the carcass weight of the slaughtered animal's body after being skinned, bled, and eviscerated, and removal of the external genitalia, the limbs at the carpus and tarsus, the head, the tail, the kidneys and kidney fats, and the scrotum (Pfuhl et al., 2007). After non-carcass components were removed; HCW was taken approximately 1 h postmortem. HCW was measured without removing the subcutaneous fat and keeping the kidney and pelvic fat. Carcasses were suspended through the achilles tendons and were chilled overnight at 4°C in a ventilated room. After chilling for at least 24 h, the carcasses were weighed, so that, chilled carcass weight (CCW) was determined. The dressing percentage (DP) was calculated based on both HCW and CCW. Chilling loss (CL) were determined after 24 h at 4°C and calculated as weight loss between hot and chilled carcasses (Journaux, 2007; Pfuhl et al., 2007).

Statistical Analysis: In the present study, all statistical analyses were performed using Minitab software (MINITAB®, USA, v17.1.0). Data were expressed as means and standard errors. In order to determine differences in slaughter weights and carcass traits in Holstein, Simmental, Holstein crossbred and Turkish Grey Steppe bulls, a one-way analysis of variance (ANOVA) was performed and when significant differences were identified, the mean values for group were contrasted using Tukey's test. In addition, comparisons between the two groups including Holsteins raised in Turkey and Holsteins imported from Hungary were performed with Student's t-test. For statistical comparisons a probability level of $P < 0.05$ was accepted as statistically significant.

Results

The means, their respective standard errors and levels of significance obtained for the SW and carcass traits in Holstein, Simmental, Holstein crossbred and Turkish Grey Steppe bulls established are shown in Table 1. As expected, highly significant differences in SW, HCW, DP, CCW and CL are evident between all breed groups ($P<0.001$). Results revealed that Simmental bulls had higher means for all traits compared to other breeds included in this study. The mean for SW in Simmental bulls was 594.95 ± 6.04 as shown in Table 1. Following Simmentals, the SW means were in Holstein (489.81 ± 2.46), Holstein crosses (485.80 ± 13.00) and Turkish Greys (472.55 ± 14.20) order. Overall, the SW showed a significant effect of breed ($P<0.001$), with +105.14 kg, +109.15 kg and +122.40 kg higher weights in the case of Simmental bulls compared with the values of Holstein, Holstein crosses and Turkish Grey Steppe bulls, respectively. Further, HCW was also higher ($P<0.001$) for Simmental bulls (327.95 ± 3.44 kg) in comparison to Holstein bulls (263.33 ± 1.40 kg), Holstein crosses (259.54 ± 7.43 kg) and Turkish Grey Steppe bulls (254.50 ± 8.45 kg). Moreover, HCD was greatest ($P<0.01$) in Simmental bulls (54.98 %), intermediate for Holstein bulls (53.78 %) and Holstein crosses (53.46 %), and lowest for Turkish Grey (52.20 %) breed. According to the current results, Simmentals displayed + 64.62 kg, 68.41 kg and 73.45 kg greater HCW and 1.2 %, 1.52 % and 2.78 % greater HCD compared to Holstein, Holstein crosses and Turkish Grey Steppe bulls, respectively. In the present study, the breed

was significantly effective on CCW and CCD ($P<0.001$) and results indicated that, the greatest CCW and CCD were observed in Simmental bulls. Accordingly, the mean CCW was 320.74 ± 3.36 kg and the mean CCD was for 53.78 ± 0.22 % for Simmentals which was an estimated +62.86 kg, + 65.05 kg and + 70.51 kg CCW and + 1.11 %, + 1.12 % and + 1.92 % compared to Holstein, Holstein crosses and Turkish Grey Steppe bulls, respectively. Results revealed that CCD, in accordance with the HCD results, was similar for purebred Holstein and Holstein crosses and the lowest dressing percentage was determined in Turkish Grey Steppe bulls. The effect of breed on CL was found to be statistically significant among the cattle breeds analysed. Markedly the highest value for the CL was observed in Simmental bulls. Mean CL was 0.07 ± 0.02 % for Simmentals which was an estimated + 0.01 % and 0.03 % higher compared to Holstein, Holstein crosses and Turkish Grey Steppe bulls, respectively. Besides, Holstein crosses and Turkish Grey bulls had the same means for CL (0.04 ± 0.01 %) as shown in Table 1. In the current study, apart from the comparison of SW and carcass traits among the breeds analysed, we also targeted to determine the differences in mentioned traits between purebred Holsteins born and raised in Turkey and purebred Holsteins imported from Hungary. However, results revealed that, few differences existed between two groups. Imported Holsteins had higher + 1.59 % HCD and + 1.61 % CCD compared to Turkey- born Holsteins as shown in Table 2. There was no significant difference in SW, HCW, CCW and CL between the two groups.

Table 1. The means, their respective standard errors and levels of significance obtained for the slaughter weights and carcass traits in Holstein, Simmental, Holstein crossbred and Turkish Grey Steppe bulls.

Trait	Holstein (n=812)	Simmental (n=135)	Holstein Crosses (n=29)	Turkish Grey (n=26)	Significance
Slaughter weight (kg)	489.81 ± 2.46^b	594.95 ± 6.04^a	485.80 ± 13.00^b	472.55 ± 14.20^b	$P<0.001$
Hot carcass weight (kg)	263.33 ± 1.40^b	327.95 ± 3.44^a	259.54 ± 7.43^b	254.50 ± 8.45^b	$P<0.001$
Hot carcass dressing (%)	53.78 ± 0.09^b	54.98 ± 0.21^a	53.46 ± 0.46^{bc}	52.20 ± 0.61^c	$P<0.001$
Chilled carcass weight (kg)	257.88 ± 1.37^b	320.74 ± 3.36^a	255.69 ± 7.25^b	250.23 ± 8.25^b	$P<0.001$
Chilled carcass dressing (%)	52.67 ± 0.09^b	53.78 ± 0.22^a	52.66 ± 0.48^b	51.86 ± 0.56^c	$P<0.001$
Chilling loss (%)	0.06 ± 0.02^b	0.07 ± 0.01^a	0.04 ± 0.01^b	0.04 ± 0.01^b	$P<0.001$

^{a,b,c} Different superscripts within a row indicate significant difference.

Table 2. The means, their respective standard errors and levels of significance obtained for the slaughter weights and carcass traits in Holsteins born and raised in Turkey and Holsteins imported from Hungary.

Trait	Holsteins Imported (n=119)	Holsteins Turkey (n=693)	Significance
Slaughter weight (kg)	483.10 ± 6.70	490.96 ± 2.78	NS
Hot carcass weight (kg)	266.66 ± 3.74	262.76 ± 1.55	NS
Hot carcass dressing (%)	55.13 ± 0.22	53.54 ± 0.09	$P<0.001$
Chilled carcass weight	261.37 ± 3.64	257.28 ± 1.51	NS
Chilled carcass dressing (%)	54.04 ± 0.22	52.43 ± 0.09	$P<0.001$
Chilling loss	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	NS

NS: non-significant.

Discussion

The primary objective of the current study was to evaluate the live weights prior to slaughter and carcass traits including HCW, HCD, CCW, CCD, and CL of bulls regarding the market in the South Marmara Region of Turkey and to determine the current situation in carcass assessment. The greater SW, HCW, HCD, CCW and CCD observed in Simmental bulls and this result could be attributed to the dual-purpose ability and the higher fattening performance of Simmentals. SW and carcass traits may vary due to the genetic background, age and sex of the animal, nutritional and environmental effects (Dannenberger et al., 2006). Accordingly, different, and sometimes, conflicting results of the studies conducted on various cattle breeds exist in the literature. Sochor et al. (2005) reported higher means of carcass weight (389.0 ± 58.64 kg) and DP (55.90 ± 2.39 %) in Simmental bulls compared to results of the present study. Similarly, Ustuner et al. (2017) determined higher HCW, CCW and DP in both young and old groups (according to initial fattening ages) of Simmental bulls. In addition, the results of studies performed by Chambaz et al. (2003), Sami et al. (2004), Dannenberger et al. (2006) and Alberti et al. (2008) revealed higher means for carcass weights. Conversely, Catikkas and Atakan (2017) reported lower HCW (309.25 ± 3.45 kg) and CCW (303.99 ± 3.37) but higher DP (54.29 ± 0.60 %) in Simmental bulls. HCW and CCW found in this study for Holstein bulls were lower than earlier reports by Akman and Koc (2003), Barton et al. (2003), Dannenberger et al. (2006), Pfuhl et al. (2007), Alberti et al. (2008), and McNamee et al. (2015) but higher than Rotta et al. (2009). Zaujec et al. (2009) evaluated the carcass traits of young Holstein bulls from the viewpoint of qualitative classes for conformation and fattiness by means of SEUROP system and the carcass weights they determined that the carcass weights of U, R and O conformation classes were 289.0 ± 39.72 kg, 251.56 ± 30.01 kg and 226.64 ± 30.88 kg, respectively. According to this classification, the HCW found in the present study were lower than U class but higher than R and O class. Similar result was also determined for the DP. Ogan et al. (2000) reported higher values of HCW, CCW and DP (including HCD and CCD) for Limousin X Holstein crossbred bulls than those obtained from the present study. It has traditionally been assumed that the rise in DP, as growth proceeds, is a direct result of increasing fatness (Simoes et al., 2005). Hence, evaluation of DP may present indicative results for both meat quantity and quality. DP found in this study for Holstein and Holstein crossbred bulls was higher than the results of the studies performed by Rotta

et al. (2009) and Chladek and Falta (2014) but lower than that reported by Barton et al. (2003), Pfuhl et al. (2007), Alberti et al. (2008), Nogalski et al. (2014a) and Nogalski et al. (2014b).

Turkish Grey Steppe Cattle is one the most important national animal genetic resources of Turkey and is well adapted to harsh environmental conditions and able to survive on low-quality feed (Yilmaz et al., 2012). However, the information about this breed in the literature, especially carcass traits, is rather limited. In this study, we have evaluated carcass traits of Turkish Grey Steppe Cattle. Not surprisingly, the lower carcass weights (HCW and CCW), HCD and CCD for Turkish Greys compared to remaining breeds analysed. Although Turkish Greys have low production performance, this breed is characterized by high resistance to diseases or external parasites and very fast recovery when infected (Soysal and Kok, 2006). Hence, studies conducted on such native breeds should be performed to classify and conserve for sustainable development of animal genetic resources.

In the present study, only HCD and CCD were different between Holsteins born and raised in Turkey and purebred Holsteins imported from Hungary. Holstein-Friesian which are bred mainly for superiority in milk production have the capacity not only to produce beef but also a potential for improvement in beef production as indicated by their genetic variability for beef traits (Calo et al., 1973). Therefore, the dual capacity of the Holstein breed should be considered when evaluating the ways to meet the meat deficit in Turkey.

Carcass characteristics of beef cattle vary due to many factors including breed, genetic background, and environmental effects (Cross et al., 1984; Dannenberger et al., 2006). In addition, DP may differ substantially with increasing slaughter weights of bulls (Litwinczuk et al., 2006). Hence, unsteady results of carcass traits obtained from various cattle breeds can be evaluated as a common condition. Beef production trend has gradually changed from meat yield to meat quality in many countries (Ardicli et al., 2017). However, evaluating the ways to increase meat yield may be the crucial point to achieve significant economic benefits and to maintain sustainable production systems, especially in countries with meat production deficit.

Conclusion

This study focused on the evaluation of slaughter weights and carcass traits in Holstein, Simmental, Holstein crossbred and Turkish Grey Steppe Bulls slaughtered in the South Marmara region of Turkey. The present results confirm that

the lower carcass weights (HCW and CCW) for the Holstein crosses and Turkish Greys were determined by the lower SW and low carcass dressing in animals from this breed group. Greater SW, HCW, HCD, CCW, and CCD were observed in Simmental bulls. In addition, HCD and CCD were different between Holsteins born and raised in Turkey and Holsteins imported from Hungary. To achieve a sustainable meat production system, detailed assessment of carcass traits should be conducted and efficient databases should be established in Turkey. Therefore, the results of the current study may be useful and indicative for future studies on meat production traits in livestock.

Acknowledgements

The author declare not any conflict of interest.

References

- Akman N and Koc A, 2003: Farklı ağırlıkta besiye alınan ithal edilmiş Siyah-Alaca tosunların besi gücü ve karkas özellikleri. *Hayvansal Üretim*, 44, 26-36.
- Alberti P, Panea B, Sanudo C, Olleta J, Ripoll G, Ertbjerg P, Christensen M, Gigli S, Failla S, Concetti S, 2008: Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. *Livest Sci*, 114, 19-30.
- Ardicli S, Samli H, Dincel D, Soyudal B, Balci F, 2017: Individual and combined effects of CAPN1, CAST, LEP and GHR gene polymorphisms on carcass characteristics and meat quality in Holstein bulls. *Arch Anim Breed*, 60, 303.
- Barton L, Teslik V, Zahradkova R, Bures D, 2003: Growth, feed efficiency and carcass characteristics of Czech Pied and Holstein bulls. *Czech J Anim Sci*, 48, 459-465.
- Burrow H, Moore S, Johnston D, Barendse W, Bindon B, 2001: Quantitative and molecular genetic influences on properties of beef: a review. *Aust J Exp Agric*, 41, 893-919.
- Calo L, McDowell R, VanVleck LD, Miller P, 1973: Genetic aspects of beef production among Holstein-Friesians pedigree selected for milk production. *J Anim Sci*, 37, 676-682.
- Catikkas E and Atakan K, 2017: Fattening Performance, Carcass Characteristics and Beef Quality of Holstein-Friesian, Brown-Swiss and Simmental Bulls. *Journal of Adnan Menderes University Agricultural Faculty*, 14, 59-64.
- Chambaz A, Scheeder M, Kreuzer M, Dufey PA, 2003: Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Sci*, 63, 491-500.
- Chladek G and Falta D, 2014: Beef performance of Holstein calves slaughtered at 300 kg of live weight. *Acta Univ Agric et Silv Mendel Brun*, 54, 13-20.
- Cross H, Crouse J, MacNeil M, 1984: Influence of breed, sex, age and electrical stimulation on carcass and palatability traits of three bovine muscles. *J Anim Sci*, 58, 1358-1365.
- Dannenberger D, Nuernberg K, Nuernberg G, Ender K, 2006: Carcass-and meat quality of pasture vs concentrate fed German Simmental and German Holstein bulls. *Arch Tierz*, 49, 315-328.
- Journaux L, 2007: Beef carcass grading and meat quality measurements in different countries and how ICAR is going to use such information. In "Evaluation of carcass and meat quality in cattle and sheep" (Lazzaroni C, Gigli S, Gabina D), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands, 123, 50-51.
- Koc A, 2016: A Review on Simmental Raising: 1. Simmental Raising in the World and in Turkey. *Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty*, 13, 97-102.
- Litwinczuk Z, Barłowska J, Florek M, Tabala K, 2006: Slaughter value of heifers, cows and young bulls from commercial beef production in the central-eastern region of Poland. *Anim Sci Pap Rep*, 24, 187-194.
- McNamee A, Keane M, Kenny D, Moloney A, Buckley F, O'Riordan E, 2015: Beef production from Holstein-Friesian, Norwegian Redx Holstein-Friesian and Jerseyx Holstein-Friesian male cattle reared as bulls or steers. *Livest Sci*, 173, 95-105.
- Nogalski Z, Wielgosz-Groth Z, Purwin C, Nogalska A, Sobczuk-Szul M, Winarski R, Pogorzelska P, 2014a: The effect of slaughter weight and fattening intensity on changes in carcass fatness in young Holstein-Friesian bulls. *Ital J Anim Sci*, 13, 66-72.
- Nogalski Z, Wielgosz-Groth Z, Purwin C, Sobczuk-Szul M, Mochol M, Pogorzelska-Przybytek P, Winarski R, 2014b: Effect of slaughter weight on the carcass value of young crossbred ('Polish Holstein Friesian'x'Limousin') steers and bulls. *Chilean J Agric Res*, 74, 59-66.
- Ogan M, Baspınar H, Balci F, Petek M, Batmaz S, Yildirim B, 2000: Fattening performance and carcass characteristics in the Limousin X Holstein F1 crossbreds. *Uludag J Vet Med*, 19, 67-73.
- Pfuhl R, Bellmann O, Kuhn C, Teuscher F, Ender K, Wegner J, 2007: Beef versus dairy cattle: a comparison of feed conversion, carcass composition, and meat quality. *Arch Tierz*, 50, 59-70.
- Rotta PP, Prado IND, Prado RM, Moletta JL, Silva RR, Perotto D, Turk S, Smith S, 2009: Carcass characteristics and chemical composition of the Longissimus muscle of Nelore, Caracu and Holstein-Friesian bulls finished in a feedlot. *Asian-Australas J Anim Sci*, 22, 598-604.
- Sami A, Augustini C, Schwarz F, 2004: Effects of feeding intensity and time on feed on performance, carcass characteristics and meat quality of Simmental bulls. *Meat Sci*, 67, 195-201.
- Simoes JA, Mira J, Lemos J, Mendes I, 2005: Dressing percentage and its relationship with some components of the fifth quarter in Portuguese cattle breeds. *Livest Prod Sci*, 96, 157-163.

- Sochor J, Simeonovova J, Subrt J, Buchar J, 2005: Effect of selected fattening performance and carcass value traits on textural properties of beef. *Czech J Anim Sci*, 50, 81-88.
- Soysal M and Kok S: 2006: The last survivors of Grey cattle resisting extinction. A case study of characteristics and sustainability of traditional systems of native Grey cattle breeds. *Options Méditerranéennes Series A*, 78, 55-63.
- Turkish Ministry of Food, Agriculture and Livestock Database, Turkvet, 2016: [http:// www.turkvet.gov.tr](http://www.turkvet.gov.tr) / Accession date; 25.08.2017.
- Turkish Statistical Institute, TSI, 2018: <http://www.turkstat.gov.tr> / Accession date; 25.01.2018.
- Ustuner H, Yalcintan H, Orman A, Ardicli S, Ekiz B, Gencoglu H, Kandazoglu O, 2017: Effects of initial fattening age on carcass characteristics and meat quality in Simmental bulls imported from Austria to Turkey. *S Afr J Anim Sci*, 47, 194-201.
- Yilmaz O, Akin O, Yener SM, Ertugrul M, Wilson R, 2012: The domestic livestock resources of Turkey: cattle local breeds and types and their conservation status. *Anim Genet Resour*, 50, 65-73.
- Zaujec K, Mojto J, Gondekova M, 2009: Comparison of carcass quality of Slovak Pied and Holstein bulls by SEUROP system. *Slovak J Anim Sci*, 42, 38-43.

***Corresponding Author:** Faruk BALCI
Uludag University, Faculty of Veterinary Medicine,
Department of Genetics, Bursa, Turkey.
e-mail: fbalci@uludag.edu.tr

Sivas ve Yöresinde Sığır Ayak Hastalıkları Prevalansının Belirlenmesi

İbrahim YURDAKUL*, İlker ŞEN

Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.

Geliş Tarihi: 29.01.2018

Kabul Tarihi: 22.03.2018

Özet: Bu çalışmada; 2016-2017 yıllarında Sivas ve yöresinde sığırlarda görülen ayak hastalıkları prevalansının belirlenmesi amaçlandı. Çalışmanın materyalini Sivas ili ve merkeze bağlı köylerde bulunan değişik yaş, ırk ve cinsiyette toplam 1852 baş sığır oluşturdu. İncelenen olgularda 570 hayvanda sadece tırnak deformitesi, 74 vakada ayak hastalığı görülürken 74 olguda da tırnak deformitesi ile birlikte ayak hastalığı saptandı. Çalışmada tırnaklardaki deformasyonların dağılımı 154 olguda küt tırnak, 112 olguda sivri tırnak, 102 olguda tirbuşon tırnak, 108 olguda makas tırnak, 94 olguda yayvan-geniş-dolgun tırnak, 62 olguda ayırık tırnak ve 12 olguda ise gaga tırnak deformasyonu tespit edildi. Bu çalışmada ayak hastalığı belirlenen 148 adet sığırdaki toplam 170 adet lezyon belirlendi. Bu lezyonların 32 adedi ökçe çürüğü, 30 adedi tırnak çatlağı, 26 adedi taban ülseri, 18 adedi beyaz çizgi hastalığı, 12 adedi digital dermatit, 10 adedi interdigital dermatit, 10 adedi interdigital hiperplasia (limax), 10 adedi tırnak yarası, 6 adedi pododermatitis aseptica diffusa, 4 adedi pododermatitis aseptica circumscripta, 6 adedi yabancı cisim batması, 2 adedi ökçe apsesi, 2 adedi interdigital flegmon, 2 adedi corium unguiae de canlı doku üremesi oluşturdu. Sonuç olarak Sivas ve yöresinde sığırlarda ayak hastalıklarının yıllık prevalansı %38.77 olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Ayak hastalıkları, Prevalans, Sığır.

Investigation of Prevalance of Foot Diseases in the Cattle in the Region of Sivas

Abstract: In this study; It was aimed to determine the prevalence of foot diseases seen in cattle in Sivas and its region in 2016-2017 years. The material of the study was 1852 head cattle in different age, race and gender in the villages of Sivas province and center. There were only digital deformities in 570 claws and only foot diseases in 74 claws. However, foot diseases with digital deformities were seen in 74 cattle. In this study, classification of the deformed claws as follows: Blunt claw in 154, Overgrown claw in 112, corkscrew claw in 102, scissor claw in 108, splay claw in 94, discrete claw in 62, beak claw in 12. In this study, a total of 170 lesions were identified in 148 cattle with foot disease. These lesions can be detailed as; bruised sole in 32, fissure unguiae in 30, rusterholz ulcer in 26, white line diseases in 18, digitalis dermatitis in 12, interdigital dermatitis in 10, interdigital hyperplasia (limax) in 10, unguiae wound in 10, pododermatitis aseptica diffusa in 6, pododermatitis aseptica circumscripta in 4, foreign body invasion in 6, heel abscess in 2, interdigital flegmon in 2, living tissue growth in corium unguiae in 2. As a result, prevalence of foot diseases in cattle in and around Sivas were determined as 38.77%

Keywords: Cattle, Foot disease, Prevalence.

Giriş

Günümüzde hayvancılık; gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ulusal ekonomiye katkı sağlayan önemli bir sektör konumundadır. Türkiye’de artan nüfus ve yükselen sosyo-ekonomik refaha bağlı olarak hayvansal ürünlere olan talebin giderek artması, üretim ve verimliliğin artırılmasını da gerekli kılmaktadır (Demir ve Aral, 2014). Süt ve besi sığırcılığında verimi artırmak amacıyla uygulanan kapalı ve yarı-kapalı sistem işletmeciliği gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır (Şındak ve ark., 2003). Ancak kırsal kesimdeki işletmelerin halen önemli bir kısmını özellikle tarıma dayalı küçük işletmeler oluşturmaktadır. Bu tip işletmelerde bilgi yetersizliği, bakım ve beslenme şartlarının geleneksel ve kötü olması gibi sebeplerden dolayı istenilen verim elde edilememektedir (Demir ve Aral, 2014; Şındak ve ark., 2003). Modern süt sığır yetiştiriciliğinde ayak hastalıklarına bağlı ekonomik

kayıplar; üreme performansının azalması, süt veriminin düşmesi, gebe kalma süresinin uzaması, hayvanların sürüden çıkarılması gibi durumları içermektedir (Huxley, 2013; Kamiloğlu ve Baran, 1999). Süt sığır yetiştiriciliğinde topallıkların %90 sebebi olarak tırnak hastalıkları gösterilmektedir (Sogstad ve ark., 2005). Ayak hastalığı saptanan sığırlarda sağlıklı olan sığırlara oranla günlük süt verimi 1,12 kg ile 3,1 kg arasında azalmakta, gebe kalma süreleri 12 gün daha uzamakta ve %1,17’si sürüden çıkarılmaktadır (Suleyman ve Fromsa, 2012).

Ayak hastalıklarının etiolojisinde laktasyon, canlı ağırlık, yaş, cinsiyet, gebelik ve genetik gibi bireysel faktörlerin yanı sıra kapalı veya yarı kapalı sistemlerde yetiştiricilik yapılan işletmelerde sığırların meraya çıkarılmaması, beton zeminlerde barındırma, altlık olarak gübre kullanılması, idrarın

akışını sağlayacak %3-4 lük eğimin bulunmaması ile dışkı kanallarının yeterli olmaması ve beslenme gibi işletmeye ait bir çok faktör ayak hastalıklarına sebep olmaktadır (Elma ve Kumandaş, 2015; Kamiloğlu, 2014; Mülling ve ark., 2006; Sogstad ve ark., 2005; Şındak ve ark., 2003; Yayla ve ark., 2012; Yaylak, 2008). Ayak hastalıklarının oluşumunda mevsimin topallık insidansı üzerine önemli bir etkisi vardır. Ayak hastalıkları en fazla yağışın bol olduğu Mart-Nisan ve Kasım- Aralık aylarında artmaktadır. Ayrıca iklimin kurak olması da tırnaklarda da dehidrasyona, sertleşmeye, kırılmalığa ve çatlamaya yol açar (Mitey ve ark., 2012).

Bu çalışmada; Sivas ili ve civarındaki köylerde sığır ayak hastalıkları prevalansının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmanın materyalini; 2016-2017 tarihleri arasında Sivas ili ve Sivas ili merkeze bağlı köylerde rastgele seçilen küçük, orta ve büyük ölçekli 70 adet işletmede bulunan değişik yaş, ırk ve cinsiyette toplam 1852 adet sığır oluşturdu. Çalışmayı oluşturan toplam 1852 baş sığırın 1302 adedi (%70,30) dişi, 550 adedi (%29,70) erkekti. İrklara göre hayvanların dağılımı ise; 910 adet (%49,14) Montofon, 644 adet (%34,77) Simental, 136 adet (%7,34) yerli, 80 adet (%4,32) melez, 66 adet (%3,56) Holstein, 12 adedi (%0,65) Şarole ve 4 adedi de (%0,22) Belçika mavisinden oluştu. Ziyaret edilen işletmelerin fiziki yapısı, ahırların durumu, temizliği ve kapasitesi incelendi. Yetiştiricilerden hayvanların ırkı, yaşı, cinsiyeti, bakım ve beslenmesi ile ilgili alınan bilgiler kayıt edilerek hayvan sahiplerine ayak hastalıkları ve tırnak deformasyonlarının nedenleri ve bu nedenlere yönelik alınabilecek önlemler anlatıldı. Hasta sahibinden alınan anamnezden sonra topallık semptomu gösteren ayaklar yıkanıp temizlenerek lezyonun yerleştiği bölgeler belirlendi. Muayene sırasında tespit edilen deforme tırnakların kesilip düzeltilmesinde ve topallık gözlenen ayaklardaki lezyonun açığa çıkarılmasında tırnak kesme makası, sağ-sol renetler, tırnak törpüsü, elektrikli zımpara, tırnak muayene pensi ve operasyon seti kullanıldı.

İstatistikî analizler: Çalışmada elde edilen nonparametrik verilerin tanımlayıcı istatistikleri ile hastalık tipi, ırk ve cinsiyet gibi faktörlerle ilişkilerinin analizinde, SPSS 23.00 paket programı altında çalışan, Kruskal-Wallis, Ki-Kare ve Mann-Whitney-U testlerinden yararlanılmış; farklılıkların istatistikî anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alınmıştır.

Bulgular

Çalışmada incelenen işletmelerden özellikle küçük ahırların zeminlerinin daha çok toprak olduğu, altlık olarak gübre kullanıldığı, hijyenik şartlara uygun olmadığı ve plansız yapılar olduğu dikkati çekti. Küçük işletmelerdeki ahır ve barınakların çoğunda dışkı ve idrar kanallarının olmadığı, özellikle karlı ve yağışlı havalarda kar ve yağmur sularının dışkı ve idrar ile birlikte toprak zemininde oluşan çukurlarda yoğun bir şekilde birikmiş olduğu saptandı. Dışkı ve idrar kanalı olan ahırlarda ise hayvanın bulunduğu yer ile kanal arasındaki mesafenin kısa olmasından dolayı hayvanların arka ayaklarının bu kanallarda kaldığı belirlendi. Orta ve büyük ölçekli işletmelerde dışkı ve idrar kanallarının bulunmasına rağmen eğimlerinin düşük olması ve ahırların çoğunda bakıcı yetersizliğine bağlı olarak günde en az iki kez yapılması gereken zemin temizliğinin yapılamaması neticesinde dışkı ve idrarların beton zeminde birikmiş olduğu gözlemlendi. Sunulan bu çalışmada ayak hastalıkları yönünden ziyaret edilen işletmelerde gerek; ahırlarda yapılan tespitlerden gerekse; hayvan sahiplerinden alınan bilgilerden ayak ve tırnak bakımına yeterli derecede önemin verilmediği belirlendi. Hayvanların muayenesinde 1852 baş sığırın 570 tanesinde sadece tırnak deformasyonu, 74 adedinde tırnak deformasyonu ile birlikte lezyonlu ayak hastalığı, 74 adedinde ise sadece lezyonlu ayak hastalığı saptandı. Yapılan bu çalışmada toplam hayvanların 644 adedinde (%34,77) tırnak deformasyonu (Tablo 1), 148 adedinde (%7,99) lezyona bağlı ayak hastalığı belirlendi. Elde edilen bulgulara göre toplam 718 hayvanda tırnak deformateleri ve lezyona bağlı ayak hastalıklarının görülme oranı %38,77 olarak tespit edildi. (Şekil 1).

Tablo 1. Deforme tırnakların görülme oranları.

Deforme tırnak yapıları	Deforme tırnak sayısı	%	χ^2
Sivri tırnak	112	17.39 ^c	
Tirbişon tırnak	102	18.84 ^b	
Yayvan geniş dolgun tırnak	94	14.60 ^e	
Makas tırnak	108	16.77 ^d	64 3*
Küt tırnak	154	23.91 ^a	
Ayrık tırnak	62	9.63 ^f	
Gaga tırnak	12	1.86 ^g	
Toplam	644	100	

* : $p<0.001$; aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistikî olarak önemlidir ($p<0.01$).

Sunulan bu araştırmada ayak hastalığı belirlenen 148 adet sığırdan toplam 170 adet lezyon belirlendi. Tespit edilen lezyonların 32 adedi (%18,82) ökçe çürüğü, 30 adedi (%17,65) tırnak çatlağı, 26 adedi (%15,29) taban ülseri, 18 adedi (%10,59) beyaz çizgi hastalığı, 12 adedi (%7,06) digital dermatit, 10 adedi (%5,88) interdigital dermatit, 10 adedi (%5,88) limax, 10 adedi (%5,88) tırnak yarası, 6 adedi (%3,53) pododermatitis aseptica diffusa, 4 adedi (%2,35) pododermatitis aseptica circumscripta, 6 adedi (%3,53) yabancı cisim, 2 adedi (%1,18) ökçe apsesi, 2 adedi (%1,18) interdigital flegmon, 2 adedi (%1,18) corium unguis de canlı doku üremesi oluşturdu. Ayak hastalığı tespit edilen 148 adet hayvanda lezyonların ön ve arka ayaklarda görülme oranları ön ayaklarda %21,84 (ön sağ %9,20, ön sol %12,64), arka ayaklarda %78,16 (arka sağ %35,63, arka sol %45,53) olarak belirlendi. Tırnak deformasyonları tespit edilen 644 adet hayvanda deformasyonların görülme oranları ise; ön ayaklarda %54,39 (ön sağ

%27, ön sol %27,39), arka ayaklarda %45,61 (arka sağ %22,87, arka sol %22,74) olarak tespit edildi.

Tablo 2. Irklara göre ayak hastalıklarının görülme oranları.

Hayvan Irkı	İncelenen Hayvan Sayısı	Hasta Hayvan Sayısı	%	χ^2
Montofon	910	270	29.67 ^b	
Simental	644	361	56.06 ^a	
Yerli	136	28	20.59 ^c	
Holstein	66	40	60.61 ^a	162.73*
Melez	80	19	23.75 ^c	
Sarole	12	-	-	
Belçika Mavis	4	-	-	
Toplam	1852	718	38.77	

*: $p < 0.001$; aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 1. Deforme tırnak yapıları ve ayak hastalıkları, A: Sivri tırnak, B: Tirbişon tırnak, C: Makas tırnak, D: Küt tırnak, E: Ökçe çürüğü, F: Tırnak çatlağı, G: Digital dermatit, H: Taban ülseri, I: Beyaz çizgi hastalığı, K: Limax.

Tartışma ve Sonuç

Ayak hastalıklarının modern süt sığır yetiştiriciliğinde büyük ekonomik kayıplara yol açtığı, ciddi sağlık sorunlarına neden olduğu, süt sığırcılığı problemleri arasında infertilite ve mastitisten sonra üçüncü sırada yer aldığı bilinmektedir (Hoffman ve ark., 2012; Mohsina ve ark., 2014; Salcı, 2015; Suleyman ve Fromsa, 2012).

Yapılan araştırmalarda süt sığırlarında görülen ayak hastalıkları insidansının %1-25 arasında değiştiği, bazı kaynaklarda ise bu oranın %30 ve üzerinde olduğu belirtilmektedir (Atasoy, 2003). Sunulan bu çalışmada; Sivas ve yöresindeki sığırlarda tespit edilen ayak hastalıklarının görülme oranı %38,77 olarak saptanmıştır. Atasoy (2003); Erzurum ve yöresinde yaptığı çalışmada %82,79 oranında tırnak deformasyonu, %22,72 oranında ayak hastalığı

tespit etmiş ve tırnak deformitelerinin yüksek görülme nedenini ise iklim şartlarına ve çalışmanın kış aylarında yapılmasına bağlamıştır. Şındak ve ark. (2003) Şanlıurfa ve yöresinde yaptıkları çalışmada kapalı sistem işletmelerinde ayak hastalığının görülme oranını %93,8 olarak belirtmişler ve bunu kapalı sistem işletmelerinde ayak bakımının yapılmamasına bağlamışlardır. Han ve ark. (2017) Muş ve yöresinde sığırlarda ahır zemin tiplerinin ayak hastalıkları ve tırnak deformasyonları üzerine etkileri hakkında yaptıkları çalışmada ayak hastalıkları ve tırnak deformitelerini beton zeminli barınaklarda %32,97, toprak zeminli barınaklarda %46,28, taş zeminli barınaklarda %8,51, tahta zeminli barınaklarda %5,57 ve kauçuk zeminli barınaklarda %6,66 olarak bildirmektedirler. Yaptığımız bu çalışmada orta ve büyük ölçekli işletmelerde ahır zeminlerinin beton, küçük işletmelerde ise toprak olması, ahır zeminlerinde yeterince hijyen kurallarına dikkat edilmemesi, ayrıca çalışmaların yapıldığı bölgelerin iklim koşullarının birbirlerine benzerlik göstermesi yönünden Atasoy (2003) ve Han ve ark. (2017)'nin, ayak bakımının yapılmaması yönünden ise Şındak ve ark. (2003)'nin yaptıkları çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir.

Simental, Montofon ve Holstein gibi kültür ırkı sığır yetiştiriciliğinin ülkemizde yaygınlaşması ile ayak hastalıklarının arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından (Atasoy, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Keskin ve Durmuş, 2016; Ormancı ve Belge, 2001; Yayla ve ark., 2012) bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada ayak hastalıklarının ırklara göre dağılımında; Holstein ırkı %60.61, Simental ırkı %56.06, Montofon ırkı %29.67, Melez ırk %23.75 ve Yerli ırk sığırlarda %20,59 olarak saptandı. Bu çalışmada hasta hayvanların ırklara göre dağılımı incelendiğinde en yüksek oranın Holstein ve Simental ırkı hayvanlarda olduğu görülmektedir (Tablo 2). Ayak hastalıklarının cinsiyete göre dağılımlarında Alkan ve ark. (1993) hasta sığırların %86,36'sını dişi, %13,64'ünü erkek, Canpolat ve Bulut (2003) %82'sini dişi, %18'ini erkek, İstek ve Durgun (2004) %79,31'ini dişi, %20,69'unu erkek, Yayla ve ark. (2012) %51.80'nini dişi, %48,2'sini erkek hayvanlar olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada ayak hastalığı belirlenen sığırların cinsiyete göre dağılımları; dişilerde %71,62, erkeklerde %28,38 olarak tespit edilerek dişi sığırlarda ayak hastalıkları görülme oranı erkeklere göre daha yüksek saptandı. Bazı araştırmacılar (Canpolat ve Bulut, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Ormancı ve Belge, 2001; Özcan ve Pamuk, 2009); deforme tırnak yapılarının ayak hastalıkları oluşumunda önemli bir etken olduğunu ve ülkemizde tırnak deformasyonlarının %25'in üzerinde seyrettiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada 1852 adet sığırın 570 adedinde (%30.78) sadece

tırnak deformasyonu, 74 adedinde (%4) tırnak deformasyonu ile birlikte ayak hastalığı, 74 adedinde (%4) ise sadece ayak hastalığı saptandı. Tırnak deformitelerinin görülme nedeni olarak iklim şartları, ahır zemin tiplerinin yapısı, ahır zemininde altlık kullanılmaması, hayvanların yeterince gezdirilmemesi ve gerekli tırnak bakımı yapılmaması sonucu şekillendiği kanısına varıldı.

Ayak hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar (Canpolat ve Bulut, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Keskin ve Durmuş, 2016); en fazla tırnak bozukluğunun sivri tırnak, makas tırnak, burulmuş tırnak, yayvan, geniş ve dolgun tırnak olarak belirtmişlerdir. Sunulan bu çalışmada da 154 olguda (%23,91) küt tırnak, 112 olguda (%17,39) sivri tırnak, 102 olguda (%15,84) tirbuşon tırnak, 108 olguda (%16,77) makas tırnak, 94 olguda (%14,60) yayvan-geniş-dolgun tırnak, 62 olguda (%9,63) ayrık tırnak ve 12 olguda (%1,86) ise gaga tırnak olmak üzere toplam 644 adet tırnak deformasyonu tespit edilmiştir. Ayak hastalıklarına sebep olan lezyonların ön ayaklara oranla arka ayaklarda daha fazla yerleştiği bildirilmektedir (Canpolat ve Bulut, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Yayla ve ark., 2012). Araştırmada ayak hastalıklarının %21.84'ünün ön, %78.16'sının arka ayaklarda şekillendiği saptandı. Ayak hastalıklarının arka ayaklarda %78.16 gibi yüksek oranda görülmesinin nedeni; gerekli tırnak bakımının yapılmaması, vücut ağırlığı, gebelik, laktasyon ve memenin büyük olması gibi faktörlere bağlı olarak vücut ağırlığının arka ayaklar üzerine fazla yük binmesi olarak düşünülmektedir.

Çeşitli araştırmacılar (Atasoy, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Yayla ve ark., 2012) tarafından ayak hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda interdigital dermatitis, digital dermatit, interdigital hiperplazi, beyaz çizgi hastalığı, ökçe apsesi, ökçe eziği, tırnak yarası, tırnak çatlağı, pododermatitis aseptica diffusa, pododermatitis septica, pododermatitis circumscripta gibi hastalıkların yaygın olarak görüldüğü belirtilmektedir. Bu çalışmada tespit edilen lezyonların 32 adedini (%18,82) ökçe çürüğü, 30 adedini tırnak çatlağı (%17,65), 26 adedini (%15,29) taban ülseri, 18 adedini (%10,59) beyaz çizgi hastalığı, 12 adedini (%7,06) digital dermatit, 10 adedini (%5,88) interdigital dermatit, 10 adedini (%5,88) interdigital hiperplazi, 10 adedini (%5,88) tırnak yarası, 6 adedini (%3,53) pododermatitis aseptica diffusa (laminitis, arpalama), 4 adedini (%2,35) pododermatitis aseptica circumscripta, 6 adedini (%1,76) yabancı cisim, 2 adedini (%0,59) ökçe apsesi, 2 adedini (%0,59) interdigital flegmon, 2 adedini (%0,59) corium ungulaede canlı doku

üremesi oluşturdu. Elde edilen bu veriler doğrultusunda yukarıda ismi geçen ayak hastalıklarının yaygın olarak görülmesi Atasoy (2003)'un Erzurum bölgesinde, Canpolat ve Bulut (2003)'un Elazığ bölgesinde, İstek ve Durgun (2004)'un Muş bölgesinde, Keskin ve Durmuş (2016)'un Gaziantep bölgesinde, Yayla ve ark. (2012)'nin Kars bölgesinde yaptıkları çalışmaya paralellik göstermektedir. Çalışmada elde edilen veriler ve yapılan incelemeler doğrultusunda Sivas ili ve çevresinde süt sığırlarının yetiştiricilerinin barınak hijyen şartlarına, tırnak bakımına ve topallıklara gereken önemi vermedikleri tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; bölge hayvancılığında önemli ekonomik kayıplara neden olan ayak hastalıklarının önüne geçilebilmesi ve istenilen verimin elde edilebilmesi için yetiştiricilerin bilinçlendirilerek sığırlarda gebelik süresinin uzaması, süt verimi düşüklüğü, kısırılık, besi performansı, sürüden ayıklama gibi ekonomik kayıpların önüne geçileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Alkan İ, Boynukara B, Gençcelep M, 1993: Van ve yöresinde sığır ayak hastalıklarının yayılışı, nedenleri ve sağaltımı üzerine bir araştırma. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.*4(1-2): 87-95.
- Atasoy N, 2003: Erzurum yöresinde süt sığırlarında görülen ayak hastalıklarının insidansı ve bunların sağaltımı. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 14, 1, 1-5.
- Canpolat İ, Bulut S, 2003: Elazığ ve çevresinde sığırlarda görülen ayak hastalıklarının insidansı üzerine gözlemler. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 17, 3, 155-60.
- Demir P, Aral Y, Sarıözkan S, 2014: Kars ili süt sığırcılık işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı ve üretim maliyetleri. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 25, 1, 1-6.
- Elma E, Kumandaş A, 2015: Sığırlarda tırnak kesimi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 1, 1, 73-77.
- Han MC, Sağlıyan A, Polat E, 2017: Sığırlarda ahır zemin tiplerinin ayak hastalıkları ve tırnak deformasyonları üzerine etkilerinin araştırılması. *Harran Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 6, 1, 19-24.
- Hoffman AC, Moore DA, Vanegas J, Wenz JR, 2012: Rationale for a dairy herd lameness investigation strategy. *Ag Animal Health Spotlight Veterinary Medicine Extension*. Washington State University, 1-9.
- Huxley JN, 2013: Impact of lameness and claw lesions in cows on health and production. *Livestock Sci.* 156, 1-3, 64-70.
- İstek Ö, Durgun T, 2004: Muş ve yöresindeki sığırlarda görülen ayak hastalıklarının prevalansı üzerine araştırmalar. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 39-47.
- Kamiloğlu A, 2014: Çiftlik Hayvanlarında Ayak Hastalıkları. 1. Baskı., Medipres, Ankara, Türkiye.
- Kamiloğlu A, Baran B, 1999: Kars yöresinde simental ırkı sığırlarda interdigital deri lezyonlarının insidansı ve bunların intravenöz regional antibiyoterapi (ivregab) ile sağaltımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 5, 1, 93-102.
- Keskin E, Durmuş AS, 2016: Gaziantep ve yöresinde gözlenen sığır ayak hastalıklarının insidansı ve tedavileri üzerine gözlemler. *F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg.* 30, 3, 181-186.
- Mitev J, Penev T, Vasilev N, Miteva TCH, Gergovska ZH, Uzunova KR, 2012: Effect of lameness on some productive traits and health status of cows in dairy cattle farms. *Trakia J.Sci*, 10, 1, 85-91.
- Mohsina A, Zama MMS, Tamilmahan P, Gugjoo MB, Singh K, Gopinathan A, Gopi M, Karthik K, 2014: A retrospective study on incidence of lameness in domestic animals. *Veterinary World*, 7, 8, 601-604.
- Mülling CKW, Green L, Barker Z, Scaife J, Amory J, Speijers M, 2006: Risk factors associated with foot lameness in dairy cattle and a suggested approach for lameness reduction. XXIV. World Buiatrics Congress, Nice, France.
- Ormancı S, Belge A, 2001: Van ve yöresinde süt sığırlarında ayak hastalıklarının nedenleri, dağılımı ve sağaltımı üzerine çalışmalar. *YYÜ. Sağ. Bil. Derg.* 7, 1-2, 139-145.
- Özcan S, Pamuk K, 2009: Afyonkarahisar ve çevresinde sığır ayak hastalıklarının prevalansı. *Kocatepe Vet J*, 2, 2, 15-19.
- Salcı H, 2015: Sığırlarda Ayak hastalıklarının radyolojik ve biyomekanik ilişkilendirilmesi: 13 olguluk bir ön çalışma, *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* 34, 1-2, 89-93.
- Sogstad AM, Fjeldaas T, Qsteras O, 2005: Lameness and claw lesions of the norwegian red dairy cattle housed in free stals in relation to environment, parity and stage of lactation. *Acta Vet. Scand*, 46, 203-217.
- Suleyman M, Fromsa A, 2012: Lameness in dairy cattle: prevalence, risk factors and impact on milk production. *GV*, 8, 1, 1-7.
- Şındak N, Keskin O, Selçukbiricik H, Sertkaya H, 2003: Şanlıurfa ve yöresinde sığır ayak hastalıklarının prevalansı. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 14, 1, 14-18.
- Yayla S, Aksoy Ö, Kılıç E, Cihan M, Özyayın İ, Ermutlu ÇŞ, 2012: Kars ve yöresinde sığırların bakım ve barındırma koşulları ile ayak hastalıkları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Harran Üniv. Vet. Fak. Dergisi*. 1, 1, 22-27.
- Yaylak E, 2008: Süt sığırlarında topallık ve topallığın bazı özellikleri. *Hay. Üretim*, 49, 47-56

** : Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (CÜBAP V-045) desteklenmiştir.

*Yazışma adresi: İbrahim YURDAKUL

Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.

e-mail: ibrahimyurdakul5858@hotmail.com

Sivas Yöresindeki Koyunlarda Schmallenberg Virus Enfeksiyonunun Seroprevalansının Belirlenmesi

Adem ELMAS¹, Öznur ASLAN^{2*}, Kezban Can ŞAHNA³

¹Kangal İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Sivas, Türkiye.

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.

³Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

Geliş Tarihi: 08.02.2018

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Özet: Bu çalışmada, Sivas ilinde yetiştirilen Kangal Akkaraman ırkı koyun ve koçlarda Schmallenberg virus enfeksiyonunun seroprevalansının indirekt ELISA yöntemi ile ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla; Sivas ilinde yetiştirilen Kangal Akkaraman ırkı, 1-4 yaş arasındaki toplam 368 adet (250 koyun, 118 koç) hayvandan kan örnekleri alınmıştır. Enfeksiyon, Schmallenberg virus'una spesifik antikorların tespit edildiği ELISA (IDEXX Schmallenberg Ab Test®, IDEXX, Switzerland) yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırmada, 368 hayvandan yalnızca 1 koyunda (% 0.27) seropozitiflik tespit edilmiştir. Bilgilerimize göre sunulan çalışma, Sivas ilinde yetiştirilen ve ırk tescili yeni yapılmış Kangal Akkaraman ırkı koyunlarda Schmallenberg virusun varlığını bildiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Koyun, Schmallenberg virus, Seroprevalans.

Seroprevalence of Schmallenberg Virus Infection in Sheep in Sivas Province

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the seroprevalence of Schmallenberg virus infection with indirect ELISA method in Kangal Akkaraman breed in Sivas, Turkey. For this purpose, blood samples of 368 Kangal Akkaraman sheep, consisting of 255 ewes and 118 rams, aged between 1 and 4 years old were collected. Seroprevalence of infection was detected with a commercial indirect ELISA kits (IDEXX Schmallenberg Ab Test®, IDEXX, Switzerland) that were identified the presence of the Schmallenberg virus antibodies in serum samples. Only one animal was seropositive out of 368 animals (0.27 %). To the best of our knowledge, it's a novel report for presence of SBV infection in Kangal Akkaraman sheep, a breed whose first official herd book has only been established recently, in Sivas.

Keywords: ELISA, Sheep, Schmallenberg virus, Seroprevalence.

Giriş

Schmallenberg virus (SBV) enfeksiyonu, ilk kez Avrupa'da ruminantlarda saptanmış olup, *Culicoides* sp.'ndeki sokucu ve kan emici sinekler tarafından nakledilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Pawaiya ve ark., 2013; Tuncer ve Yeşilbağ, 2012). Hastalık sığırlarda; ateş, iştahsızlık, süt veriminde azalma, kondüsyon kaybı, abort ve arthrogryposis-hydranencephaly sendromlu buzağı doğumu, koyun ve keçilerde ise konjenital malformasyonlara bağlı ölü doğumlar ile karakterizedir (Doceul ve ark., 2013; Pawaiya ve ark., 2013). Schmallenberg virus, zarflı, 3 segmentli ve tek zincir RNA'ya sahip bir virustur. İlk pozitif örnek Almanya'nın "Schmallenberg" kasabasında belirlendiği için bu ismi almıştır (Hoffmann ve ark., 2011; Hoffmann ve ark. 2013; Pawaiya ve ark., 2013). Filogenetik analizler SBV'un, *Peribunyaviridae* ailesinde (Kuhn ve ark., 2017), *Orthobunyavirus* genusunda yer aldığını göstermiştir (Doceul ve ark., 2013; Pawaiya ve ark., 2013; Tuncer ve Yeşilbağ, 2012). Bugüne kadar sığır, koyun, keçi ve bizonlarda enfeksiyonun varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca alageyik ve

karacalarda antikor varlığı saptanmış olması bu hayvanların doğal enfeksiyona maruz kalmış olabileceğini düşündürmüştür. Simbu serogrubunda yer alan virusların geniş bir konakçı spektrumuna sahip olduğu değerlendirildiğinde, önümüzdeki yıllarda Schmallenberg virusuna duyarlı birçok hayvan türünün belirlenmesi olasıdır. Örneğin; Akabane virusu ruminantlar dışında at, eşek, domuz gibi hayvanları da enfekte edebilirken, Simbu serogrubundaki bazı virusların kanatlı hayvanlarda enfeksiyon oluşturabildiği ve deneysel olarak kemirgenleri enfekte edebildiği de bildirilmiştir (Tuncer ve Yeşilbağ, 2012).

SBV enfeksiyonu sokucu sinekler vektör aracılığıyla, özellikle de *Culicoides* türü sinekler ve sivrisineklerle bulaşır (Conraths ve ark., 2013; Pawaiya ve ark., 2013, Wernike ve ark., 2014). *C. obsoletus* complex, *C. dewulfi* ve *C. chiopterus*, *C. dewulfi*, *C. pulicaris* SBV açısından pozitif bulunmuş ancak sivrisinek ve kene gibi diğer artropodların taşıyıcılığına dair çalışmaya rastlanmamıştır (Doceul ve ark., 2013; Pawaiya ve ark., 2013). Boğa

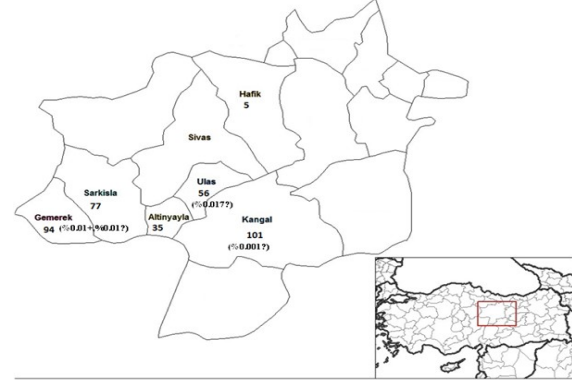
spermalarında SBV nükleik asidinin varlığı PCR ile gösterilmiş (Pawaiya ve ark., 2013) ve dişilere bulaşmada rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Hoffmann ve ark., 2013). Schmallerberg virusu şimdiye kadar Avrupa kıtasında bildirilmiştir. Öncelikle Almanya ve Hollanda'da başlayan vakaların daha sonraki dönemlerde, kuzeyde İngiltere'den İskoçya'ya kadar, Norveç'ten Finlandiya'ya, İsveç'ten İskandinavya bölgesine kadar yayıldığı bildirilmiştir. Ayrıca Estonya, Letonya, Macaristan ve Hırvatistan gibi doğu Avrupa bölgelerine yayılmıştır (Doceul ve ark., 2013; Tuncer ve Yeşilbağ, 2012). Avusturya'da 2012-2013 yıllarında yapılan taramalarda sığır (>% 98), küçük ruminant (% 58.3-95.6) ve vahşi ruminatlarda SBV enfeksiyonuna dair pozitiflik bildirilmiştir (Steinrigl ve ark., 2014). Türkiye'de yapılan çalışmalarda, Afyonkarahisar'da mandalarda, Adıyaman, Diyarbakır, Elazığ, Erzurum ve Sivas'da sığırlarda, Samsun ve Sinop'ta sığır, koyun ve keçilerde SBV seropozitifliği bildirilmiştir (Azkur ve ark., 2013). Ayrıca, patolojik örneklerde Rt-PCR yöntemiyle yapılan incelemelerde Lüleburgaz, Kırklareli ve Gelibolu'da SBV varlığı bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2014). SBV enfeksiyonunda etkilenen genç hayvan sayısı ve enfekte dişi hayvan sayısına bağlı olarak üretim ve ekonomi etkilenir. Eğer dişilerde erken embriyonik dönemde enfeksiyon olursa, erken embriyonik ölüm oluşacağından hayvan tekrar kızgınlık gösterip gebe kalabilir ve böylece çok fazla bir ekonomik kayıp oluşmayabilir (Lievaart-Peterson ve ark., 2012). Belçika'da SBV'nin ekonomik önemini değerlendirmek için yapılan saha çalışmalarında ortalama maliyet her bir hayvan için 40 ile 200 Euro olarak hesaplanmıştır (Martinelle ve ark., 2014).

Çalışmanın amacı, Sivas ilinde yetiştirilen Kangal Akkaraman ırkı koyun ve koçlarda Schmallerberg virus enfeksiyonunun indirekt Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemi ile seroprevalansının ortaya konulmasıdır. Schmallerberg virus ilk kez Avrupa'da 2011 yıllarında tanısı konulmuş yeni bir viral etken olup, Türkiye'deki yaygınlığı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sunulan çalışma ile daha önce Sivas bölgesinde sığırlarda belirlenmiş olan virusun varlığının koyunlarda olup olmadığının belirlenmesi ve epidemiyolojik açıdan veri oluşmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvan Materyali: Çalışma materyali olarak, Sivas ilinde yetiştirilen Kangal Akkaraman ırkı, 27 farklı sürüden, 1-4 yaş arasındaki toplam 368 adet

hayvandan (250 koyun, 118 koç) alınan kan örnekleri kullanıldı (Şekil 1.). Kan örnekleri 2015 Ocak ve Şubat ayı ile 2016 Kasım aylarında toplandı (Tablo 1.).



Şekil 1. Çalışmaya dahil edilen ilçeler ve ilçelerdeki numune dağılımı ile SBV seropozitif ve şüpheli hayvanların oranı.

Tablo 1. Sivas'ın numune alınan ilçeleri ve sürü sayıları.

İlçe	Sürü
Altınyayla	7
Gemerek	4
Kangal	8
Şarkışla	6
Ulaş	1
Hafik	1

Kan Örneklerinin Alınması: Tüm hayvanların *Vena jugularis*'inden 10 ml serum tüplerine kan örnekleri alındı. Örnekler 3000 devirde 15 dk santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve analizler yapılmaya kadar -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 13.05.2015 tarihli ve 15/18 numaralı etik kurul kararı ile onaylandı.

İndirekt ELISA: Schmallerberg virusuna spesifik antikorlar ticari bir ELISA kiti (IDEXX Schmallerberg Ab Test®, IDEXX, Switzerland) kullanılarak belirlendi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hayvanlardan 250 (% 67.9) dişi ve 118 (%32.1) erkek hayvandan örneklenen serumların yalnızca birinde (% 0.27) Schmallerberg virus spesifik antikor varlığı saptandı. Üç koyunda ise test sonucu şüpheli antikor pozitiflik belirlendi. SBV antikor pozitif ve 2 şüpheli antikor pozitif hayvan dişi, 1 şüpheli antikor pozitif hayvan ise erkekti. Sivas ilinde yapılan çalışmada

Schmallenberg virus seropozitiflik dağılımı Şekil 1.'de gösterildi.

Tartışma ve Sonuç

SBV varlığına ilişkin ilk bildirim kuzeybatı Almanya ve Hollanda'nın doğu bölgesinde yetişkin süt sığırlarında ortaya konulmuştur (Hoffmann ve ark., 2012). Avusturya'da 2012-2013 yıllarında yaptıkları taramalarda sığır (>% 98), küçük ruminant (% 58.3-95.6) ve vahşi ruminatlarda SBV açısından pozitiflik bildirilmiştir (Steinrigl ve ark., 2014). Belçika' da 2012 yılı Şubat-Nisan aylarında sığırların % 91'inde SBV'una karşı antikor olduğu belirlenmiştir (Garigliany ve ark., 2012). Belçika'da Kasım 2011 ve Nisan 2012 arasında 83 sürüden toplanan 1082 koyunda seroprevalans % 98.03 olarak belirlenmiştir (Meroc ve ark., 2014). Fransa'nın doğu ve kuzey bölgelerinde sığır ve koyunlarda yapılan seroprevalans çalışmalarında %36-100 arasında değişen oranlar görülmüştür (Doceul ve ark., 2013). Afrika'da Mozambik'te yapılan seroprevalans çalışmasında her bir sürüde çalışmaya alınan sığırların % 100, koyunların % 43-97 ve keçilerin % 72-100 oranında SBV pozitif olduğu bildirilmiştir (Blomström ve ark., 2014). Johnson ve ark. (2014), Güneybatı İrlanda'da SBV'nin yaygınlığını belirlemek üzere süt tanklarında örnekler almışlar ve 72 örnekten 9'unun pozitif 1 tanesinin şüpheli seropozitif olduğunu belirlemişlerdir. Balmer ve ark. (2014) İsviçre'de SBV'ye karşı oluşan antikor varlığını araştırdıkları çalışmada 2012 yılının Temmuz ayında 224 süt ineğinin ve Aralık ayında 211 süt ineğinden topladıkları süt örneklerinde sırasıyla % 19.7 ve % 99.5 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Türkiye' de Azkur ve ark. (2013) sığırlarda SBV seroprevalansını % 39.8, koyunlarda % 1.6, keçilerde % 2.5 ve mandalarda % 1.5 olarak bildirmişlerdir. Macun ve ark. (2017), Kırıkkale'deki koyunlarda yaptıkları çalışmada, seroprevalansını %0.38 olarak bildirmişlerdir. Macun ve ark. (2017)'nin sonuçlarına benzer şekilde, bu çalışmada, Sivas ilindeki Akkaraman ırkı koyunlarda SBV seroprevalansının (% 0.27) düşük olduğu belirlenmiştir. Türkiye'de SBV enfeksiyonuna dair sahada vaka bildirimiminin az olması SBV akut enfeksiyonunun klinik bulgusunun tipik olmaması ve çiftçilerin bu enfeksiyonu belirleyememesi olabilir. Bu çalışmadaki düşük prevalans oranının, Sivas ilinin sert karasal iklime sahip olması nedeniyle enfeksiyonu nakleden, özellikle *Culicoides* sp. Türü kan emen sokucu sinek yoğunluğunun az oluşu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca SBV enfeksiyonunu takiben

yaklaşık 12 ile 14 gün arasında antikor oluştuğu ve SBV ile doğal enfekte yetişkin sığırlarda oluşan spesifik antikorun serumda varlığının en az 2 yıl devam ettiği belirlenmiştir (Conraths ve ark., 2013; Elbers ve ark., 2014). Koyunlarda SBV ile doğal enfeksiyonda oluşan antikorların kalıcılığı ile ilgili literatüre rastlanamamış olmakla birlikte, bu çalışmada SBV pozitif seroprevalansın düşük olması ve üç şüpheli seropozitif örneğin olması zaman içerisinde mevcut antikorların titresindeki azalma ile açıklanabilir.

Sonuç olarak; Sivas ilinde Akkaraman ırkı koyunlarda SBV enfeksiyonunun düşük seroprevalans oranına sahip olduğu belirlenmiştir. SBV enfeksiyonu yönünde Sivas ilinde gelecekte yapılacak büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar ve enfeksiyonunun naklinde rol oynayan vektörlerin varlığı/dağılımının araştırılması mücadeleye katkı sağlayacaktır. Ayrıca, bu veriler kullanılarak ileride oluşabilecek endemilerin önlenmesi amacıyla enfeksiyon yönetim, denetim ve araştırma şemaları da oluşturulabilir.

Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TYL-15-6119 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Azkur AK, Albayrak H, Risvanli A, Pestil Z, Ozan E, Yılmaz O, Tonbak S, Cavunt A, Kadı H, Macun HC, Acar D, Özenç E, Alparslan S, Bulut H, 2013: Antibodies to Schmallenberg virus in domestic livestock in Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 45, 1825-1828.
- Balmer S, Vöggtlin A, Thür B, Büchi M, Abril C, Houmard M, Danuser J, Schwermer H, 2014: Serosurveillance of Schmallenberg virus in Switzerland using bulk tank milk samples. *Prev Vet Med*, 116(4), 370-379.
- Blomström AL, Stenberg H, Scharin I, Figueiredo J, Nhambirre O, Abilio AP, Fafetine J, Berg M, 2014: Serological screening Suggests presence of schmallenberg virus in cattle, sheep and goat in the Zambezia province, Mozambique. *Transbound Emerg Dis*, 61(4), 289-292.
- Conraths FJ, Peters M, Beer M, 2013: Schmallenberg virus, a novel orthobunyavirus infection in ruminants in Europe: Potential global impact and preventive measures. *N Z Vet J*, 61(2), 63-67.
- Doceul V, Lara E, Sailleau C, Belbis G, Richardson J, Bréard E, Viarouge C, Dominguez M, Hendriks P, Calavas D, Desprat A, Languille J, Comtet L, Pourquier P, Eléouët JF, Delmas B, Marianneau P, Vitour D, Zientara S, 2013: Epidemiology, molecular

- virology and diagnostics of Schmallenberg virus, an emerging orthobunyavirus in Europe. *Vet Res*, 44(1), 31.
- Elbers AR, Stockhofe-Zurwieden N, van der Poel WH, 2014: Schmallenberg virus antibody persistence in adult cattle after natural infection and decay of maternal antibodies in calves. *BMC Vet Res*, 10, 103.
- European Food Safety Authority, 2014: Schmallenberg virus: State of Art. *EFSA Journal*, 12(5), 3681.
- Fernández-Aguilar X, Pujols J, Velarde R, Rosell R, López-Olvera JR, Marco I, Pumarola M, Segalés J, Lavín S, Cabezón O, 2014: Schmallenberg Virus circulation in high mountain ecosystems, Spain. *Emerg Infect Dis*, 20(6), 1062-1064.
- Garigliany MM, Bayrou C, Kleijnen D, Cassart D, Desmecht D, 2012: Schmallenberg virus in domestic cattle, Belgium, 2012. *Emerg Infect Dis*, 18, 1512-1514.
- Hoffmann B, Scheuch M, Hoper D, Jungblut R, Holsteg M, Schirrmeyer H, Eschbaumer M, Goller KV, Wernike K, Fischer M, Breithaupt A, Mettenleiter TC, Beer M, 2012: Novel Orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. *Emerg Inf Dis*, 18, 469-472.
- Hoffmann B, Schulz C, Beer M, 2013: First detection of Schmallenberg virus RNA in bovine semen, Germany, 2012. *Vet Microbiol*, 167(3-4), 289-95.
- Johnson A, Bradshaw B, Boland C, Ross P, 2014: A bulk milk tank study to detect evidence of spread of Schmallenberg virus infection in the south-west of Ireland in 2013. *Ir Vet J*, 67(1), 11.
- Kuhn JH, Maes P, Alkhovskiy S, Beer M, Briese T, Buchmeier M, Calisher C, Charrel R, Choi I, Clegg SC, De la Torre J, DeRisi LJ, Digiario M, Ebihara H, Emonet S, Elbeaino T, Gonzalez JP, Haenni AL, Jain R, Zhou X, 2017: Taxonomic expansion and reorganization of the order Bunyavirales. ICTV [International Committee for Taxonomy of Viruses] Proposal (Taxoprop) No. 2017.012M.
- Lievaart-Peterson K, Luttikholt SJM, Van den Brom R, Vellema P, 2012: *Schmallenberg virus* infection in small ruminants- first review of the situation and prospects in Northern Europe. *Small Rumin Res*, 106, 71-76.
- Macun HC, Azkur AK, Kalender H, Erat S, 2017: Kırıkkale'de yetiştirilen koyunlarda Schmallenberg virüs seroprevalansı ve bazı coğrafi özelliklerle ilişkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 93-97.
- Martinelle L, Dal Pozzo F, Gauthier B, Kirschvink N, Saegerman C, 2014: Field veterinary survey on clinical and economic impact of Schmallenberg virus in Belgium. *Transbound Emerg Dis*, 61(3), 285-288.
- Meroc E, De Regge N, Riocreux F, Caij AB, van den Berg T, van der Stede Y, 2014: Distribution of Schmallenberg virus and seroprevalence in Belgian sheep and goats. *Transbound Emerg Dis*, 61(5), 425-431.
- Pawaiya RSV, Gupta VK, 2013: A review on Schmallenberg virus infection: A newly emerging disease of cattle, sheep and goats. *Vet Med*, 8(10), 516-526.
- Steinrigl A, Schiefer P, Schleicher C, Peinhopf W, Wodak E, Bagó Z, Schmoll F, 2014: Rapid spread and association of Schmallenberg virus with ruminant abortions and foetal death in Austria in 2012/2013. *Prev Vet Med*, 116(4), 350-359.
- Tuncer P, Yeşilbağ K, 2012: Schmallenberg virus: Ruminantlarda görülen yeni bir hastalık etkeni. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 1, 63-71.
- Wernike K, Conraths F, Zanella G, Granzow H, Gache K, Schirrmeyer H, Valas S, Staubach C, Marianneau P, Kraatz F, Höreth-Böntgen D, Reimann I, Zientara S, Beer M, 2014: Schmallenberg virus- two years of experiences. *Prev Vet Med*, 116(4), 423-34.
- Yılmaz H, Hoffmann B, Turan N, Cizmecigil UY, Richt JA, Van der Poel WH, 2014: Detection and partial sequencing of Schmallenberg virus in cattle and sheep in Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 14(3), 223-225.

***Yazışma Adresi:** Öznur ASLAN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.
e-mail: oznuratalay@gmail.com

Bazı Kaba Yemlere Farklı Seviyelerde İlave Edilen Söğüt Ağacı (*Salix Alba*) Yaprığının *In Vitro* Sindirim ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi**

Ahmet ORUÇ¹, Mehmet AVCI^{2*}

¹Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2018

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Özet: Bu araştırma, ruminant beslenmesinde yaygın olarak kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı oranlarda (% 0, % 10, % 25, % 50, % 75 ve % 100) eklenen söğüt ağacı (*Salix alba*) yaprağının (SAY) *in vitro* metan gazı oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Farklı oranlarda SAY eklenmiş deneme yemleri *in vitro* gaz tekniği ile 24 saatlik inkubasyona bırakılmıştır. *In vitro* gaz üretim tekniği ile 24 saat içerisinde meydana gelen gaz bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazına özel bir düzenele enjekte edilerek metan gazı miktarları ölçülmüştür. SAY'da kuru maddede 105 g/kg seviyesinde kondanse tanen içeriği belirlenmiştir. En düşük metan üretimi buğday samanına % 50 ve 75, yonca kuru otuna ve mısır silajına % 75 seviyelerinde SAY ilave edilen gruplarda elde edilmiştir (P<0.05). En düşük amonyak azot değeri, yonca kuru otuna % 50 ve % 75 seviyelerinde SAY eklenen gruplarda saptanmıştır (P<0.001). Ancak buğday samanına eklenen SAY amonyak azot değerini yükseltmiştir (P<0.01). Sonuç olarak SAY'nın kaba yemlere eklenmesi, *in vitro* denemelerinde metan gazı oluşumunu düşürmüştür. SAY ilavesi metabolik enerji (ME) değerleri ile *in vitro* organik madde sindirilme derecesini (İVOMS) buğday samanında artırırken, yonca kuru otu ve mısır silajında düşürmüştür. Ayrıca SAY'nın hayvan performansı üzerindeki etkisinin ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Söğüt ağacı yaprağı, Metan, *In vitro* sindirilebilirlik.

The Effect of Willow Tree (*Salix Alba*) Leafs Added at Different Levels to Some Roughages on *In Vitro* Digestibility and Methane Production

Abstract: This study was carried out to investigate the effect of willow tree leaves (*Salix alba*) added at different levels (0 %, 10 %, 25 %, 50 %, 75 % and 100 %) to grass forage, wheat straw, alfalfa forage and maize silage on the *in vitro* methane production. Methane production after 24 h incubation of the roughages were measured by injection of the produced gas samples into a special apparatus connected to computer. Condensed tannin content of willow tree leaves was determined as 105 g/kg dry matter. The lowest methane production was determined in the groups of wheat straw added with 50 and 75% willow tree leaves as well as in the groups of alfalfa hay and corn silage added with 75 % willow tree leaves (P<0.05). The lowest ammonia nitrogen level was observed for alfalfa forage in the treatment group containing 50 and 75 % willow tree leaves (P<0.001). However addition of willow tree leaves to wheat straw increased the ammonia nitrogen value in all treatment groups compared to control group (P<0,01). As a conclusion addition of the willow tree leaf to roughages decreased *in vitro* methane production. Metabolic energy value and *in vitro* dry matter digestibility of wheat straw were increased while these values were decreased in alfalfa roughage and corn silage by addition of willow tree leaf. Further *in vivo* studies are required in order to determine the effect of willow tree leaf addition on animal performance.

Keywords: Willow leaf, Methane, *In vitro* digestibility.

Giriş

Yemde bulunan toplam enerjinin yaklaşık %12'si ruminal fermantasyon sırasında metana (CH₄) çevrilerek ruktus yoluyla doğaya salınır (Thornton ve Owens, 1981). Hayvansal üretimin önemli bir sektör haline gelmesi ile birlikte sera gazlarının atmosferdeki miktarında ciddi artışlar gözlemlenmiştir (Houghton ve ark., 1992). Başta ruminantlar olmak üzere bazı hayvanlarda sindirim sürecinde yan ürün olarak meydana çıkan metan, organik maddelerin bakteriler tarafından yıkılmasından da meydana gelmektedir. Rumendeki fermantasyonun yanı sıra gübre boşaltma ve

depolama işlemleri de metanın en önemli kaynaklarıdır (Jarvis ve ark., 1995). Atmosfere salınan bir yıllık metan gazının %16.4'ünün, ruminant hayvanlar ile hayvanların gübresinden meydana geldiği belirtilmektedir. Bu %16.4'lük değer küresel ısınmaya sebep olan bütün sera gazlarının aşağı yukarı %2.9'unu meydana getirmektedir (Johnson ve ark., 1992). Ruminantlarda meydana gelen metan gazının küresel ısınmaya olan etkisinin yanı sıra, rumende metabolize olan ve yemlerle alınan yem enerjisinin takriben %12'si metan oluşumu nedeniyle

kaybedilmektedir. Geçmiş zamanlarda bu enerji kaybını önlemek için rumendeki ortamı gram negatif (-) bakteriler lehine döndürerek metan gazı üretimini baskılayan iyonofor grubu antibiyotikler ruminant rasyonlarına ilave edilmiştir. Ancak Türkiye’de ve Avrupa Birliği ülkelerinde hayvan yemlerinde antibiyotik kullanımı yasak olduğundan iyonoforların metan gazı üretimini baskılamak için kullanılması mümkün olmamaktadır. Bu yüzden araştırmacılar rumen kaynaklı metan gazı üretimini ve dolayısıyla enerji kaybını önlemek için bitki ve bitkisel kaynaklı katkıları üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Bu doğrultuda bitki, bitki ekstraktları ve bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar rumen mikrobiyal fermentasyonu ve besin maddeleri kullanım etkinliğini iyileştirmektedir (Busquet ve ark., 2005). Söğüt ağacı, söğütgiller (*Salicaceae*) familyasına bağlı söğüt (*Salix*) cinsi içerisinde yer alan bodur çalı veya uzun boylu ağaç halinde, çoğunlukla kışları yaprak döken odunsu ağaçlardır. Söğüt ağacının kabuklarından salisin adı verilen madde elde edilmekte, insan ve hayvanlar tarafından vücut içinde metabolize edilerek Aspirinin aktif maddesi olarak bilinen salisilik asit’e dönüştürülmektedir (Anonim, 2016). Türkiye’de yetişen söğüt ağaç türlerinin kurumuş dalların kabuğunda %15 dolaylarında tanen bulunmakta olup kuvvet verici, yatıştırıcı, peklilik yapıcı, antiromatizmal ve ateş düşürücü tesirlere sahiptir (Baytop, 1984). Ülkemizde bilhassa söğüt ve meşe ağaçlarında var olan tanenler hemostatik, peklilik yapıcı ve astrenjan (doku ya da mukoza büzücü) tesirlerinin yanında, alkaloid bulunduran bitkiler ile zehirlenme olaylarında antidot maksadıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Radeleff, 1970; Şener ve Yıldırım, 2000).

Bu araştırma kapsamında, ruminant rasyonlarında çok kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı düzeylerde ilave edilen SAY’ın (*Salix alba*) *in vitro* organik madde sindirimi ve metan (CH₄) oluşumuna etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan yonca kuru otu, buğday samanı ile mısır silajı Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden temin edilmiştir. Çalışmadaki SAY, söğüt ağacının yeşil yapraklarından taze olarak temin edilmiştir. Taze söğüt yaprakları gölgede kurutularak öğütülmeye hazır hale getirilmiştir. Araştırmada, kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu, mısır silajı ve söğüt yaprakları 1 mm’lik eleklerden geçecek şekilde bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür. SAY ve test yemlerinin

ham kül, ham protein, kuru madde analizleri AOAC (2005)’e, NDF (Neutral Detergent Fibre) ve ADF (Asit Detergant Fibre) analizleri Van Soest ve ark. (1991)’nin bildirdikleri yöntemle yapılmıştır. SAY’ın kondanse tanen miktarının belirlenmesi Makkar ve ark. (1995) tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır. Yem maddelerinin (yonca kuru otu, buğday samanı ve mısır silajı) her birine katkısız (kontrol), %10, %25, %50, %75 ve %100 düzeyinde SAY ilave edilmiş ve her seviye 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Araştırmada, Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen gaz üretim tekniği kullanıldı. Bu yöntemin temeli, yemlerin, rumen sıvısı ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu oluşan gaz miktarının ölçülmesine dayanır. Elde edilen sonuçlar yem maddelerinin metabolik enerji (ME) ve *in vitro* organik madde sindirilebilirlik (İVOMS) düzeylerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Elde edilen gaz içerisindeki CH₄ yüzdesi bilgisayara bağlı metan gazı ölçüm cihazı (Sensors Analysentechnik GmbH&Co. KG, Berlin, Germany) yardımıyla belirlenmiştir. Enjektörlerde kalan rumen sıvısı ve yem karışımı 4 katlı tülbenkten süzülerek pH değerleri okunmuş, bu numunelerde NH₃-N analizlerinin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda eksi 20 °C’de bekletilmiştir. Rumen sıvısının NH₃-N değerleri Markham distilasyon yöntemi ile tespit edilmiştir (Markham, 1942).

Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi SPSS 13.0 programında tek yönlü varyans (ANOVA) analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların önemi, Duncan çoklu karşılaştırma testiyle belirlendi (SPSS, 2004).

Bulgular

Çalışmada kullanılan SAY’daki tanen içeriğinin 105 g/kg KM olduğu tespit edilmiştir. Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı oranlarda SAY ilave edilmesinin *in vitro* gaz üretimi, İVOMS, ME, CO₂, CH₄, pH ve NH₃-N düzeylerine etkileri tablo1, 2 ve 3’de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bitkilerin, parazitlere karşı kendilerini korumak amacıyla sentezledikleri bioaktif metabolitler arasında flavanoidler, alkaloidler, karotenoidler, tanenler, fenolik bileşikler, eterik yağlar ve saponinler bulunur (Kaçar, 2008). Bitkilerin yapraklarında bulunan tanenlerin mayalar, küfler, bazı virüsler ve bakteriler üzerinde antimikrobiyel etkileri bulunmaktadır. Tanenlerin antimikrobiyel etkisi; mikroorganizmaların enzimler veya

substratlarıyla farklı bileşikler teşkil edip, hücre zarlarında toksik etki yaparak bakteriler üzerinde bakterisid ve bakteriyostatik etki oluşturmasıyla gerçekleşir (Akiyama ve ark., 2001; Scalbert, 1991). Meyve ve sebzelerde var olan fenolik bileşiklerin antioksidan tesirleri bilhassa redoks niteliklerinden ve iyi bir hidrojen vericisi olmalarından kaynaklanmaktadır (Banerjee ve ark., 2005; Başer, 2002). Yapılmış *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, bahsedilen metabolitleri yoğun olarak bulunduran bir takım bitki ekstraktlarının rumende amonyak, laktik asit ve metan oluşumunu düşürdüğü, asetatin propiyonata oranını düşürerek rumende bulunan UYA (uçucu yağ asitleri) profilini hayvanın lehine dönüştürdüğü ortaya konulmuştur (Cardozo ve ark., 2004; Castillejos ve ark., 2008). Rumende, karbon içeren ve mikrobiyal fermantasyon sonucu şekillenen bütirik ve asetik asitin mikroorganizmalar tarafından üretimi sırasında, hidrojen meydana gelmektedir. Rumende oluşan hidrojen ise metanojenik mikroorganizmalarca CO₂ ile birleştirilerek CH₄'a dönüştürülmektedir (Houghton ve ark., 1992). Bütirik ve asetik asit üretilmesinden farklı olarak, propiyonik asidin üretilmesi sırasında ortamda bulunan hidrojen iyonları kullanılmaktadır (Newbold ve ark., 1988; Yost ve ark., 1977). Bu nedenle UYA profilinin propiyonik asit lehine dönüştürülmesi, yemden alınan enerjinin ruminantlar tarafından daha fazla kullanılmasını sağlamaktadır. Tanenler, proteinlerle ve diğer makro moleküllerle beraber çaprazlama bağlar oluşturabilmektedir (Hagerman ve ark., 1992; Kamalak ve ark., 2005; Silanikove ve ark., 2001). Tanenler, selülozu parçalayan mikroorganizmalar üzerinde baskılayıcı etki oluşturarak asetatin meydana gelişini düşürürler. Böylece metan gazının oluşumu için gerekli olan hidrojen iyonları ile karbondioksitin üretimini sınırlamaktadırlar (Patra ve Saxena, 2009; Waghorn, 2008). Yapılan bu çalışmada kullanılan SAY'ndaki tanen içeriğinin 105 g/kg KM olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan SAY'nın içerdiği tanen seviyesi metan üretimini düşürebilecek seviyededir. Araştırmada metan gazı üretimi, buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen SAY düzeyine bağlı olarak %27.70 ile 14.51 arasında değişmiştir. Yonca kuru otu ve mısır silajına yapılan SAY katkı düzeyine paralel olarak CH₄ gazının oluşumu önemli düzeyde azalırken (P<0.001) buğday samanı grubunda CH₄ gazı oluşumundaki düşüş P<0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur. CO₂ ve CH₄ gazları, rumende bulunan yemlerin fermantasyonu neticesinde oluşan hidrojen (H⁺) iyonu ve UYA'lerini kullanan metanojenik mikroorganizmalar tarafından meydana getirilmektedir (Benchaar ve Greathead, 2011; Busquet ve ark. 2006). Rumende bulunan

metanojenik bakteriler, SAY'ndaki tanenin antimikrobiyel özelliklerinden dolayı sayıca azalma göstermektedirler. Böylece rumende CH₄ gazın meydana gelişini azalmaktadır (Benchaar ve Greathead, 2011). Benzer şekilde Canbolat ve ark. (2010) rumen içeriğine 800 mg /lt kekik yağı, Evans ve Martin (2000) ise 400 µg /ml seviyesinde timol ilavesinin CH₄ gazı oluşumunu baskıladığını bildirmişlerdir. Agarwal ve ark. (2009) CH₄ gazı oluşumu üzerindeki etkisini belirlemek için 0.33, 1 ve 2 µl/ml nane yağının rumen sıvısına ilavesinin CH₄ gaz oluşumunu %19.9, %46.0 ve %75.6 seviyelere düşürdüğünü bildirmişlerdir (P<0.01). Busquet ve ark. (2006) da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/lt düzeyinde kekik yağı ilavesinin CH₄ gazı oluşumunu düşürdüğünü saptamışlardır. Canbolat ve ark. (2011) rumen içeriğine kekik yağı ile nane yağı eklenmesinin CO₂ ve CH₄ gazlarını önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir. Macheboeuf ve ark. (2008) rumen içeriğine 246 mg/l tarçın yağı eklenmesinin CH₄ gaz üretimini %13 seviyesinde azalttığını bildirmişlerdir. Chaves ve ark. (2008), rumen içeriğine 400 ile 500 mg/l düzeyinde karanfil yağı ilave etmişler ve bu düzeyde ilave edilen karanfil yağın CH₄ gazı oluşumunu düşürdüğünü (%30 ile %35) belirlemişlerdir. Bu çalışmada, daha önce yapılmış çalışmalar gibi metan gazı oluşumunu düşürdüğü gözlenmiş olup, bunun nedeni, SAY'ndaki tanenin, rumende bulunan metanojenik bakterileri baskılayarak metan gazı üretimini azalttığı düşünülmektedir.

Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen SAY'nın İVOMS üzerine olan etkisi bu çalışmada saptanmış olup değerler %45.93 ile %63.01 arasında değişmiştir. Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen söğüt ağacı yapraklarının İVOMS üzerine olan etkileri ile ilgili sonuçlara bakıldığında, İVOMS değerlerinin buğday samanında önemli derecede artış gösterdiği, yonca kuru otu ve mısır silajında ise azaldığı tespit edilmiştir (P<0.001). Sonuçlar buğday samanına ilave edilen SAY'nın, ME seviyesine etkisi bakımından değerlendirildiğinde ME değerinin arttığı, ancak yonca kuru otu ve mısır silajının ise ME değerlerini düşürdüğü belirlenmiştir (P<0.001). Yonca kuru otu, mısır silajı ve buğday samanına ilave edilen söğüt yapraklarının bu yem hammaddelerinin kuru madde ham protein miktarını belirgin bir şekilde artırdığı belirlenmiştir (P<0.001). Bu artışın sebebi olarak SAY'nın ham protein oranının, yonca kuru otu, mısır silajı ve buğday samanıdan yüksek olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Araştırmada, söğüt ağacı yapraklarının *in vitro* gaz üretim miktarını, samanda belirgin bir şekilde artırırken, yonca kuru otu ve mısır silajında azalttığı

gözlenmiştir ($P < 0.001$). Söğüt ağacı yapraklarının, yonca kuru otu ve mısır silajında *in vitro* gaz üretimini azaltmasını, tanenlerin ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyel etkisi nedeni ile (Benchaar ve ark., 2007; Calsamiglia ve ark., 2007; Evans ve Martin, 2000), rumen mikroorganizmalarının miktarında ve akvitelerinde sınırlamaya (Newbold ve ark., 2004) ve bakteriler üzerinde antimikrobiyel etkide bulunmasına bağlanılabilir. Yapılmış birçok çalışmada da (Agarwal ve ark., 2009; Kamalak ev ark., 2011) esansiyel yağların (portakal, kekik, timol, nane) *in vitro* gaz üretimini düşürdüğü bildirilmektedir.

Rumen sıvısının pH seviyesi ise tüm kaba yem grupları dikkate alındığında 6.93 ile 7.04 aralığında değişiklik göstermiş olup, SAY katkı seviyeleri

arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). En yüksek pH değerleri kontrol gruplarında saptanmıştır. Yonca kuru otu ve buğday samanı SAY katkı seviyesindeki artışa paralel şekilde pH'daki düşüş, rumende alkali ortamın kaynağını meydana getiren protein yıkılımının az olması ile açıklanabilir. Mısır silajına SAY'ın katkı seviyesine paralel olarak pH değeri yükselmiştir. Çalışmada belirlenen pH seviyeleri değişik esansiyel yağlarla çalışan Busquet ve ark. (2005), Calsamiglia ve ark. (2007) ile Canbolat ve ark. (2010)'nın bulgularıyla benzer bulunmuştur. P^H bulguları portakal yağı, nane yağı ve kekik yağıyla çalışmalar yapan Canbolat ve ark. (2011)'nin bildirdikleri sonuçlar ile de uyumludur.

Tablo 1. Buğday samanına farklı oranlarda SAY (*Salix Alba*) ilavesinin ham besin madde (% KM) içerikleri, *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	155.29 ^e	161.10 ^{de}	165.21 ^d	176.20 ^c	189.89 ^b	197.41 ^a	3.31	**
CH ₄ %	17.00 ^a	16.76 ^a	16.00 ^a	14.64 ^b	14.51 ^b	14.11 ^b	0.31	*
NH ₃ -N mg/dl	19.11 ^b	22.56 ^a	24.45 ^a	24.99 ^a	25.41 ^a	25.60 ^a	0.63	**
pH	7.03 ^a	6.98 ^c	7.00 ^b	6.99 ^{bc}	6.99 ^{bc}	6.97 ^c	0.01	***
KM%	95.85 ^a	95.75 ^b	95.61 ^c	95.36 ^d	95.12 ^e	94.87 ^f	0.07	***
IVOMS %KM	45.93 ^c	46.18 ^c	49.14 ^b	49.23 ^b	56.24 ^a	56.19 ^a	0.90	***
ME MJ/kg KM	6.83 ^d	6.92 ^d	7.33 ^c	7.50 ^c	8.74 ^b	8.95 ^a	0.18	***
HP %KM	3.59 ^f	4.78 ^e	6.57 ^d	9.54 ^c	12.2 ^b	15.49 ^a	0.88	***
ADF %KM	48.33 ^a	46.29 ^b	43.24 ^c	38.15 ^d	33.05 ^e	27.96 ^f	1.51	***
NDF %KM	77.37 ^a	72.96 ^b	66.34 ^c	55.31 ^d	44.27 ^e	33.24 ^f	3.27	***
HK %KM	12.18 ^a	11.88 ^b	11.42 ^c	10.67 ^d	9.91 ^e	9.15 ^f	0.23	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (-): $P > 0.05$, (*): $P < 0.05$, (**): $P < 0.01$, (***): $P < 0.001$.

Tablo 2. Yonca kuru otuna farklı seviyelerde SAY (*Salix Alba*) ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	238.42 ^a	212.36 ^b	196.61 ^{cd}	190.24 ^d	202.11 ^c	189.89 ^d	3.67	***
CH ₄ %	27.70 ^a	21.76 ^b	21.15 ^b	17.00 ^c	15.49 ^d	14.11 ^d	0.98	***
NH ₃ -N mg/dl	35.21 ^a	32.70 ^a	32.74 ^a	27.06 ^b	27.95 ^b	22.56 ^c	0.98	***
pH	7.04 ^a	7.01 ^b	7.01 ^b	7.00 ^b	6.99 ^b	6.97 ^c	0.01	***
KM %	92.63 ^f	92.85 ^e	93.19 ^d	93.75 ^c	94.31 ^b	94.80 ^a	0.17	***
IVOMS %KM	63.84 ^a	59.09 ^b	56.57 ^{cd}	55.71 ^d	58.09 ^{bc}	56.19 ^d	0.61	***
ME MJ/kg KM	9.95 ^a	9.21 ^b	9.19 ^{bc}	8.95 ^{bd}	8.86 ^d	8.78 ^d	0.09	***
HP %KM	12.99 ^f	13.24 ^e	13.62 ^d	14.24 ^c	14.87 ^b	15.49 ^a	0.19	***
ADF %KM	34.74 ^a	34.06 ^b	33.05 ^c	31.35 ^d	29.66 ^e	27.96 ^f	0.50	***
NDF %KM	38.14 ^a	37.65 ^b	36.92 ^c	35.69 ^d	34.47 ^e	33.24 ^f	0.36	***
HK %KM	9.55 ^a	9.51 ^b	9.45 ^c	9.35 ^d	9.25 ^e	9.15 ^f	0.30	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (***) : $P < 0.001$.

Tablo 3. Mısır silajına farklı seviyelerde SAY (*Salix Alba*) ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	248.92 ^a	238.35 ^b	210.90 ^c	211.64 ^c	200.05 ^d	189.89 ^e	4.40	***
CH ₄ %	27.24 ^a	23.01 ^b	22.44 ^b	20.67 ^c	16.69 ^d	14.11 ^e	0.92	***
NH ₃ -N mg/dl	30.44 ^a	28.72 ^a	28.09 ^a	27.17 ^a	26.47 ^a	22.56 ^b	0.69	***
pH	6.98 ^a	6.93 ^c	6.95 ^{bc}	6.98 ^a	6.96 ^{ab}	6.97 ^{ab}	0.01	***
KM %	92.90 ^f	93.01 ^e	93.39 ^d	93.89 ^c	94.38 ^b	94.87 ^a	0.08	***
IVOMS % KM	63.01 ^a	60.72 ^b	56.86 ^{cd}	58.01 ^c	56.98 ^{cd}	56.19 ^d	0.53	***
ME MJ/kg KM	9.57 ^a	9.19 ^b	8.67 ^d	8.95 ^c	8.91 ^c	8.95 ^c	0.06	***
HP % KM	6.69 ^f	7.57 ^e	8.89 ^d	11.09 ^c	13.29 ^b	15.49 ^a	0.65	***
ADF % KM	32.50 ^a	32.05 ^b	31.37 ^c	30.23 ^d	29.10 ^e	27.96 ^f	0.34	***
NDF % KM	57.61 ^a	55.17 ^b	51.52 ^c	43.43 ^d	39.33 ^e	33.24 ^f	1.81	***
HK % KM	6.90 ^f	7.13 ^e	7.46 ^d	8.03 ^c	8.59 ^b	9.15 ^a	0.17	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (***) : $P < 0.001$.

Bütün gruplar dikkate alındığında rumen içeriği $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarı 19.11-35.21 mg/dl aralarında değişmiştir. En yüksek $\text{NH}_3\text{-N}$ SAY içermeyen yonca ve mısır silajı gruplarında, en düşüğü ise 19.11 mg/dl ile söğüt yaprağı bulunmayan buğday samanı grubunda saptanmıştır. Yonca kuru otu ve mısır silajı gruplarındaki rumen içeriği $\text{NH}_3\text{-N}$ seviyesindeki azalma, tanenlerin öncelikle rumende bulunan mikroorganizmalarının etkinliğini azaltması ile aminoasitlerin deaminasyonunun önlenmesinden kaynaklanmaktadır (Mcintosh ve ark., 2003). Yapılan bir araştırmada bitkilerde var olan tanenlerin doğru dozda kullanılması durumunda rumende parçalanmış protein miktarını düşürerek, ince bağırsağa geçen by pass protein miktarlarını yükselttiği bildirilmiştir (Carulla ve ark., 2005). Ruminantlarda $\text{NH}_3\text{-N}$ şeklinde azot kaybının önlenmesi, verim kayıpları ve atmosfere CH_4 ile $\text{NH}_3\text{-N}$ gazları salınımlarını düşürerek çevre kirliliğini önleyebileceği bildirilmektedir (Calsamiglia ve ark., 2007; Tamminga, 1996). Wallace ve ark. (2002), rumende $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumunun düşmesinin beslenme açısından faydalı olduğunu bildirmişlerdir. Busquet ve ark. (2006) da rumen içeriğine sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/l düzeylerinde kekik yağı ilavesinin $\text{NH}_3\text{-N}$ düzeyini %30-50 aralarında düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Agarwal ve ark. (2009) rumen içeriğine eklenen nane yağının amonyak seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Canbolat ve ark. (2011)'ı rumen içeriğine 400 mg/l kekik yağı, portakal yağı ve nane yağı ilave edilmesinin $\text{NH}_3\text{-N}$ 'nu kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır. Bu çalışmada $\text{NH}_3\text{-N}$ parametresi ile ilgili olarak ortaya çıkan sonuçlar yukarıda sayılan çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Bir başka çalışmada Hristov ve ark. (2008) kısa süre zarfında *in vitro* inkübasyon denemelerinde, adaçayı ve biberiye yağlarının 10 ve 100 mg/l dozlarının ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu üzerine istatistikî açıdan etkilerinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada saptanan $\text{NH}_3\text{-N}$ düzeyleri, kekik yağının farklı dozları (0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/l rumen sıvısı) ile çalışan Busquet ve ark. (2005)'nın bulgularından yüksek, timolun farklı dozları (0, 5, 50, 500 ve 5000 mg/l rumen sıvısı) ile çalışan Castillejos ve ark. (2006)'nın bulgularıyla benzerdir.

Bu araştırma sonuçlarına göre, SAY'nın kaba yemlere eklenmesi ile $\text{NH}_3\text{-N}$, CH_4 , İVOMS ve ME parametrelerinde önemli gelişmeler görülmüştür. Ruminant beslemede küresel ısınmaya sebep olan sera gazlarının azaltılması hem çevre hem de ruminantlarda CH_4 'dan kaynaklanan enerji kaybının azaltılması günümüzde önem arz eden konuların başında gelmektedir. Ruminant kaynaklı sera gazı

oluşumunun düşürülmesi, ruktusla CH_4 kaynaklı enerji kaybının azaltılması ve rumende $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumunun düşürülmesi ruminant hayvanların beslenmesi açısından faydalı olacağı düşüncesiyle SAY'nın ruminant rasyonlarında kullanılması önemli bir fayda sağlayacaktır. Fakat rasyonlara eklenecek SAY'nın hayvansal üretim ve yem tüketimi üzerine etkisinin bütünüyle ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Karma DN, 2009: Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol*, 148, 321-327.
- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, 2001: Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487-491.
- Anonim, 20016: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Söğüt>, Erişim Tarihi; 09.05.2016.
- AOAC, 2005: Official Methods of Analysis of AOAC international, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Banerjee A, Dasgupta N, De B, 2005: *In vitro* study of antioxidant activity of syzgium cumini fruit. *Food Chemistry*, 90, 727-733.
- Başer CHK, 2002: Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, Bildiriler (29-31 Mayıs), Eskişehir.
- Baytop T, 1984: Türkiye' de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255, Eczacılık Fakültesi No:40, 93, 167, 169, 195, 275, 327-330, 357, 382, 420.
- Benchaar C, Greathead H, 2011: Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim Feed Sci Technol*, 166-167, 338-355.
- Benchaar C, Petit HV, Berthiaume R, Ouellet DR, Chiquette J, Chouinard PY, 2007: Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, 90, 886-897.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C, 2006: Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 89, 761-771.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C, 2005: Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci Technol*, 123-124, 597-613.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A, 2007: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 90, 2580-2595.

- Canbolat Ö, Kalkan H, Karaman Ş, Filya İ, 2011: Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(4): 557-565.
- Canbolat Ö, Karaman Ş, Filya İ, 2010: Farklı Kekik Yağı Dozlarının Yemlerin Sindirimi ve Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(6): 933-939.
- Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A, Camel C, 2004: Effects of Natural Plant Extracts on Ruminant Protein Degradation and Profiles in Fermentation Continuous Culture. *J Anim Sci*, 82, 3230-3236.
- Carulla JE, Kreuzer M, Machmüller A, Hess HD, 2005: Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust J Agric Res*, 56, 961-970.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, 2006: Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *J Dairy Sci*, 89, 2649-2658.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Martin-Tereso J, 2008: Ter Wijlen H, In vitro evaluation of effects of essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Anim. Feed Sci Technol*, 145, 259-270.
- Chaves AV, He ML, Yang WZ, Hristov AN, McAllister TA, Benchaar C, 2008: Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Can J Anim Sci*, 88, 117-122.
- Evans JD, Martin SA, 2000: Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340.
- Hagerman EA, Robbins TC, Weerasuriya Y, Wilson CT, McArthur C, 1992: Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45 (1): 57-62.
- Houghton JT, Callander BA, Varney SK, 1992: Climate Change, The Supplementary Report to the IPCC Scientific Assessment, NY, USA: Cambridge University Press.
- Hristov AN, Ropp JK, Zaman S, Melgar A, 2008: Effects of essential oils on in vitro ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology* 144, 55-64.
- Jarvis SC, Lovell RD, Panayides R, 1995: Patterns of methane emissions from excreta of grazing animals. *Soil Biol Biochem*, 27 (12): 1581-1588.
- Johnson DE, Hill TM, Ward GM, 1992: Methane emissions from cattle; global warming and management issues, In Proc. Minnesota Nutr.Conf., Minnesota Ext.Serv., Univ. Minnesota, St Paul.
- Kaçar D, 2008: Screening of some plant species for their total antioxidant and antimicrobial activities. Master thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Kamalak A, Canbolat O, Ozkan CO, Atalay AI, 2011: The effect of essential oil (Thymol) supplementation on in vitro gas production profiles and fermentation end products of alfalfa hay. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(2): 211-216.
- Kamalak A, Canbolat Ö, Gürbüz Y, Özay O, Erer M, Özkan ÇÖ, 2005: Kondanse Taninin Ruminant Hayvanlar Üzerindeki Etkileri Hakkında Bir İnceleme. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(1): 132-137.
- Macheboeuf D, Morgavi DP, Papon Y, Mousset JL, 2008: Arturo- Schaan M. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Anim Feed Sci Technol*, 145, 335-350.
- Makkar HPS, Blummel M, Becker K, 1995: Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. *Br J Nutr*, 73, 897-913.
- Markham R, 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem J*, 36, 790.
- Mcintosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, Newbold CJ, 2003: Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. *Appl Environ Microbiol*, 69(8): 5011-5014.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28, 7-55.
- Newbold CJ, McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, 2004: Effect of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 114, 105-112.
- Newbold CJ, Wallace RJ, Watt ND, Richardson AJ, 1988: The effect of the novel ionophore tetronasin (ICI 139603) on ruminal microorganisms. *Appl Environ Microbiol*, 54, 544-547
- Patra AK, Saxena J, 2009: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96, 363-375.
- Radeleff RD, 1970: Veterinary Toxicology. Philadelphia, Lea&Febiger, 33.
- Scalbert A, 1991: Antimicrobial properties of tannin. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Silanikove N, Perevoltsky A, Provenza FD, 2001: Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postgestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 69-81.
- SPSS, 2004: Windows User's Guide. Version 13.0, SPSS Inc., Michigan Ave., Illinois, USA., Chicago.
- Şener S, Yıldırım M, 2000: Veteriner Toksikoloji. Teknik Yayıncılık, 221-223.
- Tammaing S, 1996: A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci*, 74, 3112-3124.
- Thornton JH, Owens FN, 1981: Monensin supplementation and in vitro methane production by steers. *Journal of Animal Science*, 52, 628-634.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods for dietary fiber, Neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74, 3583-3597.

- Waghorn GC, 2008: Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Anim Feed Sci Technol*, 147, 116-139.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh M, Teferedegne B, Newbold CJ, 2002: Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust J Anim Sci*, 15(10): 1458-1468.
- Yost WM, Young JW, Schmidt SP, McGilliarg AD, 1977: Gluconeogenesis in ruminants: Propionic acid production from a high-grain diet fed to cattle. *Journal of Nutrition*, 107, 2036-2043.

**Bu araştırma makalesi "Bazı kaba yemlere farklı seviyelerde ilave edilen söğüt ağacı (*salix alba*) yaprağının *in vitro* sindirim ve metan oluşumu üzerine etkisi" isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

***Yazışma Adresi:** Mehmet AVCI

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail: mavci@harran.edu.tr

Yonca Kuru Otu ve Süt Sığırı Rasyonuna Zeolit ve Meşe Palamudu İlavesinin *In Vitro* Organik Madde Sindirimi ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi**

Zeynettin ECE¹, Mehmet AVCI^{2*}

¹Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2018

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Özet: Bu çalışma, süt sığırı rasyonu (SSR) ve yonca kuru otuna (YKO) farklı seviyelerde ilave edilen meşe palamudu, meşe palamudu + zeolit'in metan (CH₄) gazı oluşumu, *in vitro* organik madde sindirimi (İVOMS), metabolik enerji (ME) değeri ve rumen amonyak azotu (NH₃-N) üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. YKO ve SSR 'na %0 (kontrol), %2.5, %5, %10 meşe palamudu ve aynı seviyelere %2.5 zeolit ilave edilerek toplam 16 grup oluşturulmuştur. Farklı seviyelerde meşe palamudu ve meşe palamudu + zeolit ilave edilmiş SSR ve YKO *in vitro* gaz üretim tekniği ile 24 saatlik inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda oluşan toplam gaz içerisindeki CH₄ ve karbondioksit (CO₂) gazı oranları özel bir cihaz ile ölçülmüştür. SSR ve YKO için en düşük CH₄ %10 meşe palamudu grubundan elde edilmiştir (P<0.001). SSR'ü ve YKO'na ilave edilen palamut seviyesiyle orantılı olarak 24. saat rumen sıvısı NH₃-N değeri azalırken İVOMS ve ME değerleri artmıştır (P<0.001). Sonuç olarak meşe palamudu ilavesinin, rumende yıkılan protein miktarını azaltarak, by pass proteinleri, İVOMS ve ME değerini artırabileceği ve yüksek düzeyde kullanıldığında CH₄ gazı üretimini azaltabileceği kanısına varılmıştır. Çalışma sonuçları dikkate alındığında meşe palamudu ve zeolitin hayvan performansı üzerine etkilerinin anlaşılmasında *in vivo* çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Meşe palamudu, Metan, Zeolit, *In vitro* sindirilebilirlik.

Effect of Zeolite and Acorn Added to Alfalfa Hay and Dairy Cattle Ration on *In Vitro* Organic Matter Digestibility and Methane Production

Abstract: This study was conducted to determine the effects of acorn and acorn+zeolite mixture added to dairy cattle ration and alfalfa hay on *in-vitro* methane production, *in-vitro* organic matter digestion, metabolic energy value, rumen ammonia nitrogen and nutrient composition. Sixteen groups were formed by adding 0% (control), 2.5%, 5%, 10% acorn in combination with 2.5% zeolite to alfalfa hay and dairy cattle ration. Feed samples added with different levels of acorn and acorn-zeolite mixture were incubated in glass tubes for 24 hours using *in-vitro* gas production technique. After 24 hours, methane and carbon dioxide gas levels were determined by a methane measuring device. The lowest methane production for dairy cattle ration and alfalfa hay were observed in the group added with 10% acorn (P<0.05). Along with the levels of acorn, ammonia nitrogen values were decreased, while *in-vitro* organic matter digestion and metabolic energy values increased (P<0.001) for dairy cattle ration and alfalfa hay. Consequently, it was concluded that, acorn might increase the by-pass proteins, *in-vitro* organic matter digestion and metabolic energy value by decreasing the degradation of feed protein in rumen, and decrease methane production if it is added in a high level. Besides, effects of acorn and zeolite on animal performance should be investigated by *in-vivo* studies.

Keywords: Acorn, Zeolite, Methane, *In vitro* digestibility.

Giriş

İklim değişikliği ve küresel ısınma, dünyadaki canlıların yaşamını tehlikeye düşürebilecek çok büyük bir problem olarak bilinmektedir (Sağlam ve ark., 2008). Sanayi ve hayvancılığın gelişmesine bağlı olarak açığa çıkan sera gazları (CO₂, CH₄, N₂O, O₃, CFCs) küresel ısınmaya sebep olmaktadır (Çepel, 2003). Ruminatlar tarafından yemle alınan toplam enerjinin %2-12'si metan üretimi nedeniyle kaybedilmektedir (Canbolat ve ark., 2011). Yetişkin sığırların rumenlerinde bir günde meydana gelen metan gazı yaklaşık 300 litre olarak kabul

edilmektedir (Breves ve Leonhard, 2000). Metan gazında bulunan enerjiden ruminant hayvanlar faydalanamaz ve geçirmeyle (ruktus) dışarıya atılır. Bundan dolayı, metan gazı hem ekonomik hem de ekolojik sorunlara sebep olmaktadır. (Öztürk, 2008). Tanenler yapı olarak kondanse ve hidrolize olmak üzere iki grupta incelenir. Hidrolize olan tanenlerin temel yapısı ise gallik asittir. Yapısında kondanse tanen bulunan bitkilerin metan oluşumunu düşürdüğüne dair araştırmalar yapılmıştır (Animut ve ark., 2008; Woodward ve ark., 2002). Hidrolize

yapılı tanenler direkt metan gazı oluşturan mikroorganizma ile hidrojen molekülünü üreten bakterilere etki etmektedirler. Kondanse tanenler selüloz sindirimini düşürerek metan gazını azaltır (Goel ve Makkar, 2012). Yeme, kuru maddenin %0.025 seviyesinde ilave edilen akasya bitkisi kaynaklı tanenin metan gazı oluşumunu %13 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir (Carulla ve ark., 2005). Başka bir çalışmada ise kaba yeme %20 seviyede akasya bitkisi eklenmesinin metan gazı oluşumunu önemli ölçüde düşürdüğü bildirilmiştir (Hariadi ve Santoso, 2010). Saponinler yem maddesi olarak kullanılan birçok bitkide bulunan glikozit yapıdaki bileşikler olup özellikle protozoaların üremesine olumsuz etkileri nedeniyle metan gazı oluşumunu baskı altına almaktadır (Patra, 2010). Bu maddeler, metanın oluşması için gerekli olan hidrojen iyonunun meydana gelmesini sınırlandırarak metan oluşumunu düşürmektedir (Guo ve ark., 2008). Koyunlarda yapılan çalışma sonucuna göre, saponin kapsayan bitkilerin (*Yucca schidigera*, *Sapindus saponaria*, tannik asit) rasyolarına ilave edilmesi metan gazı oluşmasını %10-27 düzeyinde azaltmıştır (Doreau ve ark., 2011).

Türkiye'deki ormanlarda önemli bir yer tutan meşe ağaçları her yıl önemli miktarda palamut üretmesine rağmen yetişen palamutlar değerlendirilmemektedir. Ülkemizde 18 farklı meşe türü mevcuttur. Meşe türlerinin meyvesi olarak bilenen palamut, geçmişten beri yem maddesi olarak hayvanlara verilmektedir. Kabuğu soyulmuş olan palamud'un azotsuz öz madde bakımından zengin olduğu bilinmektedir. Meşe palamudu %5 ila %8 civarında tanen içerir. Tanenlerin neden olduğu acı tad giderildiğinde özellikle koyun, keçi ve domuzların beslenmesinde kullanılabilir. Bununla beraber tavşan, kanatlı, sığır ve atların beslenmeleri için yemlerine katılabilir (Akyıldız, 1986). Dünyada koyun ve keçiler, meşe palamudu ve yapraklarıyla beslenerek besin madde ihtiyaçlarının büyük bir kısmını temin etmektedir. Bununla birlikte meşe yaprağı ve palamudunun tanen içeriğinin fazla olması sebebiyle sınırlı miktarda kullanılabilir. Meşe yaprağı ve palamudunda bulunan tanenlerin, toksik maddelerle birleşerek bu toksik maddelerin kana geçmesini önlediği bilinmektedir. Bu nedenle meşe palamudu, bakır, kurşun, alkaloidler ve bunların tuzları ile oluşan toksikasyonlara karşı antidot olarak kullanılabilir (Ikhimioya ve ark., 2008). Adsorban olarak yeme katılan zeolit, ruminant yemlerindeki en önemli etkisi üre metabolizmasında görülmektedir. Üre metabolizmasında, rumende meydana gelen amonyağı adsorbe ederek rumen

mikroorganizmalarının mikrobiyal proteini üretmesi için gerekli amonyağın kesintisiz şeklinde rumen ortamında bulunmasını sağlamaktadır (Çolpan ve Yalcın, 1986; Diaz ve ark., 2004; Filya ve ark., 1999). Zeolit rumende oluşan fazla amonyağı adsorbe ederek hayvanda oluşabilecek amonyak toksitesini önlerler. Zeolitin amonyağı adsorbe ederek vücuttan fazla azot atılımının da önüne geçildiği ve dolayısıyla genç ruminantlarda büyümeyi teşvik ettiği de ileri sürülmektedir (Diaz ve ark., 2004; Filya ve ark., 1999; Petkova ve ark., 1983).

Bu çalışma, ruminant hayvanlar tarafında üretilen ve atmosfere salınan sera gazlarının düşürülmesini araştırmak amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla SSR ve YKO'na farklı seviyelerde ilave edilen meşe palamudu, meşe palamudu + zeolit katkısının metan gazı oluşumu, İVOMS, ME değeri, rumen NH₃-N parametreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan süt yemi, saman özel bir işletmede ve yonca kuru otu Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan meşe palamutları Şanlıurfa Siverek ilçesinin Karpuzcu köyünden toplanmıştır. Araştırmada kullanılan zeolit özel bir şirketten temin edilmiştir. Çalışmada, kullanılan yonca, palamut ve süt sığırı rasyonu 1 mm elekten geçebilecek biçiminde laboratuvar değirmeninde öğütülerek çalışma için uygun büyüklüğe getirildi. Araştırma yemleri ve meşe palamudunun ham besin madde içerikleri (kuru madde, ham protein ve ham kül) AOAC (1984)'e, ADF ve NDF analizleri ise Van Soest ve ark. (1991)'a göre yapılmıştır. Meşe palamudunun kondanse tanen içeriklerinin belirlenmesi Makkar ve ark. (1995) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır. YKO'yu ve SSR na %0 (kontrol), %2.5, %5, %10 meşe palamudu ve aynı seviyelere %2.5 zeolit ilave edilerek toplam 16 muamele ve her muamelede 4 tekerrür olacak şekilde düzenlenmiştir. Çalışmada, Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen gaz üretim tekniği kullanıldı. Bu yöntemin temeli yemlerin, rumen sıvısı ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu oluşan gaz miktarının ölçülmesine dayanır. Elde edilen sonuçlar, yem maddelerinin İVOMS ve ME içeriğinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Elde edilen gaz içerisindeki CH₄ bilgisayara bağlı metan gazı ölçüm cihazı (Sensors Analysetechnik GmbH&Co. KG, Berlin, Germany) yardımıyla belirlenmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra şırıngalarda kalan rumen sıvısı 4 katlı tülbenkten süzülerek pH

değerleri okunmuştur. Rumen sıvılarından alınan örnekler NH₃-N (amonyak azotu) analizlerinin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda -20 °C muhafaza edilmiştir. Rumen sıvısının NH₃-N analizi Markham distilasyon yöntemi ile belirlenmiştir (Markham, 1942).

Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi SPSS 13.0 programında tek yönlü varyans (ANOVA) analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların önemi Duncan çoklu kıyaslama testiyle belirlendi (SPSS, 2004).

Bulgular

Yonca Kuru otu ve süt sığırı rasyonuna farklı seviyelerde meşe palamudu ve zeolit ilave edilen grupların besin madde bileşimleri Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan yonca kuru otu ve süt sığırı rasyonuna farklı seviyelerde katılmış meşe palamudu ve meşe palamudu + zeolit karışımına ait *in vitro* gaz üretimi, CH₄ ve CO₂ gazlarının miktarları, *in vitro* rumen amonyak azotu, pH değeri, İVOMS ve ME değerleri sırasıyla Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

Tablo 1. Farklı seviyelerde meşe palamudu ve zeolit ilavesi yapılan süt rasyonu ve yonca kuru otunun besin madde içeriği.

	%HP KM	%HK KM	%ADF KM	%NDF KM
YKO%100	12.99	10.27	34.74	38.14
YKO97.5+Pa2.5	12.76	10.07	33.97	37.70
YKO95+Pa5	12.52	9.87	33.19	37.26
YKO90+Pa10	12.06	9.48	31.65	36.38
YKO97.5+Z2.5	12.67	12.51	33.87	37.19
YKO95+Pa2.5+Z2.5	12.43	12.31	33.10	36.75
YKO92.5+Pa5+Z2.5	12.20	12.12	32.33	36.30
YKO87.5+Pa10+Z2.5	12.13	11.72	30.78	35.42
SSR%100	13.57	7.25	36.10	66.71
SSR97.5+Pa2.5	13.32	7.13	35.29	65.55
SSR95+Pa5	13.07	7.00	34.49	64.40
SSR90+Pa10	12.58	6.76	32.87	62.09
SSR97.5+Z2.5	13.23	9.57	35.20	65.04
SSR95+Pa2.5+Z2.5	12.98	9.45	34.39	63.89
SSR92.5+Pa5+Z2.5	12.73	9.32	33.58	62.73
SSR87.5+Pa10+Z2.5	12.24	9.08	31.97	60.42
Pa%100	3.65	2.33	3.81	20.50

SSR:Süt sığırı rasyonu, Pa: Palamut,YKO: Yonca kuru otu, Z: Zeolit, KM: Kuru madde; HK: Ham kül; HP: Ham protein, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, NDF: Nötral deterjanda çözünmeyen lif,

Tablo 2. Yonca Kuru otuna farklı seviyelerde ilave edilen meşe palamudu ve zeolit gaz oluşumuna, metan oluşumuna, karbondioksit, metabolik enerji, amonyak azotu ve *in vitro* organik madde sindirim derecesi üzerine etkisi.

	Gaz ml/g KM	%CH ₄	%CO ₂	%IVOMS, KM	NH ₃ -N, mg/dl	ME MJ/kg KM	pH
YKO%100	203,56 ^d	14,71 ^a	83,47 ^b	57,57 ^c	18,92 ^a	8,97 ^d	6,97 ^a
YKO97.5+Pa2.5	210,80 ^{cd}	14,87 ^a	83,37 ^b	58,86 ^{bc}	18,80 ^a	9,12 ^{cd}	6,92 ^{ab}
YKO95+Pa5	213,47 ^{bcd}	15,35 ^a	82,92 ^b	58,87 ^{bc}	17,41 ^a	9,07 ^d	6,91 ^b
YKO90+Pa10	223,88 ^{bc}	14,84 ^a	83,51 ^b	61,07 ^b	16,68 ^{ab}	9,49 ^b	6,84 ^c
YKO97.5+Z2.5	203,70 ^d	14,74 ^a	83,46 ^b	57,48 ^c	18,73 ^a	8,90 ^d	6,93 ^{ab}
YKO95+Pa2.5+Z2.5	210,88 ^{cd}	15,07 ^a	83,17 ^b	58,64 ^{bc}	18,60 ^a	9,11 ^{cd}	6,91 ^b
YKO92.5+Pa5+Z2.5	214,94 ^{bcd}	14,92 ^a	83,35 ^b	59,36 ^{bc}	17,49 ^a	9,17 ^{bcd}	6,90 ^b
YKO87.5+Pa10+Z2.5	226,06 ^b	14,71 ^a	83,64 ^b	61,11 ^b	14,79 ^b	9,46 ^{bc}	6,89 ^{bc}
Pa%100	291,30 ^a	12,67 ^b	86,06 ^a	68,48 ^a	7,56 ^c	10,37 ^a	6,72 ^d
SEM	4,50	0,15	0,17	0,58	0,75	0,08	0,08
P	***	***	***	***	***	***	***

Pa: Palamut,YKO: Yonca kuru otu , Z: Zeolit, a,b,c,d,e: Aynı sütünde farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur.,*** : (P<0.001) CH₄: Metan, CO₂: Karbondioksit, IVOMS: İn vitro organik madde sindirimi, NH₃-N: Amonyak azotu ME: Metabolik enerji.

Tablo 3. Süt sığırı rasyonuna farklı seviyelerde ilave edilen meşe palamudu ve zeolit gaz üretimine, metan üretimine, karbondioksit, metabolik enerji, amonyak azotu ve *in vitro* organik madde sindirim derecesine etkisi.

	Gaz ml/g KM	%CH ₄	%CO ₂	% IVOMS KM	NH ₃ -N mg/dl	ME MJ/kg KM	pH
SSR100	221,34 ^b	15,76 ^{ab}	82,57 ^{cd}	60,68 ^b	18,840 ^a	9,55 ^b	6,84 ^{ab}
SSR97.5+Pa2.5	222,05 ^b	14,56 ^c	83,76 ^b	60,93 ^b	17,267 ^{abc}	9,49 ^b	6,81 ^{bc}
SSR95+Pa5	223,71 ^b	14,86 ^{bc}	83,48 ^b	61,10 ^b	16,067 ^{bc}	9,52 ^b	6,81 ^{abc}
SSR90+Pa10	225,03 ^b	15,64 ^{ab}	82,71 ^{cd}	60,98 ^b	14,800 ^{cd}	9,50 ^b	6,80 ^{bc}
SSR97.5+Z2.5	221,78 ^b	15,89 ^a	82,44 ^d	60,64 ^b	17,707 ^{ab}	9,48 ^b	6,85 ^a
SSR95+Pa2.5+Z2.5	222,01 ^b	15,71 ^{ab}	82,62 ^{cd}	60,68 ^b	16,560 ^{abc}	9,44 ^b	6,83 ^{abc}
SSR92.5+Pa5+Z2.5	224,80 ^b	15,29 ^{abc}	83,07 ^{bcd}	61,41 ^b	15,613 ^{bcd}	9,58 ^b	6,81 ^b
SSR87.5+Pa10+Z2.5	232,01 ^b	14,65 ^c	83,78 ^b	62,22 ^b	13,387 ^d	9,64 ^{ab}	6,80 ^c
Pa%100	291,30 ^a	12,67 ^d	86,06 ^a	68,48 ^a	7,560 ^e	10,37 ^a	6,72 ^a
SEM	3,86	0,18	0,20	0,47	0,65	0,06	0,04
P	***	***	***	***	***	***	***

SSR:Süt sığırı rasyonu, Pa: Palamut, Z: Zeolit,a,b,c,d,e: Aynı sütünde farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur, ***: (P<0.001) CH₄: Metan, CO₂: Karbondioksit, IVOMS: İn vitro organik madde sindirimi, NH₃-N:Amonyak azotu, ME: Metabolik enerji.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada meşe palamudu için tespit edilen ham protein, ham kül ADF, NDF ve kondanse tanen içerikleri bazı araştırmacıların bulgularıyla uyumlu bulunmuştur (Boubaker ve ark., 2007; Kamalak ve ark., 2004; Rababah ve ark., 2008; Sariçiçek ve Kılıç., 2002; Yıldız ve ark., 2002). Araştırmada kullanılan YKO'u ve SSR'nun besin madde bileşimleri Tablo 1'de verilmiştir. Yonca kuru otunun ham besin maddeleri bileşimi yoncanın kalitesine ve vejetasyon dönemine göre değişebilmektedir (Canbolat ve Karaman, 2009; Filya ve ark., 2002). YKO'u ve SSR'na katılmış meşe palamudu seviyesine paralel olarak ADF, NDF ve HP değerlerinin düştüğü tablo 1'de görülmektedir.

Araştırmada SSR'na katılan meşe palamudu + zeolit metan üretimini azalttığı belirlenmiştir (P<0.01). Rumende metan gazı oluşumunun düşmesi, tanenlerin metanojenik mikroorganizmaların hücrelerinde bulunan protein ve enzimlere bağlanarak oluşturdukları bakterisid ya da bakteristatik etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Tavendale ve ark., 2005). Tanenler ayrıca rumendeki protozoaları etkileyerek metan oluşumunu düşürücü yönde tesir etmektedirler. Tanenler selülozun rumende parçalanmasını sağlayan bakterilerin gelişimlerine etki ederek asetik asitinin meydana gelmesini düşürür, bu sebeple rumende metan gazı meydana gelmesi için gereksinim duydukları hidrojen iyonu ile karbondioksitin meydana gelmesini sınırlandırdığı ifade etmektedir (Patra ve Saxena, 2009; Waghorn, 2008). Carulla ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarında rasyona kuru madde yüzdesi %0.025 seviyesinde akasya bitkisi orijinli tanen eklenmesinin metan gazı oluşumunu %13 düzeyinde düşürdüğünü belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada

kaba yeme %20 seviyesinde akasya bitkisi katılmasının metan gazı oluşumunu önemli derecede düşürdüğü bildirilmiştir (Hariadi ve Santoso, 2010). Jahani-Azizabadi ve ark. (2009) yonca bitkisine, kuru madde esasına göre %4 seviyesinde biberiye eklenmesinin *in vitro* metan üretimini istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğünü ifade etmişlerdir. Kestane ağacından ekstrakte edilen tanenle yapılan araştırmada, *in vitro* gaz üretimindeki toplam CH₄ gazı oluşumunu azaltıcı etki yaptığı bildirilmiştir (Sliwinski ve ark., 2002). Yapılan başka bir çalışmada meşe palamutlarının düşük miktarda kondense tanen içerdiğinden geniş getiren hayvanlar için faydalı olabileceğini belirtmiştir (Kaya, 2012). Yapılan bu çalışmada YKO ve SSR'na meşe palamudu ve meşe palamudu + zeolit ilavesinin rumende NH₃-N miktarını istatistiksel olarak önemli düzeyde azalttığı tespit edilmiştir (P<0.001). Holstein ırkı sığırlara günlük olarak verilen 100 g ve 200 g öğütülmüş okaliptüs yaprağının rumen sıvısındaki NH₃-N miktarı ve metan üreten toplam bakteri sayısını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azalttığı bildirilmiştir (Manh ve ark. 2012). Thao ve Wanapat'ın (2013) yaptıkları *in vivo* çalışmada, rasyona hayvan başına günlük 40 ve 80 g öğütülmüş okaliptüs yaprağı ilave edildiğinde rumen sıvısı NH₃-N düzeyini etkilemediğini 120 g okaliptüs yaprağı katıldığında ise NH₃-N düzeyini istatistiksel açıdan azalttığı belirlemişlerdir. Birçok bitkide bulunan tanenlerin uygun miktarda kullanıldığında rumende yıkılan protein miktarını azaltarak duodona geçen miktarı arttırdığı bildirilmiştir (Carulla ve ark., 2005).

Meşe palamudu ve zeolit kuru yonca otunun İVOMS'ne etkisi %57.57 ile %61.11 arasında değişmiştir. En yüksek İVOMS %10 meşe palamudu (%61.07) ve %10 meşe palamudu + %2.5 zeolit

gruplarında (%61.11) elde edilirken, en düşük İVOMS yonca kuru otu (kontrol) grubunda (%57.57) saptanmıştır ($P < 0.001$). Meşe palamudu + zeolitin ilavesine bağlı olarak, İVOMS ve ME içeriğindeki artış, rumen fermentasyonuna olan olumlu etkisi ile açıklanabilir (Benchaar ve ark., 2007; Calsamiglia ve ark., 2007). Yapılan araştırmalarda zeolitin besi hayvanı rasyonlarına %1.5-15 seviyelerinde katıldığında hayvan sağlığını bozmadan, hayvanların canlı ağırlığını arttırdığı bildirilmiştir (Pond, 1989). Yapılan başka bir araştırmada, zeolit rasyona ilave edildiğinde yemden yararlanma oranını iyileştirdiği ve yem tüketimi üzerinde olumsuz etki yapan aflatoksinlerin zararlı etkilerini düşürdüğü, hayvanların karaciğerlerinde biriken mikotoksin miktarlarını azalttığı ve hayvanın genel durumunu iyileştirip, ince bağırsaklarda mannanoligosakkarit üretimini arttırdığı bildirilmektedir (Papaioannou ve ark., 2004; Parlat ve ark., 1999). Çolpan ve ark. (1995) yaptığı çalışmada besiyeye alınan sığırların konsantre yemine %1.5 oranında doğal zeolit eklenmesinin besi performansı ile karkas ve kesim özelliklerini olumlu yönde etkilediğini belirlemiştir. Besi rasyonuna %2 seviyesinde doğal zeolit eklenmesi canlı ağırlığı arttırmış, yemi tüketimi ve yemden yararlanmayı iyileştirmiştir (Toker ve Köknaroglu, 2004). Kuzu rasyonlarına %2-4 oranlarında doğal zeolit katılması canlı ağırlığı, kandaki üre ve amonyak azotu seviyelerini yükselttiği, rumen sıvısında üre ve amonyak azotu seviyelerini ise düşürdüğü tespit edilmiştir (Filya ve ark., 1999). Bederski ve ark. (1992) yaptıkları araştırmada meşe yaprağı (*Quercus turbinella*) tüketmeye alışmış olan keçilerin rumeninde OM sindirilebilirliğinin meşe yaprağı tüketmeye alışmayanlara göre daha yüksek ve hızlı olduğunu bildirmişlerdir. Moujahed ve ark. (2005) yaptığı çalışmada, meşe palamudunun arpayla %50 oranında ikame edilebileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak SSR'na ve YKO'na ilave edilen meşe palamudu ve zeolit, İVOMS ve ME değerinde artışa ve CH₄ gazı oluşumunu azaltabileceği kanısına varılmıştır. Çalışma sonuçları dikkate alındığında meşe palamudu ve meşe palamudu + zeolit katkılarının hayvan performansı üzerine etkilerinin anlaşılmasında in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Akyıldız AR, 1986: Yemler Bilgisi ve Teknolojisi. A. Üniv. Zir. Fak. Yay: 868, Ders Kitabı: 234. A. Üniv. Basımevi, Ankara, S 411.
- Animut G, Goetsch AL, Puchala PR, Sahlü T, Varel VH, Wells J, 2008: Methane emission by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from lespedeza. *Anim Feed Sci Technol*, 144,212-227.
- AOAC, 1984: Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemist, Inc. Arlington, USA.
- Bederski HJ, Rice RW, Gomes HS, Ruyle G, Cuneo SP, 1992: Adaptation of goat rumen microflora to tannin rich shrub live oak (*Quercus turbinella*). *American Society of Animal Science*,43, 352-353.
- Benchaar C, Petit HV, Berthiaume R, Ouellet DR, Chiquette J, Chouinard PY, 2007: Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*,90, 886-897.
- Boubaker AG, Abdouli H, Khelil H, Mouhbi R, Tayaci L, 2007: Nutritional value of cork oak acorn (*Quercus Suber L.*) as an ernergy source for growing goats. *Asian Journal Of Animal and Veterinary Advances*, 2 (1): 32-37.
- Breves G, Leonhard-Marke S, 2000: Verdauungsvorgänge in den Vormägen, in: W. V. Engelhardt and G. Breves. *Physiologie der Haustiere*. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 345-354.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A, 2007: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 90, 2580-2595.
- Canbolat Ö, Karaman Ş, 2009: Bazı baklagil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirimi, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. *Tar Bil Der*, 15 (2): 188-195.
- Canbolat, Ö, Kalkan, H, Karaman, Ş, Filya, İ,2011: Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 17 (1): 557-565.
- Carulla JE, Kreuzer M, Machmüller A, Hess HD, 2005: Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust J Agric Res*,56, 961-970.
- Çepel N, 2003:Ekolojik Sorunlar ve Çözümleri, Tübitak PopülerBilim Kitapları, Ankara.
- Çolpan İ, Yalcın S, 1986: Zeolit içeren rasyonların erkek merinos kuzularında yapağı özelliklerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 33(2): 262-272.
- Çolpan İ, Tuncer ŞD, Önoel A, Yıldız G, 1995: Limozin X Jersey (F1) Melezi Tosunlarda Zeolitin Besi Performansı ve Karkas Özelliklerine Etkisi. *Lalahan Araş Enst Dergisi*, 35 (3-4): 26-43.
- Diaz DE, Hagler WM, Blackwelder JT, Eve JA, Hopkins BA, Anderson KL, Jones FT, Whitlow LW, 2004: Aflatoxin binders II: reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathol*, 157(2): 233-241.
- Doreau M, Martin C, Morgavi DP, Eugene M, 2011: Reducing methane emission in ruminants: is it an achievable goal. In: Ranilla MJ (ed), Carro MD (ed), Ben Salem H (ed), Morand-Fehr P (ed). *Challenging strategies to promote the sheep and goat sector in the current global context*. Zaragoza, Spain, Universidad de Leon, CIHEAM, CSIC, pp. 65-73.

- Filya İ, Karabulut A, Canbolat O, Değirmencioğlu T, Kalkan H, 2002: Bursa bölgesinde yetiştirilen yem hammaddelerinin besleme değeri ve hayvansal organizmada optimum değerlendirme koşullarının in vivo ve in vitro yöntemlerle saptanması üzerinde araştırmalar. *Uludağ Üniv Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi*,25, 1-16, Bursa.
- Filya İ, Karabulut A, Ak İ, Akgunduz V, 1999: Entansif kuzu besisinde zeolit kullanılmasının kuzuların besi performansı ile bazı kan ve rumen sıvısı metabolitleri üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*,39, 39-48.
- Goel G, Makkar HPS, 2012: Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, a status review. *Trop Anim Health Prod*, 44,729-739.
- Guo YQ, Liu JX, Lu Y, Zhu WY, Denman SE, McSweeney CS, 2008: Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of mcrA gene, in cultures of rumen micro-organisms. *Lett Appl Microbiol*, 47, 421-426.
- Hariadi BT, Santoso B, 2010: Evaluation of tropical plants containing tannin on in vitro methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *J Sci Food Agric*, 90, 456-461.
- Ikhemioya I, Isah AO, Akhidenor KO, Otite E, 2008: Dry matter degradation parameters of tropical tree foliages eaten by West African dwarf sheep. *J App Anim Res*, 33,153-158.
- Jahani-Azizabadi H, Danesh Mesgaran M, Vakili AR, Heravi Moussavi ARS 2009: Screening the activity of medicinal plants or spices on in vitro ruminal methane production. *J Anim Sci*,87 E-Suppl. 2/ *JDairy Sci*,92: E-Suppl. 1, 277-2787.
- Kamalak A, Canbolat O, Ozay O, Aktas S, 2004: Nutritive value of oak (*Quercus* spp.) leaves. *Small Ruminant Research*, 53, 161-165.
- Kaya E, 2012: Farklı meşe türünden elde edilen palamutların potansiyel besleme değeri. Yüksek lisans, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Makkar HPS, Blummel M, Becker K, 1995: Formation of complete between Polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycol and tannins and their implication in gas production and true digestibility in in vitro technique. *Br J Nutr*,73, 897-913.
- Manh NS, Wanapat M, Uriyapongson S, Khejornsart P, Chanthakhoun V, 2012: Effect of eucalyptus (*Camaldulensis*) leaf meal powder on rumen fermentation characteristics in cattle fed on rice straw. *African Journal of Agricultural Research*,7(14): 2142-2148
- Markham R. 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem J*,36, 790.
- Menke KH, Steingass H1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*,28, 7-55.
- Moujahed N, Ben Mustapha C, Kayouli C, 2005: Effect of Barley Replacement by Acorns (*Quercus Coccifera* L.) as Energy Supplement on In Vitro Fermentation. 11th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on Sheep and Goat Nutrition. Italy, Catania (I), September 8-10.
- Öztürk H, 2008: Ruminant beslemesinde probiyotik mayalar. *Veteriner Hekimler Derneği Derg*,79(3): 37-42.
- Papaioannou DS, Kyriakis CS, Alexopoulos C, Tzika ED, Polizopoulou ZS, Kyriakis SC 2004: A Field Study on the Effect of Dietary Use of a Clinoptilolite-rich tuff, Alone or in Combination with Certain Antimicrobials, on the Health Status and Performance of Weaned, Growing and Finishing Pigs. *Research in Veterinary Science*, 76(1): 19-29.
- Parlat SS, Yıldız AO, Oğuz H, 1999: Effect of Clinoptilolite on Performance of Japanese Quail (*C. coturnix japonica*) During Experimental Aflatoxicosis. *Brit Pol Sci*, 40, 495-500.
- Patra AK, 2010: Meta-analyses of effects of phytochemicals on digestibility and rumen fermentation characteristics associated with methanogenesis. *J Sci Food Agric*, 90, 2700-2708.
- Patra AK, Saxena J, 2009: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*,(96):363-375.
- Petkova E, Venkov T, Stanchev KH, 1983: Effect of Bulgarian potassium-calcium zeolites on the assimilation of macro and trace elements in lambs. *Vet Med Nauki*, 20 (8):36-40
- Pond WG, 1989: Effects of Dietary Protein Level and Clinoptilolite on the Weight Gain and Liver Mineral Response of Growing Lambs to Copper Supplementation. *Journal of Animal Science*, 67, 2772-2781.
- Rababah TM, Ereifej KI, Al-Mahasneh MA, 2008: Alhamad MN, Alrababah MA, Muhammad AH, The Physicochemical Composition Of Acorns For Two Mediterranean *Quercus* Species. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*,4(2): 131-137.
- Sağlam NE, Düzgüneş E, Balık İ, 2008: Küresel Isınma ve İklim Değişikliği. *Su Ürünleri Dergisi*, 25.1.
- Sarıççek BZ, Kılıç Ü, 2002: Meşe palamutunun yem değerinin belirlenmesi üzerine bir çalışma. *Hayvansal Üretim*, 43(1): 32-44.
- Sliwinski BJ, Soliva CR, Machmüller A, KreuzerM, 2002: Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Anim Feed Sci and Tech*, 101, 101-114.
- SPSS, 2004: Windows User's Guide. Version 13.0, SPSS Inc., Michigan Ave., Illinois, USA., Chicago.
- Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S, 2005: Methane production from in vitro rumen incubation with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim Feed Sci Technol*, 123-124, 403-419
- Thao NT, Wanapat M, 2013: Effect of eucalyptus leaf meal supplementation on feed intake ruminal ecology and microbial protein synthesis of swamp buffaloes. *Khon Kaen Agr J*, 41(1): 75-79.

Toker TM, Köknaroğlu H, 2004: Zeolitin ve Besi Başı Ağırlığının İsviçre Esmeri Danaların Feedlot Performansı Üzerine Etkileri. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Eylül, Isparta, 405-40.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*,74, 3583-3597.

Waghorn GC, 2008: Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *AnimFeed Sci Technol*,147, 116-139.

Woodward SL, Waghorn GC, Lassey KR, Laboyrie PG, 2002: Does feeding sulla (Hedysarum coronarium) reduce methane emissions from dairy cows

Proceedings of the New Zealand. *Society of Animal Production*, 62, 227-230.

Yıldız S, Oncuer A, Kaya I, Ünal Y, 2002: Effect of tanniferous oak (*quercus hartwisiana*) leaves on gas production in *in vitro* rumen fermentation system. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*,8 (2): 139-142.

**Bu araştırma makalesi "Yonca Kuru Otu ve Süt Sığırları Rasyonuna Zeolit ile Meşe Palamudu İlavesinin *in Vitro* Metan Üretimi Üzerine Etkisi" isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

***Yazışma Adresi:** Mehmet AVCI

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail: mavci@harran.edu.tr

Fırat ve Dicle Nehri'nde Yaşayan *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843) Popülasyonlarında Genetik Çeşitliliğin mtDNA cyt b Gen Dizileri Kullanılarak Belirlenmesi

Arif PARMAKSIZ*, Arslan ALTUNDAĞ

Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 63100 Haliliye, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Fırat ve Dicle nehir sistemlerinde doğal olarak yayılış gösteren *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843) insanlar tarafından tüketilen bir balık türü olduğu için ekonomik öneme sahiptir. Bu türün yönetilmesi ve korunması için genetik çeşitliliğinin bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı *A. marmid* türünün genetik çeşitliliğinin belirlenerek yönetilmesi için gerekli bilgilerin elde edilmesidir. Bu çalışmada, Adıyaman ve Bismil lokalitelerine ait 2 popülasyondan toplamda 42 bireyde mtDNA cyt b bölgesine ait ortalama 520 bp lik bölge sekans analizi yapılarak genetik çeşitliliği araştırılmıştır. Bu gen bölgesi için 4 değişken bölge ve 5 haplotip tespit edilmiş olup, H1 haplotipinin her iki lokalitede ortak olduğu, H4 haplotipinin sadece Adıyaman'da H2, H3 ve H5 haplotiplerinin ise sadece Bismil lokalitesinde buldukları görülmüştür. Hem haplotip çeşitliliği hem de nükleotid çeşitliliği bakımından Bismil popülasyonu Adıyaman popülasyonundan daha yüksek değer almıştır. mtDNA cyt b gen bölgesi için belirlenen tüm haplotipler literatür açısından yeni sonuçlar olup bu türün genetik çeşitliliği açısından önemli bir veri seti oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Achantobrama marmid*, Genetik çeşitlilik, mtDNA cyt b, Fırat nehri, Dicle nehri.

Determination of Genetic Diversity in *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843) Populations of Euphrates and Tigris River by Using mtDNA cyt b Gene Sequences

Abstract: *Achantobrama marmid* (Heckel, 1843), a natural inhabitant of the Euphrates and Tigris Rivers, has economic importance since it is a fish species consumed by human. Genetic variability of this species needs to be known for management and conservation. The aim of this study was to determine the genetic diversity of *A. marmid* species with respect to mtDNA cyt b gene sequences and to obtain the information necessary for the identification and management. The present research evaluated genetic variability using sequence analysis of 520 bp locus on mtDNA cytochrome b (cyt b) on 42 individuals in 2 populations from the Adıyaman and Bismil localities. A total of 4 variable sites and 5 haplotypes were identified for this locus. It was seen that haplotype H1 was common for both localities while haplotype H4 was found only in Adıyaman and haplotypes H2, H3, and H5 were only observed in Bismil. Considering both haplotype diversity and nucleotide diversity, Bismil population had higher values than Adıyaman population. All haplotypes detected for mtDNA cyt b gene site were new results for literature and provided an important data set for genetic diversity of this species.

Keywords: *Achantobrama marmid*, Genetic diversity, mtDNA cyt b, Euphrates river, Tigris river.

Giriş

Achantobrama marmid (Heckel, 1843) Cyprinidae (Sazangiller) familyasına ait bir tür olup Türkiye, İran, Irak ve Suriye'deki tatlı sularda yayılış göstermektedir (Coad, 2013). Türkiye içinde ise Dicle, Fırat, Asi nehir sistemleri ve Seyhan barajında görülmektedir (Parlak, 2006). Genellikle akarsularda yaşamayı tercih eden bu türe göllerde de rastlamak mümkündür. *A. marmid* 'in boyu 14-20 cm, ağırlıkları ise 55-135 gram olup vücudunun genel rengi gri - sarı, yüzgeçleri ise pembemsi olup, baş ve vücut yanlardan yassılaştırmıştır (Parlak, 2006). Tahta balığı adıyla bilinen bu balık, yöre insanları tarafından tüketilmekte olduğu için ekonomik öneme sahiptir. Bu türün doğal popülasyonları balıkçılar tarafından yapılan avlanmaya maruz

kalmaktadır. Bunun yanında barajların yapılması, istilacı türlerin birey sayılarının hızla çoğalması ve habitatların tahrip edilmesi gibi çevresel faktörler *A. marmid* popülasyonlarını oldukça etkilemekte olup bu türün geleceği için risk oluşturmaktadır. Doğal popülasyonlarındaki bireylerin azalması başka hiçbir yerde bulunmayan benzersiz genotiplerin ortadan kalkmasına neden olabilir. Bu nedenle genetik kaybını durdurmak ve bu türün geleceğini korumak için gerekli önlemler alınmalıdır. Etkin bir koruma programı için öncelikle güvenilir genotipik verilerin olması gerekmektedir. Popülasyon genetiği analizi bir türün korunması ve yönetimi hakkında bilgi edinmek için etkili bir araçtır. Moleküler belirteçler, genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısını tespit

Daha sonra jel görüntüsünden yararlanarak doğru ürün olduğu anlaşılan bireylere ait ürünler 3500 XL Genetic Analyzer (ThermoFisherScientific) cihazı kullanılarak dizi analizi yapılmıştır. Analizi yapılan bireylere ait mtDNA cyt b sekansları ChromasPro v 2.0.1 programında incelendikten BioEdit software version 7.2.5 programı kullanılarak tüm bireylere ait sekanslar hizalanmıştır. Hem Adıyaman popülasyonu hem de Bismil popülasyonu için haplotip sayısı, haplotip ve nükleotid çeşitliliği, Tajima's D ve Fu's Fs istatistikleri DnaSP 5.10.01 (Rozas ve ark., 2003) programı yardımıyla hesaplanmıştır. Elde edilen haplotiplerin arasındaki filogenetik ilişki ise Network version 5.0 programı ile belirlenmiştir. Haplotipler arasındaki filogenetik analizler K2 parametresi kullanılarak Komşu birleştirme ağacı (Neighbor joining tree) modeline göre MEGA 7 programında gerçekleştirilmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Kumar ve ark., 2016). Nodların (ağaç kolları) güvenilirliğinin test edilmesinde Bootstrap testi (1000 tekrarlı) kullanılmıştır.

Tablo 2. *A. marmid* popülasyonlarının genetik çeşitliliği ve nötralite testleri (N: Birey sayısı, Nh: haplotip sayısı, Hd: haplotip çeşitliliği, π : nükleotid çeşitliliği).

Nehir Sistemi	Lokalite	N	Nh	Haplotip frekansı	Hd	π	Tajima's D	Fu's Fs
Fırat Nehri	Adıyaman	24	2	H1 (0.750) H4 (0.250)	0.544	0.00126	0.34708	0.371
Dicle Nehri	Bismil	18	4	H1 (0.166) H2 (0.611) H3 (0.166) H5 (0.057)	0.648	0.00160	-0.56505	-0.990

Tablo 2'de H1 haplotipinin her iki lokalitede ortak olduğu, H4 haplotipinin sadece Adıyaman'da; H2, H3 ve H5 haplotiplerinin ise sadece Bismil lokalitesinde buldukları görülmektedir. Hem haplotip çeşitliliği hem de nükleotid çeşitliliği bakımından Bismil popülasyonu Adıyaman popülasyonundan daha yüksek değer almıştır. Bismil popülasyonunda nötralite testleri açısından negatif değerler, Adıyaman popülasyonu ise pozitif değerleri aldığı gözlenmiştir. İstatistik olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu için nötraliteden önemli derecede bir uzaklaşma gözlenmemiştir.

Analiz edilen *A. marmid* örnekleri için oluşturulan Median-Joining Network haplotip ağında, toplam 5 haplotip belirlenmiş olup, elde edilen network evrimsel bir bağı gösteren merkezi bir haplotip (H2) varlığını göstermektedir. Ayrıca diğer H1, H5 ve H3 haplotiplerinin H1 den türediği, H4'ün ise H1den türediğini söylemek mümkündür

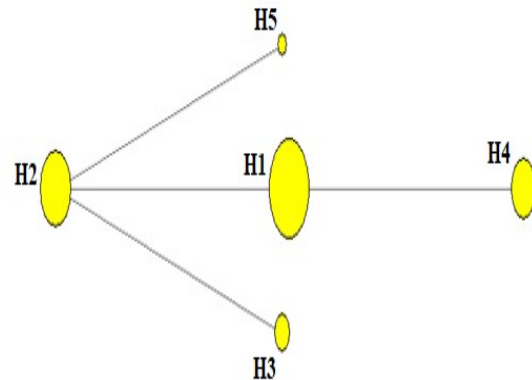
Bulgular

Fırat ve Dicle Nehir Sistemlerinden toplam 42 *A. marmid* örneğinde ortalama 520 baz çifti içeren mtDNA cyt b bölgesi sekanslanarak, 4 polimorfik bölge ve 5 haplotip tespit edilmiştir. Bu bölgeye ait haplotiplere göre nükleotid farklılıkları Tablo 1'de görülmektedir. Her iki lokalite için hesaplanan haplotip çeşitliliği, nükleotid çeşitliliği ve nötralite testlerine (Tajima's D, Fu's Fs) ait hesaplanan değerler Tablo 2'de verilmiştir.

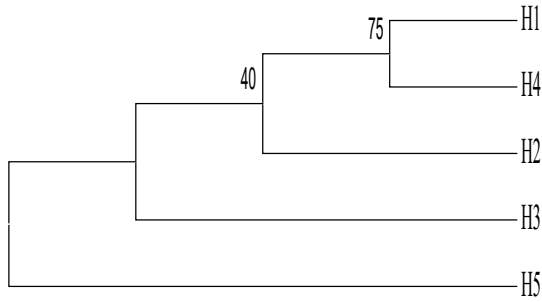
Tablo 1. Cyt b bölgesine ait nükleotid farklılıkları ve haplotipler.

Haplotipler	88	319	346	436
H1	T	A	A	T
H2	.	.	G	.
H3	.	.	G	C
H4	C	.	.	.
H5	.	G	G	.

(Şekil 3). Haplotipler arasındaki evrimsel yakınlıkta Şekil 4'te görülmektedir.



Şekil 3. *A. marmid* cyt b haplotiplerinin ağ modeli.



Şekil 4. *A. marmid* cyt b haplotiplerine dayalı olarak çizilen filogenetik ağaç.

Tartışma ve Sonuç

Balıklar insanların tükettiği mevcut proteinlerin bir kısmını oluşturmanın yanında insanlara iş ve yatırım fırsatları imkânı da sağlamaktadır (Çiftci ve Okumus, 2002). Bu yüzden akarsularda ve göllerde balıkçılık ve balık üretimi potansiyelinin kullanılması, iç ve dış piyasalarda değerlendirilmesi ülkemizin geleceğe ait hedeflerinden biri olmalıdır (Bilici, 2013). Fırat ve Dicle Nehirleri balık biyoçeşitliliği ve balıkçılık açısından doğal kaynaklar arasında önemli bir yere sahiptir. Bu nehirlerde yaşayan balık türlerinin bir kısmı önemli derecede ekonomik değeri olup (Parmaksız ve ark., 2016), bölge balıkçıları tarafından pazarlanmaktadır. Belirlenen en önemli balık türlerinden biri de *A. marmid* türüdür. Fırat ve Dicle nehirleri üzerine yapılan barajlar, durgun sular oluşturmakta ve yaşam alanı olarak akarsuları tercih etmekte olan bu türün popülasyonlarını etkilemektedir. Çalışmamızda örnek alınan lokaliteler yerleşim merkezlerine yakın oldukları için balıkçılar ve yöre insanları tarafından bu balık türü avlanmaktadır. Avlanan balıklar hem bölge halkı tarafından tüketilmekte hem de komşu illere satışı yapılmaktadır. Bu çalışmada balıkçılık faaliyetlerinin yüksek olduğu Adıyaman ve Bismil lokalitelerinden balık örnekleri alınarak popülasyonların genetik çeşitliliği mtDNA cyt b gen bölgesine ait sekanslara dayalı olarak tespit edilmiştir. Bismil popülasyonunda çalışılan örnek sayısı daha az olmasına rağmen hem haplotip çeşitliliği hem de nükleotid çeşitliliği bakımından Adıyaman popülasyonundan daha yüksek değer almıştır. Bismil lokalitesi çok fazla dereye sahip olup habitat açısından daha zengin bir akarsuya sahiptir. Fakat Adıyaman lokalitesi bir baraj gölü olup habitat açısından Bismil bölgesine göre daha fakirdir. Bu yüzden genetik çeşitliliğin Bismil popülasyonda yüksek çıkması beklenen bir durumdur. Bismil lokalitesindeki akarsuların tür çeşitliliği, popülasyonların sayısı, arazi şartlarının uygun

olması bilim adamlarının araştırma yapmasının önemli nedenlerindedir. (Bilici, 2013).

Nötralite testleri (Tajima's D, Fu's Fs) açısından incelendiğinde nötraliteden önemli derecede bir uzaklaşma gözlenmemiştir. Aynı nehir sistemlerinde yine Sazangiller familyasına ait bazı balıklarda yapılan çalışmalarda da nötraliteden önemli derecede bir uzaklaşma gözlenmemiştir (Parmaksız ve Ekşi, 2017; Parmaksız ve Eskici, 2018; Parmaksız, 2018; Parmaksız ve Şeker 2018). Median-Joining Network haplotip ağında (Şekil 3) H2 haplotipinin atasal olduğu için her iki popülasyonda görülmesi ve en yüksek frekansa sahip olması beklenirken, H1 haplotipi her iki popülasyonda ortak görülmektedir. Bunun nedeninin örnekleme yetersizliği ya da popülasyonların küçülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yakın zamanda mtDNA cyt b belirteci ile yapılan bir çalışmada (Parmaksız ve Şeker, 2018) *Arabibarbus grypus* popülasyonları için Dicle Nehri'ndeki bireylerin ortalama haplotip çeşitliliği (Hd) ve nükleotid çeşitliliği değeri (π) sırasıyla 0.442 ve 0.00152; Fırat Nehri'ndeki bireyler için ise 0.257 ve 0,00138 olarak hesaplanmıştır. Dicle Nehri her iki değer açısından da daha yüksek olup bu çalışmayla benzerlik göstermektedir. Yine aynı lokalitelerde yaşayan *Capoeta trutta* popülasyonları için mtDNA COI belirteci ile yapılan bir çalışmada (Parmaksız ve Ekşi, 2017), Adıyaman için Hd=0.708, π =0.00150; Bismil için Hd=0.782, π =0.00178 olarak tespit edilmiş olup Bismil popülasyonu yine daha yüksek değer almıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada, mtDNA cyt b gen bölgesi için belirlenen tüm haplotipler literatür açısından yeni sonuçlardır. Materyal olarak kullanılan balıkların birey sayısı ve popülasyon sayısı az olduğu için şansa bağlı değişimlerin ortaya çıkmış olma ihtimali vardır. Her iki nehir sisteminde farklı lokalitelerden yeteri kadar örnekler alınıp, mikrosatellit ve mtDNA D-loop gibi genetik belirteçler kullanarak çalışmaların yapılması bu türün popülasyon genetiği için daha açıklayıcı bilgilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu tarafından 16201 nolu yüksek lisans tez projesi ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Bilici S, 2013: Dicle nehrinde yaşayan *Carasobarbus luteus*, *Capoeta trutta* ve *Garra variabilis* türlerinin biyolojisi üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

- Çiftçi Y, Okumus I, 2002: Fish population genetics and applications of molecular markers to fisheries and aquaculture: I- basic principles of fish population genetics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2: 145-155.
- Coad BW, 2013: Freshwater fishes of Iran. Canadian museum of nature, Ottawa, Ontario, Canada.
- Çoban MZ, Yüksel F, 2013: Age and Growth properties of *Acanthobrama marmid* (Heckel,1843) population inhabiting Uzunçayır dam lake (Tunceli/Turkey). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12(5): 644-649.
- Englbrecht CC, Freyhof J, Nolte A, Rassmann K, Schliewen U, Tautz D, 2000: Phylogeography of the bullhead *Cottus gobio* (Pisces: Teleostei: Cottidae) suggests a pre-pleistocene origin of the major central European populations. *Mol. Ecol.* 9, 709e722.
- Fayazi J, Moradi M, Rahimi G, Ashtyani R, Galledari H., 2006: Genetic differentiation and phylogenetic relationships among *Barbus xanthopterus* (Cyprinidae) populations in south west of Iran using mitochondrial DNA markers. *Pakistan Journal of Biological Science*,9: 2249-54.
- Konar V, Parlak AE, 2009: Fırat Nehri'nde yaşayan *Acanthobrama marmid* (Heckel,1843)'ün sindirim sistemi içeriği. *Fırat Univ. Journal of Science*, 21 (2): 157-165.
- Korkut N, 2014: Göynük Çayı'nda (Bingöl) yaşayan *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Acanthobrama marmid* (Heckel, 1843) balık türlerinin ekto ve endoparazitlerinin araştırılması. Master tezi, Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 (MEGA 7) for bigger datasets. *Mol Biol Evol.*, 28:2731–2739.
- Özgür ME, Kaya A, Erdem D, 2008: Kemaliye'deki Karasu Nehri'nde yetişen *Acanthobrama marmid* (Heckel,1843)'ün spermatozoit yoğunluğu ve sperm pH'sının belirlenmesi üzerine bir araştırma. 5. Geleneksel Su Ürünleri Bilimsel ve Kültürel Platformu, Erzincan, Turkey.
- Parmaksız A, Ateş B, Toprak Ş, 2016: Bazı sazın türlerinde mikrosatellit DNA markörlerinin kullanılabilirliğinin araştırılması, *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 5 (1):1-4.
- Parmaksız A, Eksi E., 2017: Genetic diversity of the cyprinid fish *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) populations from Euphrates and Tigris rivers in Turkey based on mtDNA COI sequences. *Indian Journal of Fisheries*, 64,1, 18-22.
- Parmaksız A, 2017: Genetic variation in *Cyprinion macrostomus* Heckel, 1843 populations as revealed by partial COI sequences of mitochondrial DNA. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(2):1899-1907.
- Parmaksız A, Eskici HK, 2018: Genetic variation of yellow barbell (*Carasobarbus luteus* (Heckel, 1843)) from four populations using mitochondrial DNA coi gene sequences. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(2):1673-1682.
- Parmaksız A, Şeker Ö, 2018: Genetic diversity of the endemic species shabbout (*Arabibarbus grypus* (Heckel, 1843)) based on partial cytochrome b sequences of mitochondrial DNA. *Aquatic Research*, 1(3), 103-109.
- Parlak AE, 2006: Fırat Nehri'nde yaşayan tahta balığı (*Acanthobrama marmid* Heckel,1843)'nin sindirim sistemi içeriği. Yüksek Lisans tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R, 2003: DnaSP DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496-2497.
- Saraswat D, Lakra WS, Nautiyal P, Goswami M, Shyamakant K, Malakar A, 2014: Genetic characterization of *Clupisoma garua* (Hamilton 1822) from six Indian populations using mtDNA cytochrome b gene. *Mitochondrial DNA*, 25 (1): 70-77.
- Uçkun AA, Gökçe D, 2015: Assessing age, growth, and reproduction of *Alburnus mossulensis* and *Acanthobrama marmid* (Cyprinidae) populations in Karakaya Dam Lake (Turkey) *Turkish Journal of Zoology*. 39: 1-14.
- Whitehead A, Anderson SL, Kuivila KM, Roach JL, May B, 2003: Genetic variation among interconnected populations of *Catostomus occidentalis*, implications for distinguishing impacts of contaminants from biogeographical structuring. *Mol. Ecol.* 12, 2817e2833.
- Xia L, Guo B, Ye Y, Li J, Wu C, 2016: Determination of genetic diversity of the cuttlefish *Sepiella japonica* inhabiting Chinese coastal waters using the mitochondrial D-loop region: The valuable inspiration to artificial releasing Project. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69, 274e282.
- Yılmaz M, Yılmaz HR, Alas A, 2007: An electrophoretic taxonomic study on serum proteins of *Acanthobrama marmid*, *Leuciscus cephalus* and *Chondrostoma regium*. *Journal of Bioscience*, 3: 22-27.

*Yazışma Adresi: Arif Parmaksız

Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 63100 Haliliye, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail: aprmksz@gmail.com

Ruminant Abortus Vakalarında *Coxiella burnetii*'nin Real Time PCR ile Araştırılması

Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK¹, Oktay KESKİN^{1*}, Akın YİĞİN², Osman Yaşar TEL¹

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Eyyübiye, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı Eyyübiye, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 24.02.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Q fever dünyanın birçok ülkesinde görülen önemli zoonotik infeksiyonlardan biridir. Etkenin kültürünün zor ve uzun zaman alıcı olmasının yanında Biyogüvenlik seviyesi-3 (Biosafety level-3) BSL-3 koşullarında gerçekleştirilmesi gerekliliği, hastalığın teşhisinin geniş oranda moleküler ve serolojik olmasını sağlamıştır. Bu çalışmada, ruminantlarda abortusa neden olan bu önemli patojenin rutin teşhiste Real-Time PCR ile hızlı ve doğru bir şekilde saptanması ve Şanlıurfa yöresinde hastalığın varlığının belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına teşhis amaçlı getirilmiş olan ve -80 °C'de saklanan toplam 202 adet sığır, keçi ve koyun atık materyali ve çalışma döneminde gelen 25 atık materyali Real-Time PCR tekniği ile incelendi. Bu amaçla içinde pozitif kontrol içeren *Coxiella burnetii* Real-Time PCR kiti kullanıldı. Ayrıca test edilen *C. burnetii* suşları arasında son derece korumalı bir bölge olan *C. burnetii* *com 1* geninin 74-bp lik bir fragmentini amplifiye eden primer çiftleri kullanılarak klasik PCR yapıldı ve elde edilen ampikonlar agaroz jelde görüntüldü. Çalışmada incelenen toplam 227 adet atık materyalinden 4 adedi (%1,8) hem Real-Time PCR hem de klasik PCR ile pozitif bulundu. Çalışmanın sonucunda önemli bir zoonoz olan bu ajanın hızlı ve güvenli bir şekilde tespit edilebildiği ve gerekli kontrol önlemlerinin alınmasına katkıda bulunacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Abort, *Coxiella burnetii*, Keçi, Koyun, Ruminant, Sığır.

Investigation of *Coxiella burnetii* by Real-Time PCR in Ruminant Abortus Cases

Abstract: Q fever is one of the important zoonotic infections which is seen in many parts of the world. Because the isolation of the agent is difficult and time consuming as well as the isolation and identification of the agent requires to be done under biosafety level-3 (BSL-3) conditions, the diagnosis of the disease is largely based on molecular and serological techniques. The aim of this study was to detect *Coxiella burnetii* accurately and quickly for routine diagnosis of the disease from the clinical samples by using real time PCR and to detect the presence of the *C. burnetii* in Şanlıurfa District. A total of 202 abortus materials kept at -80°C and previously brought to Harran University Faculty of Veterinary Medicine Department of Microbiology for diagnosis and 25 aborted materials brought to our lab during this study period were tested by Real-Time PCR. For Real-Time PCR analysis, a commercial *C. burnetii* Real-Time PCR kit was used including positive controls. Besides, a classical PCR was performed by using a pair of primers which amplifies a 74-bp fragment of the *com 1* gene of *C. burnetii*, which is highly conserved region in the genom of agent and amplicons were visualized in the 4% agarose gel. Four out of 227 test samples (1.8%) samples were found positive by both Real-Time and classical PCR test. In the end of the study, it was concluded that this important zoonotic agent could be determined fast and reliable and contribute to take necessary preventive measures on time.

Keywords: Abortus, Cattle, *Coxiella burnetii*, Ewe, Goat, Ruminants.

Giriş

Ruminantlarda önemli kayıplara neden olan abortuslar oldukça kompleks bir etiyolojiye sahiptir ve tanıları uzun ve zorlu bir süreci gerektirebilir. Q humması (Q-fever) etkeni olan *C. burnetii* de ruminantlarda atıklara neden olan başlıca etkenler arasındadır ve zoonoz olması açısından da önemlidir (Marrie, 1990). Hastalık bugün için Yeni Zelanda ve Antarktika hariç hemen hemen bütün Dünya'da yaygın olarak gözlenmektedir (Arricau-Bouvery ve ark., 2006; Kennerman ve ark., 2010). Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi'nin (OIE) hastalıklar listesinde yer almasına rağmen, bugüne kadar Türkiye'de sadece araştırma düzeyinde ve genellikle serolojik

testlerle var olduğu bildirilen Q fever infeksiyonu, 5996 sayılı "Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu"nda yer almadığı gibi, ihbari mecburi hastalıklar listesinde de yoktur. Dolayısıyla bugüne kadar infeksiyonun korunma ve kontrolü ile ilgili herhangi bir prosedür ya da politika belirlenmemiştir. *C. burnetii*'nin başlıca kaynağı evcil ruminantların atık ile yarattıkları çevre kontaminasyonlarıdır. Etken memeliler, kuşlar ve artropodlar gibi oldukça geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir. (Kılıç ve ark., 2008; Lee ve ark., 2004, OIE, 2015). Bu infeksiyonun tanısının yapılması, tedavinin bir an önce başlatılmasının

yanında aşılama, dezenfeksiyon karantina gibi her türlü koruma ve kontrol tedbirlerinin alınması açısından da oldukça önemlidir. Ancak zorunlu hücre içi patojeni olan bu bakterinin normal besi yerlerinde ürememesi, üremek için hücre kültürü, embriyolu tavuk yumurtası gibi canlı ortamlara ihtiyaç duyması izolasyonunu sınırlamaktadır (Nicollet ve Valognesi, 2007; OIE, 2015). Daha da önemlisi, infektivitesi yüksek bir zoonoz olması nedeni ile BSL-3 kabinlerde çalışılması zorunludur. Bütün bu dezavantajlardan dolayı *C. burnetii*'nin neden olduğu Q fever'in laboratuvar tanısı, zahmetli ve zaman alan bir süreçtir. Bu nedenle Türkiye'de bugüne kadar *C. burnetii*'den kaynaklanan atık vakalarının teşhisi çalışmaları sadece lokal olarak yapılan serolojik ve az sayıda moleküler testlerin kullanıldığı araştırmalar ile sınırlı kalmıştır. Türkiye'de hastalığın varlığı ise ilk kez Payzın ve ark. (1953) tarafından bildirilmiştir. Daha sonra ise serolojik olarak (Berberoğlu ve ark., 2004; Çetinkaya ve ark., 2000; Günaydın ve Pekaya, 2016; Kennerman ve ark., 2010; Özgür ve ark., 1997) ve moleküler (Can ve ark., 2015; Kılıç ve ark., 2016; Kırcan ve ark., 2008; Özkaraca ve ark., 2016; Parın ve Kaya, 2015) yöntemlerle hayvanlarda, ve serolojik olarak riskli gruplarda bulunan insanlarda (Arserim ve ark., 2011; Çetinkaya ve ark., 2000; Özgür ve ark., 1996; Seyitoğlu ve ark., 2006) hastalığın tespiti ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır.

C. burnetii infeksiyonlarının tanısının hızlı ve doğru bir şekilde yapılmasının sağlanması, zoonoz olan bu infeksiyon için erken uyarı yapılmasını sağlayacağı gibi, kontrol önlemlerinin de gerektiği gibi alınmasını sağlayacaktır. Bu araştırmada, *C. burnetii*'nin atık yavru dokularından Real-Time PCR tekniği ile tespitinin yapılarak Q fever infeksiyonunun teşhisi için rutin olarak kullanımının sağlanması ve bölgemizde hastalığının ne oranda mevcut olduğunun araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Atık yavru doku ve organ örnekleri: Çalışmada Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na daha önceki yıllarda teşhis amaçlı getirilmiş olan ve -80 °C'de muhafaza edilen 202 adet sığır, keçi ve koyun atık materyalleri (her bir vakaya göre değişmek üzere plasenta, vaginal svab, cenin mide sıvısı ve iç organlarından biri ya da birkaçı ya da tümünden hazırlanan homojenatlar) ve çalışma döneminde gelen 25 atık materyali olmak üzere toplam 227 adet atık materyali kullanıldı.

Doku ve Svab Örneklerinden DNA İzolasyonu: DNA ekstraksiyonu amacıyla High Pure PCR template

DNA ekstraksiyon kiti üretici firmanın prospektüsüne uygun olarak kullanıldı (Roche Katolog no: 11796828001). İzole edilen DNA'lar -20 °C de PCR yapıncaya kadar saklandı.

DNA miktarının Belirlenmesi: DNA miktarı spektrofotometrede (NanoDrop ND-2000) ile 260 ve 280 nm de ölçülerek belirlendi. Ortalama 227 örnek için total bakteri DNA konsantrasyonu 112,3±0,3 ng/µL olarak tespit edildi.

Sayısal Real Time PCR Analizleri: Real Time PCR analizlerinde içinde internal pozitif kontrol içeren *Coxiella burnetii* Real-Time PCR kiti (Primerdesign Ltd *Coxiella burnetii* DNA Gyrase Subunit A Genesis®Standard kit) kullanıldı. Real-Time PCR işlemi Qiagen Rotorgene cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir örnek için qPCR master miksten 10µL, *C. burnetii* primer/probe miksinden 1 µL, internal ekstraksiyon kontrol primer/probe miksinden 1 µL, internal kontrol DNA'dan 0,5 µL, RNase/DNase free PCR grade distile sudan 2.5 µL olmak üzere toplamda 15 µL PCR miks hazırlandı ve her bir tüpe koyularak üzerine 5 µL izolasyon yapılmış DNA'lar eklendi.

Sonuçlar değerlendirilirken Real-Time PCR cihazının Green kanalı (FAM probe) örnekler, yellow kanalı da (VIC probe) internal kontrol (IC) için kullanılmıştır. Kit prosedüründe de ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde her pozitif olan her örnek için iki amplifikasyon eğrisi alındı. Negatif olan örnekler de sadece IC kanalında sonuçlar alındı. Eğer bir örnekte IC eğrisi yoksa örneğin çalışmadığı düşünülerek tekrar çalışmaya alındı. Ayrıca pozitif olduğu tespit edilen örnekler tekrarlı olarak çalışıldı.

Bunun dışında ayrıca *C. burnetii* suşları arasında son derece korumalı bir bölge olan *C. burnetii com 1* geninin 74-bp lik bir fragmentini amplifiye eden primer çiftleri (Brennan ve Samuel, 2003) (FAF216 5'-GCACTATTTTAGCCGGAACCTT-3' ve RAF290 '-TTGAGGAGAAAACTGGATTGAGA-3') kullanılarak klasik PCR yapıldı ve elde edilen ampikonlar UV ışık altında % 4 lük jelde görüntülendi.

Bulgular

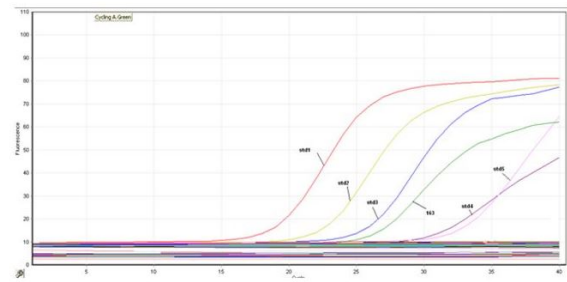
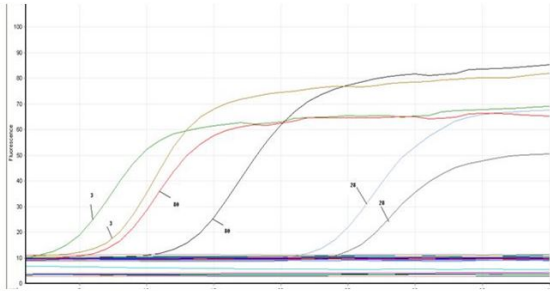
Çalışmada 227 atık örneğinden izole edilen DNA'lar Real-Time PCR ve konvansiyonel PCR ile test edildiklerinde 4 örnek (%1,8) Real-Time PCR ve *com1* geni hedef alınan konvansiyonel PCR'da pozitif bulundu. Her iki yöntemde pozitif bulunan örnekler aynı örnekler oldu. Çalışmada 132 sığır örneğinden gelen DNA örneklerinde pozitiflik oranı %1,5 iken, 72 koyun örneğinde %2,7 olarak belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Q fever yönünden Real-Time PCR ile test edilen örneklerin hayvan türlerine ve toplam hayvan sayısına göre pozitiflik oranları.

Hayvan türü	Test edilen hayvan sayısı	Real-time PCR test sonucu		Konvansiyonel PCR sonucu	
		n	%	n	%
Sığır	132	2	1,5	2	1,5
Koyun	72	2	2,7	2	2,7
Keçi	23	-	-	-	-
Toplam	227	4	1,8	4	1,8

Real-Time PCR: Çalışmada pozitif bulunan 3, 28, 80 numaralı pozitif örneklerin tekrarlanan sonuçlarının amplifikasyon eğrileri Şekil 1. de gösterilmektedir.

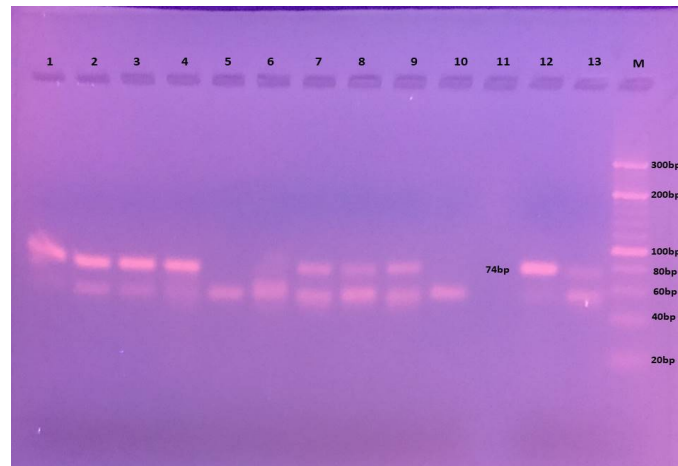
Çalışılan standartlar ve 163 numaralı pozitif örneğin sonuç amplifikasyon eğrileri ise Şekil 2. de gösterilmektedir.



Şekil 2. Çalışılan standartlar ve 163 numaralı pozitif örneğin sonuç amplifikasyon eğrileri.

Konvansiyonel PCR: Tüm *C. burnetii* suşlarında korumalı bir bölge olan *com 1* geninin 74-bp lik bir fragmentini amplifiye eden primer çiftlerinin kullanıldığı PCR'da da, Real-Time PCR'da pozitif bulunan 3, 28, 80 ve 163 nolu örnekler pozitif bulundu (Şekil 3). Kuyucuk 1-4: 3, 28, 80, 163 nolu pozitif örnek amplikonları; kuyucuk 5: Negatif

kontrol; Kuyucuk 6-9; Pozitif örnek DNA'larının 1/10 dilüsyonundan yapılan PCR amplikonları; Kuyucuk 10: Negatif kontrol; Kuyucuk 12: Pozitif kontrol (74 bp'lik amplikon); Kuyucuk 13: Pozitif kontrol (1/10 DNA dilüsyonu); Kuyucuk 14: DNA Ladder.



Şekil 3. Pozitif örneklerin ve standartların amplikonlarının agaroz jelde görüntülenmesi Kuyucuk 1-4: 3,28,80,163 nolu pozitif örnek amplikonları; kuyucuk 5: Negatif kontrol; Kuyucuk 6-9; Pozitif örnek DNA'larının 1/10 dilüsyonundan yapılan PCR amplikonları; Kuyucuk 10: Negatif kontrol; Kuyucuk 12: Pozitif kontrol (74 bp'lik amplikon); Kuyucuk 13: Pozitif kontrol (1/10 DNA dilüsyonu); Kuyucuk 14: DNA Ladder.

Tartışma ve Sonuç

Zorunlu bir hücre içi paraziti olan *Coxiella burnetii* tarafından oluşturulan Q fever hem hayvan hem de insanlarda enfeksiyona neden olan ve neredeyse dünyanın her yerinde görülen önemli bir zoonozdur (Marrie, 1990). Hastalığın teşhisinde etkenin izolasyonu altın standart olmakla birlikte, izolasyon sürecinin zor, uzun, ve riskli olması nedeni ile teşhis büyük ölçüde seroloji ve moleküler testlere dayanmaktadır (Nicolett ve Valognes, 2007; OIE, 2015; Sidi-Boumedine ve Rousset, 2011, Sidi-Boumedine ve ark., 2010).

Bu çalışmada, ruminant abortlarında *C. burnetii*'nin varlığı Real-Time PCR ile saptanarak, enfeksiyonun bölgemizdeki pozitiflik oranı araştırıldı. Q fever enfeksiyonunun teşhisi için ülkemizin farklı bölgelerinde bazı moleküler çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda etkenin farklı genetik bölgeleri için dizayn edilmiş primerler kullanılarak çeşitli PCR teknikleri uygulanmış ve enfeksiyonun pozitiflik oranı saptanmıştır. Kılıç ve ark. (2016), Türkiye'nin doğusunda koyun abortlarında yaptıkları bir çalışmada Trans-PCR ile pozitiflik oranını %2, embriyolu tavuk yumurtasından etken izolasyon oranını %2,5 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda 227 atık örneğinden Real-Time PCR ile pozitif örnek sayısı 4 olarak tespit edilerek pozitiflik oranı %1,8 olarak saptandı. Bu pozitiflik oranı Kılıç ve ark. (2016)'nın sonuçları ile çok yakın bulunmuştur. Can ve ark. (2015), Hatay yöresinde inek, keçi ve koyun süt tanklarından aldıkları toplam 150 örnekten yaptıkları PCR ile pozitiflik oranını % 6 olarak bulmuşlardır. Buldukları dokuz pozitif örneğin dağılımını sığırlarda beş, koyunlarda iki ve keçilerde iki olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise sığır örneklerinde pozitiflik oranı %1,5 iken koyun örneklerinde %2,7 olarak bulunarak araştırmacıların bulguları ile türlerin pozitifliği açısından farklılık göstermiştir. Kırkan ve ark. (2008) toplam 138 sığır kan örneğine yaptıkları Trans PCR ile pozitiflik yüzdesini %4,3 olarak saptamışlardır. Özkaraca ve ark. (2016) 70 sığır fütüsünde yapmış oldukları PCR, IHC ve kültür ile pozitiflik yüzdesini %1,42 olarak bulmuşlardır. Hastalığın serolojik olarak pozitiflik oranları çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan moleküler testlere oranla çok daha yüksek bulunmuştur (Arserim ve ark., 2011; Gülmez Sağlam ve Şahin, 2016; Kalender, 2001; Parın ve Kaya, 2015). Gülmez Sağlam ve ark. (2016) Kars yöresinde 350 sığır ve 250 koyun süt örneğine yaptıkları PCR sonucu beş (%1,42) sığır ve bir koyun (%0,4) örneğinde pozitiflik saptamışlardır. Oysa aynı çalışmada ELISA ile koyunlarda pozitiflik oranı %43,2 ve sığırlarda %14,8 olarak bulunmuştur. Bunun nedeni serolojik testlerin genelde sürü tarama testleri olmasından ve yanlış pozitifliklerin bir hayli

fazla olmasından kaynaklanabilir. Yapılan literatür taramasına göre, ülkemizde hastalığın ruminantlarda PCR ile teşhisine yönelik yapılan çok sınırlı sayıda araştırmada, pozitiflik oranının % 0,4-6 aralığında değiştiği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda saptamış olduğumuz pozitiflik oranı (%1,8) bu aralıkta bulunmakta ve diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, Real-Time PCR ile ruminant atıklarında bölgemizde sığırlarda %1,5 ve koyunlarda %2,7 oranında pozitiflik saptanmış ve hastalığın bölgemizde varlığı ortaya konulmuştur. Ayrıca, zoonotik bir ajan olan *C. burnetii*'nin yayılmasını sınırlamaya indirekt yardımcı olabilecek moleküler bir teknik olan Real-Time PCR tekniğinin, hastalığın rutin teşhisinde kullanılabilecek güvenilir bir test olduğu sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma, HÜBAK tarafından 16069 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Arricau-Bouvery N, Hauck Y, Bejaoui A, Frangoilidis D, Bodier C.C, Souriau A, Meyer H, Neubauer H, Rodolakis A, Vergnaud G, 2006: Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. *BMC Microbiology*, 6, 38.
- Arserim NB, Yeşilmen S, Özekinci T, Tel OY, Keskin O, Pulat H, Vural A, 2011: Seroprevalance of Coxiellosis in cows, sheep, goats and humans in Diyarbakir region of Turkey. *Afr J Microbiol Res*, 5, 2041-2043.
- Berberoğlu U, Gözalan A, Kiliç S, Kurtoğlu D, Esen B, 2004: A seroprevalence study of *Coxiella burnetii* in Antalya, Diyarbakir and Samsun provinces. *Mikrobiyol Bul*, 38, 385-391.
- Brennan RE, Samuel JE, 2003: Evaluation of *Coxiella burnetii* Antibiotic Susceptibilities by Real-Time PCR Assay. *J Clin Microbiol*, 41, 1869-1874.
- Can HY, Elmalı M, Karagöz A, 2015: Detection of *Coxiella burnetii* in cows', goats', and ewes' bulk milk samples using polymerase chain reaction (PCR). *Mljekarstvo*, 65, 26-31.
- Çetinkaya B, Kalender H, Ertas HB, Muz A, Arslan N, Ongor H, Gurçay M, 2000: Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Vet Rec*, 146, 131-136.
- Gülmez Sağlam A, Şahin M, 2016: *Coxiella burnetii* in samples from cattle herds and sheep flocks in the Kars region of Turkey. *Vet Med*, 61, 17-22.
- Günaydin E, Pekkaya S, 2016: Serologic and molecular investigation of Q Fever on water buffalo in Afyon. *Van Vet J*, 27, 17-19.
- Kalender H, 2001:Elaziğ ve komşu illerdeki koyunlarda *Coxiella burnetii* enfeksiyonunun yaygınlığı. *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 51-55.
- Kennerman E, Rousset E, Gölcü E, Dufour P, 2010: Seroprevalance of Q fever (coxiellosis) in sheep from

- the Southern Marmara Region, Turkey. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33, 37-45.
- Kılıç A, Kalender H, Koç O, Kılınc Ü, Irehan B, Berri M, 2016: Molecular investigation of *Coxiella burnetii* infections in aborted sheep in Eastern Turkey. *IJVR*, 17(1), 41-44, (2016).
- Kılıç S, Komiya T, Çelebi B, Aydın N, Saito J, Toriniwa H, Karatepe B, Babür C, 2008: Seroprevalance of *Coxiella burnetii* in Stray Cats in Central Anatolia. *Turk J Vet Anim Sci*, 32, 483-486.
- Kırkan Ş, Kaya O, Tekbıyık S, Parın U, 2008: Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by PCR. *Turk J Vet Anim Sci*, 32, 215-220.
- Lee JH, Park HS, Jang WJ, Koh SE, Park TK, Kang SS, Kim BJ, Kook YH, Park KH, Lee SH, 2004: Identification of the *Coxiella* sp. detected from *Haemaphysalis longicornis* Ticks in Korea. *Microbiol Immunol*, 48, 125-130.
- Marrie TJ, 1990: Q fever-a review. *Can Vet J*, 33, 555-563.
- Nicollet P, Valognes A, 2007: Current review of Q fever diagnosis in animals. *Bull Acad Vét France*, 160: 289-295.
- OIE, 2015: Q Fever, Chapter 2.1.16. World Organization for Animal health, Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals
- Özgür NY, Hasöksüz M, Yılmaz H, İkiz S, Ilgaz A, 1996: Risk grubundaki insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Der*, 26, 109-113.
- Özgür NY, Hasöksüz M, Yılmaz H, İkiz S, Ilgaz A, 1997: Infertilite sorunu olan dişi sığırlarda ve insanlarda *Coxiella burnetii* antikorlarının ELISA testi ile belirlenmesi ve sero-prevalansın saptanması, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 2, 207-218,
- Özkaraca M, Çeribaşı S, Çeribaşı AO, Kılıç A, Altun S, Çomaklı S, Öngör H, 2016: Determination of *Coxiella burnetii* in bovine foetuses using PCR and immunohistochemistry. *Vet Med*, 61, 421-427.
- Parın U, Kaya O, 2015: Detection of *Coxiella burnetii* Prevalence in bovine, ovine and caprine herds. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 62, 177-181.
- Payzın S, 1953: Epidemiological investigations on Q Fever in Turkey. *Bull World Hlth Org*, 9, 553-558.
- Seyitoglu Ş, Özkurt Z, Dinler U, Okumuş B, 2006: The seroprevalence of Coxiellosis in farmers and cattle in Erzurum district in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 30, 71-75.
- Sidi-Boumedine K, Rousset E, 2011: Molecular epidemiology of Q fever: a review of *Coxiella burnetii* genotyping methods and main achievements. *Euroreference* 5: 30-38.
- Sidi-Boumedine K, Rousset ., Henning, Ziller M, Niemczuck K, Roest HIJ, Thierry R, 2010: Development of harmonized schemes for monitoring and reporting Q – fever in animals in European Union, EFSA scientific report. EFSA-Q-2009-00511.

*Yazışma Adresi: Oktay Keskin

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji
iAnabilim Dalı Eyyübiye, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: okeskin@harran.edu.tr

Hipertrofik Kardiyomyopati Kedilerde Trombosit ve Ortalama Trombosit Hacmi Düzeyleri Erken Emboli Oluşumunu Belirlemede Kullanılabilir mi?

Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU^{1*}, Hadi ALİHOSEİNİ², Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU³

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

²Terapist Veteriner Tıp Merkezi, İstanbul, Türkiye.

³Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aksaray, Türkiye.

Geliş Tarihi: 05.03.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Hipertrofik kardiyomyopati (HCM) kedilerin sıklıkla rapor edilen kalp hastalığıdır. Arterial thromboembolizm (ATE) ise thrombüs fragmentlerinin arteriyel dolaşıma girerek damarlarda obstrüksiyon yaratması sonucu ilişkili klinik belirtilerin ortaya çıkması olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada; ATE'in eşlik ettiği HCM'li kedilerde, ATE'in bulunmadığı HCM'li kedilerle karşılaştırıldığında artmış koagülasyon aktivitesi (düşük trombosit, yüksek MPV düzeyleri) ile ilgili hipotez değerlendirilmiştir. Çalışma çeşitli yaş ve ırklardaki 25 kedi ile gerçekleştirildi. HCM teşhisinde; sağ parasternal kısa eksen sol ventriküler konantrik hipertrofi ve sol ventriküler duvar kalınlığı (LVWd ≥ 6 mm) kriterleri baz alındı. Sağ kısa eksen artmış sol atrium/aort oranı (LA/Ao > 2 mm) belirlendi. Diğer Ekokardiyografik değerlendirmeler için sağ parasternal uzun eksen (sağ PLAX) ve M mod kullanıldı. Çalışmada hastalar (n:25); grup 1 (HCM+ATE; n:9) ve grup 2 (HCM; n: 16) olarak sınıflandırıldı. Grup 1'de trombosit (PLT) ortalamaları grup 2 ile karşılaştırıldığında daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel farklılığa rastlanmadı ($p < 0,05$). Ortalama trombosit hacmi (MPV) ortalamaları ise Grup 1'de grup 2'ye göre daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı. Sonuç olarak; her ne kadar ATE'nin eşlik ettiği HCM'li kedilerde artmış hiperkoagülatif durumun göstergesi olan daha düşük PLT ve daha yüksek MPV düzeyleri bulunduyorsa da, bu parametrelerin erken thrombüs oluşumunu ortaya koymadaki kullanılabilirliğini belirlemek için daha geniş olgu sayılı prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hipertrofik kardiyomyopati, Ortalama trombosit hacmi, Pıhtı, Platelet, Thromboz.

Is It Possible to Use Platelet and Mean Platelet Volume for Early Identification of Thrombus Formation in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy?

Abstract: Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most reported heart disease in cats. Arterial thromboembolism is defined as obstruction of vessels and related clinical signs resulting from the access of thrombus fragments into circulation. In the current study, it was hypothesised that an increased coagulation activity (low platelet, high mean platelet volume levels) was present in HCM cats with ATE compared to those without ATE. A total of 25 cats were included the study. Diagnosis of HCM was based on the criteria of left ventricular concentric hypertrophy and increased left ventricular wall thickness (LVWd ≥ 6 mm) in right parasternal short axis view. Increased ratio of left atrium/aorta (LA/Ao > 2 mm) was also detected in short axis view. Right parasternal long axis view and M mod was used for the other echocardiographic variables. The cats were assigned into group 1 (HCM+ATE; n:9) and group 2 (HCM; n:16). Although mean platelet (PLT) level was low in group 1 compared to group 2 differences were statistically not significant ($p > 0,05$). However, mean platelet volume (MPV) levels was high in group 1 compared to group 2 with no significant differences. In conclusion, although lower PLT and higher MPV activity related to hypercoagulability in HCM cats with ATE was found, we need also new prospective studies with larger case series to detect the early identification of thrombus formation.

Keywords: Clot, Hypertrophic cardiomyopathy, Mean platelet volume, Platelet, Thrombosis.

Giriş

Hipertrofik kardiyomyopati (HCM) kedilerin en yaygın kalp hastalığıdır ve kedilerin % 33-50'sinde rapor edilmektedir (Liu ve Fox, 1999; Payne ve ark., 2010). HCM'li kedilerin en önemli negatif prognostik faktörlerinden biri olan arterial thromboembolizm (ATE) ise intrakardiyak thrombüs fragmentlerinin arteriyel dolaşıma girerek damarlarda obstrüksiyon ve infarkt yaratması sonucu ilişkili klinik belirtilerin ortaya çıkması olarak tanımlanmaktadır (Hogan,

2017; Kang ve ark., 2015; Payne ve ark., 2013; Smith ve ark., 2003).

Her ne kadar kedilerde artmış hiperkoagülatif duruma neden olan faktörler net olarak belirlenmemiş olsa da; HCM'li kedilerde sol atrial dilatasyon endokartta gerilime neden olarak endotel yapısını değiştirmekte ve bu durum hiperkoagülatif duruma neden olmaktadır. Dilatasyon sol atrium içinde kan stazı ve türbülansa

neden olmakta ve ATE riskini arttırmaktadır (Laste ve Harpster, 1995; Spalla ve ark., 2016; Stokol ve ark., 2008). Deneysel iskemik tromboz modelleri ve HCM'li kedilerdeki klinik çalışmalar artmış koagülasyon aktivitesinin HCM ilişkili trombüs oluşumunda kritik rol oynadığını ortaya koymuştur (Helenski ve Ross, 1987; Welles ve ark., 1994). Trombosit fonksiyonlarının önemli bir belirleyicisi olan ortalama trombosit hacmi (MPV) ise artmış koagülasyon aktivitesi ve kardiyovasküler hastalık riski ile doğrudan ilişkilidir (Martin ve Bath, 1991; Park ve ark., 2002; Ross, 1999; Smith ve ark., 1999).

Bu çalışmada; ATE'in eşlik ettiği HCM'li kedilerde, ATE'in bulunmadığı HCM'li kedilerle karşılaştırıldığında artmış koagülasyon aktivitesi (düşük trombosit, yüksek MPV düzeyleri) bulunduğunu ileri süren hipotez değerlendirilmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışma; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi ve Terapist Veteriner Tıp Merkezi'ne erken yorulma veya arterial thromboembolizmin tipik belirtileri ile getirilmiş (bir ya da daha fazla arka ekstremitayı etkilemiş akut fonksiyon kaybı, hipokinetik femoral nabız, hipotermi, taban yastıklarında siyanoz ve ağrı nedeniyle sürekli miyavlama) çeşitli yaş ve ırklardaki 25 kedi ile gerçekleştirildi. Tüm hastalar klinik belirtilerin olduğu ilk gün hekimlere getirilmişti. Tüm kedilerin eşgal ve anamnez bilgileri kaydedildi, fiziksel muayeneleri değerlendirildi. Çalışma dışı bırakma kriterlerini ortaya koymak amacıyla; tüm hastalarda toraks ve abdomen grafileri (laterolateral, ventrodorsal) ve serum biyokimyasal analizleri (Üre, Kreatinin, ALT, ALP, AST, GGT, Kreatin Kinaz, Albumin, Total Protein, Total Bilirubin, Na, K, inorganik P, fT4) gerçekleştirildi. Serum biyokimyasal analizler için; Erba XL 600 marka cihaz kullanılarak EDTA'sız tüplere alınan kanlar değerlendirildi. Hematolojik analizler (WBC, LYM, MON, NEUT, EOS, LYM%, MON%, NEUT%, EOS%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, RDW%, PLT, MPV) Abacus Junior Vet cihazı kullanılarak EDTA'lı tüplere alınan kanlar ile yapıldı. Cihazların kalite kontrolleri ve kalibrasyonları; düşük, normal ve yüksek referans aralıklarda günlük olarak yapılmaktaydı.

ATE'li ve ATE'siz tüm kedilerin HCM teşhisinde; sağ parasternal kısa eksen (sağ PSAX) sol ventriküler konsantrik hipertrofi ve sol ventriküler duvar kalınlığı LVWd ≥ 6 mm kriterleri baz alındı (Fox ve ark., 1995). Sağ kısa eksen artmış sol atrium/aort oranı (LA/Ao > 2 mm) belirlendi (Stokol ve ark., 2008). Diğer Ekokardiyografik değerlendirmeler için (Sistol ve diyastol

interventriküler septal kalınlık, sistol ve diyastol sol ventriküler iç çap, sistol ve diyastol sol ventriküler serbest duvar çapı, Fraksiyonel kasılma) sağ parasternal uzun eksen (sağ PLAX) ve M mod kullanıldı. Ayrıca ekokardiyografik değerlendirmeler ile sol ventriküler konsantrik hipertrofinin olası diğer nedenleri (sistemik hipertansiyon, ve aortik stenoz vb) elemine edildi. Prospektif ve iki merkezli olarak planlanan bu çalışmada HCM teşhisi konulan ve rastgele olarak seçilen hastalar (n:25); grup 1 (HCM+ATE; n:9) ve grup 2 (HCM; n: 16) olarak sınıflandırıldı. Fiziksel muayenede sekonder hastalığı bulunan; gebe, toraks grafilerinde pulmoner ödem tespit edilen, ekokardiyografide perikardial ya da plöral efüzyonu bulunan, son 1 hafta içinde ilaç tedavisi görmüş, son 1 ay içinde cerrahi prosedür geçirmiş veya kan nakli yapılmış, kan analizlerinde renal ve hepatik fonksiyon bozukluğu olan kediler çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen ve edilmeyen tüm hastaların sağaltımları uygun şekilde yapıldı.

İstatistiksel Analizler: Çalışmada gruplar arasında yaş, cinsiyet ve canlı ağırlıklar arasındaki ilişkinin istatistiksel değerlendirmeleri Kikare testiyle, aralarındaki korelasyonlar ise Pearson yöntemiyle tespit edilmiştir. Her iki grupta hematolojik parametrelerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı, $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm analizler SPSS 15.0 programından yararlanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular

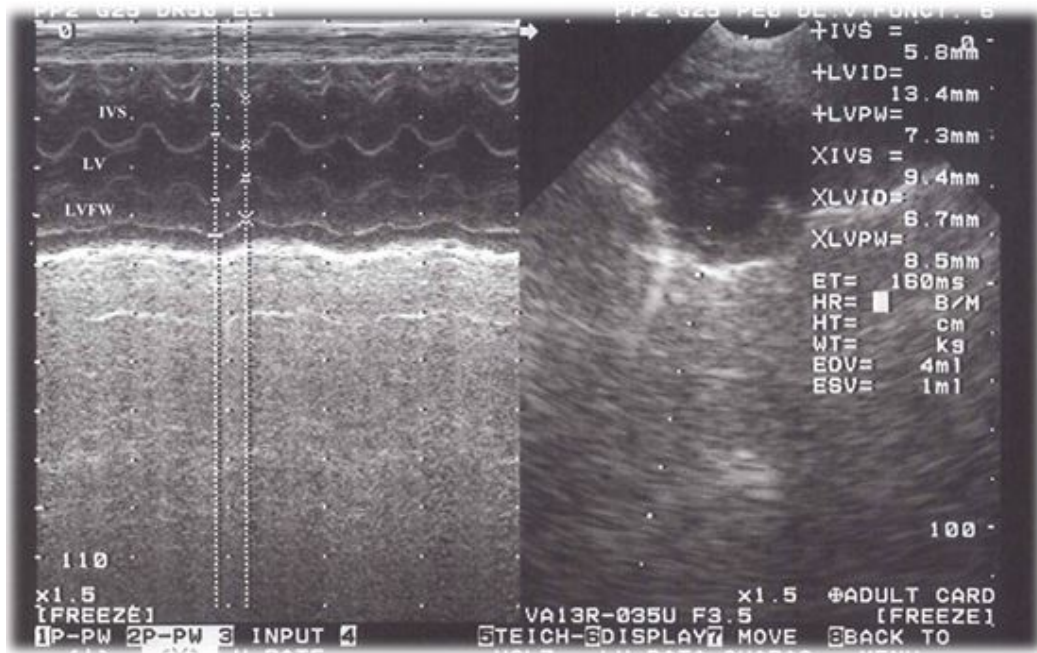
Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun 38 kedi kabul edildi. Hastaların 13'ü çeşitli nedenlerle çalışma dışı bırakıldı. Toraks grafilerinde pulmoner ödem belirlenen 3 hasta, perikardiyal efüzyonlu 5 hasta, plöral efüzyon tespit edilen 1 hasta ve renal ve eş zamanlı hepatik yetmezliği bulunan 4 hasta çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilmeyen hastaların 8'i kaybedildi.

Rastgele seçilerek çalışmaya dahil edilen kedilerden grup 1'de 7 erkek, 2 dişi (Şekil 1); grup 2'de ise 7 erkek, 9 dişi bulunmaktaydı. Grup 1'deki kedilerin yaş ve canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla 6.56 ± 4.62 ve 4.27 ± 0.7 olarak kaydedilirken; grup 2'deki kedilerde ise yaş ve canlı ağırlıklar sırasıyla 7.55 ± 5.38 ve 3.56 ± 1.16 olarak belirlendi. Değerlendirilen gruplar arasında yaş, cinsiyet ve canlı ağırlık dağılımları arasında istatistiksel farklılık belirlenmedi ($p < 0,05$).

Grup 1'de trombosit (PLT) ortalamaları (174.56 ± 101.95) grup 2 ile (266 ± 153.24) karşılaştırıldığında daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel farklılığa rastlanmadı ($p <$

0.05). MPV ortalamaları ise Grup 1’de (10.92 ± 4.32) grup 2’ye göre (10.73 ± 1.88) daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiki farklılık yoktu.

Gruplara ait tam kan analiz sonuçları ayrıntılı olarak tablo 1’de verildi.



Şekil 1. ATE’li bir kedide sol ventriküler konsantrik hipertrofi ve artmış sol ventriküler duvar kalınlığı (LVWd ≥ 6 mm, Sağ PSAX).

Tablo 1. Gruplara ait tam kan analiz sonuçları.

	Grup 1 (HCM+ATE; n:9)	Grup 2 (HCM; n: 16)	P
WBC $10^9/l$	9.38 ± 4.01 (5.06 - 16.05)	12.23 ± 8.13 (3.05 - 33.80)	0.559
LYM $10^9/l$	1.29 ± 0.48 (0.76 - 2.40)	3.25 ± 2.42 (0.51-8.72)	0.032
MON $10^9/l$	0.45 ± 0.35 (0.19 - 1.30)	1.41 ± 2.00 (0.08-8.00)	0.032
NEUT $10^9/l$	7.56 ± 4.38 (3.00-14.69)	7.58 ± 5.45 (2.43-18.80)	0.637
EOS $10^9/l$	0.13 ± 0.11 (0.01- 0.30)	0.23 ± 0.23 (0.00-0.91)	0.535
LYM %	17.61 ± 11.29 (4.70-36.70)	25.32 ± 17.22 (1.60-54.10)	0.419
MON %	5.69 ± 6.25 (1.80-22.10)	9.39 ± 6.21 (2.20-23.40)	0.049
NEUT %	76.02 ± 14.51 (54.60-91.50)	61.78 ± 17.85 (35.70-92.20)	0.065
EOS %	1.09 ± 1.29 (0.10-3.60)	2.71 ± 3.53 (0.50-13.90)	0.175
RBC $10^{12}/l$	8.62 ± 1.86 (5.72-11.20)	7.24 ± 1.74 (3.81-10.22)	0.057
HGB g/dl	12.71 ± 2.76 (8.90-16.40)	11.53 ± 2.48 (6.40-15.40)	0.329
HCT %	34.24 ± 6.65 (26.00-45.50)	29.08 ± 9.45 (4.25-39.70)	0.301
MCV fl	40.46 ± 6.45 (30.00-47.00)	42.02 ± 5.46 (31.80-50.10)	0.598
MCH pg	17.97 ± 7.92 (10.20-37.90)	15.64 ± 1.60 (12.60-18.50)	0.718
MCHC g/dl	37.06 ± 3.20 (33.00-42.30)	57.36 ± 81.32 (31.10-362.00)	0.677
RDW _a fl	20.57 ± 2.68 (17.70-23.00)	19.93 ± 2.72 (16.20-24.20)	0.793
RDW %	18.80 ± 3.04 (15.10-24.70)	19.72 ± 4.95 (14.10-31.90)	0.846
PLT $10^9/l$	174.56 ± 101.95 (44.00-366.00)	266 ± 153.24 (79.0-523.00)	0.124
MPV fl	10.92 ± 4.32 (4.00-18.20)	10.73 ± 1.88 (7.10-14.90)	0.846

Tartışma ve Sonuç

ATE, kedilerde kardiyomyopatiler sonucu şekillenen oldukça öldürücü ve sessiz seyirli yaygın bir sekel olarak tanımlanmaktadır (Dwyer, 2015; Kang ve ark., 2015; Payne ve ark., 2013; Rush ve ark., 2002; Smith ve Tobias, 2004) . Tipik olarak

ATE’li kedilerde; şiddetli ağrıyla karakterize bir ya da daha fazla ekstremitede fonksiyon kaybı, vücut ısısında düşme, soğuk ekstremiteler ve hipokinetik femoral nabız belirlenmektedir (Kang, 2015; Laste ve Harpster, 1995). Sunulan çalışmada bu klinik bulguları taşıyan ATE’li, erken yorulma şikayeti bulunan ATE’siz HCM’li kediler çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Laste ve Harpster,

1995) ATE'nin eşlik ettiği HCM'li kedilerin (260 olgu) büyük çoğunluğunda (% 57) şiddetli sol atrial genişleme belirlenmiştir. Bu çalışmada da sol atrial dilatasyonu şiddetli olan HCM'li kediler çalışmaya alınmıştır.

Kalp hastalıklı kedilerde hiperkoagülatif durum hakkında çelişkili literatür verileri söz konusudur. Yapılan bir çalışmada (Bedard ve ark., 2007) HCM'li kedilerin % 45'inde artmış trombosit aktivitesi rapor edilmişken; diğer bazı raporlar ise (Helenski ve Ross; 1987) kalp hastalıklı kedilerde trombosit aktivasyonunda değişikliğin olmadığını bildirmektedirler. Kedilerde thrombüs; hiperkoagülasyon, endotelial hasar, kan dolaşımında durgunlaşma ve sol atrial dilatasyonu kapsayan bileşenler nedeniyle şekillenmektedir. Sol atrial dilatasyon nedeniyle kan akış hızı azalmakta, eritrosit agregasyonu artmakta ve trombositlerin aşırı kullanımı ve azalmalarıyla sonuçlanan PLT aktivasyonu şekillenmekte ve thrombüs oluşmaktadır (Bedard ve ark., 2007; Laste ve Harpster, 1995; Stokol ve ark., 2008). Bu çalışmada her iki grupta da şiddetli sol atrial dilatasyonlu HCM'li kediler değerlendirmeye alınmış, ATE şekillenen grupta ise literatür verileriyle uyumlu şekilde (Laste ve Harpster, 1995; Schober ve ark., 2003; Stokol ve ark., 2008) artmış PLT aktivitesi nedeniyle azalmış PLT düzeyi belirlenmiştir. Grup 1'de PLT düzeyinin referansın da altına inmesi; ATE şekillenmeyen HCM'li kedilerle karşılaştırıldığında, ATE'nin eşlik ettiği HCM'li kedilerde artmış hiperkoagülatif durumun göstergesi olarak yorumlanmıştır. ATE şekillenmeyen HCM'li kedilerde de PLT düzeyi referans değerinin alt sınırına doğru azalma göstermiştir. Bu durum HCM'li fakat ATE'nin eşlik etmediği kedilerde de hiperkoagülatif prosesin etkinliğini göstermektedir. Yapılan bir diğer çalışma ise (Stokol ve ark., 2008) bu prosesi doğrular nitelikte, kalp hastalığı ve sol atrial boyutlardan bağımsız olarak ATE'nin gelişmediği HCM'li kedilerde de hiperkoagülatif duruma dikkat çekmiştir.

Artmış MPV düzeyleri insanlarda akut myokardiyal infarktüs öncesi ve sonrasında alınan ölçümlerde rapor edilmektedir. Thrombüs nedeniyle koroner arter obstrüksiyonu sırasında trombositlerin hızlı tüketimi PLT düzeyinde azalmaya neden olmakta, trombositlerin bu hızlı tüketimi MPV düzeylerini arttırmaktadır. Hızlı tüketimi konpanze etmek için dolaşıma çıkan yeni trombositler diğerlerine göre daha büyük olmakta ve MPV'deki artışı açıklamaktadır (Erne ve ark., 1988; Sewell ve ark., 1984). Daha büyük trombositler metabolik ve enzimatik olarak daha aktif olmakta ve bu durum artmış thrombüs oluşum riskini göstermektedir (Martin ve ark., 1983). Ayrıca

artmış PLT büyüklüğü ile (MPV artışı) thrombüs oluşum riski arasında korelasyon bildirilmektedir (Pereg ve ark., 2010). HCM'li kedilerde artmış koagülasyon aktivitesinin thrombüs oluşumunda kritik rol oynadığını düşünüldüğünde (Helenski ve Ross; 1987; Welles ve ark., 1994); artmış koagülasyon aktivitesine sahip, koroner arter obstrüksiyonu nedeniyle infarktüsü bulunan insanlarda da azalmış PLT düzeyinin artmış MPV ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Glud ve ark., 1986). Sunulan çalışmada ATE gelişmiş HCM'li kedilerde gelişmeyenlerle karşılaştırıldığında nispeten daha yüksek MPV düzeylerine rastlanmasına rağmen istatistiki farkın bulunmamasının, grup 1'de daha az sayıda olgu sayısı olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. ATE gelişmiş HCM'li kedilerde daha düşük PLT düzeyi ile daha yüksek MPV düzeylerinin belirlenmesi literatür verileriyle uyumludur (Glud ve ark., 1986).

Sonuç olarak; trombositlerin fonksiyonel aktivitesi ve hiperkoagülatif durumu ortaya koymada basit bir belirteç olarak kullanılan MPV, PLT sayısı ile ters ilişkilidir. Hiperkoagülatif durum ATE gelişmiş HCM'li grupta daha yüksek olup bu durum PLT düzeylerini düşürmüştür. PLT düzeyindeki düşüş ise dolaşıma giren büyük trombosit miktarını arttırdığından MPV düzeylerinin yükselmesine neden olmuştur. Her ne kadar ATE'nin eşlik ettiği HCM'li kedilerde artmış hiperkoagülatif durumun göstergesi olan daha düşük PLT ve daha yüksek MPV düzeyleri bulduysa da, bu parametrelerin erken thrombüs oluşumunu ortaya koymadaki kullanılabilirliğini belirlemek için daha geniş olgu sayılı prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Teşekkür

Çalışmanın istatistiksel değerlendirmelerini yapan Yrd. Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Bedard C, Lanevski-Pietersma A, Dunn M, 2007: Evaluation of coagulation markers in the plasma of healthy cats and cats with asymptomatic hypertrophic cardiomyopathy. *Vet Clin Pathol*, 36, 167-172.
- Dwyer L, 2015: Thromboembolic disease in dogs and cats. *Veterinary Nursing Journal*, 30, 118.
- Erne P, Wardle J, Sanders K, Lewis SM, Maseri A, 1988: Mean platelet volume and size distribution and their sensitivity to agonists in patients with coronary artery disease and congestive heart failure. *Thromb Haemost*, 59, 259-63.
- Fox PR, Liu SK, Maron BJ, 1995: Echocardiographic assessment of spontaneously occurring feline

- hypertrophic cardiomyopathy. An animal model of human disease. *Circulation*, 92, 2645-2651.
- Glud T, Schmidt EB, Kristensen SD, Arnfred T, 1986: Platelet number and volume during myocardial infarction in relation to infarct size. *Acta Med Scand*, 220, 401-5.
- Helenski CA, Ross JN, 1987: Platelet aggregation in feline cardiomyopathy. *J Vet Internal Med*, 1, 24-28.
- Hogan DF, 2017: Feline Cardiogenic Arterial Thromboembolism. *Vet Clin Small Anim*, 47, 1065-1082.
- Kang ME, Min SH, Kim SG, Lee CM, Park HM, 2015: Characteristic Clinical Features and Survival in Cats with Symptomatic Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Biomed Res*, 16, 152-158.
- Laste NJ, Harpster NK, 1995: A retrospective study of 100 cases of feline distal aortic thromboembolism: 1977-1993. *J Am Anim Hosp Assoc*, 31, 492-500.
- Liu SK, Fox PR, 1999: Cardiovascular pathology. In "Textbook of Canine and Feline Cardiology: Principles and Practice", Ed; Fox PR, Sisson D, Moise NS, W.B. Saunders, Philadelphia, USA.
- Martin JF, Bath PMW, 1991: Platelets and megakaryocytes in vascular disease. In "Antitrombotics: pathophysiological rationale for pharmacological inventions", Ed; Herman AG, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Martin JF, Plumb J, Kilby RS, Kishk YT, 1983: Changes in volume and density of platelets in myocardial infarction. *Br Med J*, 287, 456-9.
- Park Y, Schoene N, Harris W, 2002: Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. *Platelets*, 13, 301-306.
- Payne J, Luis Fuentes V, Boswood A, Connolly D, Koffas H, Brodbelt D, 2010: Population characteristics and survival in 127 referred cats with hypertrophic cardiomyopathy (1997 to 2005). *J Small Anim Pract*, 51, 540-547.
- Payne JR, Borgeat K, Connolly DJ, Boswood A, Dennis S, Wagner T, Menaut P, Maerz I, Evans D, Simons VE, Brodbelt DC, Luis Fuentes V, 2013: Prognostic indicators in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Vet Intern Med*, 27, 1427-1436.
- Pereg D, Berlin T, Mosseri M, 2010: Mean platelet volume on admission correlates with impaired response to thrombolysis in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Platelets*, 21, 117-121.
- Ross R, 1999: Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340, 115-126.
- Rush JE., Freeman LM., Fenollosa NK., Brown DJ., 2002. Population and survival characteristics of cats with hypertrophic cardiomyopathy: 260 cases (1990-1999). *J Am Vet Med Assoc*, 220, 202-207.
- Schober KE, Fuentes VL, Bonagura JD, 2003: Comparison between invasive hemodynamic measurements and noninvasive assessment of left ventricular diastolic function by use of doppler echocardiography in healthy anesthetized cats. *Am J Vet Res*, 64, 93-103.
- Sewell R, Ibbotson RM, Philips R, Cardson P, 1984: High mean platelet volume after myocardial infarction: is it due consumption of small platelet? *Br Med J*, 289, 1576-8.
- Smith NM, Pathansali R, Bath PM, 1999: Platelets and stroke. *Vasc Med*, 4, 165-172.
- Smith SA, Tobias AH, 2004: Feline arterial thromboembolism: An update. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 34, 1245-1271.
- Smith SA, Tobias AH, Jacob KA, Fine DM, Grumbles PL, 2003: Arterial thromboembolism in cats: acute crisis in 127 cases (1992e2001) and long-term management with low-dose aspirin in 24 cases. *J Vet Int Med*, 17, 73-83.
- Spalla I, Locatelli C, Riscuzzi G, Santagostino S, Cremaschi E, Brambilla P, 2016: Survival in cats with primary and secondary cardiomyopathies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18, 501-509.
- Stokol T, Brooks M, Rush JE, Rishniw M, Erb H, Rozanski E, Kraus MS, Gelzer AR, 2008: Hypercoagulability in cats with cardiomyopathy. *J Vet Intern Med*, 22, 546-552.
- Welles EG, Boudreau MK, Crager CS, Tyler JW, 1994: Platelet function and anti-thrombin, plasminogen and fibrinolytic activities in cats with heart disease. *Am J Vet Res*, 55, 619-627.

***Yazışma Adresi:** Ekrem Çağatay ÇOLAKOĞLU,
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
e-mail: colakoglu@ankara.edu.tr

Döl Tutmayan İneklerde İmmunolojik İnfertilitenin Araştırılması

B. Kemal GÜMÜŞAY¹, İshak GÖKÇEK^{2*}, İlker YAVAŞ³

¹Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Hassa İlçe Tarım Müdürlüğü, Hatay, Türkiye.

²Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

³Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2018

Kabul Tarihi: 08.06.2018

Özet: Hayvancılık işletmelerinin geleceği açısından ineklerden yavru elde edilmesi çok önemli yer teşkil eder. İneklerde infertilite nedenleri çok çeşitlidir. Bunlar arasında herediter, işlevsel (anöstrus, suböstrus, kistler), enfeksiyöz hastalıklar, bakım ve besleme bozuklukları sayılabilir. Günümüzde yukarıda sayılan bu nedenlerin bulunmadığı durumlarda bile yapılan çok sayıda tohumlamaya rağmen bazı ineklerde gebe kalamama olgularının görülmesi dikkat çekicidir. Bu çalışmada infertil ineklerde immunglobulin seviyelerine bakılarak immünolojik infertilitenin tespiti ve immünolojik infertilitenin görülme sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, özel işletmelerde bulunan ve en az 3 kere tohumlandığı halde gebe kalmayan, rektal ve ultrason ile yapılan muayenede fertiliteye engel herhangi bir bozukluğu bulunmayan, daha önce en az bir kere sorunsuz doğum yapmış inekler kullanılmıştır. Tohumlama sonrası elde edilen kan serumu örneklerinde ELISA testi ile antisperm antikorları tespit edilmiştir. Sonuç olarak, normal saha koşullarında test edilen herhangi bir rahatsızlığı bulunmayan, en az 3 kere tohumlanmış ama gebe kalmamış ineklerin kan serumlarında ELISA testi ile % 14,33 oranında antisperm antikorları (ASA) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *İnfertilite, İmmunolojik infertilite, Salgısal immunglobülin A, Suni tohumlama.*

Investigation of Immunological Infertility in Repeat Breeder Cows

Abstract: In terms of the future of livestock businesses, obtaining calf from cows is crucial. There are many factors that prevent fertility. These factors include hereditary and functional problems (an- oestrus, sub-oestrus, cysts), infectious diseases, and miscarriage. It is noteworthy that some cows do not become pregnant despite the numerous inseminations even in the absence of an apparent reason. In this study it was aimed to investigate the incidence of immunological infertility by determining immunglobulin levels in repeat breeder cows. In the study 50 cows which calved at least once and were not pregnant despite at least 3 subsequent inseminations although they did not have any disorders preventing fertility as assessed by rectal and ultrasonographic examinations, were used. Antisperm antibodies (ASA) were detected by ELISA test in blood serum samples obtained after insemination. As a result, ASA were detected in 14.33% of the cows that were at least 3 times inseminated but not conceived at any time in normal field conditions.

Keywords: *Infertility, Immunological infertility, Secretory immunoglobulin A, Artificial insemination.*

Giriş

Üreme fizyolojisi alanındaki yapılan çalışmalara ve gelişmelere rağmen hayvanlarda infertilite olgularının %30-40'ında belirlenebilir bir neden (idiopatik infertilite) bulunamamıştır. Birçok araştırmacı, spermaya karşı oluşan antikorların (ASA) idiopatik infertilitenin oluşum sebeplerinden biri hatta en önemlisi olabileceğini ifade etmektedir (Risvanlı ve ark., 2005). Vücudun tüm mukozal yüzeylerinde olduğu gibi dişi genital kanal mukozal yüzeyinde de lizozim, laktoferrin, laktoperoksidaz gibi enzimler ile mukus varlığı önemli savunma faktörleridir. Ayrıca tüm mukozal yüzeylerde en çok bulunan antikor salgısal immunglobulin A (slgA) 'dır. İmmunglobulin A kandan mukozal yüzeylere geçerken salgısal bir parça eklenir ve salgısal immunglobulin A (slgA) halini alır (Rodney ve David, 2017). Böylece slgA mukozal yüzeylerdeki enzimlerin yıkımlayıcı etkilerinden korunmuş olur. slgA'nın en önemli fonksiyonu yabancı maddelerin

epitel hücrelerine bağlanmasını engellemektir. Sperma, dişi genital kanalıyla ilk olarak vaginada karşılaşır. Vaginaya bırakılan spermaya karşı dişi immün sistem tarafından immunosupresif etki oluşturulur. Bu durum spermaya karşı oluşabilecek olan antikorların sperme yapışabilmesini engeller. Seminal plazmada da bir çok immunosupresif faktörün varlığı iddia edilmiştir (Price ve ark., 1984). Dişi reproduktif sisteminde enfeksiyon gibi lokal immün cevabı stimüle eden yardımcı faktörler seminal plazmanın immunosupresif etkisini değiştirir veya spermalarla çapraz reaksiyon veren antikorların oluşumuna yol açarlar (Wolff ve Schill, 1985). Ürogenital kanalda spermaya karşı lokal olarak oluşan bu izoantikorlar, spermatozoonların fonksiyonları üzerinde farklı etkilere sahiptirler. Bunların arasında spermatozoon motilitesinde azalma, migrasyonun engellenmesi ve aglütinasyon reaksiyonu gibi faktörler sayılmaktadır (Price ve ark.,

1984; Doğan ve Gökçen, 2001). Dişi reproduktif kanalda, östrus döneminde, serviks uterusun açılmasına paralel olarak immunglobulin G ve immunglobulin A sınıfı antikorların çoğaldığı tespit edilmiştir (Minbay, 1994).

Bu çalışmada geçmişinde en az bir kez doğum yapmış fakat en az 3 tohumlamadan bu yana döl tutmayan ineklerin infertilite nedeninin immunolojik yönden araştırılması amaçlanmıştır. Böylece idiyopatik (nedeni bilinmeyen) infertilite içinde bulunan immunolojik infertilite oranını belirlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) 26.02.2015 tarihli toplantı 2015-2-9/132 sayılı kararı alındıktan sonra çalışmamız başlamıştır. Çalışmamızda, özel işletmelerde bulunan daha önce en az bir kez doğum yapmış düzenli aralıklara östrüs belirtileri gösterebilen, genital kanalda enfeksiyonlarmetritis, pyometra, klinik endometris yönünden muayene edilen ve genital bir enfeksiyon belirlenmeyen fakat en az 3 suni tohumlamadan bu yana döl tutmayan genel sağlık taraması yapılmış 50 baş inek kullanıldı. İneklerin kızgınlık takipleri yapıldı. Kızgınlık döneminde partikül veya kötü koku bulunmayan şeffaf berrak renkli çara gözlemlendi. Kızgınlık belirtileri gösteren ineklerin rektal palpasyon ve ultrasonla folliküler aktivitesine bakılarak östrüsün 12-18'inci saatleri arasında derin ipsi lateral rektovaginal yöntemle suni tohumlaması yapıldı. Suni tohumlamadan 4 saat sonra juguler venden antikoagülanlı tüplere kan alındı. Alınan numuneler soğuk zincirde laboratuvara getirildi. Kan örnekleri (10 ml) standart prosedürle 3000 rpm devirde 20 dakika santrifüj edilerek kan serumları elde edildi. Elde edilen kan serumları laboratuvar analizleri yapıncaya kadar -20 santigrat (°C) derecede muhafaza edildi. Tohumlamalarda Progeny testi yapılmış boğalardan elde edilen dondurulmuş sperma payetleri kullanıldı. Bireysel farklılıkları önlemek amacıyla aynı boğaya ait spermaları içeren payetler kullanıldı ve kullanım öncesi en az 3 payet çözdürülerek tam spermatolojik muayene yapıldı. Serum örneklerinde Enzyme-linked Immune Sorbent Assay (ELISA) testi ile (Kim ve ark., 1999) antisperm antikorları tespit edildi. Analizde Yehua Biological Technology Co., Ltd. firmasından temin edilen Bovine secretory immunoglobulin A (sIgA) ELISA kiti kullanıldı. Analiz öncesi örnekler, standartlar ve reagentler hazırlandı. Hazırlanan numunelere ve standartlara, biyotin ve ELISA çözeltileriyle etiketlenmiş ikinci antikorlar eklendi. 37 °C'de 60 dakika boyunca reaksiyona girmesi sağlandı. Plaka 5 kez yıkandı. Ardından reagent A ve

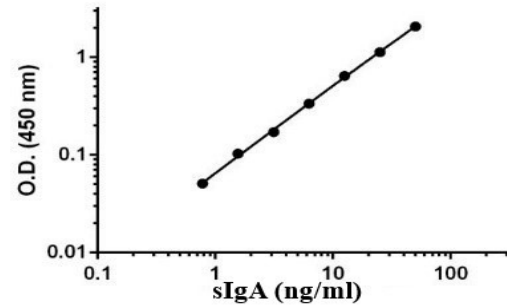
B eklendi ve renk gelişimi için ve 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Plaka 10 dakika içinde Eliza okuyucuda 450 nanometrede ölçüldü.

Bulgular

ELISA testi sonuçlarına göre negatif serum absorbands değeri 0.380 OD (absorbans değeri) olarak saptandı. Bu değer ve altındaki absorbands değeri gösteren kan serumu sIgA düzeyleri negatif kabul edildi. 0.380 ile 0.820 OD aralığındaki numuneler ise ASA pozitif veya negatif olarak kabul edilmedi. 0.820 OD'dan büyük absorbands değerleri ise olumlu bir tepkinin göstergesi olarak kabul edildi. Bu değerden daha yüksek absorbands değeri gösteren kan serumu sIgA düzeyleri için antisperm antikorlu (ASA) pozitif olduğu belirlendi. ASA pozitif olduğu tespit edilen hayvanların oranı ise 50 baş inek arasında %14.33 olarak kaydedildi.

Tablo 1. İnek serumlarında sIgA düzeyleri.

Eliza Testi Sonuçları	
Numune İndeksi	Sonuç
< 0.380 OD	Negatif ASA (-)
≥ 0.820 OD	Pozitif ASA (+)
Ortalama Değer	Standart Sapma
0.572 (0.095–1.220) OD	± 0,314



Şekil 1. Serum İmmunglobulin A (sIgA) ELISA sonucu.

Tartışma ve Sonuç

Birçok araştırmacı, spermaya karşı oluşan antikorların (ASA) idiyopatik infertilitenin oluşum sebeplerinden biri hatta en önemlisi olabileceğini ifade etmektedir (Risvanlı ve ark., 2005). Bununla birlikte, ideal laboratuvar ve klinik koşullarda dahi infertilitenin yalnızca %60-70'inin nedeni saptanabilir düzeydedir; saha koşullarında bu oran %50'den daha aşağıya düşer. Bu nedenle idiyopatik infertilitenin nedenlerinin belirlenmesi önemli bir konudur. Son zamanlarda, idiyopatik infertilitenin nedenlerinden biri olarak immunolojik faktörlerin önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Alexander

ve Anderson, 1989; Risvanli ve Kaygusuzoğlu, 2004). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar klinik olarak gebe kalmamasına engel bir neden bulunmamasına rağmen 3 veya daha fazla tohumlamada gebe kalmamış ineklerdeki infertilite olgusuna immunolojik faktörlerin etkisi olabileceği yönündedir. Spermatozoonların testiste üretimi sırasında geniş bir yelpazedeki antijenik yapılar bileşime eklenmektedir. Bir sperm hücresi üzerinde birçok protein bulunur. Bu proteinlerden hangisinin dişi genital kanalında bir bağışıklık tepkisine neden olduğu iyi bilinmemektedir. Kadın vücudunda ASA oluşumunu kolaylaştıracak spermatozoa üzerinde FA1 ve laktik dehidrogenaz C4 gibi birçok antijenik yapı bulunduğu ortaya konmuştur (Bradley ve ark., 1997; Naz, 1999). Reprodüktif organların ve kanın içindeki ASA varlığı genellikle insanlarda, laboratuvar hayvanlarında ve çiftlik hayvanlarında infertiliteye yol açmaktadır (Waziri ve Fayemi, 2000; Srivastava ve ark., 2017). Çalışmamızda elde ettiğimiz sIgA düzeyleri bu bilgileri destekler niteliktedir. ASA'dan dolayı infertil olan dişilerin oranını tahmin etmek zordur. Bazı dişilerde ASA oluşumuna neden olabilecek birçok faktör vardır. Bu nedenler arasında dişinin immünolojik durumu, sperma konsantrasyonu, çiftleşmenin sayısı olduğu gibi ayrıca dişilerde farklı stres koşulları veya kortikosteroid kullanımı sayılabilir. Buna ek olarak, spermatozoonların kanla temas etmesi sonrası hayvan vücudunda ASA'lar geliştiği bilinmektedir; bu nedenle yangısal durumlar, örneğin; metritis, vajinitis veya çiftleşme sırasında meydana gelen travma ve kanamalar bu antikorların gelişiminde önemli rol oynar (Panchal ve ark., 1990). Çiftlik hayvanlarının yaşam koşulları ve saha koşullarının zorluğu düşünülünce yukarıda bahsedilen ASA oluşumuna neden olabilecek faktörlerin sabit tutulması ve ASA oranının tespit edilmesi zor olabilmektedir. Bu nedenle çiftlik hayvanlarında ASA oranının tam olarak tespit edilebilmesi için stres koşulları, kortikosteroid kullanımı ve spermatozoonların dişide kanla teması gibi durumların sabit tutulduğu daha ileri çalışmaların çiftlik hayvanlarında da yapılması gerektiği düşünülmektedir. ASA varlığında ejakülat hacminin, sperm sayısının, sperma motilitesinin ve spermatozoonların bağlanma kapasitelerinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Zral ve ark., 2002). Çalışmamızda ticari olarak satılan sperma payetlerinin kullanılması ile ejakülat hacmi ve spermatozoon sayısının bir örnek olması sağlanmış ve bu faktörlerin sonuçlara etki etmediği düşünülmektedir. Suni tohumlama öncesi kullanılacak payetlerde spermatolojik muayene yapılmasıyla sperma motilitesinin de sonuçları etkilemediği düşünülmektedir. Ayrıca aynı boğaya ait sperma payetleri kullanılmasıyla bireysel

farklılığın sonuçlara etki etmediği düşünülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda özellikle doğal aşım ile çiftleştirilen dişilerde ejakülat hacminin fazlalığı ve genital kanal yaralanmaları dikkate alındığında ASA oluşumunun artabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ineklerde suni tohumlama esnasında suni tohumlama kateterinin ilerletilmesi esnasında manipülatif hatalar sonucu şekillenen genital kanal yaralanmalarında da ASA oluşumunun görülebileceği düşünülmektedir. İneklerde ASA varlığının tekrarlanan tohumlama nedeniyle spermilere karşı oluşturulan aynı antikorlar veya spesifik antikorlarla farklı antijenlerin çapraz reaktivitesinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (Ahuja ve ark., 2016). Bu bilgi doğrultusunda ineklerde aynı boğaya ait spermilerin kullanılması immunolojik infertilitenin nedeni olabilmektedir. Bu faktörün fertiliteye etkisini azaltmak amacıyla immunolojik infertil şüpheli hayvanlarda farklı boğa spermaları ile tohumlama yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; normal saha koşullarında test edilen herhangi bir rahatsızlığı bulunmayan, en az 3 kere tohumlanmış ama gebe kalmamış ineklerin serumlarında %14.33 oranında ASA şeklinde spermilere karşı immünite tespit edilmiştir. ASA'nın bu hayvanlarda infertilite nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir. Saha şartlarında en az 3 kere tohumlanıp gebe kalmayan inekler kesime gönderilmeden immünolojik infertilite yönünden değerlendirilmeli, tedavi uygulanıp gebelik takip edilmelidir. Böylelikle basit bir kortikosteroid tedavisi ile bile bir inek kesimden kurtularak yavru elde edilebilir ve ülke genelinde büyük ekonomik kayıplar önlenir. Ayrıca ASA'nın sığır ve diğer çiftlik hayvanlarında doğurganlık üzerindeki etkileri üzerine insanlarda yapılanlara benzer şekilde daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Alexander NJ, Anderson DJ, 1989: Immunological factors in reproductive fitness. In "Reproduction in Mammals", Ed; Austin CR, and Short RV, Cambridge University Press, Cambridge.
- Ahuja AK, Cheema RS, Kumar A, 2016: Status of naturally developing antisperm antibodies in serum of calves, heifers, cows and their effect on in vitro capacitation and acrosome reaction. J Bio Innov 5 (6), 874-889.
- Bradley MP, Hinds LA, Bird PH, 1997: A bait-delivered immunocontraceptive vaccine for the european red fox by the year 2002? Reprod Fert Dev, 9, 111-116.
- Doğan İ, Gökçen H, 2001: Döl tutmayan inek ve düvelerde penetrasyon testinin kullanım olanakları. J Fac Vet Med, 20, 91-98.
- Kim CA, Parrish JJ, Momont HW Lunn DP, 1999: Effects of experimentally generated bull antisperm antibodies

- on in vitro fertilization. *Biology of Reproduction*, 60, 1285–1291.
- Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker S, 1994: İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye.
- Naz RK, 1999: Vaccine for contraception targeting sperm. *Immunol Rev*, 171, 193-202.
- Panchal MT, Dholakia PM, Derashri HJ, Kodagali SB, 1990: Investigation on immunoinfertility in repeat breeding buffaloes. *Indian J Anim Sci*, 60, 1211-1212.
- Price RJ, Roberts TK, Gmm D, Boettcher B, 1984: Anticomplementary activity in human semen and its possible importance in reproduction. *Amer J Reprod Immunol*, 6, 92.
- Rhoades RA, Bell DR, 2017: Klinik Tıbbın Temelleri, İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye.
- Risvanli A, Kaygusuzoglu E, 2004: Immunological infertility in domestic animals. *J Turk Vet Med*, 3-4, 52-55.
- Risvanli A, Aydın M, Kaygusuzoglu E, Bulut H, Apaydin AM, Bolat Y, 2005: The prevalence of antisperm antibodies in cattle in the eastern anatolian region of Turkey. *Irish Vet J* 49, 45-48.
- Srivastava SK, Shinde S, Singh SK, Werma MR, Singh AK, Nandi S, Srivastava S, Goswami TK, Bhure SK, Kumar H, Ghosh SK, 2016: Antisperm antibodies in repeat-breeding cows: Frequency, detection and validation of threshold levels employing sperm immobilization, sperm agglutination and immunoperoxidase assay. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 195-202.
- Waziri MA, Fayemi OE, 2000: Seroprevalence of sperm antibodies in goats. *Veterinarski Archiv*, 70, 95-102.
- Wolff H, Schill WB, 1985: Antisperm antibodies in infertile and homosexual men: relationship to serological and clinical findings. *Fertility and Sterility*, 44, 673.
- Zral Z, Bendova J, Diblikova I, Vecova D, Kummer V, Makova J, Vulnik Z, 2002: Antisperm antibodies in blood sera of bulls and correlations with age, breed and ejaculate quality. *Acta Vet Brno* 71, 303-308.
- *Yazışma Adresi:** İshak GÖKÇEK
Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye
e-mail: ishakgokcek@hotmail.com

Teke Spermasının +4 °C'de Payet, Ependorf ve Falcon Tüplerinde Saklanması Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkisi

Muhammed Enes İNANÇ*, Şükrü GÜNGÖR, Fatıma DİNÇ, Ayhan ATA

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

Geliş Tarihi: 05.03.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Bu çalışmanın amacı, Honamlı teke spermasının kısa süreli saklanmasında farklı büyüklükteki payet ve deney tüplerinin spermatolojik parametrelere etkisini araştırmaktır. Araştırmada beş baş Honamlı tekesi kullanıldı. Tekelerden haftada iki kez suni vagina yardımıyla üreme sezonu içinde sperma alındı. Her bir tekeden alınan nativ ejakülatlar birleştirilerek tris yumurta sarısı sulandırıcısı ile sulandırıldı ve payet (0.25; 0.5 ml), Ependorf tüpü (0.5; 1.5 ml), Falcon tüpü (15; 50 ml) olarak 6 farklı grup oluşturuldu ve +4 °C'de saklandı. Gruplar oluşturulduktan sonra 24 saat aralıklarla spermatolojik parametreler 96. saate kadar sperma motilitesi (%), morfolojik bütünlük (%), membran bütünlüğü (HOS test, %) yönünden incelendi. Morfolojik bütünlük yönünden gruplar arasında istatistiki olarak farklılık bulunmazken ($P>0.05$); 96. saatin sonunda en yüksek motilite (57.50 ± 2.50) ve membran bütünlüğü (56.00 ± 3.73) 0.5 ml'lik payet grubunda tespit edildi ($P<0.05$). Sonuç olarak +4 °C'deki saklama koşullarında motilite ve membran bütünlüğü açısından en iyi sonuç 0.5 ml'lik payet grubunda tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Teke sperması, Kısa süreli saklama, Payet, Ependorf tüpü, Falcon tüpü.

Effect of Straw, Eppendorf and Falcon Tubes on Buck Semen Spermatological Parameters at +4 °C Storage

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effect of different sized straws and test tubes on spermatological parameters during the short-term storage of the Honamli buck semen. In this study, five Honamli bucks were used. Semen was taken twice a week with artificial vagina during the breeding season. The native ejaculates collected from each individual were mixed and diluted with tris egg yolk diluent. The diluted sperm samples were filled into straws (0.25; 0.5 ml), Eppendorf tubes (0.5; 1.5 ml) and Falcon tubes (15; 50 ml) so as to form 6 different groups. stored at +4 °C. Sperm motility (%), morphologic integrity (%), membrane integrity (HOS test, %) were examined at 24 hour intervals until 96. hour. Although there were no statistically significant differences between the groups on morphological integrity ($P>0.05$); the highest motility ($57.50\pm 2.50\%$) and membrane integrity ($56.00\pm 3.73\%$) were detected in 0.50 ml straw group ($P<0.05$). As a result, in terms of motility and membrane integrity the best results were determined in 0.5 ml straw group under storage conditions at +4 °C.

Keywords: Buck semen, Liquid storage, Straw, Eppendorf tube, Falcon tube.

Giriş

Üremeye yardımcı biyoteknolojik yöntemler, hayvan ıslahını hızlandırmak ve üstün verimli ırkların oluşturulması ile hayvanların verimlerinin artırılmasının yanı sıra, genetik özelliklerini dışı popülasyonlara hızlı bir şekilde aktarımını sağlamaktadır. (Birler ve ark., 2001). Bu aktarım sırasında saha koşullarında teke spermasının dondurulması ve daha sonra çözülmesi aşamalarında yeterli düzeyde başarıya hala ulaşamamıştır (Kulaksız ve Daşkın, 2009). Spermanın dondurulmasına bağlı olarak hücre fonksiyonlarını yerine getirememesi sonucu oksidatif stres oluşmakta ve bunun sonucu olarak ise kademeli olarak motilitede azalma, ile birlikte morfolojik bozukluklar ve fertilizasyon kabiliyetinde azalmalar görülmektedir (Alçay ve ark., 2016). Dondurulma sırasında ortaya çıkan bu problemler

ise bizi teke spermasının +4 °C'de saklanmasına yöneltmiştir. Spermanın +4 °C'de saklanmasında daha kademeli olarak motilitede, membran bütünlüğünde ve fertilizasyonda kayıplar gözlemlenmektedir (Avdatek ve ark., 2018; Maxwell ve Watson 1996).

Hayvan türlerine göre değişmekle birlikte spermanın dondurulması günümüz teknolojisinde farklı büyüklüklerdeki payetlerde (0.25 ml [boğa, koç, teke], 0.50 [boğa, aygır, koç, teke, domuz], 1.2; 1.7; 2.5; 4.0; 5.0 ml [balıklarda]) gerçekleştirilmektedir. Farklı büyüklüklerdeki payetlerle yapılan bilimsel çalışmalarda in vitro ve in vivo farklı sonuçlar elde edilmektedir (Ansari ve ark., 2011, Christensen ve Tiersch, 1997; Eriksson ve Rodriguez-Martines, 2000; Lahnsteiner, 1997). Koçlarda spermanın mini ya da maksı payette

dondurulması çalışmasında motilite hız parametrelerinin etkilendiği görülmüştür (Joshi ve ark., 2000). Bu farklılığın, ortamda bulunan oksijenden kaynaklandığı (aerobik ve anarobik ortam) düşünülmektedir. Aerobik sistem sonucu reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi kaçınılmazdır (Sadhan ve ark., 2004). Magnus ve Anand (2010) teke spermasını 2 ml ve 5 ml'lik hava boşluğu olan ve olmayan tüplere koyarak kısa süreli sakladığında hava boşluğu olmayan grubun motilitesini daha iyi koruduğunu tespit etmiştir. Spermatozoanın ROS üretiminin sınırlanmasının bu duruma yol açtığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca, literatürlerde farklı paketleme ve çözündürme yöntemlerinin spermanın canlılığını etkilediğini belirten çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Paulenz ve ark., 2004). Genel olarak geniş yüzey ve miktar oranının (pellet, 0.25, 0.5'lik payetler) sperma için daha homojenize bir saklama ortamı sağladığı belirtilmektedir (Buranaamnuay et al., 2009). Bunun sonucu olarak, spermatozoonların dondurulması sırasında kullanılan düşük hacimli saklama koşullarının yüksek hacimlilere göre daha az zarar görmesini sağlayacaktır (Eriksson ve Rodriguez-Martines, 2000).

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı, Honamlı teke spermasının +4 °C'de kısa süreli saklanmasında farklı büyüklükteki payet, Ependorf ve Falkon tüplerinin spermatozojik parametrelere etkisinin incelenmesidir.

Materyal ve Metot

Çalışmada hayvan materyalini 5 baş Honamlı Tekesi oluşturdu. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (05.10.2016 tarih ve 215 sayılı kararı) izni ile, tekelerden haftada iki defa suni vagina yardımıyla sezon içinde sperma alındı. Her bir tekeden alınan nativ ejakülatlar makroskopik ve mikroskopik yönden muayene edilerek normo-spermi değerleri gösteren (%80 motilite, 2×10^9 /ml yoğunluk, sperma miktarı en az 0.5 ml) ejakülatlar birleştirildi. Birleştirilen ejakülatlar temel tris yumurta sarısı sulandırıcısı (3.63 gr Tris; 1.82 gr Sitrik asit, 0.5 gr glikoz/100 ml distile su, %20 yumurta sarısı) ile konsantrasyonu 500×10^6 /ml olacak şekilde sulandırıldı. Sulandırma sonrası sperma grupları payet (0.25 ml, 0.5 ml), Ependorf tüpü (0.5 ml, 1.5 ml) ve Falkon tüp (15 ml, 50 ml) olarak 6 farklı grup şeklinde oluşturuldu. Payetlere sulandırılmış sperma çekildikten sonra uçları polivinil alkol ile kapatıldı. Ependorf deney tüpleri tamamen; Falkon tüplere ise standart 5 ml sulandırılmış spermalar ile doldurularak kapakları kapatıldı. Gruplar oluşturulduktan sonra saat 0. saat olarak kabul edildi ve 96. saate kadar +4 °C'de saklandı. Saklama

sırasında 24 saat aralıklar ile spermatozoa motilitesi (%) ve membran bütünlüğü (HOS test, %); çalışmanın başlangıcında ve sonunda (0. ve 96. Saatlerde) ise anormal spermatozoa oranı (%) incelendi.

Spermatozojik Parametrelerin Değerlendirilmesi:

Motilite muayenesi, subjektif olarak, faz-kontrast mikroskopta x40'lık büyütmede ısıtma tablası (37°C) kullanılarak 7 farklı mikroskop sahası incelenerek ortalamaları alındı ve motilite sonucu (%) belirlendi. Anormal spermatozoa oranı Hancock solüsyonu (62.5 ml formalin (37%), 150 ml salin solüsyonu, 150 ml tampon solüsyonu ve 500 ml bi-distile su) kullanarak faz kontrast mikroskopunda immersiyon yağı kullanılarak x100'lük büyütmede toplam 200 adet spermatozoa incelendi ve sonuç % olarak belirlendi (Schafer ve Holzmann, 2000). Fonksiyonel membran bütünlüğünün belirlenmesi için Hypo Osmotic Swelling (HOS) test kullanıldı. 37 °C'deki 100 mOsm'lük HOS sıvısından (1.35 gr fruktoz, 0.735 gr trisodyum sitrat/100 ml distile su) 100 µl alınarak üzerine sulandırılmış spermadan 10 µl eklendi ve 37 °C'ta 60 dakika inkübasyonu sonrası, lam üzerine bu karışımdan 5 µl alınıp üzerine lamel kapatıldı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında (x40 büyütmede) incelenerek 200 hücre sayıldı ve kuyruktaki kıvrımlar dikkate alınarak HOS teste yanıt veren spermatozoonlar % olarak değerlendirildi. Kuyruğu kıvrık olan spermatozoonlar membran bütünlüğü sağlam olarak belirlendi (Kulaksız, 2009).

İstatistik Analiz: Önemlilik testlerinden önce, tüm değişkenler parametrik test varsayımlarından normallik yönünden Shapiro Wilks test ile, varyansların homojenliği yönünden ise Levene's testi ile incelendi. Normal dağılan değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü tek varyans analizi (ANOVA) ile, normal dağılmayan değişkenler arası farklılığın istatistiksel açıdan kontrolü ise Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Gruplar arası farklılığın anlamlı çıktığı değişkenler için ileri aşama (post-hoc) testi olarak Tukey testi'nden yararlanıldı. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. SPSS 22.0 paket programından yararlanıldı. P<0.05 düzeyi anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi.

Bulgular

Sulandırma sonrası farklı büyüklükteki payet, Ependorf ve Falkon tüplerinde saklanan spermaların spermatozojik özellikleri Tablo 1, Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir. Tablo 1'de 0. ve 24. saatlerde motilite açısından gruplar arasında istatistiksel

olarak farklılık bulunamadı ($P>0.05$). 96. saatin sonunda en yüksek motilite 57.50 ± 2.50 ile 0.5 ml payet grubunda, en düşük motilite 4.00 ± 1.69 ile 1.5 ml Ependorf grubunda tespit edildi ($P<0.05$). Tablo 2'de 0., 24., 48. ve 72. saatlerde HOS test açısından gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık

bulunmazken ($P>0.05$), 96. saatin sonunda en yüksek membran bütünlüğü 56.00 ± 3.73 ile 0.5 ml payet grubunda tespit edildi ($P<0.05$). Tablo 3'de morfolojik bütünlük açısından 0. ve 96. saatin sonunda gruplar arasında bir fark bulunamadı ($P>0.05$).

Tablo 1. Spermanın +4 °C 'de farklı saklama koşullarında 96 saat süresince motilite (%) değerleri.

GRUPLAR	0. Saat	24. Saat	48. Saat	72. Saat	96. Saat
0.25 ml Payet	82.85 ± 2.40	77.85 ± 2.85	57.57 ± 4.32^{ab}	45.71 ± 4.93^{ab}	31.00 ± 4.75^b
0.5 ml Payet	82.85 ± 2.40	77.50 ± 3.22	65.75 ± 2.80^a	63.75 ± 3.75^a	57.50 ± 2.50^a
0.5 ml Ependorf	82.85 ± 2.40	65.71 ± 6.21	36.42 ± 5.53^c	18.57 ± 4.59^{cd}	5.42 ± 1.81^c
1.5 ml Ependorf	82.85 ± 2.40	65.00 ± 6.33	32.14 ± 3.05^c	12.85 ± 3.24^{cd}	4.00 ± 1.69^c
15 ml Falkon	82.85 ± 2.40	68.57 ± 5.08	38.00 ± 6.84^{bc}	10.42 ± 5.32^d	7.57 ± 3.33^c
50 ml Falkon	82.14 ± 2.64	66.42 ± 6.33	45.00 ± 3.27^{abc}	33.57 ± 6.61^{bc}	10.42 ± 4.49^c
P	-	-	*	*	*

a-d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar istatistiksel olarak farklıdır ($P<0.05$).

Tablo 2. Spermanın +4 °C 'de farklı saklama koşullarında 96 saat süresince membran bütünlüğü (% HOS test) değerleri.

Gruplar	0. Saat	24. Saat	48. Saat	72. Saat	96. Saat
0.25 ml Payet	59.93 ± 3.20	54.99 ± 4.25	52.41 ± 5.61	48.74 ± 4.03	43.48 ± 2.90^{ab}
0.5 ml Payet	57.93 ± 2.87	61.56 ± 5.52	55.01 ± 3.55	51.87 ± 3.15	56.00 ± 3.73^a
0.5 ml Ependorf	58.36 ± 3.00	52.66 ± 2.69	45.10 ± 2.84	38.96 ± 4.36	35.05 ± 2.12^{bc}
1.5 ml Ependorf	57.76 ± 2.94	50.48 ± 2.84	45.56 ± 4.93	37.67 ± 4.75	27.73 ± 4.04^c
15 ml Falkon	58.67 ± 3.07	47.27 ± 5.00	42.99 ± 4.37	34.14 ± 4.25	28.12 ± 3.01^c
50 ml Falkon	58.49 ± 3.09	44.80 ± 6.22	41.55 ± 4.66	36.71 ± 4.07	29.26 ± 4.52^{bc}
P	-	-	-	-	*

a-c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar istatistiksel olarak farklıdır ($P<0.05$).

Tablo 3. Spermanın +4 °C 'de farklı saklama koşullarında 0. ve 96. saatteki morfolojik bütünlük (% normal spermatazoon) değerleri.

Gruplar	0. Saat	96. Saat
0.25 ml Payet	87.26 ± 1.50	78.62 ± 2.97
0.5 ml Payet	86.86 ± 1.30	82.22 ± 1.76
0.5 ml Ependorf	84.50 ± 1.10	74.47 ± 2.03
1.5 ml Ependorf	87.31 ± 1.19	80.09 ± 1.93
15 ml Falkon	87.32 ± 1.40	80.03 ± 0.45
50 ml Falkon	84.14 ± 1.84	76.43 ± 1.96
P	-	-

-: Gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Spermanın fertilitite yeteneğini kaybetmeden ve maliyetlerin azaltılarak etkili saklama koşullarının elde edilmesi suni tohumlama organizasyonlarında hala araştırılmaya devam edilmekte olup, payet, deney tüpü, ampul gibi metot ve yöntemler ile sperma saklanmaktadır (Ansari ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda spermanın mini payette (0.25 ml) dondurulması ile daha fazla hayvan tohumlanabileceği, sıvı azotta saklama sırasında daha az yer kaplayacağı bildirilmiş, bu sayede daha az sulandırıcı ve antibiyotik maliyetinin olacağı tespit edilmiştir (Johnson ve ark., 1995). Fakat +4 °C 'de kısa süreli saklama koşullarında farklı

büyükteki deney tüpü ve payetlerin spermatolojik parametrelere etkisi tam anlamı ile açıklanmamıştır. Yapılan bu çalışmada, 0. saatte motilite ve membran bütünlüğü açısından payet gruplarında (0.25 ve 0.5 ml) kademeli bir azalma tespit edilirken, 96. saatin sonunda en düşük motilite Ependorf ve Falkon tüpleri gruplarında tespit edildi ($P<0.05$). Manda ve domuzlarda yapılan çalışmalarda geniş hacimli saklama koşullarının motiliteyi düşürdüğü tespit edilmiştir (Ansari ve ark., 2011; Weitze ve ark., 1987). Yapılan bu çalışmalar ile sonuçlarımızın örtüştüğü görülmüştür. Senger ve ark. (1983) 0.5 veya 0.25'lik payetlerde spermanın dondurulmasının başarıyı etkileyebileceğini bildirmiş, fakat bu etkinin

sulandırıcı ve soğutma oranına bağlı olarak değiştiğini belirtmiştir. Boğa sperma endüstrisinde 0.25 ve 0.50 ml'lik payetler standart büyüklük olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yaptığımız çalışmada anormal spermatozoa oranında gruplar arasında bir farklılık bulunmamasına rağmen ($P>0.05$), bunlara paralel olarak en yüksek motilite ve membran bütünlüğü 96. saatin sonunda 0.5 ml'lik payet grubunda tespit edildi ($P<0.05$). Motilite ve membran bütünlüğündeki bu etki, saklama koşullarında payet içinde bulunan spermatozoa oranına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Jamieson, 1991). Buna ek olarak, Christensen ve Tiersch (1997) 0.25 ml'lik payetlerdeki hızlı donma olayının hücrelerin dehidrasyonunu önleyebileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada payetlerin sıcaklığının daha hızlı düştüğü belirlenmiştir. Spermanın sıcaklığının bu şekilde azalması çalışmamızda görülmüştür.

Domuzlarda yapılan bir çalışmada maksı payetlerin (5 ml) hızlı dondurma ve çözündürme için uygun olmadığı belirlenmiş, Flatpack adı verilen plastik malzemelerde çözüm sonu daha yüksek motilite ve çeşitli CASA kinetik parametreleri tespit edilmiştir (Eriksson ve Rodriguez-Martinez, 2000). Bunun yerine 0.25 ml ve 0.50 ml'lik payetlerin ve değişik boyutlardaki flat packlerin daha uygun olacağı bildirilmiştir (Berger ve Fischerleitner, 1992; Simmet, 1993). Ayrıca, payetlerin tek tohumlama dozu olarak paketlenmesinin suni tohumlama uygulamaları açısından daha kullanışlı olacağı düşünülmektedir. Tekelerde yapılan bir çalışmada, teke sperması keçi sütü sulandırıcısı ile sulandırılmış ve +5 °C'de 2 ml ve 5 ml'lik deney tüplerine konularak 24. ve 48. saatlerde motilite muayenesi yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda hava boşluğu bırakılmadan deney tüplerinde saklanan grupta motilitenin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Magnus ve Anand, 2000).

Glikolizis spermatozoa için enerji kaynağı olduğu belirtilmektedir. Aerobik ve anaerobik ortamlarda glikolizis spermatozoanın hareketi için önemlidir. Oksijen varlığında anaerobik glikolizis azalarak aerobik glikolizis artar. Ortamdaki şeker varlığında aerobik glikolizis vasıtası ile ROS'un türevlerinden olan süper-oksit anyonları (O_2^-), hidrosil radikalleri (-OH) ve hipo-klorit radikaller (-OHCl) spermatozoa tarafından üretilmektedir (Anderson, 2001). Ortaya çıkan bu ürünler sulandırılmış spermalarda ve seminal plazmada bulunan lökositler ile temasa geçerek spermatozoa motilitesinde ve fertilizasyonunda olumsuz etkilere sebep olmaktadır (Verna ve Kanwar, 1999). Yaptığımız bu çalışmada ise Ependorf ve Falkon tüpü gruplarında payet gruplarına göre motilite ve membran bütünlüğü açısından daha düşük sonuçlar tespit edilmiştir. Bu sonuç ise, kısa süreli saklama

sırasında kalan hava boşluğunun spermatolojik parametreler üzerine olumsuz etkisinin olduğunu göstermiştir. Bu durum, ROS'un spermatozoa üzerine toksik etki yapması ile açıklanabilir. Ayrıca, 15 ve 50 ml falkon tüplerde saklama süresinin uzamasına bağlı olarak spermatozoonlar tüpün alt kısmına çökmekte, bu durumda da, spermanın pH dengesini bozarak toksikasyona neden olmaktadır. Bu etmeden dolayı, büyük hacimli tüplerde sperma saklanırken belirli aralıklar ile tüpün çalkalanması gerektiği ve spermatolojik parametrelerin azalmasının buna bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, farklı saklama koşullarında ortaya çıkan hava boşluğunun ve yüzey alanının spermatolojik parametreleri etkilediği ve Honamlı teke spermasının +4°C'de kısa süreli saklanmasında motilite ve membran bütünlüğü açısından 0.5 ml payet grubunun en iyi sonuç verdiği tespit edildi. İleride yapılacak çalışmalarda bu sonuçların in vivo fertilizasyon ile desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Tübitak 2209-A (Proje no:1919B011602543) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Alçay S, Gökçe E, Toker MB, Önder NT, Üstüner B, Uzabacı E, Gül Z, Çavuş S, 2016: Freeze-dried egg yolk based extenders containing various antioxidants improve post-thawing quality and incubation resilience of goat spermatozoa. *Criobiology*, 72, 269-273.
- Anderson J, 2001: The Semen of Animal and Its Use for Artificial Insemination. 1st ed., Green World Publishers, Lucknow.
- Ansari MS, Rakha BA, Andrabi SMH, Akhter S, 2011: Effect of straw size and thawing time on quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *Reproductive biology*, 11, 49-54.
- Avdatek F, Yeni D, Gündoğan M, 2018. Merinos koçlarda spermaya katılan antioksidanların kısa süreli saklama sırasında spermatolojik parametreler ve DNA hasarı üzerine etkileri. *Kocatepe Vet J*, 11, 126-133.
- Berger B, Fischerleitner F, 1992: On deep freezing of boar semen: investigations on the effects of different straw volumes, methods of freezing and thawing extenders. *Reprod Dom Anim*, 27, 266-270.
- Birler S, Pabuccuoğlu S, Atalla H, Alkan S, Özdaş ÖB, Bacinoğlu S, Cirit Ü, Zavar İ, Sönmez MEC, İleri İK, 2002: Transfer of in vitro produced sheep embryos. *Türk J Vet Anim Sci*, 26, 1421-1426.
- Buranaamnuay K, Tummaruk P, Singlor J, Rodriguez-Martinez H, Techakumphu M, 2009: Effects of straw volume and Equex-STM on boar semen quality after cryopreservation. *Reprod Dom Anim*. 44, 69-73.

- Christensen JM, Tiersch TR, 1997: Cryopreservation of channel cat fish spermatozoa: Effect of cryoprotectant, straw size, and formulation of extender. *Theriogenology*, 47, 639-645.
- Eriksson BM, Rodriguez-Martinez H, 2000: Effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in FlatPacks and Maxi-straws. *Anim Reprod Sci*, 63, 205-220.
- Jamieson GM, 1991: Fish Evolution and Systematics: Evidence From Spermatozoa. Cambridge University Press, New York.
- Johnson MS, Senger PL, Allen CH, Hancock DD, Alexander BM, Sasser RG, 1995: Fertility of bull semen packaged in 0.25 and 0.5 milliliters French Straws. *Journal of Animal Science*, 73, 1914-1919.
- Joshi A, Bag S, Mittal JP 2000: Freezability of ram spermatozoa packaged in mini and medium size straw. *Indian J Anim Prod*, 32, 25-26.
- Kulaksız R, 2009: Farklı antioksidanlar eklenmiş sulandırıcılarla dondurulmuş Saanen teke spermasının in vitro değerlendirilmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kulaksız R, Daşkın A, 2009: Farklı antioksidanlarla dondurulan Saanen teke spermasının in vitro ve in vivo değerlendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 56, 201-205.
- Lahnsteiner F, 1997: Methanol as cryoprotectant and the suitability of 1.2 ml and 5 ml straws for cryopreservation of semen from salmonid fishes. *Aquaculture Research*, 28, 471-479.
- Magnus PK, Anand LF, 2010: Effect of air space in storage vials on motility of spermatozoa in chilled buck semen. *Veterinary World*, 3, 422-423.
- Maxwell WMC, Watson PF, 1996: Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim Reprod Sci*, 42, 55-65.
- Paulenz H, Söderquist L, Andoy T, Nordstoga A, Gulbrandsen B, Berg KA, 2004: Fertility results after different thawing procedures for ram semen frozen in minitubes and mini straws. *Theriogenology*, 61, 1719-1727.
- Sadhan B, Anil J, Naqvi SMK, Mittal JP, 2004: Effect of post-thaw incubation on sperm kinematics and acrosomal integrity of ram spermatozoa cryopreserved in medium-sized French straws. *Theriogenology*, 62, 415-424.
- Schafer S, Holzmann A, 2000: The use of transmigrator and spermac stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Anim Reprod Sci*, 59, 201-211.
- Senger PL, Mitchell JR, Almquist JO, 1983: Influence of cooling rates and extenders upon post-thaw viability of bovine spermatozoa packaged in 0.25- and 0.5-ml French straws. *J Anim Sci*, 56, 1261-1268.
- Simmet C, 1993: Kältphysikalische aspekte der gefrierkonservierung von ebersperma in ihrer auswirkung auf samenqualität und befruchtungsrate. Thesis, Hannover Veterinary College, Hannover.
- Verna A, Kanwar KC, 1999: Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian J. Androl*, 1, 151-154.
- Weitze KF, Rath D, Baron G, 1987: Deep freezing of boar semen in plastic straws (in German). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 94, 485-488.
- *Yazışma Adresi: Muhammed Enes İNANÇ
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni Tohumlama AD. Burdur, Türkiye
e-mail: enesinanc@hotmail.com

Martılarda (*Laridae spp.*) Cranium'un Üç Boyutlu Modellemesi

Nazan GEZER İNCE¹, İsmail DEMİRCİOĞLU^{2*}, Bestami YILMAZ², Adem AĞYAR³, Abdurrahim DUSAK³

¹İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

³Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 06.03.2018

Kabul Tarihi: 07.05.2018

Özet: Bu çalışma, martı cranium'larına ait osteometrik özellikleri ve diğer kanatlı hayvan türleri ile aralarındaki farklılıkları ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çalışmada, cinsiyet ve tür farkı gözetenmeden toplanan 15 adet ölü martı kullanıldı. Diseksiyon yöntemiyle gövdeden ayrılan martı cranium'ları 64 dedektörlü bilgisayarlı tomografi (General Electronic Revolution) cihazı ile tarandı. Elde edilen aksiyal kesitsel görüntülerden 3D formatında görüntüler oluşturuldu. Oluşturulan bu üç boyutlu görüntüler üzerinde belirlenen ölçüm noktalarından osteometrik ölçümler alındı. Elde edilen ölçüm verileri ile istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. *Laridae* familyasına ait olan martıların cranium'larının Multi Dedektör Bilgisayarlı Tomografi görüntüleri üzerinden alınan ölçümlerinde istatistiki olarak $P<0.01$ ve $P<0.05$ düzeyinde önem ilişkisi taşıyan veriler tespit edildi. Bu verilerin belirlenmesiyle martı cranium anatomisinin daha iyi anlaşılacağı, taksonomik yerinin belirlenmesinde referans veriler sunacağı ve bu konuda sınırlı olan literatürlere de katkı sağlanacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Cranium, Martı, Bilgisayarlı tomografi, Morfometri.

Three-Dimensional Modeling of Cranium in Seagulls (*Laridae spp.*)

Abstract: This study was performed to investigate osteometrical measurements of cranium in seagulls and to compare it with other birds. In this study, 15 cranium samples from dead seagulls were used without considering sex and species differences. Craniums separated from the body by the method of dissection were scanned with a 64-slice computer tomography (CT) device. Results from CT were modelled in three-dimension (3D) format and osteometrical measurements were performed on the 3D models. Results were evaluated statistically and Multi Detector Computed Tomography results for the *Laridae* family showed significantly related results ($P<0.01$ and $P<0.05$). The results of the study provided reference measurements for better understanding the cranium anatomy and facilitating taxonomical classification of seagulls. The study might also be a useful additional resource in regards to currently limited literature on seagull cranium anatomy.

Keywords: Cranium, Seagull, Computed tomography, Morphometry.

Giriş

Martılar, Charadriiformes takımı Laridae familyasında bulunan ve ülkemizde özellikle Ege ve Marmara Denizi kıyılarında her mevsim görülen deniz kuşlarıdır (Demirsoy, 1992). Kanatlı cranium'u omurgalılar içerisinde çok fazla özelliğe sahiptir. Kemik kaynaşmalarının yanında pneumatizasyon ile kafanın hafifletilmesi, hareketli birleşmelerin bulunması, çok büyük iki orbita taşınması bunlardan bazılarıdır (Getty, 1975; King ve McLelland, 1984). Cranium kanatlılarda memelilerde de olduğu gibi neurocranium ve splanchnocranium olmak üzere iki bölüme ayrılır. Memelilerden farklı olarak kanatlı neurocranium'u os interparietale'yi içermez (Gültekin M, 1966). Kanatlı splanchnocranium'u ise memeli hayvanlarda bulunan kemiklere ilave olarak os premaxillare ve os quadratum'u içerir. Os ethmoidale neurocranium ve splanchnocranium kemikleri arasında yer almakta fakat suturaları kaybolduğundan, kemiklerin sınırlarının belirlenmesinde zorluk yaşanmaktadır (Nickel ve ark., 1986). Kuşların sınıflandırılmasında ve cinsiyetinin belirlenmesinde cranium ayırt edici

bir özelliğe sahiptir (Dursun N, 2014; Koch ve Rossa, 1973).

Son yıllarda Multi Dedektör Bilgisayarlı Tomografi (MDBT) gibi medikal görüntüleme teknikleri önemli yapıların boyutsal ilişkilerini göstermede en çok kullanılan invaziv yöntemler arasında yer almaktadır (Freitas ve ark., 2011). Multi Dedektör Bilgisayarlı Tomografi, model oluşturmak ve morfolojik farklılıkları ortaya koymak için çeşitli morfometrik çalışmalarda kullanılmaktadır (Kindlmann ve ark., 2005; Turner ve ark., 2003). Cranium'da MDBT kullanılarak yüksek kaliteli kesitler elde edilip, anatomik ve patolojik veriler ayrıntılı olarak değerlendirilebilmektedir (Robina ve ark., 1991). Çeşitli görüntüleme teknikleri ile elde edilen iki boyutlu kesitlerin üç boyutlu hale getirilmesi işlemine rekonstrüksiyon adı verilir. Rekonstrüksiyon işlemi ile doku ve organların düzensiz olan yüzey görüntüleri daha detaylı olarak incelenebilecek hale getirilmektedir (Elad ve Einav, 1990; Mitchell HL., 1995; Özkadif S., 2011). Veteriner anatomi alanında MDBT kullanımı son

yıllarda artmaya başlamakla birlikte kanatlı hayvanlarda da bu ileri görüntüleme teknikleri ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Dayan ve ark., 2014; Duymuş ve ark., 2013; Ekim ve ark., 2013; Onuk ve ark., 2013). Yapılan literatür taramalarında kanatlı hayvanların cranium'larına ait çeşitli anatomik çalışmalara rastlanılmıştır (Atalgın ve ark., 2014; Çakır A., 2001; İlgün ve ark., 2016 Özkan ZE., 2002; Özdemir ve ark., 2009). Martılar üzerinde de yapılan birçok anatomik çalışma bulunmasına rağmen (Coulson ve ark., 1983; İnce ve Pazvant, 2010; İnce ve ark., 2010; İnce ve ark., 2012) cranium'larına ait detaylı morfometrik bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, MDBT kullanarak martıların cranium'larının üç boyutlu rekonstrüksiyonunun oluşturulması, bu rekonstrüktif görüntüler üzerinden morfometrik ölçümlerin alınması, elde edilen verilerle *Laridae spp.*'nin hem martı türleri hem de diğer kanatlı türleri arasındaki farklılıkların ortaya koyulması, taksonomik ve zooarkeolojik olarak yapılacak diğer araştırmalara katkı sunması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Vahşi Yaşamı Araştırma ve Koruma Kulübüne (VAŞAK) farklı zamanlarda tedavi amacıyla getirilmiş ve tedavinin cevap vermediği 15 adet ölü martı kullanıldı. Cinsiyet ve tür farkı gözetmeksizin toplanan ölü martıların cranium'ları gövdeden diseksiyon yöntemiyle ayrıldı. Çürüme ve bozulmanın önlenmesi amacıyla %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde bekletildi. Martı cranium'ları Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Bölümü'nde 64 dedektörlü bilgisayarlı tomografi (General Electronic Revolution) cihazı ile 80 kv, 200 MA, 639 mGY ve 0.625 mm kesit kalınlığında tarandı. Elde edilen aksiyal kesitsel görüntülerden 3D reformat / rekonstrüksiyon görüntüler oluşturuldu. Oluşturulan bu 3 boyutlu görüntüler üzerinde aşağıda belirtilen ölçüm noktalarından osteometrik ölçümler alındı (Şekil 1, Şekil 2).

Cranium'a ait MDBT görüntüleri üzerinde alınan ölçüm noktaları;

CMU: Cranium'un maksimum uzunluğu (Protuberentia occipitalis externa ile apex premaxillaris arası mesafe)

CMY: Cranium'un maksimum yüksekliği (Basitemporale ile cranium'un en yüksek noktası arası mesafe)

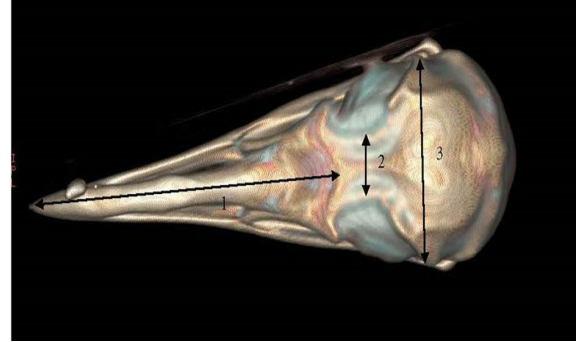
CMG: Cranium'un maksimum genişliği (İki processus postfrontalis arası mesafe)

OmG: Orbitalar arası minimum genişlik (Dorsal yüzde iki orbita arası en küçük mesafe)

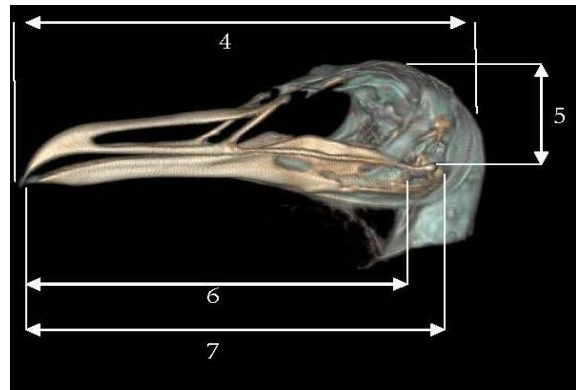
MMU: Mandibula'nın maksimum uzunluğu (Mandibula'nın apex ve aboral noktaları arası mesafe)

MFAU: Mandibula'nın apex ve facies articularis noktaları arasındaki mesafe

PU: Os premaxillaris (gaga) uzunluğu (Dorsal yüzde os premaxillaris'in apex ve aboral noktaları arası mesafe)



Şekil 1: Cranium'un osteometrik ölçümleri (Dorsal görünüş) 1:Os premaxillaris uzunluğu (PU), 2:Orbitalar arası minimum genişlik (OmG), 3: Cranium'un maksimum genişliği (CMG).



Şekil 2: Cranium'un osteometrik ölçümleri (Lateral Görünüş) 4: Cranium'un maksimum uzunluğu (CMU), 5: Cranium'un maksimum yüksekliği (CMY), 6: Mandibula'nın apex ve facies articularis'leri arası uzunluğu (MFAU), 7: Mandibula'nın maksimum uzunluğu (MMU).

Çalışmamızda kullanılan ölçüm noktaları Von Den Driech (1976) ve Dayan ve ark. (2014) 'nin çalışmalarına göre referans alındı. İncelenen özelliklerin ortalama değer ve standart sapması ile bu özelliklerin aralarındaki korelasyon katsayıları saptanarak istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. İstatistiki değerlendirmelerde SPSS 22 programı kullanıldı. Terminolojide ise Nomina Anatomica Avium'dan (Baumel ve ark., 1993) yararlandı.

Çalışma izni Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HRÜ-HADYEK) (Karar No: 2018/001/01-03) tarafından alındı.

Bulgular

Çalışmada, cranium'un ölçüm değerlerine ait ortalama değer ve standart sapma analizleri Tablo 1'de ve bu ölçüm değerlerine ait korelasyon analizleri ise Tablo 2' de gösterildi.

Tablo 1. Cranium'a ait osteometrik ölçümlerin ortalama değer ve standart sapma analizleri.

Osteometrik Ölçümler (mm)	Ortalama değer± Standart Sapma (n: 15)
CMU	127.5 ± 9.62
CMY	31.9 ± 2.12
OmG	15.84 ± 4,92
MMU	108.12 ± 7,65
MFaU	101.88 ± 7,36
CMG	42.3933 ± 2,09
PU	65.0667 ± 8,12

Tablo 2. Cranium'a ait osteometrik ölçümlerin korelasyon analizleri (* P<0.05, **P<0.01).

	CMY	OmG	MMU	MFaU	CMG	PU
CMU	0,412	0,155	0,504	0,480	0,422	0,565*
CMY		0,312	0,588*	0,609*	0,831**	0,442
OmG			0,313	0,272	0,375	0,567*
MMU				0,958**	0,753**	0,781**
MFaU					0,773**	0,643**
CMG						0,655**

Korelasyon ilişkileri incelendiğinde cranium'un maksimum genişliğinin (CMG); cranium'un maksimum yüksekliği (CMY) ve premaxillar (gaga uzunluğu) uzunluk (PU) ile arasında (P<0.01) istatistiki önem tespit edildi. Mandibula'nın maksimum uzunluğunun (MMU); cranium'un maksimum genişliği (CMG), premaxillar (gaga uzunluğu) uzunluğu (PU) ve mandibula'nın facies articularis'e olan uzunluğu (MFaU) ile de aralarında oldukça önem taşıyan ilişki belirlendi (P<0.01). Aynı zamanda CMU ile PU, CMY ile MMU ve MFaU OmG ile PU arasında da (P<0.05) düzeyinde istatistiksel bir ilişki tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Yaptığımız çalışmada Laridae familyasına ait olan martıların cranium'larının MDCT görüntüleri üzerinden alınan ölçümlerinde istatistiki olarak önemli veriler elde edildi.

Dayan ve ark. (2014) ördek ve kaz cranium'larında yapmış oldukları çalışmada cranium'un maksimum uzunluğu (CGL) ile mandibula'nın maksimum uzunluğu (MGL) ve mandibula'nın facies articularis'e kadar olan uzunluk (Laf) arasındaki korelasyonların P<0.05 ile P<0.01 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiş

olup; martılarda almış olduğumuz ölçüm verilerinde bu değerler arasında önemli bir fark saptanmamıştır. Fakat aynı çalışmada ördek ve kazlara ait mandibula'nın en büyük uzunluğu (MGL) ile cranium'un en büyük genişliği (GB) ve mandibula'nın facies articularis'e kadar olan uzunluk (Laf) verileri arasındaki korelasyonlar bizim çalışmamıza paralel olarak P<0.01 düzeyinde önemlilik göstermiştir. İlgün R. (2016), beç tavuğu ve hindilerde yapmış olduğu çalışmada os premaxillare uzunluklarını sırasıyla ortalama 21.02 ± 1.10 mm, 23.32 ± 2.20 mm olarak ölçmüş ve ikisi arasında P<0.01 düzeyinde önem ilişkisi olduğunu belirtmiştir. Coulson ve ark. (1983) Herring Gull martı türünde bazı morfometrik ölçümlerin cinsiyet üzerindeki ilişkilerini araştırmış ve bunlardan gaga uzunluğunun ortalamasını dişilerde 49.5 ± 2 mm, erkeklerde ise 54.1 ± 2.2 mm olarak bildirmiştir. Çalışmamızda martılarda os premaxillare' nin ortalama uzunluğunu 65.07 ± 8.12 mm olarak ölçtük ve premaxillare uzunluğunun MMU, MFaU ve CMG uzunlukları arasında P<0.01; CMU ve OmG uzunlukları ile ise arasında P<0.05 düzeyinde bir önem ilişkisi olduğunu belirledik. Ortaya çıkan farklılıkların ise tür ve ırk farklılıklarından kaynaklandığı gibi, çalışmada kullanılan martıların farklı yaş ve cinsiyet grubuna ait olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Coulson ve ark. (1983) Herring Gull martılarında maksimum kafa uzunluğunu dişilerde 113.3 ± 2.8 mm, erkeklerde 124.2 ± 3.4 mm olarak bildirmiştir. Araştırmamızda (*Laridae spp.*) cranium'un maksimum uzunluğu (CMU) ortalama 127.5 ± 9.62 mm olarak ölçüldü ve bu verinin os premaxillare uzunluğu (gaga) (PU) ile arasındaki ilişkinin önemli olduğu tespit edildi (P<0.05). Coulson ve ark. (1983)'nin belirlemiş olduğu değerle kıyaslandığında bizim verimizin ve ortalama değerinin yüksek tespitinin, farklı yaş ve cinsiyetteki martılardan veya birlikte tür farklılığından kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak martı cranium'larında MDBT görüntüleri kullanılarak alınan verilerde önemli istatistiki ilişkiler tespit edilmiştir. Böylece bu verilerin belirlenmesiyle martı cranium anatomisinin daha iyi anlaşılacağı, taksonomik yerinin belirlenmesinde referans veriler sunacağı ve bu konuda sınırlı olan literatürlere katkı sağlanacağı düşünülmüştür.

Teşekkür

Bu çalışmaya katkılarından dolayı Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Teknikeri Seyfettin GÜNDÜZ' e, Veteriner Hekim Mehmet Ali ÖZCAN ve Mert ÇELİK 'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Atalgın ŞH, Büyükçopur Bozkurt EÜ, Kürtül İ, 2014: A detailed evaluation of the skeletal elements of the skull in the grey heron (*Ardea cinerea*). *Turk J Vet Anim Sci*, 38, 370-376.
- Baumel JJ, King SA, Breazile JE, Evans HE, Berge JCV, 1993: Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium, 2nd ed. Cambridge: Nuttall Ornithological Club.
- Coulson JC, Thomas C, Butterfield JEL, Duncan N, Monaghan P, Shedden C, 1983: The use of head and bill length to sex live gulls Laridae. *Ibis*, 125(4), 549-557.
- Çakır A, 2001: Kelaynak kuşunda (*Geronticus eremita*) neurocranium kemikleri. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 72, 35-38.
- Dayan MO, Demiraslan Y, Akbulut Y, Duymus M, Akosman MS, 2014: The morphometric values of the native duck and geese's heads: A computed tomography study; *Animal and Veterinary Sciences*; Vol. 2, No. 6, 2014, pp. 175-178. doi: 10.11648/j.avs.20140206.13
- Demirsoy A, 1992: Yasamin Temel Kurallari. Meteksan Anonim Sirketi, Ankara, ISBN: 975-7746-02-9, pp: 745-778.
- Dursun N, 2014: Evcil Kuşların Anatomisi, Medisan Yayınları, Ankara.
- Duymus M, Demiraslan Y, Akbulut Y, Orman G, Aslan K, Ozcan S, 2013: The Statistical Analysis of Some Volumetric Measurements in the Japanese Quails' Head with Different Feather Color: A Computed Tomography Study. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Kafkas University*, 19, 681-686.
- Ekim O, Oto C, Algin O, Bakici C, 2013: High resolution 3D magnetic resonance imaging of the visceral organs in chicken (*Gallus domesticus*) by 3 Tesla MR unit and 15-channel transmit coi1; *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 60, 229-233.
- Elad D, Einav S, 1990: Three-Dimensional measurement of biological surfaces. *ISPRS J Photogramm*; 45: 247-66.
- Freitas EP, Noritomi PY, Silva JVL, 2011: Use of rapid prototyping and 3d reconstruction in veterinary medicine, advanced applications of rapid prototyping technology in modern engineering, Dr. M Haque (Ed.), ISBN: 978-953-307-698-0, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/advanced-applications-of-rapid-prototyping-technology-in-modern-engineering/use-of-rapid-prototyping-and-3d-reconstruction-in-veterinary-medicine>
- Getty R., 1975. *Sisson and Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals*, 5 ed, Vol.2. London, UK: W.B. Saunders Company
- Gültekin M, 1966, Evcil Memeli ve Kanatlıların Karşılaştırmalı Osteologia, 1. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1966: 288-290
- İlgün R, 2016: Beç Tavuğu (*Numida meleagris*) ve Hindi (*Meleagris gallapova*) Splanchnocranium'u Üzerinde Karşılaştırmalı Makro-Anatomik ve Morfometrik İncelemeler, *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 30 (3), 171 - 175.
- İnce NG, Pazvant G, 2010: Martılarda larynx ve trachea üzerinde makro-anatomik çalışma. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 36(2), 1-6.
- İnce NG, Pazvant G, Alpak H, 2012: Anatomical features of the syrinx in sea gulls. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(1), 1-3.
- İnce NG, Pazvant G, Kahvecioglu KO, 2010: Macro anatomic investigations on digestive system of Marmara Region sea gulls. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(12), 1757-1760.
- Kindlmann GL, Weinstein DM, Jones GM, Johnson CR, Capocchi MR, Keller C, 2005: Practical vessel imaging by computed tomography in live transgenic mouse models for human tumors. *Molecular Imaging*, 4, 417-424.
- King AS and Mclelland J, 1984: *Birds: Their Structure and Function*. 2nd Edn, Bailliere Tindall, London, ISBN: 0-7020-0872-9, pp: 84-109.
- Koch T, Rossa E, 1973: *Anatomy of the Chicken and Domestic Birds* The Iowa State University Press, Ames. Iowa.
- Mitchell HL, 1995: Applications of digital photogrammetry to medical investigations. *ISPRS J Photogramm*; 50: 27-36
- Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E., 1977. *Anatomy of the Domestic Birds*. Verlag Paul Parey Berlin pp: 62-65.
- Onuk B, Kabak M, Sahin B, Ince NG, Selcuk MB, 2013: New method for estimating the volume and volume fractions of the nasal structures in the goose (*Anser domesticus*) using computed tomography images. *British Poultry Science*, 54, 441-446.
- Özdemir D, Özüdoğru Z, Can M, Sunar M, 2009: Balaban (*Botaurus stellaris*) ve Kızıl şahin (*Buteo rufinus*) neurocranium'u üzerinde karşılaştırmalı makro-anatomik incelemeler. *Atatürk Üniv Vet Fak Derg*, 4, 169-175.
- Özkadif S, 2011: Yeni Zelanda Tavşanlarında Sinus Paranasales'in Multidedektör Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerinin Üç Boyutlu Rekonstrüksiyonu, Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Özkan ZE, 2002: Erkek ve dişi bıldırcınlarda (*Coturnix coturnix*) cranium üzerinde makro-anatomik ve osteometrik incelemeler. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 8 (2), 147-151.
- Robina A, Regedon S, Guillen MT, Lignereux Y, 1991: Utilization of computed tomography for the determination of the volume of the cranial cavity of the Galgo hound. *Acta Anatomica*, 140, 108-111.
- Turner CH, Sun Q, Schriefer J, Pitner N, Price R, Bouxsein ML, Rosen CJ, Donahue LR, Shultz KL, Beamer WG, 2003: Congenic mice reveal sex-specific genetic regulation of femoral structure and strength. *Calcified Tissue International*, 73, 297-303.
- Von Den Driesch A, 1976: A Guide to the measurement of animal bones from archaeological sites. Peabody Museum Bulletin I. Cambridge M.A. Harvard University. pp: 31-34.

*Yazışma Adresi: İsmail DEMİRCİOĞLU
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi
Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail: idemircioglu@harran.edu.tr

Practical Field Applications for Reducing Infectious Diseases of 0-6 Months Calves and Their Results

Sevim KASAP¹, Ethem Mutlu TEMİZEL¹, Gulsah AKGUL², Sezgin SENTURK^{1*}

¹Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Uludag University, Bursa, Turkey.

²Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Siirt University, Siirt, Turkey.

Geliş Tarihi: 27.03.2018

Kabul Tarihi: 28.05.2018

Abstract: Neonatal calf diseases are among the most common diseases in cattle breeding. In order to prevent these diseases; it is important that the care and feeding of the calves are carried out correctly. Furthermore, care and feeding of the mother in dry period is also important as it affects the health of both mother and calf. Moreover, maternal antibodies in colostrum are effective in prevention of many diseases for the newborn calves. The incidence of deaths in cattle is generally greater at 0-6 months of ages. In this study, diseases and mortalities of calves between the age 0 and 6 months were evaluated in a farm of dairy cattle Antalya, Turkey, between the years 2013 and 2014.

Keywords: Calf, Dry period, Neonatal period, Preventive medicine.

0-6 Aylık Buzağlarda Bulaşıcı Hastalıkların Azaltılması ve Sonuçları için Pratik Saha Uygulamaları

Özet: Sığır yetiştiriciliğinde karşılaşılan hastalıklar arasında neonatal buzağı hastalıkları çok önemli bir yere sahiptir. Buzağları bu hastalıklardan korumak için bakım ve beslenme doğru bir şekilde yapılmalıdır. Aynı zamanda annenin kuru dönemdeki bakım ve beslenmesi de hem doğum sonrası annenin sağlığı hem de yeni doğan yavrunun sağlığını etkilemektedir. Bunun dışında kolostrum ile alınan maternal antikorlar da neonatal buzağıyı birçok hastalıktan korumaktadır. Sığırlarda görülen ölümlerin sıklığı genellikle 0-6 aylık yaşlarda daha fazladır. Bu çalışmada, 2013-2014 yılları arasındaki 0-6 aylık buzağların hastalık ve mortalite oranlarının karşılaştırılması ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Kuru dönem, Neonatal dönem, Koruyucu hekimlik.

Introduction

Neonatal calf diseases are one of the most common diseases in cattle breeding. Mortality has mostly been reported in 0-6 months old beef cattle due to both infective and non-infective diseases. In this time period, economic losses are especially observed because of infectious agents. Therefore it is essential to minimize the risks through conducting preventive medicine. Pneumonia occurring throughout transport into the common living area from individual pens and neonatal diarrhea constitute the most striking problems in calves (Mee, 2008; Mohd et al., 2012; Østeras et al., 2007; Senturk, 2012). Among the reasons in calf mortality, diarrhea and pneumonia are the two major problems.

The most important infectious causes of neonatal calf diarrhea are *Cryptosporidium spp.*, *Escherichia coli*, *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *Salmonella spp.* (Gulliksen et al., 2009; Foster and Smith, 2009; Senturk, 2012; Yong-il and Kyoung-Jin, 2014). Pneumonia can occur for a variety of reasons (infective and non-infective) and is called enzootic pneumonia in calves between 2 and 6

months of age (Batmaz, 2015; Svensson et al., 2006). The most common infective agents causing enzootic pneumonia are *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma spp.*, *Bovine herpesvirus-1*, *parainfluenza-3 virus*, *Bovine respiratory syncytial virus*, and *Bovine viral diarrhea virus (BVDV)*. Inadequate colostrum intake and passive transfer failure are among the most important factors that predispose to the formation of diseases in calves (Senturk, 2014). The time of drying off the cows 2 months prior to the parturition is known as the dry period. Care and feeding of the mother in dry period are also important as it affects both of the mother and the calf's health. The dry period is a significant period for colostrum formation with highest antibody concentration and is vital for the newborn calf (Annen et al., 2004; Batmaz, 2015). Proper nutrition program implemented during the dry period reduces incidence of metabolic diseases, especially fatty liver disease, and provides the high maternal antibody titers in colostrum (Batmaz, 2015; Watters et al., 2008).

In this study, diseases and mortalities of the calves between the age of 0 and 6 months were evaluated in a dairy cattle farm in Antalya, Turkey, between the years 2013 and 2014. Hence an effort was made for detecting the effectiveness of the preventive medicine program that was started in 2013 to prevent diseases and mortalities. The aim of this study was to emphasize the effect and importance of dry period and colostrum management on calf mortality rates.

Materials and Methods

The study was conducted on a Holstein-Friesian breeding farm consisting of 2500 cattle in Antalya, Turkey between 2013 and 2014. In the study, 676 (2013) and 651 (2014) calves aged between 0-6 months were evaluated. All calves were from the same herd. Diseases and mortalities of the calves were classified into two groups consisting of 0-2 month(s) and 2-6 months group. The veterinarians reported that calves of ages between 0 and 6 months had shown clinical signs that express infectious diseases. Also, diagnoses of those who died were made by means of necropsy findings.

In 2013, newborn calves were directly taken into individual calf pens and were given colostrum with a feeding bottle of the amount as 5% of the calves' weights. In calves without sucking reflex; colostrum was given via esophagus tube along with a 20 cc subcutaneous septicemia serum. The quality of the colostrum was not measured in 2013 years. Pregnant animals in the dry period were injected with one dose of the vaccine including *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *E. coli* antigens 1 month before parturition. In 2013, for the etiologic diagnosis of neonatal diarrhea in calves; immunochromatographic rapid field test kits were used for detecting *Cryptosporidium*, *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *Escherichia coli* K 99 antigens (Anigen Rapid, BoviD-4 Ag test Kit, Bionote Inc, Korea), and rapid test kits for detecting antigens of giardiasis (*Giardia* IC, agrolabo, Inc., S.p.A) in feces. Similarly, evaluation of BVD antigens in feces of calves with diarrhea was made with rapid test kits. Cows in the last period of pregnancy in 2013 have not been evaluated for negative energy balance and other metabolic disorders. In 2014, in order to detect the negative energy balance (NEB), which directly affects the quality of the colostrum, betahydroxybutyric acid (BHB) levels (STAT Site® M Stanbio, EKF Diagnostics Company, Texas, USA) were measured. All samples were taken using coccygeal veins from 20% of animals after 4-6 hours

of feeding one time in the last 3 weeks of the dry period. Additionally, colostrum qualities of the cows that gave birth in 2014 were measured with Brix refractometer (Brix Refractometer, Embrun Inc., Ontario). Brix values that equal 22% and more were classified as good quality colostrum, 19-21% as moderate and under 19% as poor quality qualified colostrum (Senturk, 2016). Moderate quality colostrum was mixed with quality colostrum to achieve a Brix value of 22%. Colostrums that were categorized as poor quality was not given to calves, instead, good quality colostrum with a Brix value over 22% that was stored before given to calves. In 2014, as a management process, when the calf was born, they were allowed to suck their mothers. Newborn calf was kept with their mothers for them to lick the calves. After 2 to 3 hours, calves were disinfected with chlorine dioxide and were taken to observation units where they were observed for three days for their sucking reflex, body temperature and stool structures. Afterwards, calves that did not show any problem were put into their individual pens. In 2014, for the etiologic diagnosis of neonatal diarrhea in calves; immunochromatographic rapid field test kits were used for detecting *Cryptosporidium*, *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *Escherichia coli* K 99 antigens (Anigen Rapid, BoviD-4 Ag test Kit, Bionote Inc, Korea), and rapid test kits for detecting antigens of giardiasis (*Giardia* IC, agrolabo, Inc., S.p.A) in feces. Similarly, evaluation of BVD antigens in feces of calves with diarrhea was made with rapid test kits. In calves with diarrhea that were older than 3 weeks; search for oocysts in feces were made with flotation method in addition to the clinical findings for coccidiosis (Arslan and Sari, 2013). Diagnosis of respiratory infections and other possible infections was made on the basis of clinical examination findings and necropsy evaluation of dead animals. In 2014; pregnant animals at their 7th and 8th months of the pregnancy was vaccinated in order to ensure high colostrum antibody levels against *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *E. coli*. Thereafter, starting from 2014, vaccination was applied against *BHV-1* (IBR), *BVD-Type 1* and *Type 2* (cytopathogenic - noncytopathogenic), *PI3*, *BRSV*, and *Histophilus somni* infections to all pregnant animals that were at their last 2 months of dry period (Vira Shield 6+Somnus, Egevet, Turkey).

In line with the high values of BHB in the last 3 weeks of the dry period; the ration was readjusted by an animal nutritionist. 15 g of methionine, 6 g of choline, and 4 g of lysine per animal were added in the ration for the last one-month of the dry period in order to prevent negative energy balance and

possible fatty liver disease. 3 weeks prior to parturition, 10 ml of Vitamin E + Selenium (Yeldif flk, Ceva-Dif, Istanbul, Turkey), 30 ml of phosphorus (Fosfovet flk, Vilsan, Istanbul, Turkey), 15 ml of B₁₂ vitamin (Dodeks flk, Vetac Inc., Istanbul, Turkey), and 40 ml of phenoxy-2-methyl-2-propionic acid (Liver flk, Vetac Inc., Istanbul, Turkey) were applied intramuscularly. In addition to these injections, animals were given 300 ml of propylene glycol for 5 days. In the years 2013 and 2014, causes, numbers, and percentages of calf deaths were evaluated, and differences between these years were compared.

Statistical analysis: Student's t-tests and Mann-Whitney U statistic were used to test the significance of differences between the study and control groups. A p-values $p \leq 0.001$, $p < 0.05$ were considered significant. All statistical analyses were performed using the Sigma Stat 3.1 for Windows statistical package (Systat Software, Point Richmond, CA).

Results

According to the examination records of the farm in 2013, 676 calves were born. Among them a total of 376 calves (56%) had moderate to severe enteritis during the first 2 months of their lives, subsequently, 76 calves (11%) died in relation of

enteritis (Table 2). *Cryptosporidium*, *Coronavirus*, and *E.coli* (K99) were commonly detected using the quick antigenic fecal test kits (Table 1). Upper respiratory tract infections and pneumonia were diagnosed in 158 calves (23%) during the same period on the basis of clinical findings including high body temperature, dyspnea, cough, depression, loss of appetite, eye or nasal discharge, and pathological pulmonary auscultation. Among these animals, 15 (2%) of them died because of pneumonia, moreover, these animals had concurrent diarrhea with pneumonia or had a history of diarrhea (Table 2). Omphalitis, sepsis or liver necrosis were also detected in 12 animals (2%), and 3 of these animals (0,5%) died due to sepsis or liver necrosis. In 2013, the number of calves who were transferred from individual calf pens to housing groups was determined as 582. 152 calves (26%) were detected to have infective pneumonia in this group between ages of 2 - 6 months, and 73 (13%) of them died. On the other hand, 58 animals (10%) were determined to have clinical and mainly subclinical coccidiosis which was diagnosed based on the flotation method. Much more severe pneumonia was noted in the animals diagnosed with coccidiosis. The percentage of animals died only due to coccidiosis was determined as 6 (1%) (Table 2).

Table 1. Results of rapid test kits for *Cryptosporidium*, *Coronavirus* and *E. coli* (K99) in first 2-month-old calves with enteritis in 2013 and 2014

Results of rapid test kits	Number of infected calves in 2013 (n=376)	Number of infected calves in 2014 (n=198)
<i>Cryptosporidium</i>	95	67
<i>Rotavirus</i>	24	6
<i>Escherichia coli</i> K 99	Not alone	5
<i>Coronavirus</i>	18	7
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Rotavirus</i>	23	23
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Rotavirus</i> + <i>Coronavirus</i>	38	15
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Rotavirus</i> + <i>Escherichia coli</i> K 99	72	18
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Coronavirus</i>	71	32
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Rotavirus</i> + <i>Coronavirus</i> + <i>E.coli</i> K99	12	6
<i>Cryptosporidium</i> + <i>E.coli</i> K99	23	19

Table 2. Mean values and the percentage of disease and death in 2013 and 2014.

	0-2 months age		2-6 months age	
	2013	2014	2013	2014
Enteritis	31,3±2,674 / 56%	16,5±1,931 ^a / 30%	4,833±3,407 / 10%	4,75±2,667 / 10%
Death due to enteritis	6,3±2,309 / 11%	1,167±1,528 ^a / 2%	0,5±1 / 1%	0,167±0,389 / 0,3%
Pneumonia	13,167±3,298 / 23%	7,333±1,875 ^a / 13%	12,667±3,2 / 26%	9±2,335 ^{a**} / 26%
Death due to pneumonia	1,25±1,215 / 2%	0,25±0,452 ^{a**} / 0,5%	6,083±1,975 / %13	3,667±0,888 ^{a**} / 13%

^a, * and ** indicate statistically significance and degree for value between 2013 and 2014, * $p \leq 0.001$, ** $P < 0.05$.

In 2014, 651 calves were born. Among them 198 of the calves (30%) had enteritis that was diagnosed in the first 2 months (Table 1), and 14 of them died (2%). In 88 calves (13%), pneumonia with

varying degrees were detected. In the mentioned period, 3 animals died (0.5%) because of respiratory tract infections (Table 2). Omphalitis was detected in only 1(0.2%) animal and 4 calves (0,6%) died

because of trauma or other non-infectious causes. During this period, the number of calves passed from individual calf pens to group housing was determined as 630. In this group between ages of 2-6 months, 108 calves (26 %) were detected to have infective pneumonia and upper respiratory tract infection with varying degrees. In the records, it was detected that 44 calves (13%) died because of infective pneumonia. Also during this period, 57 animals (10%) had diarrhea, among the affected animals 24 of them had subclinical coccidiosis and 4 of them had clinical coccidiosis, and the remaining animals were thought to have diarrhea due to feeding processes. It was observed that 2 animals (0,3%) with clinical coccidiosis died because of nervous form of the disease (Table 2). During this period, 4 animals of 6 months of age died because of chronic arthritis, and these calves were not included in death ratios. In the first month of 2014, there were 65 animals at their last 3 weeks of the dry period and BHB was evaluated in 20 of them and in 13 animals BHB level was between 0.6-1.3 mmol/L.

Discussion and Conclusion

Management factors and feeding strategies for cows in dry period directly affect health of the unborn calves and future infections related to colostrum quality that is also dependent on the dry period management. Subsequently, infectious diseases of the calves are a result of the poor colostrum quality.

Excessive body condition score (BCS) during the dry period can cause hepatic lipidosis, ketosis, abomasal displacement, infertility, metritis, dystocia, and also the formation of poor quality colostrum which is essential for the calves can be seen. On the other hand if BCS is low during the dry period, growth retardation of the fetus, premature calve birth, poor quality and inadequate colostrum production and passive transfer failure related to lack of energy and protein reserves may occur (Annen et al., 2004; Batmaz, 2015; Senturk, 2016). In order to decrease the incidence of the negative energy balance, along with ketosis and fatty liver disease, effective energy and protein intake should be achieved for the cow via ration, especially in the last 1 month of the dry period (Batmaz, 2015). In addition to that, choline, methionine, and niacin, which play an important role in energy metabolism, can be added into the ration. For this purpose, bypass choline of 25 gr, niacin of 6-13 gr, bypass methionine of 15-20 gr can be added per animal

into the ration. Then again, chrome, borax, and B12 vitamin applications also give a great contribution (Batmaz, 2015). In the present study, during the last 3 months of dry period in 2013, early diagnosis of metabolic and/or infectious diseases or prophylaxis practices were insufficient as serum BHB could not be measured for determining negative energy balance. Contrariwise, in 2014, serum BHB were measured and occurrence of negative energy balance, incidences of subclinical ketosis, and fatty liver diseases were reported to be increased. It is widely known that these negative results have a greater impact on both health of the calf and the quality of the colostrum (Batmaz, 2015).

In order to reduce these risks, feeding procedures during dry period were re-adjusted. In the last 1-month of the dry period; methionine, choline, and lysine were added to ration while phosphorus, vitamin B₁₂, phenoxy 2 methyl 2 propionic acid, and propylene glycol applications were made 5 days before parturition in order to prevent negative energy balance from occurring. Diseases related with negative energy balance (ketosis, metritis, mastitis, and abomasal displacements, etc.) in postpartum period were tried to be minimized by conducting preventive measures. Decreasing negative energy balance incidence is essential as it is directly related to the quality of the colostrum. Colostrum quality can be measured easily with a brix refractometer and the most ideal results are measured as 22% and above.

During the dry period requirement of vitamin E, selenium, vitamin D₃, and vitamin A increase gradually. In the last week of pregnancy, plasma vitamin E decreases rapidly and becomes minimal at the first 2 weeks of lactation (Senturk, 2016). During the dry period, cows requirement for intake of vitamin E is 1000-2000 IU/day (LeBlanc et al., 2002). A limited amount of vitamin E passes from placenta to fetus, therefore, newborn calves have low vitamin E levels and they need to take vitamin E via colostrum. Parenteral vitamin E application to the mother during pregnancy is important for achieving a high concentration of vitamin E in colostrum; consequently occurrence of the white muscle disease can be prevented. Vitamin E deficiency that occurs during the transition period can cause fatty liver disease, placenta retention, metritis, mastitis, and infertility. Ideally, parenteral vitamin E and selenium application to the animals one week prior to parturition will ensure that vitamin E and selenium levels in the plasma can be kept at a desired level (Larson et al 2004, LeBlanc et al., 2004; Senturk et al., 2010). In this study in 2014, by virtue of parenteral vitamin E and selenium applications to

pregnant animals during the last interval of the dry period; possible insufficiency was compensated both in mothers and calves. Vitamin E and selenium supplementation was intended to protect against infectious diseases and white muscle disease by taking advantages of its immune-modulating and antioxidant effects (Senturk et al., 2010).

The most important problems during neonatal period of the calf are infectious enteritis, respiratory tract infections and the other causes like septicemia respectively (Table 2). Arthritis and inflammation of the umbilical cord can also be seen sporadically. The main reason for these common and severe infectious diseases during the neonatal period is the failure of passive transfer (Larson et al., 2004; Svensson et al., 2006). As the placental transfer of immunoglobulins in ruminants is at the minimum level, calves born as hypogammaglobulinemic, therefore they do not have any sufficient protective immune system against infective agents when they are born. Calves should take high-quality colostrum with a ratio of 5-6% of their body weight right after their birth. The physical appearance of good quality colostrum should be yellow-cream colored, with dense and sticky consistency. It should be also noted that physical appearance of the colostrum is not the exact marker of colostrum quality. The simplest way to understand the quality of colostrum is the measurement of the specific density of the colostrum with a colostrometer. The density of the good quality colostrum should be equal to 1060 unit or more. Colostrum with a density of 1060 or more is roughly equal to 30000 mg/L IgG. Similarly, brix value of the good quality colostrum should be 22 and more (Batmaz, 2015). In this presented study, emphasis was made on the quality of colostrum, which was differed between the years 2013 and 2014. Colostrum qualities were measured with Brix (Brix refractometer, Embrun Inc., Ontario) and medium quality colostrum was mixed with high-quality colostrum thereafter was given to calves. Colostrums that were identified as poor quality were never given to these calves in order to eliminate the risk of failure of passive transfer in calves.

Rotavirus, *Coronavirus*, and *E.coli* make up the most common pathogens that cause diarrhea in neonatal calves. Vaccination the mothers against this organism during the dry period will provide high antibody levels in the colostrum. Moreover, vaccination against *bovine viral diarrhea (BVD)*, *IBR*, *Clostridium spp*, *PI-3*, *BRSV*, and *Pasteurellosis* can provide high immunoglobulin concentrations in colostrum and makes it possible for newborn calves

to pass neonatal period and even first 3-4 months of their lives with lesser risk (Senturk, 2015). Calves of the unvaccinated mothers can be hypogammaglobulinemic due to insufficient immunoglobuline level despite a sufficient amount of colostrum intake (Senturk, 2015). Application of one dose of combined vaccination including *Rotavirus*, *Coronavirus*, and *E.coli* to the mother at 7th and 8th months of pregnancy along with improved care and feeding practices, high colostrum antibody levels were tried to be achieved in 2014 by comparison to 2013. In addition to that, during the dry period in 2014, vaccination against *BHV-1 (IBR)*, *BVD Type-1* and *Type-2*, *PI-3*, *BRSV*, and *Haemophilus somnus* were applied in the last 2 months of pregnancy to all animals. In recent studies, the prevalence of neonatal calf diarrhea was stated as 19.1 % and the recurrence rate was stated as 21.2% (Østeras et al., 2007). Enteritis, which is observed in calves younger than 31 days, is one of the most common diseases among neonatal calves with a death ratio of 4.9% and deaths were commonly seen at 2nd week of their lives (Windeyer et al., 2014). Causes of disease and mortalities in this study were similar to previous studies. According to our results, most common cause of neonatal calf mortality among 0 and 2 months of age was infectious enteritis. However there was a significant decrease in mortality despite similar disease and death causes in 2014 (Table 2). Improvements of mother health, increase in amount of antibody in colostrum, and improved colostrum quality can be achieved with the revision of the dry period nutrition and application of methionine, lysine, choline, vitamin B₁₂, vitamin E, selenium, and phenoxy-2 methyl propionic acid, which have positive effects on immune system, and features of preventing fatty liver diseases as well as negative energy metabolism from occurring. In addition to these, vaccination to all pregnant animals at 7th and 8th months of pregnancy can increase the quality of colostrum, and the importance of maintenance and care conditions were also noted.

Diseases such as respiratory tract infections and coccidiosis that can occur during 2 and 6 months of age are also very important. Although these diseases can occur sporadically, it is a known fact that in some cases coccidiosis can be seen secondary to pneumonia (Smith, 2008; Svensson et al., 2006). In this presented study, the most important diseases in 2-6 months of age were coccidiosis and Bovine Respiratory Disease (BRD) (Table 2). The incidence of these diseases was similar to previous studies (Senturk S, 2018;

Svensson et al., 2006), consequently the most common cause of morbidity and mortality was found to be pneumonia (Table 2). Preventive medicine protocols had a greater impact on the mortality and disease incidence between the year 2013 and 2014 and there was a significant decrease in mortality and disease incidence despite similar disease and death causes in 2014 (Table 2).

As a result, the health of the calves is not only related to procedures after birth but also closely related to care and nutrition of mother during the dry period for decreasing the high ratio of (40%) neonatal mortality in Turkey. In order to decrease the incidence of deaths to a minimum level, close monitoring, appropriate care, and nutrition practices against negative energy balance and fatty liver diseases especially during the dry period should be made. Necessary revisions such as management of good quality colostrum, improving environmental hygiene, and animal welfare should be implemented in an accurate and complete manner.

References

- Annen EL, Collier RJ, McGuire MA, Vicini JL, Ballam JM, Lormore MJ, 2004: Effect of modified dry period lengths and bovine somatotropin on yield and composition of milk from dairy cows. *J Dairy Sci*, 87, 3746-3761.
- Arslan MO, Sari B, 2013: Protozoon diseases in digestive system of cattle. In 'Parasitic Diseases in Veterinary Medicine', Ed; Ozcel MA, Meta, Ankara, Turkey.
- Batmaz H, 2015: Calves health and management. 1st ed., Alfa Aktuel, Bursa, Turkey.
- Foster DM, Smith GW, 2009: Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 25, 13-36.
- Gulliksen SM, Jor E, Lie KI, Hamnes IS, Løken T, Åkerstedt J, Østerås O, 2009: Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J Dairy Sci*, 92, 5057-5066.
- Larson RL, Tyler JW, Schultiz LG, Tessman RK, Hostetler DE, 2004: Management Strategies to decrease calf death losses in beef herds. *J Am Vet Med Assoc*, 224,42-48.
- LeBlanc SJ, Duffield T, Leslie K, Bateman K, TenHag J, Walton J, Johnson WH, 2002: The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *J Dairy Sci*, 85, 1416-1426.
- LeBlanc SJ, Herdt T, Seymour W, Duffield T, Leslie K, 2004: Factors associated with peripartum serum concentrations of vitamin E, retinol, and -carotene in Holstein dairy cattle, and their associations with periparturient disease. *J Dairy Sci*, 87, 609-619.
- Mee JF, 2008: Newborn dairy calf management. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 24, 1-17. (Kaynak 'introduction' bölümünde bulunmaktadır ve kırmızı renkli olarak belirtilmiştir)
- Mohd Nor N, Steeneveld W, Mourits MC, Hogeveen H, 2012: Estimating the costs of rearing young dairy cattle in the Netherlands using a simulation model that accounts for uncertainty related to diseases. *Prevent Vet Med*, 106, 214-224.
- Østerås O, Gjestvang M, Vatn S, Sølverød L, 2007: Perinatal death in production animals in the Nordic countries—incidence and costs. *Acta Vet Scan Supplement*, 49:14. (Kaynak 'introduction' bölümünde bulunmaktadır ve kırmızı renkli olarak belirtilmiştir)
- Senturk S, Mecitoglu Z, Temizel EM, Cihan H, Kasap S, Demir G, 2010: Clinical and biochemical evaluation of cows occurring severe weight loss after calving. *Medicine*, 29, 43-49.
- Senturk S, 2012: Internal Medicine in Calves with Controversial case. 2nd ed., Ozsan, Bursa, Turkey.
- Senturk S, 2014: Diseases of Respiratory System in Cattle. 1st ed., Ozsan, Bursa, Turkey.
- Senturk S, 2016: Management of Epidemic Diseases in Beef and Dairy Cattle (Biosafety). In Proceedings of The Sempodium of Herd Health and Management. Antalya, Turkey, pp. 34-37.
- Senturk S, 2018: Internal Medicine in Calves with Controversial case. 3rd ed., Ozsan, Bursa, Turkey.
- Smith BP, 2008: Large Animal Internal Medicine. 4th ed., Mosby Comp, Toronto, Canada.
- Svensson C, Linder A, Olsson SO, 2006: Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. *J Dairy Sci*, 89, 4769-4777.
- Watters RD, Guenther JN, Brickner AE, Rastani RR, Crump PM, Clark PW, Grummer RR, 2008: Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. *J Dairy Sci*, 91, 2595-2603.
- Windeyer MC, Leslie KE, Godden SM, Hodgins DC, Lissemore KD, LeBlanc SJ, 2014: Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prevent Vet Med*, 113: 231-240.
- Yong-il CHO, Kyoung-Jin Y, 2014: An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci*, 15: 1-17.

***Corresponding author:** Sezgin SENTURK

Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Uludag University, 16059, Bursa, Turkey.
e-mail address: sezsen@uludag.edu.tr

Deve (*Camelus dromedarius*) İnce Barsak Mukozasında Plazma Hücreleri ve Eozinofil Granulosit Dağılımının Belirlenmesi

Deniz KORKMAZ*, İsmail Şah HAREM

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 19.04.2018

Kabul Tarihi: 07.04.2018

Özet: Yapılan çalışmada develerde ince barsak mukozasında plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin lokalizasyon ve dağılım oranlarının ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada kesimhaneden elde edilen erişkin ve sağlıklı altı adet tek hörgüçlü deveden alınan ince barsak (duodenum, jejunum, ileum) örnekleri kullanıldı. Alınan doku örnekleri %10 NBF (Neutral buffer formalin) ve IFAA (İzotonik formaldehit asetik asit) (Ph 2.9) solüsyonlarında tespit edildi. Rutin histolojik işlemleri takiben parafinde bloklanan dokulardan 6µ kalınlığında seri kesitler alındı. Elde edilen kesitlere plazma hücrelerini belirlemek amacıyla MGP (Methyl green pyronin), eozinofil granulositleri belirlemek amacıyla Kongo Red ve genel görünüm için Crossmon'ın üçlü boyama yöntemleri uygulandı. Yapılan çalışma ile duodenumdaki plazma hücrelerinin; villusların tepe kısmında yoğunlaştığı (4-en yoğun), az sayıda olan eozinofil granulositlerin ise; kan damarları etrafında toplandığı (2-az yoğun) belirlendi. Jejunumda ise; plazma hücrelerinin sayılarının duodenuma göre azaldığı (3-yoğun) ve villus-kript aralığında yoğunlaştığı belirlenirken (3-yoğun), eozinofil granulosit sayılarının villuslarda arttığı (4-en yoğun) gözlemlendi. İleumda; villuslarda plazma hücreleri sayısının arttığı (4-en yoğun) gözlemlendi. Ayrıca agregat lenf folliküllerinde de plazma hücreleri dikkati çekti. Bununla birlikte eozinofil granulositlerin ileum villuslarında yer aldığı (3-yoğun) belirlendi. Bu hücrelere az oranda lenf folliküllerinde de rastlandı. Sonuç olarak yapılan çalışma ile ince barsaklarda hem plazma hücrelerinin hem de eozinofil granulositlerin genel olarak villusların tepe kısmında yoğunlaştığı belirlenmiştir. Bununla birlikte lenf folliküllerinde de plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin yerleştiği saptanmıştır. Paraziter enfeksiyonlarda sayıları artan plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin bağırsak sağlığının korunmasında önemli rol oynadığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deve, Eozinofil granulosit, İnce barsak, Plazma hücreleri.

Determination of the Plasma Cells and Eosinophil Granulocytes Distribution in the Small Intestine Mucosa of the Camel (*Camelus dromedarius*)

Abstact: The present study aimed the investigation of the plasma cells and eosinophil granulocyte localization and distribution in the small intestine mucosa of the camel (*Camelus dromedarius*). Small intestine samples (duodenum, jejunum, ileum) of six adult and healthy one-humped camel were obtained from the slaughterhouse. Tissue samples were fixed by immersion in 10% neutral formalin saline and IFAA (isotonic formalin acetic acid) Ph:2,9. After routine histological procedure tissues embedded in paraffin. Sections (6µ-thick) were stained methyl-green pyronin (MGP) for plasma cells, Congo Red for eosinophil granulocytes and Masson's trichrome stain modified by Crossmon for general view. In duodenum the plasma cells were concentrated at the tip of villi (4-most intense) while few eosinophil granulocytes (2-less intense) that concentrated around the blood vessels were observed. The number of plasma cells were decreased in villus of jejunum (3-intense), at the same time plasma cells number in villus-crypt space were increased (3-intense). Eosinophil granulocytes were increased in villus of jejunum (4-most intense). In ileum, increased plasma cell numbers were observed in villus (4-most intense). Plasma cells were determined in aggregated lymph follicles. Eosinophil granulocytes were seen in villus of ileum (3-intense) while these cells were rarely observed in lymph follicles. As a result, it was determined that both plasma cells and eosinophil granulocytes were concentrated in the villi in the small intestines. In addition, plasma cells and eosinophil granulocytes were found to be located in the lymph follicles. It has been concluded that plasma cells and eosinophil granulocytes with increasing numbers of parasitic infections play an important role in preserving the intestinal health.

Keywords: Camel, Eosinophil granulocytes, Small intestine, Plasma cells.

Giriş

Develer dünyanın sıcak ve kuru bölgeleri için ekonomik öneme sahip olan evcil hayvanlardır (Eerdunchaolu ve ark., 1999; Raji ve Naserpour, 2007). Tipik bir çöl hayvanı olan develer fizyolojik olarak sıcak hava koşullarına, açlık ve susuzluğa

adapte olabilen canlılardır (Macfarlane ve ark, 1963). İnce barsaklar duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölüme ayrılmaktadır. Bu organların öncelikli görevi besin maddelerinin sindirimi ve emilimidir (Mescher ve Jungueira, 2010). İnce

barsaklarda ayrıca besin yoluyla vücuda giren antijenlere karşı savunma odakları vardır ve bunlar Barsak ile ilişkili Lenfoid Doku (GALT, Gut Associated Lymphoid Tissues) ve Mukozayla ilişkili Lenfoid Doku (MALT, Mucosa Associated Lymphoid Tissues) olarak adlandırılır (Guyton ve Hall, 2006; Özer ve ark., 2008). Bu savunma odakları içinde barsaklarda eozinofil granulositler ve plazma hücreleri adı verilen hücreler önemli rol üstlenmektedirler. Develer geniş getiren hayvan olmalarına rağmen mideleri (Eerdunchaolu ve ark., 1999) ve ince barsakları (Althnaian ve ark., 2012; Althnaian ve ark., 2013; Korkmaz ve Kum, 2016) morfolojik ve histolojik olarak diğer ruminantlardan farklıdır.

Eozinofil granulositler özellikle deri ve mukozal bölgelere yerleşen, alerjik ve paraziter hastalıklarla sayıları artan immun sistem hücreleridir. Bu hücreler plazma hücrelerini ve dentritik hücreleri destekleme görevini de üstlenmektedirler (Chu ve ark., 2011). Gastrointestinal sistemdeki eozinofil granulositler paraziter enfeksiyonlara karşı defans görevi dışında, immun modülatör etkileri de mevcuttur (Kuzu ve Köksal, 2014) Hücrelerin stoplazmalarında çok sayıda primer granüller ve elektron yoğun kristaloid içeren granüllere rastlanır. Primer granüller lizozomal enzimler içerirken; spesifik granüllerin bir çoğu özel katyonik proteinler içerir (Diker, 1998). Eozinofil granulositler organizmaları fagosite etmese de çok hücreli helmintik parazitler (Butterworth, 1984), mantarlar (Ishikawa ve ark., 1972) ve yabancı proteinlere karşı immun yanıtta (Aschkenasy, 1971) önemli roller oynamaktadır. B lenfositlerden farklılaşan plazma hücreleri antikor üreten hücrelerdir. Mide-barsak sisteminin lamina propria'sında bulunan bu hücreler sıvısal savunmada önemli rol oynar (Ross ve ark., 1989). Barsaklardaki birçok paraziter hastalıkta plazma hücreleri ve eozinofil granulositler birlikte rol alır (Cooper ve ark., 1995; Ruitenbergh ve ark., 1977; Soh and Kim 1973). Bu iki hücre arasındaki iş birliği parazitik ajanların opsonizasyonunda (antijenlerin antikorlarla çevrelenmesi) önemli rol oynar. Eozinofil granulositler opsonize olmuş parazitlere bağlanır ve içerdikleri granüllerle paraziti öldürür (Sullivan, 1979).

Sunulan çalışmada, sağlıklı tek hörgüçlü develerin (*Camelus dromedarius*) ince barsaklarında plazma ve eozinofil granulositlerin dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)'nun 09.04.2010 tarih ve B.30.2.ADÜ.0.00.00.00/050.04/2010/38 sayılı izni ile Aydın İncirliova Deve Kesimhanesinden elde edilen

deve barsakları kullanılmıştır. Çalışma HÜBAK (Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koodinatörlüğü) tarafından 16177 no'lu projeye desteklenmiştir.

Çalışmada deve kesimhanesinde sucuk üretimi amacıyla kesilen sağlıklı ve erişkin altı adet tek hörgüçlü deveden alınan ince barsak doku örnekleri (duodenum, jejenum ve ileum) kullanılmıştır. Alınan doku örnekleri %10 Nötral Tamponlu Formalin (NBF) ve İzotonik Formaldehit Asetik Asit (IFAA) (pH 2,9) solüsyonlarında tespit edilmiştir. %10 NBF solüsyonunda 24 saat tespit edilen örnekler 24 saat akarsuda yıkandıktan sonra %70 alkole alınırken, IFAA solüsyonunda tespit edilen örnekler doğrudan %70 alkolde yıkanmıştır. Daha sonra dereceli alkollerle dehidrasyon işlemi gerçekleştirilen doku örnekleri xylol'de parlatılmış ve parafinde bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan alınan seri kesitlere (90µ arayla, 6µ kalınlığında, 6 seri kesit) plazma hücrelerini belirlemek amacıyla MGP (methyl green pyronin), eozinofil granulositleri belirlemek için Kongo Red (Denk ve ark., 1989) ve genel görünüm için Crossmon'ın modifiye üçlü boyama yöntemi (Crossmon, 1937) metotları uygulanmıştır. İnce barsak mukozası (duodenum, jejenum ve ileum) dört bölgeye (villusların tepe kısımları, villus-kript aralığı, kriptlerin dip kısımları ve submukoza) ayrılarak plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin dağılımına bakılmıştır. Hücrelerin dağılımı subjektif olarak 4 (en yoğun), 3 (yoğun), 2 (az yoğun), 1 (nadir) ve 0 (görülmedi) olarak değerlendirilmiştir (Korkmaz ve Kum, 2016). Kesitler araştırma mikroskopunda (Olympus Cover, 018 model) incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

Bulgular

Yapılan çalışma ile tek hörgüçlü develere ait üç ince barsak bölgesinde (duodenum, jejenum, ileum) iki farklı tespit kullanılarak (IFAA, %10 NBF) plazma hücresi ve eozinofil granulosit oranları subjektif olarak belirlendi. Çalışma sonucunda plazma hücrelerinin duodenum villuslarının tepe kısmında yoğunlaştığı, submukozaya doğru gidildikçe sayılarının azaldığı ve submukozada az sayıda olduğu belirlendi (Şekil 1-A). Bu nedenle subjektif değerlendirmede plazma hücrelerine villus tepe kısmında 4 (en yoğun) ve submukozada 1 (nadir) değerleri verildi (Tablo 1). Duodenumda eozinofil granulositlerinin sayısının plazma hücrelerine göre oldukça az olduğu belirlendi. Kan damarları etrafında yerleşen eozinofil granulositler en yoğun olarak lamina propriyada görüldü (Şekil 2-A). Subjektif değerlendirmede duodenumdaki eozinofil granulosit oranının en yoğun olduğu bölge 2 (az yoğun) puan ile villus tepe kısımları, villus-kript aralığı ve kriptlerin dip kısımları olurken, en az 1

(nadir) puan ile submukoza olarak belirlendi (Tablo 2). Deve jejunumu duodenum ile kıyaslandığında plazma hücre sayısının villusların tepe kısmında azalırken; villus-kript aralığında arttığı görüldü. Jejenumda az sayıda plazma hücrelerine submukozada da rastlandı (Şekil 1-B). Dolayısıyla yapılan subjektif değerlendirmede jejenumda villusun tepe kısımları, villus kript aralığı ve kriplerin dip kısımları 3 (yoğun), submukoza 1 (nadir) olarak belirlendi (Tablo 1). Jejenumdaki eozinofil granulositlerin villusların tepe kısmında yoğunlaştığı gözlemlendi. Bu hücelere nadir de olsa submukozada da rastlandı (Şekil 2–B–C). Jejenumdaki eozinofil granulositlerin subjektif değerlendirilmesinde villusun tepe kısımları 4 (yoğun) olarak, villus kript aralığı ve kriplerin dip kısımları 2 (az yoğun) ve submukoza 1 (nadir) olarak saptandı (Tablo 2).

Tablo 1.: Plazma hücre sayısının bölgelere göre dağılım tablosu.

Bölge	Villusun tepe kısımları	Villus-kript aralığı	Kriptlerin dip kısımları	Submukoza
Duodenum	4	3	2	1
Jejenum	3	3	3	1
İleum	4	4	2	1

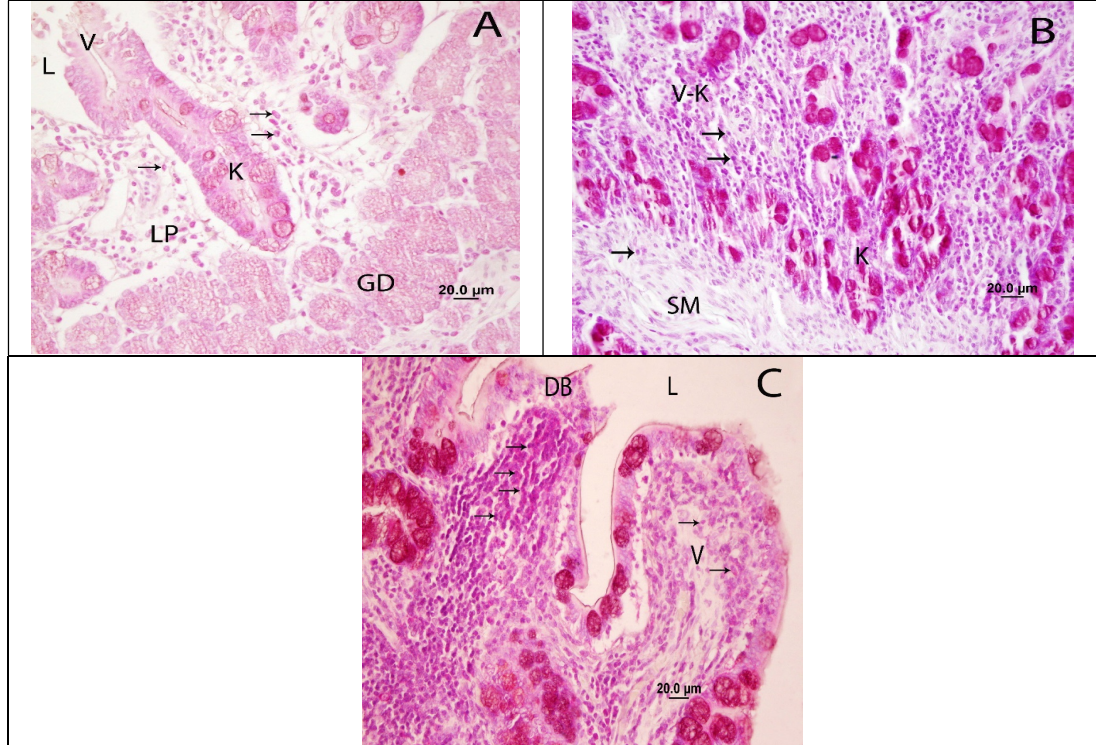
Plazma hücresi yoğunluğuna göre; 4: en yoğun, 3: yoğun, 2: az yoğun, 1: nadir, 0: görülmedi olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan tüm değerlendirmeler subjektif olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. Eozinofil granulosit sayısının bölgelere göre dağılım tablosu.

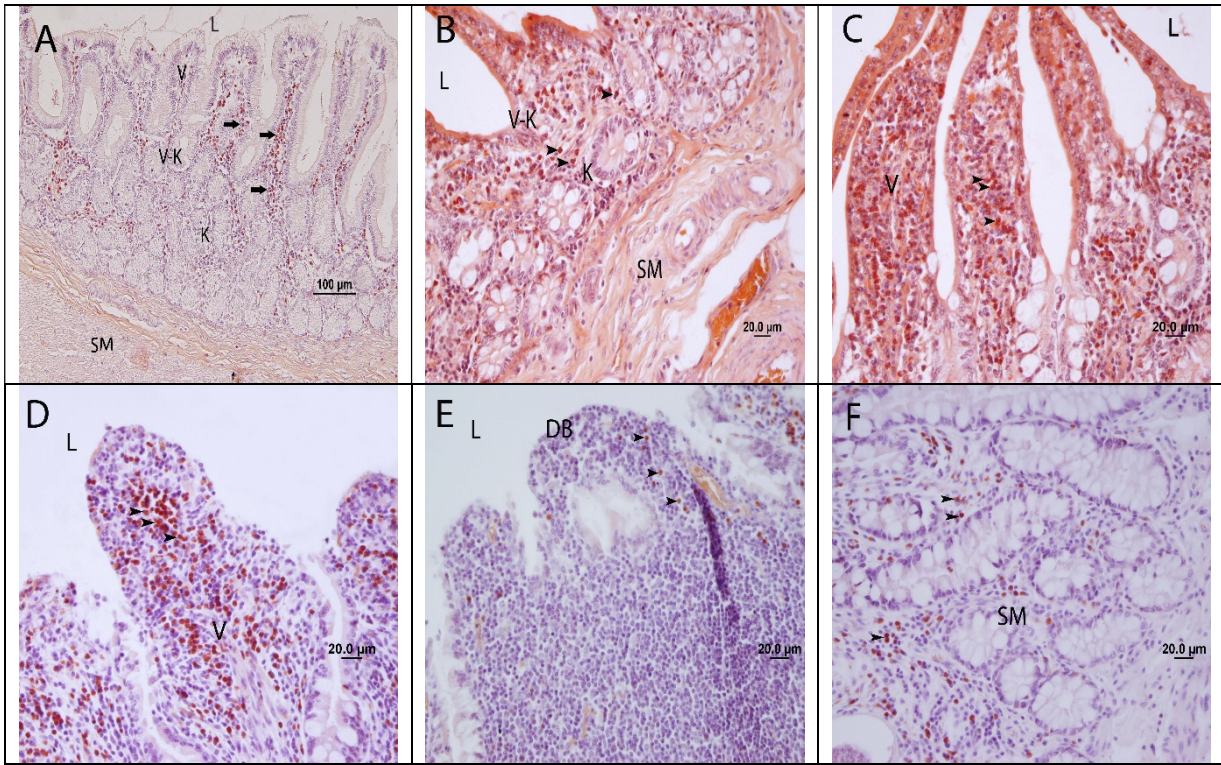
Bölge	Villusun tepe kısımları	Villus-kript aralığı	Kriptlerin dip kısımları	Submukoza
Duodenum	2	2	2	1
Jejenum	4	2	2	1
İleum	3	2	2	2

Eozinofil granulosit yoğunluğuna göre; 4: en yoğun, 3: yoğun, 2: az yoğun, 1: nadir, 0: görülmedi olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan tüm değerlendirmeler subjektif olarak gerçekleştirilmiştir.

Duodenum bölgesinden sonra deve ileumunda da plazma hücre sayılarının villusların tepe kısmında artış gösterdiği dikkati çekti. Aynı zamanda lenf folliküllerinin lumene yakın bölgesinde (Dome bölgesi) plazma hücre sayısı belirgin bir şekilde artarken; submukozada bu hücrelerin sayısı oldukça azdı (Şekil 1-C). İleumdaki plazma hücreleri villusun tepe kısımları ve villus-kript aralığı 4 (yoğun) olarak, kriplerin dip kısımları 2 (az yoğun) ve submukoza 1 (nadir) olarak tespit edildi (Tablo 1). İleumdaki eozinofil granulositler ise daha çok villusların tepe kısmında yoğunlaşmıştı. Bununla birlikte az sayıda hücreye villus-kript aralığında da rastlandı. İleumda lenf folliküllerinde de az sayıda eozinofil granulosit gözlemlendi (Şekil 2–D–E–F). Plazma hücreleri en yoğun villusların tepe kısmında görüldüğünden bu bölge 3 (yoğun) olarak, diğer bölgeler 2 (az yoğun) olarak belirlendi (Tablo 2).



Şekil 1. Plazma hücreleri. A. Duodenumda plazma hücreleri: Oklar: Plazma hücresi, L: Lumen, V: Villus, K: Kript, LP: Lamina propriya GD: Glandula duodenalis. MGP boyaması Bar: 20µ. B. Jejenumda plazma hücreleri: Oklar: Plazma hücresi, V-K: Villus-Kript, K: Kript, SM: Submukoza. MGP boyaması Bar: 20µ. C. İleumda plazma hücreleri: Oklar: Plazma hücresi, L: Lumen, DB: Dome bölgesi, V: Villus. MGP boyaması Bar: 20µ.



Şekil 2. Eozinofil granulosit. A. Duodenumda eozinofil granulosit: V: Villus, oklar: Eozinofil granulosit, V-K: Villus-kript, K: Kript, SM: Submukoza, L: Lumen. Kongo Red boyaması Bar: 20µ. B. ve C. Jejunumda eozinofil granulosit: Ok başları: Eozinofil granulosit, L: Lumen, V-K: Villus-kript, K: Kript, SM: Submukoza, V: Villus. Kongo Red boyaması Bar: 20µ. D. E. ve F. İleumda eozinofil granulosit: Ok başları: Eozinofil granulosit, V: Villus, L: Lumen, DB: Dome bölgesi, SM: Submukoza. Kongo Red boyaması Bar: 20µ.

Tartışma ve Sonuç

Barsaklarda patojenlere karşı savunma noktası oluşturan immun sistem odakları, Barsak ile ilişkili Lenfoid Doku (GALT) olarak adlandırılır. Bu dokuda plazma hücreleri, eozinofil granulositler, mast hücreleri, goblet hücreleri, M hücreleri, makrofajlar, lenfositler gibi hücreler bulunmaktadır (Oswald, 2006). Birçok canlıda bu hücrelerin sağlıklı hayvanlardaki dağılımları belirlenmiştir. Böylece hasta hayvanlarda artan hücre sayıları hastalık teşhisinde rol oynamıştır. Bu çalışma ile daha önce bilinmeyen, sağlıklı tek hörgüçlü deve (*Camelus dromedarius*) ince barsağında plazma hücresi ve eozinofil granulositlerin dağılım oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bir çalışmada, ince barsaklarda birden çok fonksiyona sahip olan eozinofil granulositlerin en yoğun olarak duodenumda rastlandığı bildirilmektedir. Hücrelerin en fazla lamina propriyada ve submukozada yer aldığı belirlenmiş; villuslarda da bu hücreler gözlemlenmiştir (Mishra ve ark, 1999). Yapmış olduğumuz çalışmada ise deve eozinofil granulositlere en az duodenumda en fazla jejunumda rastlanmıştır. Hücrelerin jejunumda özellikle lamina propriyada villusların tepe kısmında yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Eozinofil granulositler kemikliğinde hematopoetik dokular dışında

fizyolojik olarak bulunduğu majör sistem gastrointestinal sistemdir (Kuzu ve Köksal, 2014).

Eozinofil granulositlerin faredede jejunum ve ileumda, villusların dip kısımlarında ve liberkühn kriptlerinde yoğunlaştığı bildirilmektedir (Yin ve ark, 1998). Çalışmamızda ise deve eozinofillere yoğun olarak villusların tepe kısmında rastlanırken villus-kript aralığında ve kriptlerin dip kısımlarında hücrelerin az sayıda olduğu görüldü. Bununla birlikte ileumda dome bölgesinin lumene bakan kısımlarında da az sayıda hücre bulunduğu belirlenmiştir. Eozinofil granulositlerin Peyer plaklarına yaklaştıkça sayılarının artmasının, immun modülatör görevlerinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Sağlıklı hayvanlarda eozinofil granulositlerin lamina propriyada yoğunlaştığı bildirilmektedir (Zuo ve Rothergberg, 2007). Yapılan çalışmada ise deve eozinofil granulositlerin villusların tepe kısmında da bulunduğu, ince barsağın farklı bölgelerinde farklı sayıda hücreye rastlandığı görülmüştür. Sağlıklı farelerde eozinofil granulositlere Peyer plaklarında epitel hücreleri arasında rastlanmadığı bildirilmiştir (Zuo ve Rothergberg, 2007). Yapılan çalışmada ise bu hücreler Peyer plaklarında lenfoid dokunun lumene bakan kısımlarında görülürken, epitel hücreleri arasında eozinofil granulositlere rastlanmamıştır.

Plazma hücresi kandaki B lenfositlerden farklılaşarak bağ dokuya yerleşen bir hücredir. Bu hücreler özellikle sıvısal savunmada rol alan bazı antikorları (Ig-G, Ig-E) salgılar (Özer ve ark, 2008). Deve ince bağırsağında Qi ve Zheng (2014) tarafından yapılan çalışmada, 1-1,5 yaşındaki develere oral yolla *L. Acidophilus* verilmiş ve plazma hücre sayılarına bakılmıştır. Plazma hücre sayılarının ince barsağın üç kısmında da dereceli olarak arttığı görülmüştür. Plazma hücrelerini yoğun olarak lamina propriyada tespit etmişler, bununla birlikte soliter ve agregat lenf folliküllerinde az miktarda plazma hücresine rastlamışlardır. Yaptığımız çalışmada plazma hücrelerinin villusların tepe kısmındaki lamina propriyada yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bu hücrelere lenf foliküllerinin sentrum germinativum'larında ve villusların tepe kısımlarında da rastlanırken submukozada nadiren rastlanmıştır. Adams ve ark. (1980), tarafından yapılan çalışmada *Trichostrongylus colubriformis* ile enfekte edilen koyunlarda ince barsağın lamina propriyasında plazma hücre sayılarının arttığı belirlenmiştir. Jejunumunda yapılan bir başka çalışmada ise barsak parazitleri ile enfekte olan köpeklerde plazma hücrelerinin villuslarda yoğunlaştığı, az miktarda da kriptlerde görüldüğü bildirilmiştir (Eren ve ark., 2000). Yaptığımız çalışmada sağlıklı develerde plazma hücrelerinin duodenum ve ileumda, viluslarda ve villus-kript aralığında yoğun, kriptlerde az yoğun olduğu görülmüştür. Sağlıklı farelerde plazma hücrelerine en çok lamina propriyada rastlanırken ileumdaki peyer plaklarında ve soliter lenf folliküllerinde nadiren görüldüğü bildirilmiştir (Zuo ve Rotherberg, 2007). Bu çalışmada ise sağlıklı develerde ileumda plazma hücrelerinde en çok villuslarda rastlanmıştır. Peyer plaklarının lumene bakan kısımlarında da bu hücreler yoğun olarak görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışma ile tek hörgüçlü sağlıklı develerde ince barsak mukozasında plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin dağılımı belirlenmiş, diğer türlerle olan farklılıkları ortaya konmuştur. Paraziter enfeksiyonlarda sayıları artan plazma hücreleri ve eozinofil granulositlerin immun yanıtta, immunmodülatör etkileri olan bu hücrelerin bağırsak sağlığının korunmasında önemli rol oynadığı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

Adams DB, Merritt GC, Cripps AW, 1980: Intestinal lymph and the local antibody and immunoglobulin response to infection by *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Aust J Exp Bio Med Sci*, 58,167-177.

- Althnaian TA, Alkhodair KM, Albokhadaim IF, Ramdan RO, Ali AM, 2012: Gross anatomical studies on duodenum of one humped camel (*Camelus dromedarius*). *Int J Zoo Res*, 8 (2), 90-97.
- Althnaian TA, Alkhodair KM, Albokhadaim IF, Ali AM, Homeida AM, El-Bahr SM, 2013: Histological and histochemical investigation on duodenum of dromedary camels (*Camelus dromedarius*). DOI: 10.17311/sciintl.2013.217.221 *Science International*, 1: 217-221.
- Anonim, 2014: <http://guncel.tgv.org.tr/journal/53/pdf/100247.pdf>, Erişim tarihi; 05.09.2014.
- Aschkenasy A, 1971: Nutrition el Hematopoiesis. *C N Roy Soc*, Paris. 25(3):415-30.
- Butterworth AE, 1984: Cell-mediated damage to helminths. *Adv Parasitol*, 23, 143-235.
- Chu VT, Fröhlich A, Steinhäuser G, Scheel T, Roch T, Fillatreau S, Lee JJ, Löhning M, Berek C, 2011: Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat. Immunol*, 12, 151-159.
- Cooper GL, Shivaprasad HI, Bickford AA, Nordhausen R, Munn RJ, Jeffrey. IS, 1995: Enteritis in turkeys associated with an unusual flagellated protozoon (*Cochlosoma anatis*). *Avian Dis*, 39, 183-190.
- Crossman G, 1937: A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat Rec*, 69, 33-38.
- Denk H, Kunzele H, Plenck H, Ruschoff J, Sellner W, 1989: *Romeis Microscopishe Tecnic*. 17 Neubearbeitete Auflage. Urban and Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore. pp. 439-450.
- Diker KS, 1998. İmmunoloji. Birinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 22-59.
- Eerdunchaolu Takehana K, Kobayashi A, Baiyin, Cao GF, Andren A, Iwasa K, Abe M, 1999: Morphological characterization of gland cells of the glandular sac area in the complex stomach of the bacterian camel (*Camelus bactrianus*). *Anat Histol Embryol*, Jul 28 (3), 183-191.
- Eren Ü, Balkaya M, Sandıkçı M, Ergüldürenler Ş, 2000: Eosinophil Granulocytes and Plasma Cells in Jejunal Mucosa of Dogs Naturally Infected with or without Intestinal Parasites. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 47, 135-143.
- Guyton AC, Hall JE, 2006: *Textbook of medical physiology*. Eleventh edition. Elsevier Saunders P: 805-806 Philadelphia, Pennsylvania.
- Ishikawa T, Dalton AC, Arbesman CE, 1972: Phagocytosis of *Candida albicans* by eosinophilic leukocytes. *J Allergy Clin Immunol*, 49, 311-315.
- Korkmaz D, Kum S, 2016: A histological and histochemical study of the small intestine of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of Camel Practice and Research*, Vol 23 (1): 111-116.
- MacFarlane WV, Morris RJH, Howard B, 1963: Turn-over and distribution of water in desert camels, sheep, cattle and kangaroos. *Nature*, 197, 270-271.
- Mescher AL, Jungueira LC, 2010: Jungueira's basic histology: Text&atlas. *McGraw-Hill medical* New York 12.th edition p: 20-21.

- Mishra A, Hogan SP, Lee LL, Foster PS, Rothenberg ME, 1999: Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *J. Clin. Invest*, 103, 1719-1727.
- Oswald, I. P. 2006. Role of intestinal epithelial cells in the innate immune defence of the pig intestine. *Vet. Res.* 37, 359–368.
- Özer A, Girgin A, Liman N, Özfiliz N, Özcan Z, Erdost H, Ergün L, Zık B, Özen A, Ergün E, Kocamış H, 2008: Temel histoloji. *Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.* 1. Basım p: 174-179.
- Qi S, Zheng H, 2014: Effect of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal mucosal immune cells in young bactrian camels (*Camelus bactrianus*). *Journal of Camel Practice and Research*, 21 (1), 57-63.
- Raji AR, Naserpour M, 2007: Light and electron microscopic studies of the trachea in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Anat Histol Embryol*, Feb 36(1), 10-13.
- Ross MH, Reith EJ, Romrell L.J, 1989: Histology. A Text and Atlas. *Williams and Wilkins, Baltimore*, P: 314-318.
- Ruitenber E.I, Elgersma A, Kruizinga W, Leenstra F, 1977: *Trichinella spiralis* infection in congenitally athymic (nude) mice, parasitological, serological and haematological studies with observations on intestinal pathology. *Immunology*, 33, 581-587.
- Soh CT, Kim SJ, 1973: Changes of intestinal mucous membrane or dog with reference to the immunological response to parasite infestation. *Yonsei Med J*, 4, 27-36.
- Sullivan TJ, 1979: The role of eosinophils in inflammatory reactions. *Prog Hematol*, 11, 65-82.
- Yin JG, Li DC, Zhang XC, Zhou CF, Yang J, Li JH, 1998: Immune response of intestinal mucosa to infection with *Cryptosporidium parvum* in mice. *Chinese J Vet Sci*, 18, 254-256.
- Zuo L, Rothenberg ME, 2007: Gastrointestinal Eosinophilia. *Immunol Allergy Clin North Am*, August; 27 (3), 443-455.
- *Yazışma Adresi:** Deniz KORKMAZ
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail:dkorkmaz@harran.edu.tr

İneklerde Tohumlama Sonrası Uygulanan Lesirelin Asetat (GnRH Analogu)'ın Gebelik Oranları Üzerine Etkisi

Coşkun CAN¹, Hamit YILDIZ^{2*}

¹Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Muş İl Müdürlüğü, Türkiye.

²Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

Geliş Tarihi: 18.04.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Bu çalışmada, ineklere suni tohumlama sonrası farklı yollardan lesirelin asetate enjeksiyonlarının gebelik oranları üzerindeki etkisi araştırıldı. Materyal olarak postpartum 50-120. günler arasında kendiliğinden östrüse gelen, düzenli aralıklarla seksüel siklus gösteren ve bu süreçte herhangi bir klinik bozukluk göstermeyen farklı ırk ve yaşta 180 inek kullanıldı. Çalışmada kullanılan inekler rastgele 4 gruba ayrıldı. A grubunda bulunan (n= 50) hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra 50 µg lesirelin asetate, B grubu (n=40), hayvanlara 2 ml serum fizyolojik üst epidural boşluğa uygulandı. C grubu (n=50), hayvanlara suni tohumlamadan hemen sonra kas içi 50 µg lesirelin asetate, D grubuna (n=40), 2 ml serum fizyolojik gene kas içi olarak enjekte edildi. Lesirelin asetate'nin üst epidural boşluğa uygulandığı A ve B grubunda hayvanların gebelik oranları (sırasıyla % 64, % 45) arasında farklılığın istatistiki açıdan anlamlı olduğu (P<0.05) görüldü. Kas içi uygulama yapılan C ve D grubunda gebelik oranları (sırasıyla % 60, % 52,5) yönüyle arasındaki farkın anlamlı olmadığı (P>0.05) belirlendi. Ayrıca, üst epidural ve kas içi GnRH uygulanan gruplar arasında da istatistiki bir farkın (P>0.05) olmadığı tespit edildi. Sonuç olarak, yapılan çalışmada kendiliğinden östrüse gelen ineklere tohumlama ile birlikte epidural yolla uygulanan GnRH enjeksiyonlarının gebelik oranlarını artırmada faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnek, Lesirelin asetate, Epidural uygulama, Gebelik oranı.

Effect on Pregnancy Rates of Injected Lecirelin Acetate (GnRH analogue) after Insemination in the Cows

Abstract: In the present study the effects of lecirelin acetate injections applied in different ways after artificial insemination on the pregnancy rate of cows were investigated. As a material, 180 cows showing the spontaneous oestrus between 50-120 days after parturition and having the sexual cycle at regular intervals and showing no clinical disorders during the treatment process were used. The cows were randomly divided into 4 groups as A, B, C and D. In the group A (n = 50) 50 µg lecirelin acetate was injected to the sacrococcygeal epidural space of the animals immediately after the artificial insemination. The animals in the group B (n = 40) were injected with 2 ml physiological saline solution by the same route applied to the animals in the group A. The animals in the group C (n = 50) were injected with 50 µg lecirelin acetate intramuscularly immediately after the artificial insemination. The animals in the group D (n = 40) were injected with 2 ml physiological saline solution by the same route applied to the animals in the group C. Statistically significant difference (P <0.05) were observed between the pregnancy rates of groups A and B (64%) and (45%). It was detected that there was no significant difference (P>0.05) in the pregnancy rates of the groups C and D (60% and 52.5%, respectively). In addition, no significant difference (P>0.05) was observed between the group A (applied epidural GnRH) and C (applied intramuscular GnRH). As a result, it was concluded that either intramuscular or epidural administration of Lecirelin Acetate to cows showing spontaneous oestrus can be used after artificial insemination to increase the pregnancy rates.

Keywords: Cow, Lecirelin acetate, Epidural treatment, Pregnancy rate.

Giriş

GnRH, hipotalamustaki, arkuatik nükleusta bulunan eminensiya medialis'e taşınarak burada depo edilen bir nörohormondur (Padula, 2005; Scheiber ve Liu 2014; Singh ve ark., 2008). Adenohipofizde gonadotrop hücrelerin yüzeyinde bulunan G proteini ile eşleşmiş reseptörüne bağlanarak, hücre içi bir seri fizyolojik reaksiyonu başlatıp, bu hücrelerden folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormonun (LH) sentezini ve salınmasını başlatır. Böylece, hipotalamus-hipofiz-

gonat eksenine dolaylı etki ederek, gametogenezis ve steroidogenezisin düzenlenmesinde önemli görevler üstlenir (Padula, 2005; Scheiber ve Liu 2014). Lesirelin'in doğal GnRH'dan farkı; dekapeptit değil, nonapeptit olması ve yapısının 10. pozisyonunda glisin yerine yüksek lipofilik etilamino grubunun yer almış olmasıdır. Bu yapı değişikliği özellikle hipofizyal reseptörlerin seçiciliğini artırarak, FSH ve LH seviyelerinin yükselmesini ve doğal hormon ile 90 dakika olan sürenin 240 dakikaya

kadar uzamasını sağlar (Millar, 2005; Schneider ve ark., 2006).

GnRH agonistleri, damar içi (Padula, 2005; Scheiber ve Liu 2014), deri altı (Herbert ve Trigg 2005; Padula, 2005; Scheiber ve Liu 2014), vajina içi (Padula, 2005), burun içi (Padula, 2005; Scheiber ve Liu 2014), uterus içi (Bas ve ark., 2012), dilaltı (Scheiber ve Liu 2014), kas içi (Annalisa ve ark., 2011; Herbert ve Trigg 2005; Scheiber ve Liu 2014) ve epidural boşluğa (Annalisa ve ark., 2011; Rizzo ve ark., 2011; Üstün, 2011) uygulanmak suretiyle klinikte kullanılmaktadır. Son zamanlarda GnRH agonistlerinin epidural yolla uygulanmasının kas içi uygulamaya göre iyi bir alternatif yol olduğu bildirilmiştir (Annalisa ve ark., 2011; Rizzo ve ark., 2009). GnRH agonistlerinin epidural yolla uygulanmasının avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar, epidural boşluğa uygulanan GnRH agonistlerinin daha hızlı ve güçlü etki gösterdiğini savunmaktadırlar. İneklere ovaryumların innervasyonu, direkt olarak sempatik sinirlerle sağlanmaktadır. Epidural boşluğa verilen adrenerjik aktiviteye sahip ilaçlar, doğrudan kendi reseptörlerini uyararak muhtemel etkinin oluşmasını sağlamaktadırlar (Annalisa ve ark., 2011; Millar, 2005). Koyun (Dolan ve ark.,2003) ve sığırlarda (Millar, 2005) omurilik üzerinde yapılan çalışmalarda GnRH reseptörlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Lesirelinin kimyasal yapısında 10. pozisyonda glisin yerine etilamino grubunun bulunması molekülün lipofilik özellikte olmasını ve molekülün epidural boşluk ve meninkleri geçerek omurilikte daha etkin bir şekilde ulaşmasını sağlamaktadır (Annalisa ve ark., 2011; Millar, 2005). Lesirelin, omurilikte bulunan GnRH reseptörlerinde hücre içi kalsiyum girişini artırır. Ovaryumları uyaran sempatik sinir sonlarında hücre içi kalsiyum girişinin artması ile norepinefrin salgılanarak, GnRH'nın ovaryum üzerine olan etkisi ortaya çıkmaktadır. Sempatik innervasyon, foliküler matürasyon, steroid salınımı ve ovulasyonda önemli rol oynamaktadır (Rizzo ve ark., 2011). Ayrıca, norepinefrin folikül duvarının kontraktilesini arttırarak ovulasyon sonrası korpus hemorajikum ve korpus luteumun oluşmasını desteklemektedir (Rizzo ve ark., 2011; Singh ve ark., 2008).

Bu çalışmanın amacı, postpartum 50-120 günler arasında bulunan ineklere suni tohumlamadan hemen sonra üst epidural ve kas içi yolla yapılan 50 µg lesirelin asetat uygulamalarının gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Sunulan çalışmada, yaşları 3-8 arasında değişen 180 adet inek kullanıldı. Çalışmada materyal olarak,

aile tipi işletmelerden hayvan ırkı gözetilmeksizin (52 adet Holştayn melezi, 56 adet Montafon ve 72 adet Simental melezi), postpartum 50-120. günler arasında kendiliğinden östrüse gelmiş ineklerden seçildi. Çalışmaya alınan inekler, düzenli aralıklarla seksüel siklus gösteren ve reproduktif açıdan herhangi bir klinik bozukluğu bulunmayan hayvanlar arasından seçildi. İnekler rastgele 4 gruba ayrıldı. A grubunda bulunan (n= 50) ineklere suni tohumlamadan hemen sonra (ilk 10 dk içinde) üst epidural yolla 50 µg lesirelin asetat içeren preparattan (Dalmarelin, 10 ml, 25 µg/ml, VETAŞ) 2 ml, B grubu (n=40); ineklere suni tohumlamadan hemen sonra 2 ml serum fizyolojik üst epidural yolla uygulandı. Yine suni tohumlamadan hemen sonra C grubunda (n=50), ineklere 50 µg lesirelin asetat içeren preparattan 2 ml kas içi, D grubuna (n=40) ise; 2 ml serum fizyolojik kas içi olarak enjekte edildi. İneklere östrüsün tespiti, hayvan sahiplerinden alınan anamnezin yanı sıra, vulvada ödem ve servikal mukus akıntısının gözlenmesi, hayvanların üzerine atlama veya diğer hayvanların atlamasına izin verme, rektal muayenede uterus tonosite artışı ve ovaryumlarında büyük Graaf folikülü varlığı esas alınarak yapıldı. Östrüs tespit edildikten sonra ineklerde tohumlama, rekto-vajinal yöntemle yapıldı. Gebelik muayeneleri suni tohumlama sonrası 30-35. günlerde B model real-time ultrasonografi cihazı (100 Falco, Pie Medical Netherlands) ile 7,5 MHz lineer prob kullanılarak yapıldı. Gebelik sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmeleri SPSS 21,0 bilgisayar programında Ki-kare testi kullanılarak yapıldı (Hayran ve Özdemir, 1996).

Bulgular

Tohumlamadan hemen sonra epidural ve kas içi GnRH uygulaması yapılan A ve C grupları ile kontrol olarak kullanılan B ve D gruplarının hayvan sayıları ve gebelik oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Epidural ve kas içi yolla GnRH uygulanan ineklerde gebelik oranları.

	Gebelik oranları (%)		
	A grubu	B grubu	P
Epidural	64 ^a	45 ^b	0,05
	Gebelik oranları (%)		
	C grubu	D grubu	
Kas içi	60	52,5	-

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemli (P<0,05).

Buna göre, gebelik oranları yönüyle incelendiğinde A ve B grupları arasında istatistiksel olarak farklılığın anlamlı bulunduğu (P<0.05), kas içi

uygulama yapılan C ve D grupları arasında ise anlamlı bir farklılığın olmadığı ($P>0.05$) belirlendi. Ayrıca, epidural (A grubu) ve kas içi (C grubu) GnRH uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılığın ($P>0.05$) bulunmadığı saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Tohumlamadan hemen sonra değişik GnRH analoglarının farklı dozlarda uygulandığı çalışmalarda birbirinden farklı gebelik oranları elde edildiği bildirilmektedir (Anjum ve ark., 2009; Gumen ve ark., 2011; Kaim ve ark., 2003; Martin ve ark., 2005; Nakao ve ark., 1983; Perry ve Perry, 2009; Şekerden ve ark., 2009).

Bazı araştırmalarda GnRH uygulamalarının gebelik oranlarını artırdığı ileri sürülmektedir (Anjum ve ark., 2009; Kaim ve ark., 2003; Nakao ve ark., 1983; Lee ve ark., 1983; Lee ve ark., 1985; Stevenson ve ark., 1984). Anjum ve ark. (2009) repeat breeder ineklere tohumlama sonrası 50 µg lesirelin asetatı kas içi uygulamalarında % 68,75, kontrol grubunda % 37,5 gebelik oranı elde ettiğini bildirmektedir. Başka bir çalışmada (Şekerden ve ark., 2009), tohumlama sonrası lesirelin asetat uygulanan 21 hayvandan 13'ünün gebe kaldığını ve uygulamanın gebelik oranlarını artırdığını belirtilmektedir. Bu sonuçların aksine tohumlama sonrası GnRH uygulamalarının gebelik oranları üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildiren araştırmacılar da vardır (Chenault, 1990; Gumen ve ark., 2011; Lopez-Gatius ve ark., 2006; Mee ve ark., 1990; Perry ve Perry, 2009). Sunulan çalışmada kullandığımız GnRH analogu olan lesirelin asetat ile ilgili araştırmalarda ise, tohumlama sonrası 5. günde lesirelin asetat uygulamalarında (Kaçar ve ark., 2007) ve postpartum 60-80. günler arasında tohumlama sonrası lesirelin asetat uygulanan hayvanlarda (Martin ve ark., 2005) gebelik oranı ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamda bir farkın olmadığı bildirilmektedir. Yapılan bu çalışmada, ineklere doğum sonrası 50-120. günler arasında suni tohumlama ile birlikte kas içi 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında gebelik oranının % 60, kontrol grubunda % 52,5 olduğu ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi. Çalışmada elde edilen gebelik oranları bazı araştırmacıların (Gumen ve ark., 2011; Lopez-Gatius ve ark., 2006; Martin ve ark., 2005; Perry ve Perry, 2009) bulguları ile paralellik gösterirken, bazı araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olmadığı (Kaim ve ark., 2003; Lopez-Gatius ve ark., 2006; Stevenson ve ark., 1984) tespit edildi. Sonuçlar arasındaki farklılık, bazı araştırmacıların (Momcilovic ve ark., 1998; Stevenson ve ark., 1984) belirttiği gibi ineklerin vücut kondisyonları, östrüsün

tespiti, spermanın çözdürülmesi ve suni tohumlama uygulamaları gibi farklılıklardan kaynaklanabileceği şüphesi uynamıştır.

Yapılan çalışmaların çoğunda (Anjum ve ark., 2009; Annalisa ve ark., 2011; Rizzo ve ark., 2009; Rizzo ve ark., 2011; Şekerden ve ark., 2009) GnRH uygulaması kas içi yolla yapılmıştır. Foliküler kistli hayvanlarda epidural GnRH'nin uygulamasının kas içi uygulamaya göre daha iyi sonuç verdiği ileri sürülmüştür (Annalisa ve ark., 2011). Postpartum 60-120. günler arasında bulunan ve foliküler kist şekillenen hayvanlara üst epidural ve kas içi yolla 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında, hayvanların östrüse gelme oranlarının (sırasıyla, %75 ve %57) ve gebelik oranlarının (sırasıyla, % 93 ve % 76) kas içi uygulamaya göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Annalisa ve ark., 2011). Benzeri şekilde yapılan başka bir çalışmada (Robbe ve ark., 2002) postpartum ilk 60 gün içinde bulunan ve foliküler kist proplemi olan ineklere epidural ve kas içi yolla 50 µg lesirelin asetat uygulamalarında östrüse gelme oranları sırasıyla, % 81,2, %59,4 ve gebelik oranları sırasıyla, % 75, %53,1 olduğunu ve epidural enjeksiyonlarda daha iyi netice alındığı bildirilmektedir. Sunulan çalışmada tohumlama ile birlikte lesirelin asetatın epidural (Grup A, % 64) ve kas içi (Grup C, % 60) yolla uygulanması arasında gebelik oranları yönüyle bir farkın olmadığı tespit edildi. Elde edilen sonuçların araştırmacıların bulgularından farklı olmasının nedeni GnRH'nin farklı olgularda kullanılmasından kaynaklanabilir.

Epidural olarak uygulanan GnRH'nin bu etkisine ilişkin değişik görüşler bulunmaktadır. Dolan ve ark. (2003) epidural boşluğa uygulanan GnRH serebrospinal sıvı aracılığı ile merkezi sinir sistemine ve buradan hipotalamus ve hipofiz bezine ulaştığını belirtmektedirler. Epidural uygulanan GnRH kan akımına karışarak beyine ulaşır, ancak omurilik ve ovaryum üzerinde oluşturduğu direk bir lokal mekanizma ile folikülün çözülmesine yol açtığı ileri sürülmektedir (Annalisa ve ark., 2011). Başka bir çalışmada (Gajewski ve ark., 2006) lesirelin, omurilikte bulunan GnRH reseptörlerinde hücre içi kalsiyum girişini artırdığı bildirilmektedir. Ovaryumları uyaran sempatik sinir sonlarında hücre içi kalsiyum girişinin artması ile norepinefrin salgılanmaktadır. Salgılanan norepinefrin, foliküllerin duvarında kontraktilitenin artmasını, ovulasyon sonrası granülasyon dokusunun düzenlenmesi ve luteal dokunun gelişmesini sağlamaktadır (Espey, 1978; Rizzo ve ark., 2009). Epidural yolla uygulanan GnRH'nin ovulasyon üzerindeki etki mekanizmasına ilişkin araştırmacıların (Annalisa ve ark., 2011; Dolan ve ark., 2003; Gajewski ve ark., 2006) ortaya koyduğu düşüncelere katılmakla beraber bu konu ile ilgili olarak etki

mekanizmasını ortaya koyan ayrıntılı farmakodinamik ve farmakokinetik araştırmaların yapılmasında fayda bulunmaktadır.

Araştırmacılar (Annalisa ve ark., 2011; Rizzo ve ark., 2009; Rizzo ve ark., 2011) foliküler kistli ineklere üst epidural yolla lesirelin asetat kullanırken, kontrol olarak kullanılan hayvanlara epidural olarak serum fizyolojik kullandığında hayvanların hiçbirinin kızgınlığa gelmediğini belirtmektedirler. Sunulan çalışmada, tohumlama ile birlikte epidural 50 µg lesirelin asetat enjekte ettiğimiz grupta gebelik oranı % 64, kontrol grubunda ise bu oran % 45 olarak belirlendi. Her iki grup arasında istatistiki olarak farklılığın olduğu (P<0.05) tespit edildi.

Sonuç olarak, kendiliğinden kızgınlığa gelen hayvanlara tohumlamadan hemen sonra üst epidural yolla uygulanan GnRH enjeksiyonlarının gebelik oranlarını artırmada faydalı olduğu kanaatine varıldı.

Kaynaklar

- Anjum IA, Usmani RH, Tunio MT, Abro SH, 2009: Improvement of conception rate in crossbred cattle by using GnRH analogue therapy. *Pakistan Vet. J*, 29, 93-94.
- Annalisa R, Debora C, Maddalena M, Giuseppe M, Massimo S, Luigi SR, 2011: Epidural vs intramuscular administration of leirelin, a GnRH analogue, for the resolution of follicular cysts in dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 126, 19–22.
- Bas S, Pinto CG, Day ML, Schuenemann GM, 2012: Effect of intrauterine administration of gonadotropin releasing hormone on serum LH concentrations in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 78, 1390-1397.
- Chenault JR, 1990: Effect of fertirelin acetate or buserelin on conception rate at first or second insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 73, 633–638.
- Dolan S, Evans NP, Richter TA, Nolan AM, 2003: Expression of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone receptor in sheep spinal cord. *Neurosci Lett*, 346, 120–122.
- Espey LL, 1978: Ovarian contractility and its relationship to ovulation: a review. *Biol Reprod*, 19, 540–551.
- Gajewski Z, Thun R, Faundez R, Pawlinski B, 2006: The influence of α -adrenergic receptors stimulator and blockers and beta-blocker on the ovary and endocrinological activity in heifers during ovulation. *J Physiol Pharmacol*, 57(8), 173–188.
- Gumen A, Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, Karakaya E, Cevik S, Balci F, 2011: Effects of GnRH, PGF2 α and oxytocin treatment on conception rate at the time of artificial insemination in lactating dairy cows. *Czech J Anim Sci*, 56(6), 279–283.
- Hayran M, Özdemir O, 1996: Bilgisayar, istatistik ve tıp. 2. Baskı: Medikomat hekimler yayın birliği, Ankara, Türkiye.
- Herbert CA, Trigg TE, 2005: Application of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim Reprod Sci*, 88, 141-153.
- Kaçar C, Yıldız S, Pancarcı ŞM, Kaya M, Güngör Ö, Arı UÇ, 2007: Effect of administration of lesireline five days after artificial insemination on pregnancy rates and luteal function in cows. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 13(2), 139-142.
- Kaim M, Bloch A, Wolfenson D, Braw-Tal R, Rosenberg M, Voet H, Folman Y, 2003: Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses, and conception. *J Dairy Sci*, 86, 2012–2021.
- Lee CN, Critser JK, Ax RL, Folman Y, 1985: Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin-releasing hormone at first postpartum breeding. *J Dairy Sci*, 68, 1463–1470.
- Lee CN, Maurice E, Ax RL, Pennington JA, Hoffman WF, Brown MD, 1983: Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows. *American J Vet Res*, 44, 2160–2163.
- Lopez-Gatius F, Santolaria P, Martino A, Deletang F, Rensis FD, 2006: The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in northeastern Spain. *Theriogenology*, 65, 820–830.
- Martin R, Schmausser M, Seidl S, Schmauder S, Mansfeld R, 2005: Use of Lecirelin to improve insemination efficiency of dairy cattle. *Praktische Tierarzt*, 86(12), 914-919.
- Mee MO, Stevenson JS, Scoby RK, 1990: Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *J Dairy Sci*, 73, 1500-1507.
- Millar RP, 2005: GnRHs and GnRH receptors. *Anim Reprod Sci*, 88, 5-28.
- Momcilovic D, Archbald LF, Walters A, Tran T, Kelbert D, Risco C, Thatcher WW, 1998: Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and/or prostaglandin F2 α (PGF2 α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology*, 50(7), 1131-1139.
- Nakao T, Narita S, Tanaka K, Hara, H, Shirakawa J, Noshiro H, Saga N, Tsunoda N, Kawata K, 1983: Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analog. *Theriogenology*, 20, 111–119.
- Padula AM, 2005: GnRH analogues-agonists antantagonists. *Anim Reprod Sci* 88: 115-126.
- Perry GA, Perry BL, 2009: GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. *Theriogenology*, 71, 775-779
- Rizzo A, Minoia G, Trisolini C, Mutinati M, Spedicato M, Manca R, Sciorsci R, 2009: Renin and ovarian vascularization in cows with follicular cysts after epidural administration of a GnRH analogue. *Anim Reprod Sci*, 116, 226-232.

- Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, Minoia G, Pantaleo, M, Sciorsci RL, 2011: In vivo and in vitro studies of the role of the adrenergic system and follicular wall contractility in the pathogenesis and resolution of bovine follicular cysts. *Theriogenology*. 76, 1526-1531.
- Robbe D, D'Ottavio M, Sciorsci RL, 2002: Terapia della cisti follicolari della bovina. *Obiettivi e Documenti Veterinari (O. D. V)*, 7/8, 19-24.
- Scheiber MD, Liu JH, 2014: The use of Gonadotropin-Releasing Hormone to induce ovulation. <https://www.glowm.com/.../cd/.../v5c071.html>, Erişim tarihi; 30.10.2014.
- Schneider F, Tomek W, Gründker C, 2006: Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. *Theriogenology*, 66, 691-709.
- Singh R, Graves ML, Roskelley CD, Giritharan G, Rajamahendran R, 2008: Gonadotropin releasing hormone receptor gene and protein expression and immunohistochemical localization in bovine uterus and oviducts. *Dom Anim Endocrin*, 34, 319-326.
- Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP, 1984: Gonadotropin-releasing hormone and conception of Holsteins. *J Dairy Sci*, 67, 140-145.
- Şekerden Ö, Uraz H, Söğüt Ö, 2009: Kilis ineklerinde kan progesteron testi kullanılarak erken gebelik teşhis imkanları. *Hayvansal Üretim*, 50(2), 29-32.
- Üstün Z, 2011: Sıcak stresi altındaki süt ineklerinde tohumlama protokolü sonrası epidural GnRH uygulamasının gebelik oranı üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

***Yazışma Adresi:** Hamit YILDIZ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

e-mail: hamityildiz@firat.edu.tr

Ratlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Üzerine Naringenin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi

İsmail KOYUNCU

Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 01.05.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Naringenin, insan sağlığı üzerinde biyoaktif bir etkiye sahip olup, greyliftta baskın bulunan doğal bir flavonondur. Bu çalışmada ratlarda sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisite üzerine naringenin'in böbrek dokusundaki bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırıldı. Bu çalışmada, 35 adet 2 aylık wistar albino ratlar kullanıldı. Ratlar rastgele her grupta 7 rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. 1.grup (Kontrol) %1'lik DMSO i.p, 2.grup (Cis), tek doz sisplatin., 7 mg/kg / i.p, 3.grup (NG₂₀) naringenin, 20 mg/kg/10 gün /i.p, 4.grup, (Cis+NG₂₀) tekdoz sisplatin 7 mg/kg/ i.p + 20 mg/kg/10 gün./i.p naringenin, 5.grup (Cis+NG₄₀) tek doz sisplatin 7 mg/kg/ i.p + 40 mg/kg/10 gün./i.p naringenin on gün boyunca uygulandı. Çalışma sonunda ratlardan alınan böbrek dokusundan biyokimyasal analizler yapıldı. Sisplatin grubunda böbrek TOS, OSI, MDA, AOPP, 8-OHdG ve NRF-2 düzeyleri kontrol grubuna göre artarken (P<0.05), böbrek TAS ve GSH (P<0.05) düzeyleri anlamlı olarak azaldı. Sisplatinin ratlarda oluşturduğu nefrotoksisiteyi, naringenin'in anlamlı olarak azalttığından dolayı, sisplatin'e bağlı nefrotoksisitenin naringenin ile kontrol edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Naringenin, DNA hasarı, NRF-2, TAS, TOS.

Investigation of the Protective Effect of Naringenin on the Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats

Abstract: Naringenin which have a bioactive effect on human health is a natural flavonone predominantly found in grapefruit. In this study, the effects of naringenin on some biochemical parameters in renal tissue in cisplatin-induced nephrotoxicity case were investigated in rats. In this study 35 Wistar albino rats, aged 2 months were used. Rats were randomly divided into 5 groups each consisted of 7 rats; 1.group (control) 1% DMSO i.p, 2.group (Cis), one dose cisplatin., 7 mg/kg/ i.p, 3.group (NG₂₀) naringenin, 20 mg/kg/ day /i.p, 4.group, (Cis+NG₂₀) one dose cisplatin 7 mg/kg/ i.p + 20 mg/kg/day./i.p naringenin, 5.group (Cis+NG₄₀) one dose cisplatin 7 mg/kg/ i.p + 40 mg/kg/day./i.p naringenin were administered for ten days. At the end of the study biochemical analyses were made on samples of kidney tissues. Kidney tissue levels of TOS, OSI, MDA, AOPP, 8-OHdG ve NRF-2 were increased (P<0.05) and TAS and GSH levels (P<0.05) were decreased significantly in cisplatin group (2. group) compared with control group. As naringenin significantly reduced nephrotoxicity in cisplatin-induced rats and nephrotoxicity could be controlled with naringenin.

Keywords: Naringenin, DNA damage, NRF-2, TAS, TOS.

Giriş

Sisplatin, katı tümörlerin pekçok çeşidinde kullanılabilen, etkin bir kemoterapik ajan olmasına karşın, başta nefrotoksisite olmak üzere hepatotoksisite gibi doz bağımlı belirgin yan etkileri klinik kullanımını kısıtlamaktadır (Wang ve ark., 2017). Sisplatin ile yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarla bu ajanın serbest radikalleri artırarak, lipit, protein ve DNA hasarına neden olduğu ve oksidatif hasara karşı dokuları koruyan antioksidan enzimlerin aktivitesinin azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzden sisplatinin neden olduğu çeşitli toksisitenin, serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri ile ilgili olduğunu göstermektedir (Coşkun ve ark., 2013; Topcu ve ark., 2016).

Günümüzde kanser tedavisinde sisplatinin vazgeçilmez etkin bir kemoterapik ajan olmasından dolayı, daha etkin ve daha az toksik olan sisplatin

analoglarının üretilmesi ve sisplatin kullanımıyla beraber antioksidan maddeler kullanılarak sisplatinin neden olduğu yan etkilerin azaltılması için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla değişik antioksidan ve anti-enflamatuvar maddelerin sisplatin toksisitesine karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. Yapılan araştırmalarda ısırgan otu, L-Karnitin ve naringenin-oximegibi antioksidanların koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Özkoç ve ark., 2012; Coşkun ve ark., 2013; Koyuncu ve ark., 2017)

Naringenin, greylift kabuğundan izole edilen bir fenolik bileşik olup (Kawai ve ark., 1999), yapılan birçok in-vitro çalışma sonucunda etkili bir antioksidan olduğu, yapılan in-vivo çalışmalarda ise lipit peroksidasyon oluşumunu azalttığı, antioksidan enzim aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (Arul ve

ark., 2013; Raza ve ark., 2013). Bu çalışma naringenin'in; sisplatinin böbrek dokusunda serbest radikal artışı göstergesi olan TOS, NRF-2 gibi oksidan parametreler ve DNA hasarı üzerindeki etkileri incelenerek böbrek hasar üzerine olası koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metot

1. Deneysel hayvanları ve Deneysel ilaç Uygulamaları: Çalışma için kullanılan ratlar DOLL-VET Araştırma Merkezi tarafından sağlanmış olup 2014/66 sayılı yazı ile gereken etik kurul belgesi ile onaylanmıştır. Çalışma 35 adet Wistar albino ratlar (8 haftalık yaşta, 200-250 g ağırlığında) ile yapıldı. Ratlar standart laboratuvar koşullarında (12 saat ışık, 12 saat karanlık ve 25±3 °C) tutularak standart ticari pelet yem ile beslendi. Yem ve su *ad libitum* verildi. Çalışmada; 1.grup (kontrol) %1'lik DMSO i.p, 2.grup (Cis), tek doz sisplatin., 7 mg/kg/ i.p, 3.grup (NG₂₀) naringenin, 20 mg/kg/10 gün/i.p, 4.grup, (Cis+NG₂₀) tek doz sisplatin 7 mg/kg/ i.p + 20 mg/kg/10 gün./i.p naringenin, 5.grup (Cis+NG₄₀) tek doz sisplatin 7 mg/kg/ i.p + 40 mg/kg/10 gün./i.p naringenin on gün boyunca uygulandı.

2. Böbrek dokularının alınması ve homojenatlarının hazırlanması: Çalışma sonucunda ratlardan alınan böbrek ve kan dokusunda biyokimyasal analizler yapıldı. Alınan kan tüplere aktararak, 3000 rpm'de, +4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Böbrek dokuları soğuk PBS tampon ile yıkandıktan sonra, analiz yapılincaya kadar -80 ° C'de tutuldu. Ratlardan alınan böbrek dokuları 1/10 oranında pH 7.4, 0.1 M, fosfat tamponu ile buz içerisinde homojenize edilerek 1800xg'de santrifüj edildi. Elde edilen sonra süpernatantlar analizler için kullanıldı.

3. Biyokimyasal Analizler: Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyi serum örneklerinde Ohkawa ve ark. (Ohkawa ve ark., 1979) geliştirdikleri metot kısmen modifiye edilerek yapıldı. Bu yöntemin prensibi MDA'nın TBA ile reaksiyona girerek 535 nm eksitasyon ve 550 emisyon nm'lerinde maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır. İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (AOPP) düzeyleri, Witko-Sarsat ve ark.'nın (Witko ve ark., 1992) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle incelendi. Elde edilen homojenat üzerine 200 µl KI eklendi ve 2 dakika karanlıkta oda ısısında bekletildikten sonra üzerine asetik asit eklenerek

örnekler iyice karıştırılıp, oluşan reaksiyon 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. GSH analizi Ozkol ve ark.'ın (Ozkol ve ark., 2015) yöntemine göre yapıldı. Total oksidan kapasite (TAS) ölçümü ticari kit (Rel Assay, Gaziantep /Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Total antioksidan kapasite (TAS) ölçümü ticari kit (Rel Assay, Gaziantep /Türkiye) ile yapıldı. Total oksidan seviye (TOS) / Total antioksidan seviye (TAS) şeklinde bölünerek oksidatif stres indeksi (OSi) hesaplanarak, AU (Arbitrary Unit) olarak ifade edildi. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG)'nin kantifikasyonu OxiSelect Oxidative DNA Damage ELISA Kiti (Cell Biolabs, San Diego, CA) kullanılarak yapıldı. NRF2 'nin kantifikasyonu ELISA Kit (Cusabio, San Diego, CA) protokolü uygulanarak analiz yapıldı. Kan üre (BUN) ve kreatinin (CRE) seviyesi biyokimya otoanalizörü (Beckman Coulter AU680 analizör) ile yapıldı.

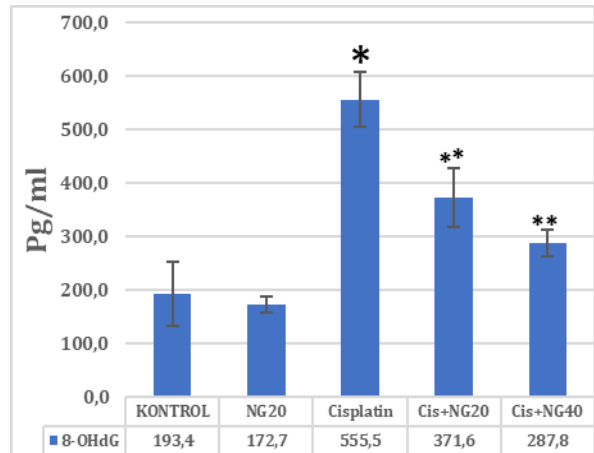
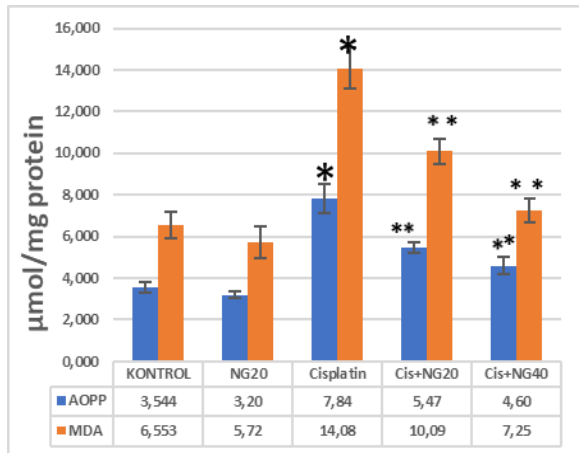
4. İstatistiksel Analizler: Veriler ortalama değerler (X±SD) olarak verildi. Grup arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizini takiben Dunnet testiyle değerlendirildi. Sonuçların önem dereceleri P<0,05. ise anlamlı olarak ifade edildi.

Bulgular

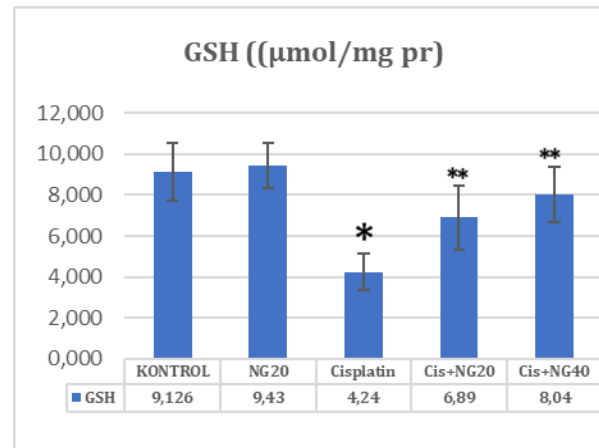
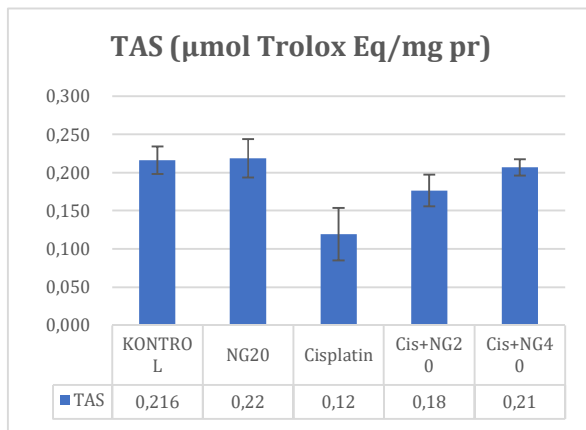
1. Naringenin böbrek MDA ve AOPP düzeyleri üzerindeki etkisi: MDA; serbest radikaller tarafından indüklenen lipid hasarını, AOPP ise protein oksidasyonu ölçmek için yaygın olarak kullanılan parametrelerdir. Naringenin ve sisplatinin böbrek dokusu MDA ve AOPP üzerindeki etkileri **Şekil 1'de** verilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sisplatin uygulanan grubun böbrek dokusunda MDA ve AOPP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı (P<0.05) artış tespit edilirken. Sisplatin ile birlikte naringenin uygulanan gruplarda ise sisplatin grubuna kıyasla MDA ve AOPP düzeylerinde anlamlı (P <0.05) bir azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil-1).

2. Naringenin böbrek GSH düzeyleri üzerindeki etkisi: Glutatyon (GSH), antioksidan enzimlerin serbest radikalleri nötralize etmede kullandığı önemli bir tripeptid antioksidandır. Böbrek GSH düzeyi sisplatin grubunda, kontrol gurubuna göre anlamlı bir şekilde azalırken (P <0.05), naringenin verilen gruplarda doz artışına bağlı olarak anlamlı bir artış olduğu gözlendi (Şekil 2).



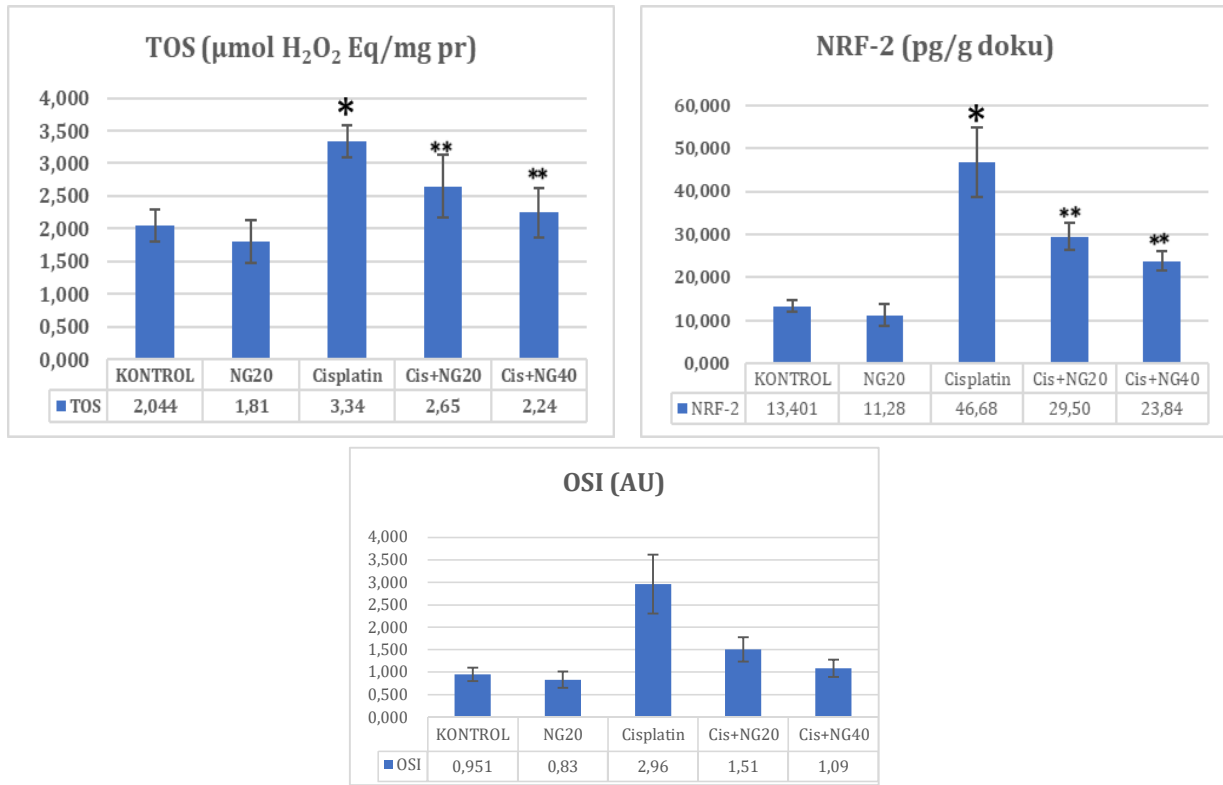
Şekil 1. Sisplatin (7 mg/kg), naringenin (NG₂₀) ve kombinasyonlarının (Cis + NG₂₀ ve Cis + NG₄₀) rat böbrek dokusundaki AOPP, MDA ve 8-OHdG seviyesi üzerindeki etkileri. Değerler ortalama ± SD (n=7) olarak verilmiştir. *p<0.05; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **p<0.05; Cis grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



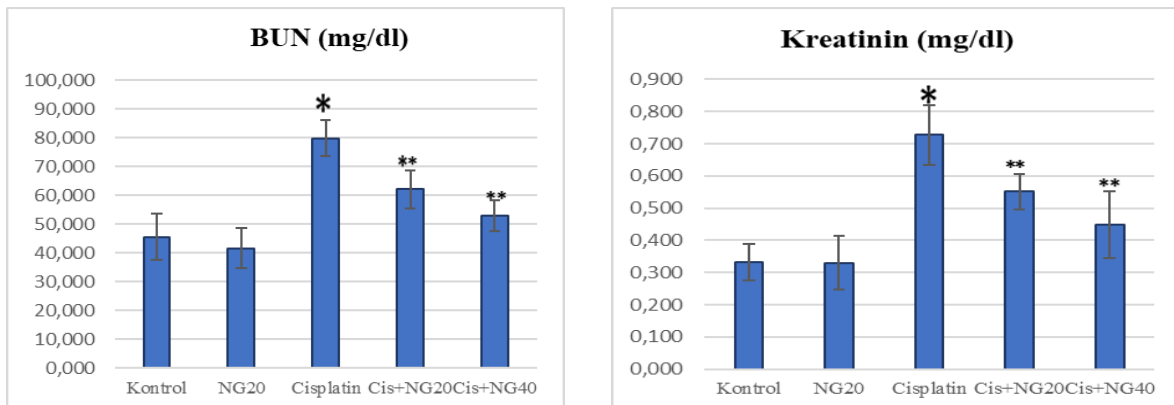
Şekil 2. Sisplatin (7 mg/kg), naringenin (NG₂₀) ve kombinasyonlarının (Cis + NG₂₀ ve Cis + NG₄₀) rat böbrek dokusundaki TAS ve GSH seviyesi üzerindeki etkileri. Değerler ortalama ± SD (n=7) olarak verilmiştir. *p<0.05; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **p<0.05; Cis grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. **Böbrek ve Serum NRF-2 Düzeyleri:** Nükleer solunumsal faktör 2 (Nrf2), NQO1 ve diğer detoksifiye edici genler için bir transkripsiyon faktörü olup antioksidan sistemi indüksiyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Oksidatif stres, Nrf2 ekspresyon seviyesinin artması ve fosforilasyonuna neden olur. (Kilic ve ark., 2015). Bu nedenle oksidatif stresin önemli bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Çalışmada sisplatin grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Nrf2 seviyesinin önemli derecede (P <0.05) artarken, naringenin verilen gruplarda anlamlı (P<0.05) bir azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 3).

4. **Böbrek TAS, TOS ve OSI Düzeyleri:** Böbrek dokusundaki total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) sonuçları Şekil 2 ve 3'te verildi. Kontrol grubu ile Sisplatin grubu karşılaştırıldığında böbrek dokusunda TAS seviyesinin anlamlı bir şekilde azaldığı (p<0.05) gözlenirken, sisplatinle beraber naringenin verilen gruplarda TAS seviyesinin arttığı (p<0.05) tespit edildi (Şekil 2). TOS ve OSI (p<0.05) düzeylerinin yalnızca sisplatin uygulanan grupta arttığı; sisplatinle birlikte naringenin verilen gruplarda ise böbrek TOS ve OSI düzeylerinin sisplatin grubuna göre azaldığı (p<0.05) tespit edildi (Şekil 3).



Şekil 3. Sisplatin (7 mg/kg), naringenin (NG_{20}) ve kombinasyonlarının (Cis + NG_{20} ve Cis + NG_{40}) rat böbrek dokusundaki TOS, OSI ve NRF-2 seviyesi üzerindeki etkileri. Değerler ortalama \pm SD (n=7) olarak verilmiştir. *p<0.05; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **p<0.05; Cis grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4. Sisplatin (7 mg/kg), naringenin (NG_{20}) ve kombinasyonlarının (Cis + NG_{20} ve Cis + NG_{40}) rat serum dokusundaki BUN ve kreatinin seviyesi üzerindeki etkileri. Değerler ortalama \pm SD (n=7) olarak verilmiştir. *p<0.05; Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, **p<0.05; Cis grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. Böbrek 8-OHdG Düzeyleri: 8-Hidroksi deoksiguanozin (8-OHdG), oksidan kaynaklı DNA hasarının önemli işaretlerinden biridir. Tüm grupların 8-OHdG düzeylerindeki değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir. Sisplatin grubunda 8-OHdG

düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede artarken ($p<0.05$), sisplatin uygulamasını takiben naringenin verilen gruplarda 8-OHdG düzeylerinin normale indiği ve kontrol grubuna göre farklılık göstermediği tespit edildi.

6. Serum Böbrek Fonksiyon test Düzeyleri: Böbrek fonksiyon testleri BUN ve kreatinin seviyeleri serumda analiz edilerek sonuçlar Şekil 4 verildi. Sisplatin verilen gruplarda kontrol grubuna göre BUN ve kreatinin seviyelerinde önemli artış ($p<0.05$) gözlenirken, naringenin ile tedavi edilen gruplarda anlamlı bir azalmanın ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Günümüzde daha etkin ve daha az toksik olan sisplatin analoglarının üretilmesi ve sisplatin kullanımıyla beraber antioksidan maddeler kullanılarak sisplatinin neden olduğu yan etkilerin azaltılması için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla karboplatin gibi Pt merkezli ve nefrotoksik olmayan türevler geliştirilmiştir. Ancak, sisplatin halen Pt içeren ajanlar arasında en çok tercih edilen hem de en sık kullanılan kemoterapötiklerden biri olmayı sürdürmeye devam ettiğinden, tek alternatif yol olarak sisplatin normal hücreler üzerindeki toksisitesini azaltan ve aynı zamanda kanser hücreleri üzerinde sinerji sağlayan antioksidan maddelerin araştırılması yönünde olmaktadır (Ali ve ark., 2006; Hosseinian ve ark., 2016). Sisplatinin serbest radikal artışına bağlı olarak gelişen yan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda dokularda görülen hasarı indirgeyebilmek için çeşitli kimyasal ajanlar kullanılmaktadır. Sisplatinin istenmeyen yan etkilerinin daha etkili, ekonomik ve kolay uygulanabilir ilaçlarla önleyebilmek ve azaltılabilmek amacıyla yapılan bu çalışmalarda en çok kullanılan maddeler antioksidanlardır (Yousef ve ark., 2009). Bu çalışma sisplatinin neden olduğu nefrotoksisite ve böbrek DNA hasarı üzerine naringenin'in koruyucu etkilerini incelemek amacıyla yapıldı. Çalışma sonucunda sisplatinin böbrek dokusunda oksidatif stres artışına, antioksidan sistemin azalmasına bağlı DNA hasarına yol açarak nefrotoksite'ye yol açtığı tespit edildi. Naringenin'in ise antioksidan sistemi tetikleyerek ve serbest radikalleri nötralize ederek böbrek hasarını azalttığı gözlemlendi.

Oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumu ve ortadan kaldırılması arasındaki dengenin bozulması sonucunda oluşmaktadır. Özellikle sisplatin gibi çeşitli kemoterapik maddeler vücutta aşırı oksidan üretimine veya antioksidan mekanizmanın zayıflamasına yol açarak oksidatif stresin artışına yol açmaktadır (Yousef ve ark., 2009). Oksidatif stresin değerlendirilmesinde birçok molekül ve yöntem geliştirilmiştir. Ancak çeşitli çalışmalar TAS ve TOS parametrelerinin oksidatif stres ile ilişkili hastalıklar için yararlı belirteçler olabileceğini bildirmektedir.

Bu nedenle son yıllarda örnekteki net oksidan ve antioksidan durumu ve bunların dengesini belirlemek için TOS, TAS ölçülmekte ve OSI'nin hesaplanması önerilmektedir (Erel, 2005; Xiao ve ark., 2018). Bu nedenle OSI; sisplatin aracılı genotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisi için gerekli bir gösterge olarak kabul edilebilir. Sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre TOS ve OSI seviyesi önemli derecede artış gösterirken, TAS seviyesinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Bunun aksine naringenin ile tedavi edilen grupta TAS seviyesinin artışına bağlı olarak TOS ve OSI seviyesi önemli derecede azaldı. Bu sonuçlar sisplatin maruz kalmanın dokularda oksidatif streste bir artışa neden olduğunu ve oksidatif stresin naringenin tedavisi ile engellendiğini göstermektedir.

Birçok hücre tipinde, oksidatif strese karşı çok sayıda hücreyel yanıtın, antioksidan tepki elemanı (ARE) ve transkripsiyon faktörü, nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör-2 (Nrf2) aracılığıyla hareket eden sinyal oluşturucu proteinlere dahil olduğu bulunmuştur (Sies ve ark., 1996). Nrf2 çeşitli faz 2 detoksifiye ve anti-oksidan enzimlerin ARE aracılı indüksiyonu yoluyla hücreyi oksidatif strese karşı korumaktadır. Nrf2 sinyalleme yolu, geniş bir uyarıcı dizisine yeniden katılan bir dizi antioksidan genin ekspresyonunu yukarı regüle ederek oksidatif strese karşı hücreyi korur (Huang ve ark., 2002; Lee ve ark., 2005). Çalışmamızda sisplatinin Nrf2 seviyesini yükseltirken naringenin uygulamasının Nrf2 ekspresyonunda önemli azalışa yol açmıştır. Bu çalışmanın sonuçları Nrf2 antioksidatif stres sinyalleme ile naringenin nefroprotektif etkisi arasında olası bir ilişki olduğunu göstermektedir. Hücre içi artan serbest radikaller DNA 'da önemli hasarlara yol açabilir. 8-OHdG ise oluşan, DNA hasarının en önemli göstergesi olarak kabul edilmektedir (Cadet ve ark., 2003; Geyikoglu ve ark., 2017). Altuner ve ark., (2013) sıçan yumurtalıklarında tek doz sisplatin uygulaması takiben DNA hasarının arttığını ileri sürmüşlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlarda, 8-OHdG seviyesinin, ratlarda sisplatin kaynaklı böbrek DNA hasarının iyi bir göstergesi olduğunu gösterdi. Daha önce yapılan çalışmalarda, DNA hasarının antioksidan desteği ile azaldığı tespit edilmiştir (Ince ve ark., 2014). Çalışmamızda elde edilen sonuçlarda bu verileri desteklemiştir. Çalışmada naringenin sisplatin kaynaklı oksidatif DNA hasar seviyesini antioksidan etki göstererek önemli seviyede azaltarak koruyucu etki göstermiştir.

Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılan reaktif bir karbon bileşendir (Özkol ve ark., 2012). Önceki çalışmalarla

uyumlu olarak sisplatin verilen farelerin serum ve böbrek dokusunda MDA düzeylerinde artış gözlenmiştir (Wozniak ve ark., 2004). Bu, patogeneze ROS aracılı akciğer hasarının katılımını kanıtlamaktadır. Naringenin uygulaması, düşük MDA düzeylerinden anlaşılacağı üzere, sisplatin ile indüklenen oksidatif stresini önemli ölçüde azaltmıştır.

GSH, antioksidan sistemin oksijen radikallerini nötralize etmesi için şart olduğundan, hücre içi GSH konsantrasyonu, sisplatin kaynaklı böbrek hasar derecesinin önemli belirleyicisidir (Felgines ve ark., 2000). Sisplatin tarafından üretilen GSH düzeylerindeki önemli bir düşüş, hücrel redoks durumunda bir değişikliği gösterir, bu da hücrelerin ROS'a daha duyarlı olabileceğini gösterir. Bu, antioksidan enzim savunma mekanizmasının etkinliğinde bir azalmaya neden olur (Soliman ve ark., 2016). Bu çalışmada, Sisplatin ile birlikte naringenin uygulan grupta serum ve böbrek dokularındaki GSH düzeylerindeki artış, oksidatif strese hücrel yanıtta bir artış olduğunu düşündürmektedir. Hem kreatin hem de BUN, sisplatin ile tedavi edilmiş ratlarda anlamlı bir şekilde artmıştır; Bununla birlikte, sisplatinin bu etkileri naringenin tedavisi ile tersine döndü. Bu değişiklikler naringenin tedavisi ile önlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma Naringenin flavonoid bileşiminin ratlarda sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitenin ve genotoksisitenin azaltılmasında koruyucu bir role sahip olduğunu göstermektedir.

Kaynaklar

Ali BH, Al Moundhri M, 2006: Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 8, 1173-1183.

Arul D, Subramanian P, 2013: Inhibitory effect of naringenin (citrus flavonone) on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 434, 2, 203-209.

Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J, 2003: Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 531, 1, 5-23.

Coşkun NM, Hatipoğlu T, Özoğul C, Korkmaz C, Akyol SN, Mıclı SC, Arık GS, Erdoğan D, 2013: The protective effects of acetyl L-carnitine on testis gonadotoxicity induced by cisplatin in rats. *Balkan Medical Journal*, 30, 2, 235.

Erel O., 2005: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38, 12, 1103-1111.

Felgines C, Texier O, Morand C, Manach C, Scalbert A, Régerat F, Remesy C, 2000: Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279, 6, G1148-G1154.

Geyikoglu F, Emir M, Colak S, Koc K, Turkez H, Bakir M, Hosseinigouzdagani M, Cerig S, Keles ON, Ozek NS, 2017: Effect of oleuropein against chemotherapy drug-induced histological changes, oxidative stress, and DNA damages in rat kidney injury. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 2, 447-459.

Hosseinian S, Rad AK, Mousa-Al-Reza Hadjzadeh NM, Roshan SH, Shafiee S, 2016: The protective effect of nigella sativa against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6, 1, 44.

Huang HC, Nguyen T, Pickett CB, 2002: Phosphorylation of Nrf2 at Ser-40 by protein kinase C regulates antioxidant response element-mediated transcription. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 45, 42769-42774.

Ince S, Acaroz DA, Neuwirth O, Demirel HH, Denk B, Kucukkurt I, Turkmen R, 2014: Protective effect of polydatin, a natural precursor of resveratrol, against cisplatin-induced toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 72, 147-153.

Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Yano M, 1999: Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 9, 3565-3571.

Kilic U, Sahin K, Tuzcu M, Basak N, Orhan C, Elibol-Can B, Kilic E, Sahin F, Kucuk O, 2015: Enhancement of cisplatin sensitivity in human cervical cancer: epigallocatechin-3-gallate. *Frontiers in Nutrition*, 1, 28.

Lee JM., Li J, Johnson DA, Stein TD, Kraft AD, Calkins MJ, Jakel RJ, Johnson JA, 2005: Nrf2, a multi-organ protector. *The FASEB Journal*, 19, 9, 1061-1066.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K, 1979: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 2, 351-358.

Ozkol HU, Koyuncu I, Tuluçe Y, Dilsiz N, Soral S, Ozkol H, 2015: Anthocyanin-rich extract from Hibiscus sabdariffa calyx counteracts UVC-caused impairments in rats. *Pharmaceutical Biology*, 53, 10, 1435-1441.

Ozkol HU, Musa D, Tuluçe Y, Koyuncu I, 2012: Ameliorative influence of Urtica dioica L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Drug and Chemical Toxicology*, 35, 3, 251-257.

Raza S, Khan M, Ahmad A, Ashafaq M, Islam F, Wagner A, Safhi M, 2013: Neuroprotective effect of naringenin is mediated through suppression of NF-κB signaling pathway in experimental stroke. *Neuroscience*, 230, 157-171.

Sies H, Masumoto H, 1996: Ebselen as a glutathione peroxidase mimic and as a scavenger of peroxynitrite. *Advances in Pharmacology Elsevier*. 38: 229-246.

- Soliman AM, Desouky S, Marzouk M, Sayed AA, 2016: *Origanum majorana* attenuates nephrotoxicity of cisplatin anticancer drug through ameliorating oxidative stress. *Nutrients*, 8, 5, 264.
- Topcu-Tarladacalisir Y, Sapmaz-Metin M, Karaca T, 2016: Curcumin counteracts cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing renal tubular cell apoptosis. *Renal Failure*, 38, 10, 1741-1748.
- Wang J, Gu BJ, Masters CL, Wang YJ, 2017: A systemic view of Alzheimer disease - insights from amyloid-beta metabolism beyond the brain. *Nat Rev Neurol*, 13, 10, 612-623.
- Witko V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B, 1992: Microtiter plate assay for phagocyte-derived Taurine-chloramines. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 6, 1, 47-53.
- Wozniak, K., A. Czechowska and J. Blasiak, 2004: Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer

cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. *Chemico-biological interactions*, 147, 3, 309-318.

- Xiao Y, Sun H, Li C, Li Y, Peng S, Fan C, Teng W, Shan Z, 2018: Effect of iodine nutrition on pregnancy outcomes in an iodine-sufficient area in China. *Biological Trace Element Research*, 182, 2, 231-237.
- Yousef M, Saad A, El-Shennawy L, 2009: Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 6, 1176-1183.

***Yazışma Adresi:** İsmail KOYUNCU

Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: ismailkoyuncu1@gmail.com

Bazı Aromatik Bitkilerin Geleneksel Lavaş Peyniri Üretiminde Biyosidal Etkileri

Serap KILIÇ ALTUN¹, Hikmet DİNÇ², Hisamettin DURMAZ^{1*}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 17.03.2018

Kabul Tarihi: 07.06.2018

Özet: Bu araştırmanın amacı geleneksel lavaş peyniri üretiminde kullanılan bazı aromatik bitkilerin biyosidal etkilerini belirlemektir. Araştırma kapsamında geleneksel üretim tekniği ile inek sütünden çörekotlu (*Nigella sativa*), kekikli (*Thymus vulgaris*), biberli (*Capsicum annuum*), reyhanlı (*Ocimum basilicum*) ve sade olmak üzere deneysel olarak 5 farklı lavaş peyniri üretilmiştir. Üretilen peynirlerden 2. gün ve salamura aşamasını takiben 16. gün konvansiyonel kültür yöntemiyle toplam aerob mezofilik mikroorganizma, fekal koliform ve *E. coli* yönünden analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, üretimin 2. gününde ortalama toplam aerob mezofilik bakteri, fekal koliformlar ve *E. coli* sayıları sırasıyla; çörekotlu peynir örneklerinde 8.04, 4.98 ve 3.38 log₁₀ kob/g; kekikli peynir örneklerinde 8.76, 4.62 ve 4.47 log₁₀ kob/g; biberli peynir örneklerinde 8.41, 4.60 ve 4.77 log₁₀ kob/g; reyhanlı peynir örneklerinde 8.71, 4.11 ve 4.04 log₁₀ kob/g ve sade peynir örneklerinde ise 8.82, 4.62 ve 4.92 log₁₀ kob/g iken, muhafazanın 16. gününde aynı mikroorganizmaların ortalama sayıları sırasıyla çörekotlu peynir örneklerinde 7.39, 3.07 ve 3.17 log₁₀ kob/g; kekikli peynir örneklerinde 7.59, 3.98 ve 3.96 log₁₀ kob/g; biberli peynir örneklerinde 7.30, 2.00 ve 2.69 log₁₀ kob/g; reyhanlı peynir örneklerinde 7.38, 2.69 ve 3.38 log₁₀ kob/g ve sade peynir örneklerinde 7.07, 2.47 ve 2.84 log₁₀ kob/g seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada, sade ve aromatik bitki ilave edilerek üretilen lavaş peyniri örnekleri arasında mikroorganizma yükü açısından herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Sonuç olarak, araştırmada kullanılan aromatik bitkilerin geleneksel lavaş peyniri örneklerinde bulunan mikroorganizmalar üzerine biyosidal etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aromatik bitki, Biyosidal etki, Lavaş peyniri.

Biocidal Effects of Some Aromatic Plants on the Production of Traditional Lavas Cheese

Abstract: The aim of this study was to determine the biocidal effects of some aromatic plants used in traditional lavas cheese production. Within the scope of the study, five different types of lavas cheese were experimentally produced from cow milk with traditional production technique, including black cumin (*Nigella sativa*), thyme (*Thymus vulgaris*), pepper (*Capsicum annuum*), purple basil (*Ocimum basilicum*) and plain. The produced cheeses were analyzed on the 2nd day after production and on the 16th day after the brine stage in terms of total aerobic mesophilic bacteria, fecal coliform, and *E. coli* by conventional culture method. According to the results of microbiological analysis, on the 2nd day of production, the total number of aerobic mesophilic bacteria microorganisms, fecal coliforms and *E. coli* counts were; 8.04, 4.98 and 3.38 log₁₀ cfu/g in cheese samples with black cumin; 8.76, 4.62 and 4.47 log₁₀ cfu/g in cheese samples with thyme; 8.41, 4.60 and 4.77 log₁₀ cfu/g in cheese samples with pepper; 8.71, 4.11 and 4.04 log₁₀ cfu/g in cheese samples with purple basil; 8.82, 4.62 and 4.92 log₁₀ cfu/g in plain cheese samples while on the 16th day of storage 7.39, 3.07 and 3.17 log₁₀ cfu/g in cheese samples with black cumin; 7.59, 3.98 and 3.96 log₁₀ cfu/g in cheese samples with thyme; 7.30, 2.00 and 2.69 log₁₀ cfu/g in cheese samples with pepper; 7.38, 2.69 and 3.38 log₁₀ cfu/g in cheese samples with purple basil; 7.07, 2.47 and 2.84 log₁₀ cfu/g in plain cheese samples, respectively. In this study, no difference was found in the microorganism load between lavas cheese samples produced with or without aromatic plant additions. As a result, it was concluded that aromatic plants used in this study did not have any biocidal effect on microorganisms found in traditional lavas cheese samples.

Keywords: Aromatic plant, Biocidal effect, Lavas cheese.

Giriş

Ülkemizde fermente süt ürünleri oldukça zengin bir çeşitliliğe sahiptir ve bileşimlerindeki organik (protein, yağ, karbonhidrat, vitamin) ve inorganik (mineraller) bileşenlerden dolayı beslenmedeki fonksiyonları önemlidir (Ayar ve Akyüz., 2003). Türkiye’de yaygın olarak üretilen beyaz, kaşar ve tulum peynirlerinin yanısıra (Altun ve Köse, 2014), yöresel olarak geleneksel

yöntemlerle üretilen ve isimlendirilen birçok peynir çeşidi bulunmaktadır (Kamber, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre ülkemizde 2017 yılında 638.406 ton ile inek peyniri diğer peynir türlerine göre en çok üretilen peynir çeşidi olup, üretilen bu peynirlerin büyük bir kısmını beyaz peynir ve %10’unu ise lavaş peyniri gibi yöresel peynirler oluşturmaktadır (Anonim, 2017;

Hayaloğlu, 2008). Lavaş peyniri özellikle Antakya ili ve çevresinde üretilen, yörede sıkma peynir, ezme peynir gibi farklı isimlerle adlandırılan ve telemesi haşlanarak elde edilen bir peynir çeşididir. Lavaş peyniri üretiminde genellikle inek sütü kullanılmaktadır (Tarakçı ve ark., 2004).

Ülkemizde aromatik bitkilerin geleneksel üretim tekniği ile üretilen peynirlere lezzet ve aroma vermek amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Gıda üretiminde kullanılan kimyasal koruyucuların insan sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı kullanımı giderek azalmakta ve yerini aromatik bitkiler gibi doğal koruyucular almaktadır. Benzer şekilde lavaş peynirinde de ticari olarak çörek otu (*Nigella sativa*), kekik (*Thymus vulgaris*) ve biber (*Capsicum annuum*) gibi aromatik bitkiler kullanılmaktadır. Aromatik bitkilerin gıda üretiminde kullanımının aromatik özelliklerinin yanısıra antioksidatif ve biyosidal etkileriyle hijyenik kalite ve raf ömrüne olumlu etkileri bulunmaktadır (Beuchat ve Golden, 1989). Ülkemiz, farklı iklim özellikleriyle 3000'i endemik olan yaklaşık 9000 bitki türüne sahip bir coğrafyadadır ve 500 civarında bitki türü, değerli tıbbi aromatik ve boya amaçlı kullanılmaktadır (Paksoy, 2016). Bu aromatik bitkilerden çörek otu ile yapılan bir çalışmada çörek otunun *E.coli*'ye karşı konsantrasyona bağımlı inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiştir (El-Fataty, 1975). Kalsiyum, magnezyum ve demir gibi mineraller ile C ve K vitamini yönünden iyi bir kaynak olan kekiğin biyosidal etkisinin yanı sıra antioksidan ve hücre koruyucu özelliğinin de olduğu bildirilmektedir (Paksoy, 2016). Kekiğin *S. Typhimurium*, *S. aureus* ve *V. parahaemolyticus* üzerine biyosidal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *S. aureus*'un gelişimini %0.05 konsantrasyonda inhibe ettiği belirlenmiştir (Aktuğ ve Karapınar, 1988). Biber, bileşiminde bulunan karotenoit bileşenlerinden β -karoten, kriptoksantin ve kapsantin ile gıdalarda renk verici olarak ve antioksidan özelliğinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Tavacı (1997)'nin yapmış olduğu bir çalışmada, %5 pulbiber ilavesi ile hazırlanan kaşar peynirinde maya-küf sayısının kontrol grubundan daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Reyhan, manganez, potasyum, kalsiyum ve A vitamini bakımından değerli bir aromatik bitkidir (Paksoy, 2016). Amrita ve ark. (2009)'larının yapmış olduğu bir çalışmada fesleğen ve çeşitli aromatik bitkilerin *E. coli*'ye karşı biyosidal etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın amacı, geleneksel lavaş peynir üretiminde kullanılan bazı aromatik bitkilerin (çörek otu, kekik, pul biber, reyhan) biyosidal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal: Bu çalışmada Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvar'ında farklı aromatik bitkiler kullanılarak ve sade olarak üretilen lavaş peynir örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Ağırlıkça %2 oranında hassas terazide tartılarak hazırlanan kurutulmuş çörek otu, kekik, pul biber ve reyhan bitkileri koagülasyon sırasında peynir pıhtısı şekillenmeden lavaş peynirlere ilave edilmiş ve toplamda her biri 200'er gramlık 5 farklı lavaş peynir örneği üretilmiştir.

Lavaş Peyniri Örneklerinin Hazırlanması: Lavaş peyniri üretiminde kullanılan çiğ inek sütü Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi çiftliği'nden temin edildi. Ön testleri yapılan inek sütü 73°C'de 15 saniye pastörize edildi. Kontrol grubu olarak üretilen sade peynir dışındaki gruplara %2 oranında aromatik bitkiler ilave edildikten sonra kuvveti 1/60.000 olan maya 1:10 oranında sulandırılarak katıldı ve pıhtılaşma sağlanıncaya kadar 2 saat beklendi. İnkubasyonun ardından şekillenen pıhtı baskılandı ve sonrasında dilimlenerek %4 oranında tuzlandı ve bu aşamada rutubetinin azalması sağlandı. Elde edilen teleme, haşlama işleminin ardından şekillendirilerek %12 salamurada olgunlaşmaya bırakıldı (Tarakçı ve ark., 2004). Üretilen peynirlerden 2. gün ve salamura aşamasını takiben 16. gün konvansiyonel kültür yöntemiyle toplam aerob mezofilik bakteri, fekal koliformlar ve *E.coli* yönünden analizleri yapıldı.

Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayımı: Her bir grupta bulunan dilüsyonu hazırlanmış örneklerden 1'er mL alınarak Plate Count Agar (Merck 105463)'a yayma plak yöntemi ile ekimler yapılarak 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı ve petrilere oluşan tüm koloniler sayılıp seyreltme faktörü ile çarpılarak mikroorganizma sayıları hesaplandı.

Fekal Koliform Sayımı: Lauryl Sülfat Broth (Merck 110266)'ta 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası pozitif sonuç veren tüplerden EC Broth (Merck 110765)'a ekim yapıldı ve 44.5°C'de 24-48 saat inkübasyon sonunda pozitif sonuç veren örnekler fekal koliform grubu bakteriler olarak değerlendirildi (Doğan ve ark., 2001).

***E.coli* sayımı:** 10 g peynir örneği 90 mL MRD (Merck 112535) ile homojenize edildi. Homojenizasyonun ardından Chromocult TBX Agar (Merck 116122)'a ekim yapıldı ve petrilere 44°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Chromocult TBX Agar'da üreyen mavi-yeşil

renkteki tipik koloniler sayılarak seyreltme faktörü ile hesaplandı (Doğan ve ark., 2001).

Bulgular

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, üretimin 2. gününde ortalama toplam aerob mezofilik bakteri sayısı (TAMB), fekal koliformlar ve *E. coli* sayıları sırasıyla; çörekotlu peynir örneklerinde 8.04, 4.98 ve 3.38 log₁₀ kob/g, kekikli peynir örneklerinde 8.76, 4.62 ve 4.47 log₁₀ kob/g, pul biberli peynir örneklerinde 8.41, 4.60 ve 4.77 log₁₀ kob/g, reyhanlı peynir örneklerinde 8.71, 4.11 ve 4.04 log₁₀ kob/g ve sade peynir örneklerinde ise 8.82, 4.62 ve 4.92 log₁₀ kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Muhafazanın 16. gününde aynı mikroorganizmaların sayılarının sırasıyla çörekotlu peynir örneklerinde 7.39, 3.07 ve 3.17 log₁₀ kob/g, kekikli peynir örneklerinde 7.59, 3.98 ve 3.96 log₁₀ kob/g, pul biberli peynir örneklerinde 7.30, 2.00 ve 2.69 log₁₀ kob/g, reyhanlı peynir örneklerinde 7.38, 2.69 ve 3.38 log₁₀ kob/g ve sade peynir örneklerinde 7.07, 2.47 ve 2.84 log₁₀ kob/g seviyelerinde oldukları tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Üretimin 2. gününde lavaş peynir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (log₁₀ kob/g).

	TAMB sayısı	Koliform sayısı	<i>E.coli</i> sayısı
Çörekotlu	8.04	4.98	3.38
Kekikli	8.76	4.62	4.47
Pul biberli	8.41	4.60	4.77
Reyhanlı	8.71	4.11	4.04
Kontrol Sade	8.82	4.62	4.92

Tablo 2. Muhafazanın 16. gününde lavaş peynir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (log₁₀ kob/g).

	TAMB sayısı	Koliform sayısı	<i>E.coli</i> sayısı
Çörekotlu	7.39	3.07	3.17
Kekikli	7.59	3.98	3.96
Pul biberli	7.30	2.00	2.69
Reyhanlı	7.38	2.69	3.38
Kontrol Sade	7.07	2.47	2.84

Tartışma ve Sonuç

Aromatik bitkilerin biyosidal etkileri; organik asitler, aldehitler, fenolikler, flavonoidler, terpenoidler, kinonlar, tanenler, alkaloidler ve saponinler gibi bileşikler ile oksijen ikameli metabolitlerinden kaynaklıdır. Aromatik bitkilerde

bulunan bu bileşiklerin kimyasal farklılıkları biyosidal etkilerini değiştirmektedir (Göncü ve Akın, 2017). Bu bileşiklerde bulunan hidroksil gurupları, mikroorganizma hücre duvarının yapısını bozarak biyosidal etki göstermektedir (Gyawali ve İbrahim, 2014). Peynir üretiminde aromatik bitkiler; biyosidal etkileri, kitlesel kusurları önlemesi, aroma, renk ve tat vermesi ile ürünün raf ömrünü uzatması gibi nedenlerle yaygın olarak kullanılmaktadır (Shan ve ark., 2007). Ülkemizde peynir üretiminde yaygın kullanılan bazı aromatik bitkiler; kekik, fesleğen, çörek otu, pul biber, karabiber, reyhan ve bayır turbu olarak sayılabilir. Dağdelen (2010)'in yapmış olduğu bir araştırmada, peynirde kullanılan aromatik bitkilerin peynir üretiminde laktik asit bakterilerine biyosidal etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Ayar ve Akyüz (2003) olgunlaşma süresince beyaz peynirin lipolizi üzerine yapmış oldukları bir araştırmada ise kekik ve nane ekstraktlarının maya-küf oluşumunu bir miktar önlediğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan Smith ve ark. (2001)'nin yapmış olduğu başka bir araştırmada; sarımsak, defne, kekik ve tarçın özütü ilavesi ile hazırlanan yumuşak peynirlerin *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis* suşları ile kontamine edildiğinde tam yağlı yumuşak peynirlerde kekik yağının *S. Enteritidis*'e karşı etkisiz olduğunu rapor etmişlerdir. Masatcioğlu (2004)'nun gerçekleştirdiği bir araştırmada tarçın, biber, yeni bahar, kekik, kimyon, karanfil, karabiber, nane, hindistan cevizi, salça ve tuz ilave edilerek üretilen farklı kombinasyonlardaki sürk peynirlerinin *S. aureus* ile kontamine edildiğinde kullanılan aromatik bitkilerin biyosidal etkilerinin olmadığını ve *S. aureus* sayısının olgunlaşma periyodu ile azaldığını rapor etmiştir. Araştırmacının bulguları, yapılan bu araştırmada elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. Hassanien ve ark. (2013)'nin çörek otu ilavesi ile hazırlanan domiati peynirleriyle yapmış oldukları araştırmada toplam aerob mezofilik mikroorganizma sayısında belirgin bir değişimin olmadığını, *E. coli* ve *S. aureus* sayılarında ise azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Akarca (2013)'nin yapmış olduğu araştırmada ise mozarella peynir üretiminde farklı kombinasyonlarda ilave edilen aromatik bitkilerin koliform grubu mikroorganizmalara ve Stafilokoklara etkisinin olduğu, fakat proteolitik mikroorganizma sayısında ise artış gözlemlendiği rapor edilmiştir. Paksoy (2016) tarafından yapılan bir araştırma ultrafiltre beyaz peynirlere ağırlıkça %0.5 oranında fesleğen, dereotu, kekik, sarımsak tozu, çörek otu ve frenk soğanı ilave edilmiş, toplam aerob mezofilik mikroorganizmalar üzerine en etkin aromatik bitkinin çörek otu olduğu, kekik ve sarımsak

tozunun da maya-küf üzerine etkili olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, sade ve aromatik bitki ilave edilerek üretilen lavaş peyniri örnekleri arasında mikroorganizma yükü açısından herhangi bir farklılık belirlenememiş olup kullanılan aromatik bitkilerin lavaş peyniri örneklerindeki mikroorganizmalar üzerine biyosidal etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır. Örneklerin yalnızca üretimin 2. ve 16. günlerde yapılması ve lavaş peynirinin telemesi haşlanarak yapılan bir peynir olması, çalışmada kullanılan aromatik bitkilerin biyosidal etki göstermemelerine sebep olabilir. Bu sebeple farklı peynir çeşitlerinde aromatik bitkilerin özellikle patojen mikroorganizmalar üzerine biyosidal ve antioksidan etkileri araştırılmalıdır.

Bilgilendirme

Bu araştırma 25-29 Mart Antalya'da düzenlenen IV. Uluslararası Biyosidal Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- Akarca G, 2013: Kılıflanmış sade ve baharatlı mozzarella peynirinin olgunlaşma süresinde değişimlerin incelenmesi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Aktuğ ŞE, Karapınar M, 1988: Sensitivity of some common food poisoning bacteria to thyme, mint and bay leaves. *Int J Food Microbiol*, 3, 349-354.
- Altun İ, Köse Ş, 2014: Kahramanmaraş-Elbistan bölgesinde üretilen Kelle peynirinin kimyasal ve biyokimyasal özellikleri. In: 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Adana, s. 270.
- Amrita V, Sonal D, Shalini, R, 2009: Antibacterial effect of herbs and spices extract on *Escherichia coli*. *Electronic Journal of Biology*, 5, 40-44.
- Anonim, 2017: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?jsessionid=7Hr2hXgK8cVVZ9gLLjnMSsGG9WTgL4HpQ1PhxpHMwQ2yp2lyTTfG!650214861?id=24687>, Erişim tarihi; 07.05.2018.
- Ayar A, Akyüz N, 2003: Olgunlaşma esnasında beyaz peynirin lipolizi üzerine ilave edilen bazı baharat ekstraktlarının etkisi. *Gıda*, 28, 295-303.
- Beuchat LR, Golden DA, 1989: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol*, 43, 134-142.
- Dağdelen Ş, 2010: Otlu peynire katılan önemli ot türlerinin antimikrobiyal, antioksidan etkileri, aroma profili ve bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Doğan HB, Çakır İ, Keven F, Coşansu S, Kırıl N, Dağcı T, Gürsu G, Halkman AK, 2001: Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *E. coli* varlığı. *Gıda*, 26, 83-90.
- El-Fataty HM, 1975: Isolation and structure assignment of an antimicrobial principle from the volatile oil of *Nigella sativa* L. seeds. *Pharmazie*, 30, 109-111.
- Göncü B, Akın MS, 2017: Baharat çeşitlerinin peynirde kullanımı. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 2, 44-53.
- Gyawali R, Ibrahim SA, 2014: Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429.
- Hassanien MFR, Mahgoub SA, El-Zahar KM, 2014: Soft cheese supplemented with black cumin oil: Impact on food borne pathogens and quality during storage. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21, 280-288.
- Hayaloğlu AA, 2008: Türkiye'nin peynirleri-genel bir perspektif. In: Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, s. 729-732.
- Kamber U, 2015: Traditional Turkey cheeses and their classification. *Van Veterinary Journal*, 26, 161-171.
- Masatcıoğlu MT, 2004: Sürk peyniri üretiminde kullanılan çeşni maddelerinin depolama koşullarının ve süresinin *Staphylococcus aureus*'un canlılığı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Paksoy G, 2016: Bazı baharatların ultrafiltre beyaz peynir kalitesi üzerine etkileri Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Tekirdağ.
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H, 2007: The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int J Food Microbiol*, 117, 112-119.
- Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L, 2001: The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18, 463-470.
- Tarakçı Z, Durmaz H, Sağun E, Aygün O, 2004: Hatay sıkma peynirinin kimyasal özellikleri ile proteoliz ve lipoliz düzeylerinin araştırılması. *Vet Bil Derg*, 20, 53-59.
- Tavacı MÇ, 1997: Çeşitli baharatların ilavesi ile yapılan vakum paketlenmiş kaşar peynirleri üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

*Yazışma Adresi: Hisamettin DURMAZ,
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Eyyübiye Kampüsü/Şanlıurfa.
e-mail: hisamettindurmaz@yahoo.com

Fine-Needle Aspiration Cytology of Malignant Fibrous Histiocytoma (Giant Cell Type) in an Angora Cat

Nihat YUMUSAK^{1*}, Murat CALISKAN², Osman KUTSAL³

¹Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Sanliurfa, Turkey.

²Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Ankara, Turkey.

³Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi: 01.12.2017

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Abstract: This case study presents the radiological, cytopathological and histopathological description of the giant cell type of a malignant fibrous histiocytoma on the back of a 9-year-old female Angora cat. Latero-lateral and ventro-dorsal thoracic radiographs was taken to evaluate invasion. Radiologically the mass was invasive but had not invaded the bone. Under general anaesthesia, cytopathological samples were taken from the tumour, using the Fine-Needle Aspiration Cytology (FNAC) technique, and were later stained with May-Grünwald Giemsa solution. The surgically extracted biopsy sample was subjected to routine tissue processing and stained with Haematoxylin-Eosin (HE). The biopsy material was 8x6x6 cm and 95 g, was covered by skin, multilobular appearance and hard consistency. Cross-sections was greyish white and necrotic appearance. Cytopathological examination revealed the presence of numerous histiocyte- or fibrocyte-like cells of anaplastic character and pleomorphic shape, which were associated with giant cells with multiple nuclei and a broad and vacuolar cytoplasm. Histological examination demonstrated the presence of histiocyte-like atypical cells arranged in the form of swirls and extending in various directions, or numerous giant cells with 8 to 12 nuclei and a broad cytoplasm situated in between connective tissue cells.

Keywords: Cat, Cytology, Radiology, Histopathology, Malignant fibrous histiocytoma.

Bir Ankara Kedisi'nde Malign Fibröz Histiositomun (Dev Hücreli Tip) İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi

Özet: Bu olguda, 9 yaşlı, Ankara ırkı, dişi bir kedinin sırtında radyolojik, sitopatolojik ve histopatolojik olarak dev hücreli malign fibröz histiositoma olgusu tanımlandı. Latero-lateral ve ventro-dorsal olarak tümöral kitlenin invazyonu radyolojik olarak belirlendi. Radyolojik incelemede kitle invaziv görüntüde olup kemiğe bağlantısı yoktu. Genel anestezi altında tümöral bölgeden İnce İğne Aspirasyon Sitolojisi (İİAS) tekniğine göre sitopatolojik örnekler alınarak May-Grünwald Giemsa yöntemine göre boyandı. Cerrahi operasyonla uzaklaştırılan biyopsi örneği ise rutin doku takibine alınarak hematoksilen eosin (HE) ile boyandı. Biyopsi materyali 8x6x6 cm ve 95 gr ağırlığında, deriyle kaplı, multilobuler yapıda ve sert kıvamlıydı. Kesit yüzü gri beyaz ve nekrotik manzaradaydı. Sitopatolojik incelemelerde anaplazik özelliklerde, pleomorfik şekilli histiosit benzeri yada fibrosit benzeri çok sayıda hücreyle beraber, geniş ve vakuoler sitoplazmalı, çok çekirdekli dev hücreleri dikkati çekti. Histolojik incelemelerde ise, çeşitli yönlere girdaplar şeklinde dizilim yapmış atipik özellikler gösteren histiosit benzeri veya bağ dokusu hücrelerinin aralarında, çok sayıda, geniş sitoplazmalı, 8-12 çekirdekli dev hücreleri fark edildi.

Anahtar Kelimeler: Kedi, Sitoloji, Radyoloji, Histopatoloji, Malign fibröz histiositom.

Introduction

While the giant cell type of malignant fibrous histiocytoma is frequently encountered in humans, it is uncommon in domestic animals. This tumour is generally observed in the dog, pig and horse and is localized to the skin, lungs, spleen, joints and deep connective tissue (Ford et al., 1975; Gleiser et al., 1979; Meuten, 2002). In cats, this tumour is also referred to as the malignant tumour of the soft tissues, and is categorized into four groups, including the fibrous, mixoid, inflammatory and giant cell types (Meuten, 2002). In this case study, giant cell type of a malignant fibrous histiocytoma in an Angora cat was investigated by the

radiologically, cytopathologically and histopathologically examinations.

Case History

A 9-year-old female Angora cat, with a swelling on the back measuring 8x6x6 cm in size, constituted the material of this case study. On radiological examination, a solid tumoral mass was detected in the interscapular region. Latero-lateral and ventro-dorsal thoracic radiographs was taken to evaluate tumoral invasion. For the purpose of early diagnosis, cytopathological samples were taken

from the animal using the FNAC technique, under general anaesthesia. Smears were prepared from these samples, and were air-dried and stained with May-Grünwald Giemsa solution. Subsequently, the biopsy samples obtained by surgery were fixed in 10% formaldehyde solution for pathological examination. The fixed tissues were dehydrated by passage through a graded series of alcohol and xylol, and blocked in paraffin. Five-micron-thick sections were cut from the paraffin blocks and stained with haematoxylin-eosin (H&E).

Radiological examination showed that radio opaque and radiolucent mass had infiltrated into the deeper layers, but had not invaded the bone tissue (Figure 1). Macroscopically, the biopsy material, which weighed 95 g and measured 8x6x6 cm, was covered by skin and had a lobular appearance and hard consistency. It was determined that the mass was not solid, but had a lobular appearance (Figures 2A, 2B). Cross-sections presented with a greyish white colour and a necrotic appearance with patches of haemorrhage. Furthermore, the cytopathological examination of the preparations revealed the presence of atypical, large and polymorphic histiocyte-like cells associated with many atypical spindle-shaped fibroblast-like cells. In these areas, many giant cells with a rather broad vacuolar cytoplasm and 8-12

nuclei were also observed (Figure 2C). Histopathologically, broad areas of loose stroma containing atypical histiocyte-like or connective tissue-like cells, which were arranged in the form of swirls and extended in various directions, were detected. These structures were associated with many giant cells characterized by a broad cytoplasm and 8-12 nuclei as well as with many atypical mitotic figures (Figure 2D). Broad areas of connective tissue and stroma were hyalinized and necrotic.

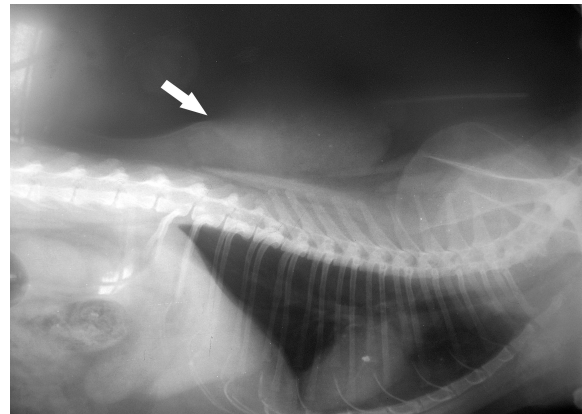


Figure 1. Radiological view of the mass on the back of the cat.

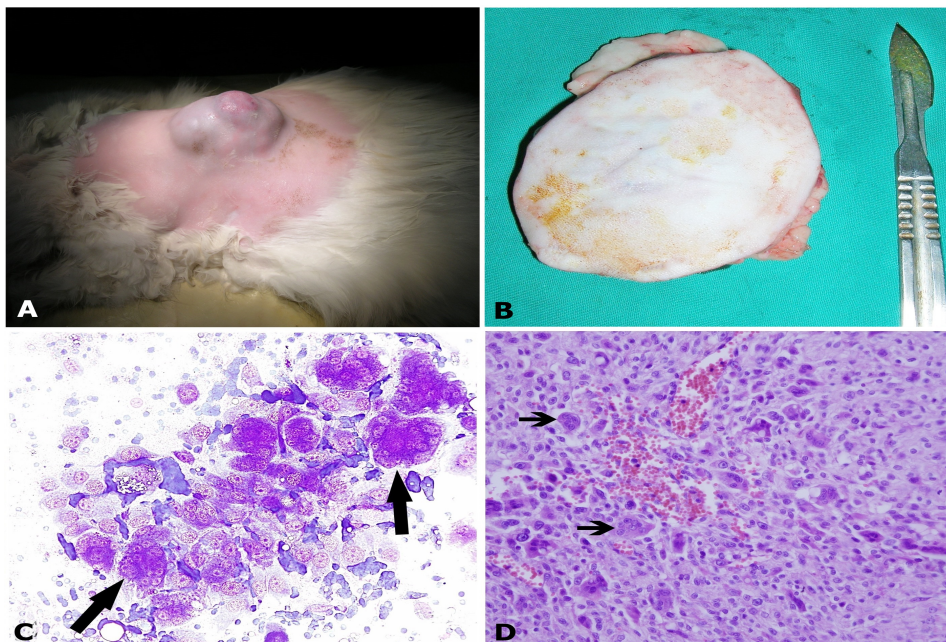


Figure 2. A) Macroscopic view of the swelling on the back of the cat. B) Postoperative view of the mass. C) Atypical histiocytic and multinuclear cells (arrows), X20 objective, MGG. D) Atypical histiocytic and multinuclear cells, spindle-shaped arrangement (arrows), X10 objective, H&E.

Discussion and Conclusion

Although the histogenic structure of malignant fibrous histiocytomas remains unclear, these tumours are considered to be of mesenchymal

origin (Goldschmidt and Shofer, 1992; Morris et al., 2002). In an immunohistochemical study, Aydın et al. (2003) reported the tumour cells to have reacted positively for anti-vimentin and anti-SMA antibodies. To differential diagnosis of this tumor from metastatic tumors, osteosarcoma and

fibrosarcoma are radiological and histological techniques (Bullough, 1997; Enneking, 1990). But there are no specific findings of radiology. In this case, radiologically radio opaque and radiolucent mass were seen and had infiltrated but not invaded the bone tissue. The cytopathological findings obtained pointed to features of a mesenchymal tumour. The malignant fibrous histiocytomas has a nodular, multinodular and firm macroscopic appearance. Cut surfaces of tumors has non specific appearance such as necrosis, not encapsulated and with pale white color (Datarkar and Hazare, 2009; Kiran et al., 2005; Turk, 2010). The macroscopic findings determined in this case study were found to be in parallel with those reported in previous case studies. However, as the location of the tumour was in a region where mostly vaccine site-associated sarcomas are located, a similarity to those tumours was detected. The tumor contains histiocyte like cells in varying proportions and numerous large multinucleated tumor giant cells. The neoplastic histiocytes were collagen production. Fibrosis may extensive and hyalinized. (Al-Agha and Igbokwe, 2008; Datarkar and Hazare, 2009; Gokce et al. 2008). Vaccine site-associated sarcomas mostly originate from fibrocytes and fibroblasts, and present with a limited number of giant cell formations (Goldschmidt and Shofer, 1992; Meuten, 2002). Histopathologically these tumors have five subtypes which storiform pleomorphic, myxoid, giant cell, inflammatory and angiomatoid (Pobirci et al. 2011). In this case giant cell type of malignant fibrous histiocytomas was diagnosed histopathological. Histopathologically it was observed that the tumour contained a large number of giant cells with 8-12 nuclei and that the tumour cells were histiocyte-like. Malignant fibrous histiocytomas generally have a superficial location, are in the form of small masses, and can be easily removed by surgery (Guccion and Enzinger, 1972; Hamir, 1989; Kiran et al., 2005). In contrast to available literature reports, the tumour in this case study was observed to have infiltrated into the deeper layers. Cytopathological diagnosis is not only rapid and inexpensive, but is also easily applicable and reliable when used for the early diagnosis of superficial lesions (Wellman, 1990). The comparison of the evaluation results of the cytopathological samples taken in the preoperative period for early diagnosis and the histopathological findings confirmed that the cytopathological and histopathological diagnoses were consistent.

In conclusion, cytopathological findings were found to be useful in the early diagnosis of

malignant fibrous histiocytoma. Furthermore, in view of the location of the tumour and the subject being an Angora cat indigenous to Turkey, this case study is considered to contribute to future studies on this subject and to the clinical approaches of veterinary practitioners.

References

- Aydın Y, Vural SA, Öznur N, 2003: Bir kedide dev hücreli malign fibröz histiyositom. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 50, 247-249.
- Bullough PG, 1997: Orthopaedic Pathology, 3rd edition, Time Mirror International Publishers Ltd., London.
- Datarkar A, Hazare VK, 2009: Malignant fibrous histiocytoma: a case report. *J Maxillofac Oral Surg*, 8, 196-198.
- Enneking WF, 1990: Clinical musculoskeletal pathology, 3rd revised edition, University of Florida Press/J. Hillis Miller Health Science Center, Gainesville, Florida, 1990.
- Ford GH, Empson RN, Plopper CG, Brown PH, 1975: Giant cell tumor of soft parts: A report of an equine and a feline case. *Vet Pathol*, 12, 428-433.
- Gleiser CA, Raulston GL, Jardine JH, Gray KN, 1979: Malignant fibrous histiocytoma in dogs and cats. *Vet Pathol*, 16, 199-208.
- Goldschmidt MH, Shofer FS, 1992: Skin Tumors of the Dog and Cat. Pergamon Press, Oxford, 175-178.
- Guccion, JG, Enzinger, FM, 1972: Malignant giant cell tumor of soft parts: an analysis of 32 cases. *Cancer*, 29, 1518-1528.
- Hamir AN, 1989: Equine giant cell tumor of soft tissues. *Cornell Vet*, 2, 173-177.
- Kiran MM, Karaman M, Hatipoglu F, Koc Y, 2005: Malignant fibrous histiocytoma in a dog: a case report. *Vet Med Czech*, 50, 553-557.
- Meuten DJ, 2002: Tumors in Domestic Animals. 233-237. In: DJ Meuten (ed), 4th ed. Iowa.
- Morris JS, Mcinnes EF, Bostock DE, Hoather TM, Dobson JM, 2002: Immunohistochemical and histopathologic features of 14 malignant fibrous histiocytomas from Flat-Coated Retrievers. *Vet Path*, 39, 473-479.
- Pobirci DD, Bogdan FL, Pobirci OANA, Petcu CA, Rosca ELENA, 2011: Study of malignant fibrous histiocytoma: clinical, statistic and histopatological interrelation. *Rom J Morphol Embryol*, 52, 385-388.
- Turk NS, Kelten C, Ozdemir NO, Duzcan E, 2010: Primary malignant fibrous histiocytoma of the kidney: Report of a case. *Turk J Urol*, 26, 165-167.
- Wellman ML, 1990: The cytologic diagnosis of neoplasia. *Vet Clin North Am Small Anim Prac*, 20, 919-937.

***Corresponding Author:** Nihat Yumusak

Harran University, Faculty of Veterinary Medicine
Department of Pathology, 63000, Sanliurfa-Turkey
e-mail: nihatyumusak@harran.edu.tr

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ YAYIN KURALLARI *

1- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (Harran Üniv Vet Fak Derg), Veteriner Hekimliği bilim alanı ile ilgili olmak üzere insan ve hayvan sağlığını kapsayan Türkçe ve İngilizce olarak hazırlanmış orijinal klinik ve deneysel araştırmalar, olgu sunumları, derlemeler, kısa bilimsel makale ve editöre mektuplar yayınlayan hakemli bir dergidir. Dergi 6 ayda bir, yılda 2 sayı olarak yayınlanır. Yayınlanan makalelerden ücret alınmamaktadır.

2- Dergiye kabul edilen yayınlar başka bir yerde yayınlanmamış olmalıdır. Yayınlanan makalelerden doğacak her türlü hukuki ve cezai sorumluluk yazarlara aittir. Yazarlara yayın hakkı bedeli ödenmez. Gönderilen makaleler yayınlansın veya yayınlanmasın geri iade edilmez.

3- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, etik ilkelere saygı çerçevesinde, TÜBİTAK ULAKBİM tarafından Türkiye'de tüm üniversitelerin kullanımına açmış olduğu "ithenticate" intihal tespit programı aracılığıyla gönderilen tüm makale, olgu sunumu ve derlemelerin ön değerlendirmesini yapmaktadır. Bu ön değerlendirme sonuçlarına göre, makale, olgu sunumu veya derlemelerin başka kaynaklarla benzerlik oranının %23'ü (özet, abstract ve kaynaklar hariç) aşmaması gerekmektedir. "ithenticate" programı aracılığı ile yapılacak ön değerlendirmede benzerlik oranının %23 değerini aşması durumunda yayımlanmak üzere Dergimize gönderilen makale, olgu sunumu veya derlemeler değerlendirilmeye alınmayacaktır.

4- Dergiye sunulan çalışmaların etik kurallara uygun olarak yapılması sorumluluğu yazarlara aittir. Bununla beraber editör, gerektiğinde yazarlardan etik kurul belgesi isteme hakkını saklı tutar.

5- Makale yayına kabul edildiği takdirde her türlü yayın hakkının devredildiğine dair beyanları kapsayan Telif Hakkı Devir Sözleşmesinin tüm yazarlar tarafından imzalanarak basımdan önce elektronik olarak dergi editörlüğüne gönderilmesi gerekmektedir. Telif Hakkı Devir Sözleşmesi gönderilmeyen makaleler yayımlamaya kabul edilmiş olsalar bile basılmazlar.

6- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderilecek makale, olgu sunumu, derleme vb. çalışmalar Dergipark üzerinden <http://dergipark.gov.tr/huvfd> linki kullanılarak değerlendirme sürecine alınmaktadır.

YAZIM KURALLARI

Yazılar, MS Word formatında, Times New Roman yazı tipinde, 12 punto, çift satır aralıklı ve her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak hazırlanmalıdır. Bu şekildeki yazılar, şekil ve tablolar dâhil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalar ve derlemelerde 15, kısa bilimsel makale ve olgu sunumlarında 5 sayfayı geçmemelidir.

Birimler ve ölçüler için Uluslararası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır.

Araştırma Makaleleri: Orijinal araştırma makaleleri aşağıdaki ana konu sıralamasına göre dizilmelidir: Başlık, Yazar adları (Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli), Yazar adresleri, Özet ve Anahtar kelimeler (3 - 6 kelime), İngilizce başlık, Abstract ve Keywords ile Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür veya Bilgilendirme ile Kaynaklar. Her bir Tablo ve Şekil ayrı sayfalarda yer almalıdır.

YAZIM DÜZENİ

Özet: Orijinal araştırma makalelerinde 250, diğer makale türlerinde 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde hazırlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: En fazla 6 tane olmak üzere her iki dildeki özetin altında verilmelidir. Anahtar kelimeler, Türkiye Bilim Terimleri arasından seçilmelidir. Anahtar kelimelerin seçiminde Türkiye Bilim Terimleri internet adresinden (<http://www.bilimterimleri.com>) yararlanılmalıdır.

Giriş: Sonuçların anlaşılabilirliği ve yorumlanabilirliği için o konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar hakkında bilgilere yer verilmelidir. Giriş'te çalışmanın hipotezi belirtilmelidir. Çalışmanın amacı bu bölümün en sonunda açık olarak yazılmalıdır.

Materyal ve Metot: Bu bölümde deneysel çalışmalar diğer araştırmacılar tarafından tekrarlanabilecek yeterlilikteki detayı ile verilmelidir. Uluslar arası indeksli dergilerde yayınlanmış bir makalede açıklanan bir teknik kullanıldığında, metodun çok kısa açıklanması ve ilgili orijinal makaleye atıf yapılması gereklidir. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne yayınlanmak amacıyla gönderilen bilimsel çalışmalarda "**etik kurul onayı**" zorunluluğu ve gerekliliği var ise, etik kurul onay/izin belgesinin "alındığı etik kurulun ismini, sayısını ve tarihini" içeren açıklayıcı bilgilerin materyal ve metot bölümünde açıkça belirtilmesi gerekmektedir.

Bulgular: Araştırma bulguları açık ve anlaşılabilir şekilde verilmelidir. Bulgular, gerektiğinde tablo ve şekillerle desteklenerek kısa olarak sunulmalıdır.

Tartışma ve Sonuç: Bulgular gereksiz ayrıntıya girmeden literatürler ışığında tartışılmalı ve bulguların önemi vurgulanmalıdır. Sonuç ya da öneri cümlesi ile bitirilmelidir.

Teşekkür: Çalışma veya makaleye kişisel katkı ve parasal destek burada belirtilmelidir.

Derleme: Derginin yayın alanlarındaki konularda yenilikleri içeren, güncel kaynaklardan yararlanılarak hazırlanmış makaleler olup, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde değerlendirmeye alınan ve yayınlanan derlemeler çağrılı derlemelerden oluşmaktadır. Derlemelerde; Özet, Giriş, Sonuç ve Kaynaklar bölümleri bulunmalıdır.

Olgu Sunumu: Yazarların, karşılaştıkları yeni veya ender gözlemlenen olguların ele alındığı, bilimsel değere sahip bilgileri içeren eserlerdir. En fazla 15 kaynak kullanılmalı ve bu kaynakların güncel olmasına özen gösterilmelidir. Olgu sunumları; Özet, Giriş, Olgu tanımı, Tartışma ve Sonuç ile Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır.

Kısa Bilimsel Makale: Kısa bilimsel makalelerde dar kapsamlı olarak ele alınmış, yeni bilgi ve bulgular sunulmalıdır. Araştırma makalesi formatında hazırlanmalı ve en fazla 5 sayfa olmalıdır. En fazla 2 tablo veya şekil içermelidir.

Kaynaklar

Metin içinde atıf yapılırken yazar veya yazarların soyadından sonra parantez içinde kaynağın yayın yılı belirtilmelidir [Örnekler: Adams (1998) tarafından; Wilkie ve Whittaker (1997) tarafından; Doyle ve ark. (2007) tarafından...]. Cümlelerin sonunda atıf yapıldığında ise yazar ismi ve yayın yılı parantez içinde belirtilmelidir. [Örnekler: ... bildirilmiştir (Adams, 1998); bildirilmiştir (Wilkie ve Whittaker, 1997); bildirilmiştir (Doyle ve ark., 2007)]. Birden çok kaynağa atıf yapılması durumunda önce alfabetik sonra kronolojik sıralama yapılmalıdır. [Örnekler: bildirilmiştir (Adams, 1998; Adams, 2008; Doyle ve ark., 2007; Wilkie ve Whittaker, 2006)]. Aynı yazarın aynı yıl yayınları söz konusu ise her biri "a" harfinden başlayarak küçük harflerle işaretlenmelidir. [Örnek: (Adams, 2005a; Adams, 2005b;...)].

Yazarı belli olmayan Web adresleri (Anonim, erişim yılı) şeklinde belirtilir.

Kaynak listesi aşağıdaki şekilde hazırlanmalıdır:

Makale; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Kitap; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Kitaptan bir bölüm: Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Web sayfası: Anonim, 2010: <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biyoteknoloji ve Gen Mühendisliği. <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2011.

Tez: Er A, 2009: Makrolid grubu antibiyotiklerin endotoksemide sitokin düzeylerine etkisi. Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Bilimsel toplantıda sunulan bildiri: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp. 27-28.

Tablo ve Şekiller: Her bir tablo ve şekil ayrı sayfalara yerleştirilmelidir. Kullanım sırasına göre numaralandırılmalı, kısa başlıklarla ifade edilmeli ve metin içinde tablo numarası verilerek atıfta bulunulmalıdır. Tablo başlıkları makalenin yazım dilinde tablonun üst bölümüne yazılmalıdır. Tabloda kullanılan kısaltmalar ve gerekli açıklamalar tablo altında verilmelidir. Şekil başlıkları makalenin yazım dilinde şeklin alt bölümüne yazılmalıdır. Elektronik posta ile gönderilecek olan eserlerde yer alan tüm resimler en az 600 dpi çözünürlükte, TIFF veya JPEG formatında kaydedilmiş olmalıdır.

* **Not:** Dergimize makale gönderimi yalnızca Dergipark üzerinden <http://dergipark.gov.tr/huvfd> linki kullanılarak yapılmaktadır.

INSTRUCTION for AUTHORS of JOURNAL of HARRAN UNIVERSITY FACULTY of VETERINARY MEDICINE*

1- The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Harran (Harran Univ (HRU) Vet Fak Derg) publishes original clinical and experimental research, case reports, reviews, preliminary report and Letters to Editor concerned with all aspects of veterinary sciences in Turkish and English.

The journal is published as 2 issues per year. There is no publication charge.

2- Papers are accepted for publication on the understanding that they have not been published and are not currently considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors. No copyright fee is paid to authors.

3- In frame of the respect to ethical principles, Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine makes preliminary evaluations of all articles and case reports for plagiarism by using the program "ithenticate" made available by TUBITAK ULAKBIM to all universities. Therefore similarity index of the articles, case reports or reviews should not exceed 23% (Turkish abstract, abstract and references are excluded). When the similarity index detected via "ithenticate" program exceeds 23%, the articles case reports or reviews sent to our journal for publishing will not be further evaluated and returned to the author.

4- Ethical responsibility of all research submitted to the journal for publication belongs to the author(s). However, the Editor reserves the right to ask author(s) for an approval letter given by local ethics committee.

5- If the paper is accepted for publication the Copyright Transfer Agreement Form should be signed by all co-authors and the scanned form should be sent to the Editor by e-mail before publication. The article will not be published until the Copyright Transfer Agreement Form is received.

6- Submission to Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine proceeds on-line through Dergipark by using the link <http://dergipark.gov.tr/huvfd>.

Preparation of Manuscript

Papers submitted for publication should be written using MS Word 2007 or upper version in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all margins. Original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages including tables, figures and graphs.

International Standard Unit (SI System) should be used for units and abbreviations.

Research Articles: Original research articles should be lined up as; Heading (Turkish), Authors names (corresponding author should be remarked with (*), authors addresses, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) (3-6 phrases), English heading, Abstract (English) and Keywords (English), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusions, Acknowledgement and References. If the paper is written in English; firstly English heading, author(s) name(s), author(s) address(es), Abstract (English) and Keywords (English); Turkish heading, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) should be lined up and the rest of the article should be in English. Tables and Figures should be printed on separate pages.

Writing order:

Abstract: Abstracts should not exceed 250 words in original articles and 200 words in other kind of articles.

Keywords: Keywords should be 6 at maximum and written at the bottom of the summaries in both languages. Keywords should be chosen from Turkish Scientific Terms. These terms can be obtained from internet address of Turkish Scientific Terms (<http://www.bilimterimleri.com>).

Introduction: This section should supply pertinent background information for understanding and interpretation of the results the hypothesis and the aim of the study should be clearly given at the end of this section.

Materials and Method: This section should describe the experimental procedures in sufficient detail to allow other scientists to repeat the experiment. Where techniques that have already been described in an indexed journal are used, this section may be concise and only provide relevant references. For studies requiring an approval of ethics committee, informations on the name of the ethics committee and the date and the number of the approval should be given in this section.

Results: The results section should provide data that are concisely explained, when required by including tables or figures.

Discussion: The results of the study should be discussed based on the literature and the importance of the findings should be stated. This section should be finished by concluding statements.

Acknowledgements: Any additional information concerning funding and personal contributions to the study or manuscript should be noted.

Reviews: Review articles aim to provide accessible, authoritative overviews in a field or topic. Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine considers only invited reviews for publication. Reviews must contain following sections; abstract, introduction which can include sub sections, conclusions and references.

Case reports: Author(s) must prefer rare and original cases include scientific point of view. Case reports should not exceed 5 pages (excluding title page), and should not use more than 15 references. Case reports should include "Abstract, Introduction, Case, Results and Discussion as well as References" sections.

Short Communication: Short Communications should concisely presents results of a limited investigation they should be prepared in the form of original articles and not exceed 5 journal pages including figures, tables and references. They should include at most 2 figures and tables.

References

All references in the text must be given by author's surname and year of publication enclosed in round brackets [Example: Adams (1998) reported that...; Wilkie and Whittaker (1997) reported that..., Doyle et al. (2007) reported that... or It has been reported that... (Adams (1998); It has been reported that..." (Wilkie and Whittaker (1997); It has been reported that... (Doyle et al., 2007)]. Citations should be arranged in alphabetical order and then chronologically. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998; Adams, 2008; Doyle et al., 2007; Wilkie and Whittaker, 2006)]. Publications by the same author(s) in the same year should be identified with a, b, c after the year of publication. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998a; Adams, 1998b) Web address should be referenced as anonym. For example Anonym 2010. Only official web pages should be used.

The list of references should be prepared as follows:

Article; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Book; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Section in a Book: Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York USA.

Web page: Anonym 2010. <http://www.emea.europa.eu/> Accession date; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biotechnology and Genetical Engineering. <http://www.emea.europa.eu/> Erişim tarihi; 01.04.2011.

Thesis: Er A, 2009: Effect of macrolide antibiotics on cytokine levels in endotoxemia. PhD thesis, SU Institute of Health Sciences, Konya.

Proceedings abstracts: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp.27-28.

Tables and Figures: Tables and Figures should be printed on separate pages. Each table and figure should have a brief and self explanatory title and should be consecutively numbered with Arabic numbers. The text should include references to all tables and figures. The title of each table should be written above the table. Abbreviations and explanations used in the table should be placed at the bottom of the table.

Photographs should be of high quality. If manuscript is submitted by electronic mail, images must be scanned in a resolution of at least 600 dpi and submitted in JPEG or TIFF format. Offprints of the journal will be in black and white.

*: Submission to Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine proceeds on-line through Dergipark by using the link <http://dergipark.gov.tr/huvfd>.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVİR FORMU

Harran Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğüne

Biz aşağıda adı, soyadı ve imzaları bulunan yazarlar, tarafımızdan yazılmış,

.....
.....

İsimli makalenin içeriği, sonuçları ve yorumları konusunda, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nin hiç bir sorumluluk taşımadığını kabul ederiz. Sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu, herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere gönderilmediğini, daha önce yayınlanmadığını beyan ederiz. Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz. Makalenin telif hakkı Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne devredilerek yayınlanması konusunda yetkili kılınmıştır.

Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır:

1. Telif Hakkı dışında kalan patent v.b. bütün tescil edilmiş haklar.
2. Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında; makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı.
3. Makaleyi ticari amaçlarla kullanmamak koşulu ile çoğaltma hakkı.

Yazarın Adı ve Soyadı

Tarih

İmza

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

İlk isim yazarın yazışma adresi:

.....
.....

Telefon: Fax: E-mail:@.....

(Formu doldurup tarayıcıda taradıktan sonra, harranvet@gmail.com adresine gönderiniz.)

COPYRIGHT TRANSFER FORM

We grant that Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine has no responsibility for the content, results and conclusions of the manuscript entitled,

.....
.....

We state that the submitted manuscript is original, has not been published or is not being considered for publishing elsewhere. We grant to disclaim the copyright and sign this form by undertaking all responsibility. Hereby Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine has been authorized for publishing by transferring the copyright of the manuscript.

However the following rights of the author(s) are reserved:

1. All other rights such as patent right
2. The rights for using the manuscript as a whole or a part in their future works such as books or lectures without paying any charge,
3. The rights for reproducing the manuscript for purposes other than commercial use.

Name and Surname of the Author

Date

Signature

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Address of the Corresponding Author:

.....
.....

Phone: Fax: E-mail:@.....

Send the form to e-mail address harranvet@gmail.com after filling it.

