



ISSN : 0377 - 6395  
e- ISSN : 2651 - 4214



# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of the Turkish Veterinary Medical Society

Cilt / Volume : 95

Sayı / Issue: 1

Yıl / Year: 2024

**95 (1)**

ISSN : 0377 - 6395  
e-ISSN : 2651 - 4214



# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

**Cilt / Volume : 95    Sayı / Issue: 1    Yıl / Year : 2024**



## Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of the Turkish Veterinary Medical Society

Cilt / Volume: 95 Sayı / Issue: 1 Yıl / Year: 2024

Altı ayda bir yayımlanır / Published bi-annually • Yayın Türü: Yerel Süreli Yayın

<http://dergipark.org.tr/vetheder>

ISSN : 0377 -6395 e-ISSN: 2651-4214

### Veteriner Hekimler Derneği Adına Sahibi

/ on the behalf of Turkish Veterinary Medical Society, owner:

**Dr. Gülay KABASAKAL ERTÜRK**

**Yazı İşleri Müdürü**

/ Managing Editor

**Assoc. Prof. Dr. Nuket BİLGİN**

Ziya Gökalp Caddesi No: 16/7 Kızılay, Ankara

#### Editörler Kurulu / Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Doğukan ÖZEN  
(Baş Editör / Editor-in-Chief)

Prof. Dr. M. Agah TEKİNDAL  
(İstatistik Editörü / Statistics Editor)

Assoc. Prof. Dr. M. Volkan YAPRAKÇI  
(Dil Editörü / English Language Editor)

Dr. Nigar YERLİKAYA  
(Etik Editörü / Ethics Editor)

Assoc. Prof. Dr. Sena ARDIÇLI  
Assoc. Prof. Dr. Ahmet CEYLAN  
Assoc. Prof. Dr. M. Bahadır ÇEVİRİMLİ  
Assoc. Prof. Dr. Koray TEKİN  
Assoc. Prof. Dr. Caner BAKICI  
Dr. Zekeriya Safa İNANÇ  
(Alan Editörleri / Section Editors)

#### Danışma Kurulu (Advisory Board)\*

Prof. Dr. Mustafa ARICAN, Selçuk University, Türkiye  
Prof. Dr. R. Tamay BAŞAĞAÇ GÜL, Ankara University, Türkiye  
Prof. Dr. Hasan BATMAZ, Uludağ University, Türkiye  
Prof. Dr. Sacit BİLGİLİ, Auburn University, USA  
Prof. Dr. Serdar DİKER, Aydın Adnan Menderes University, Türkiye  
Prof. Dr. Sandra GOERICKE - PESCH, Copenhagen University, Denmark  
Prof. Dr. Jia-Qiang HE, Virginia Polytechnic Institute, USA  
Prof. Dr. Almuth EINSPIANIER, Leipzig University, Germany  
Prof. Dr. Murat FINDIK, Samsun Ondokuz Mayıs University, Türkiye  
Prof. Dr. Ahmet GÜNER, Selçuk University, Türkiye  
Prof. Dr. Ana Maria Bravo Del MORAL, Compostela University, Spain  
Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ, Erciyes University, Türkiye  
Prof. Dr. Calogero STELLETTA, Padova University, Italy  
Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN, Kafkas University, Türkiye  
Prof. Dr. William W. THATCHER, Florida University, USA

\*İsimler soyadına göre alfabetik olarak sıralanmıştır / Names arranged alphabetically by last name

#### Hakemli Açık Erişimli Dergidir / Peer-Reviewed Open Access Journal

Bu dergi, EBSCOHost, CABI Full Text, CABI Abstracts, Citefactor, ULAKBİM-TR DİZİN, Türkiye Atıf Dizini tarafından indekslenmektedir.

(This journal is indexed by EBSCOHost, CABI Full Text, CABI Abstracts, Citefactor, ULAKBİM-TR DİZİN and Turkish Citation Index)

İletişim / Contact:

### VETERİNER HEKİMLER DERNEĞİ

Adres: Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara • Tel: +90 312 431 62 74 • Faks: +90 312 435 79 14

e-ileti: vetheder@gmail.com • web adresi: www.vethekimder.org.tr

Derneğin Kuruluş Tarihi: 6 Şubat 1930

Derginin İlk Yayın Tarihi: 1 Ekim 1930

Yayımlanma Tarihi / Publication Date: 15.01.2024

Published by Veteriner Hekimler Derneği

All published content is licensed under a Creative Commons CC-BY-NC 4.0 international license.  
Please visit the Journal's website for detailed information about ethical principles and publication policy



Veteriner Hekimler Derneği tarafından yayınlanmıştır  
Yayımlanan tüm içerik, Creative Commons CC-BY-NC 4.0 uluslararası lisansı altında lisanslanmıştır.  
Etik ilkeler ve yayın politikası hakkında detaylı bilgi için lütfen Dergi web sitesini ziyaret ediniz.





DOI 10.33188/vetheder.1353901

Araştırma Makalesi / Research Article

## Evaluation of the variations in spermatological parameters of Arabian stallions according to different periods of breeding season

**Kemal Tuna OLĞAÇ<sup>1,a\*</sup>, Mehmet Borga TIRPAN<sup>2,b</sup>**

<sup>1</sup> Department of Reproduction and Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, 06070, Ankara, Türkiye

<sup>a</sup> 0000-0001-9216-7059<sup>a</sup>; <sup>b</sup> 0000-0001-8782-1108<sup>b</sup>

### MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFORMATION:

#### Geliş / Received:

1 Eylül 23  
1 September 23

#### Revizyon/Revised:

19 Ekim 23  
19 October 23

#### Kabul / Accepted:

14 Kasım 23  
14 November 23

#### Anahtar Sözcükler:

Akış sitometri,  
Arap aygırı,  
Aşım sezonu,  
Bilgisayar yardımlı  
sperma analizi,  
Sperma kalitesi

#### Keywords:

Arabian stallion,  
Breeding season,  
Computer assisted  
sperm analysis,  
Flowcytometry,  
Semen quality

©2024 The Authors.  
Published by Veteriner  
Hekimler Derneği. This is  
an open access article  
under CC-BY-NC license.  
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)



### ABSTRACT

In this study, determining of the variations on spermatological characteristics of Arabian stallion semen in the different periods of the breeding season is aimed. The periods have been described as the beginning of the season (BS: 15th February – 15th March), mid-season (MS: 15th April – 15th May), and end of the season (ES: 30th May – 30th June). A total of 7 Arabian stallions that were 5-10 years old, with body condition scores between 3-3.5 and without any problems in terms of general and reproductive health, were enrolled in the study. In total, three semen samples were collected from each stallion, once in each period. Then, these samples were evaluated in terms of volume, concentration, total motility (TMOT), progressive motility (PMOT), viability, high mitochondrial membrane potential (HMMP), acrosome integrity (AI), capacitation index (Ci), and lipid peroxidation (LPO) parameters, which were analyzed by computer assisted sperm analysis and flowcytometry devices. As a result, the differences in volume, concentration, TMOT, and PMOT between the BS, MS, and ES periods were statistically insignificant ( $p>0.05$ ). The lowest viability values were determined in the BS period ( $p<0.001$ ). The highest values of the HMMP were obtained in the MS ( $p<0.05$ ). The AI results were higher in the ES period than the others ( $p<0.05$ ). While the Ci ( $p<0.01$ ) and LP ( $p<0.001$ ) parameters had the highest values in the BS period, a gradual decrease has been observed until the ES period. In conclusion, it has been observed that the best semen quality can be obtained in the period of MS (15 April – 15 May) for young (5-10) aged Arabian stallions breeding in Türkiye.

### Arap aygırlarında spermatolojik parametrelerin sezonun farklı dönemlerine göre değişimlerinin değerlendirilmesi

#### ÖZET

Bu çalışmada, Arap aygırlarında aşım sezonu içerisinde farklı dönemlerde spermatolojik parametrelerde gözlemlenen farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Aşım sezonu içerisindeki farklı dönemler sezon başı (SB: 15 Şubat – 15 Mart), sezon ortası (SO: 15 Nisan – 15 Mayıs) ve sezon sonu (SS: 30 Mayıs – 30 Haziran) olarak belirlenmiştir. Yaşları 5-10 arasında değişen, vücut kondisyon skorları 3-3,5 arasında olan, genel ve reproduktif sağlık durumları açısından herhangi bir problem olmayan toplam 7 Arap aygırına çalışmaya dahil edildi. Her bir aygırdan, her bir dönemde bir defa olmak üzere, toplam 3 sperma alma işlemi gerçekleştirildi. Alınan spermalar miktar, yoğunluk, toplam motilite (TMOT), progresif motilite (PMOT), canlılık, akrozom sağlamlığı (AI), yüksek mitokondriyal membran potansiyeli (HMMP), kapasitasyon indeksi (Ci) ve lipid peroksidasyon seviyesi (LPO) parametreleri açısından bilgisayar yardımlı sperma analizi ve akış sitometri yöntemleriyle analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre miktar, yoğunluk TMOT ve PMOT parametrelerinde periyotlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak benzer bulundu ( $p>0,05$ ). En düşük canlılık değeri SB periyodunda elde edildi ( $P<0,001$ ). En yüksek HMMP değeri SO periyodunda bulundu ( $p<0,05$ ). Akrozom sağlamlığı değeri SS periyodunda diğer periyotlara göre daha yüksekti ( $p<0,05$ ). Kapasitasyon indeksi ( $p<0,01$ ) ve LPO ( $p<0,001$ ) değerleri SB periyodunda en yüksek değerlere sahipken, SS periyoduna gidildikçe kademeli olarak düşüş gösterdi. Sonuç olarak, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan genç yaşlı (5-10) Arap aygırlarında en iyi sperma kalitesinin SO periyodunda (15 Nisan – 15 Mayıs) alınabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

**How to cite this article:** Olğaç TK, Tırpan B. Evaluation of the variations in spermatological parameters of Arabian stallions according to different periods of breeding season. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 1-9, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1353901

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [ktolgac@gmail.com](mailto:ktolgac@gmail.com)

## 1. Introduction

Horses are species that have the ability to restrict or increase their reproductive performance on particular days of the year in order to grow new generations in a healthy way (1). The cyclic patterns of reproductive activities in horses are mainly determined by day length (2). Seasonal dependence in horses occurs clearly in mares, while it is not certainly observed in stallions. On the other hand, decreases in testosterone concentration, gametogenesis, functions of reproductive organs, and semen quality are marked in the non-breeding season in stallions. Accordingly, there is a significant decrease in the fertility of stallions out of the breeding season (3, 4). However, some researchers have reported that stallions are fertile throughout the year, although there are small fluctuations in their sexual activities, especially in the region between 30° and 40° Northern latitudes, including Türkiye (1, 5, 6). There is still conflicting information on seasonal changes in the reproductive status of stallions (7).

It is reported that the reproductively active period of stallions is generally seen between January and October in the Northern Hemisphere (4, 8), and the period with the highest reproductive activity is indicated as the period between late spring and early summer (9). In light of this information, the period between February and June (15th February – 30th June) has been officially determined as the breeding season in horse breeding enterprises in the Northern Hemisphere. On the other hand, foals born in the same year must participate in the same age groups in the competitions. This situation forces breeders to ensure that their mares conceive as early as possible from the beginning of the season (1). However, it is obvious that different levels of reproductive activity would be encountered in stallions during the breeding season, which includes different seasons and day lengths. On the other hand, there is no study on the changes in spermatological parameters in Arabian stallions during different periods of the breeding season. In a study, it was concluded in the morphological and functional evaluations of semen belonging to different stallion breeds that the parameters measured in different periods during the breeding season had different values between January-March, March-May, and May-July, and the best values were obtained from the semen collected between March-May (1). In the case of Arabian horse stallions, such an evaluation has not yet been made. It is important to reveal the results of comprehensive spermatological examinations in different periods during the breeding season in Arabian horse stallions, which are the most bred breed in Türkiye.

In this study, it is aimed to reveal the variations in spermatological characteristics of Arabian stallion semen in the different periods of the breeding season, such as the beginning of the season (BS: 15th February – 15th March), mid-season (MS: 15th April – 15th May), and end of the season (ES: 30th May – 30th June). For this purpose, differences and similarities in semen volume, concentration, total motility (TMOT), progressive motility (PMOT), viability, high mitochondrial membrane potential (HMMP), acrosome integrity (AI), capacitation index (Ci), and lipid peroxidation (LP) parameters will be determined in Arabian stallions in the mentioned periods.

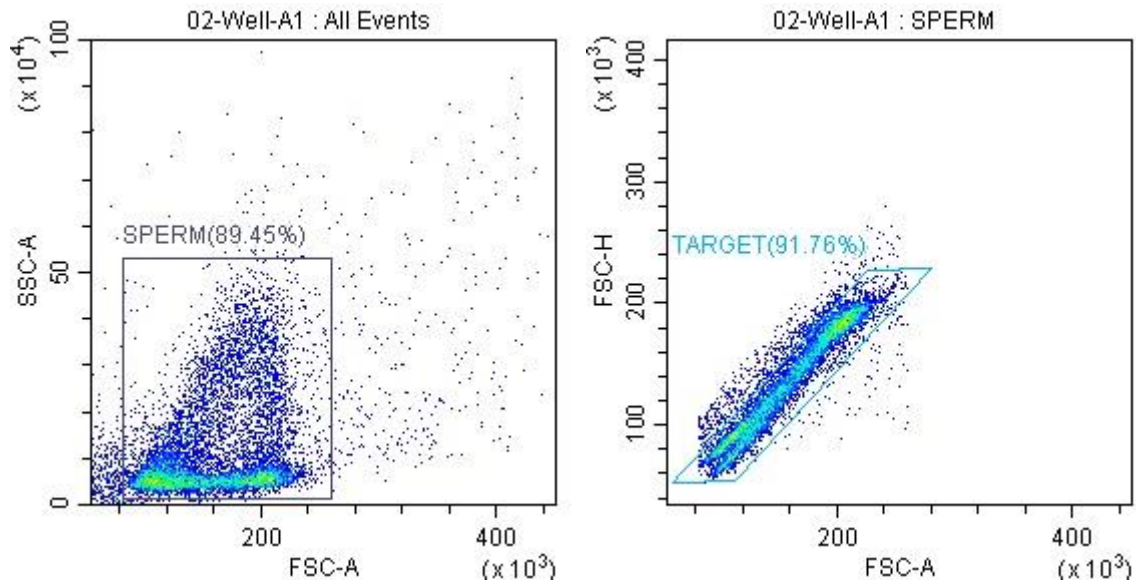
## 2. Material and Methods

In the study, a total of 7 Arabian stallions, between 5-10 years old, with body condition scores between 3-3.5, and without any problems in general and reproductive health conditions, were used. In total three semen samples were collected from each stallion, once at each period which were described as BS (15th February – 15th March), MS (15 April – 15 May), and ES (30 May – 30 June) via INRA model artificial vagina. Firstly, semen samples were evaluated in terms of volume (ml). Then, these samples were evaluated by a computer assisted semen analyzer (CASA, SCA, Microptic, Spain) in terms of concentration ( $\times 10^6/\text{ml}$ ), TMOT (%) and PMOT (%). Viability (%), HMMP (%), AI (%), Ci (%), and LP (%) parameters were analyzed by flowcytometry (Beckmann Coulter, USA).

Semen collections from the stallions were made in the presence of a mare in estrus to induce sexual and mounting activity. After the stallions mounted on the mare, semen was collected using an INRA model artificial vagina with an in-line gel filter. Gel-free semen samples were transferred to pre-warmed graduated tubes, and their volumes were determined and recorded. Then, 100  $\mu\text{l}$  of the fresh semen was diluted 1:10 (v:v) with the TRIS extender (2.44 g TRIS; 1.36 g Citric Acid; 0.82 g Glucose; 100 ml distilled water) before the CASA analysis to obtain a suitable

concentration for the analysis. After dilution, 5  $\mu\text{l}$  of the sample was placed on a slide and covered with a cover slide. At least seven randomly chosen microscopic fields were analyzed in each semen sample on a phase contrast microscope with a heating plate (Nikon ECLIPSE 50i) connected to the system, accompanied by a camera (Basler) at 100x magnification. In the analysis, concentration ( $\times 10^6/\text{ml}$ ), TMOT (%), and PMOT (%) parameters were evaluated.

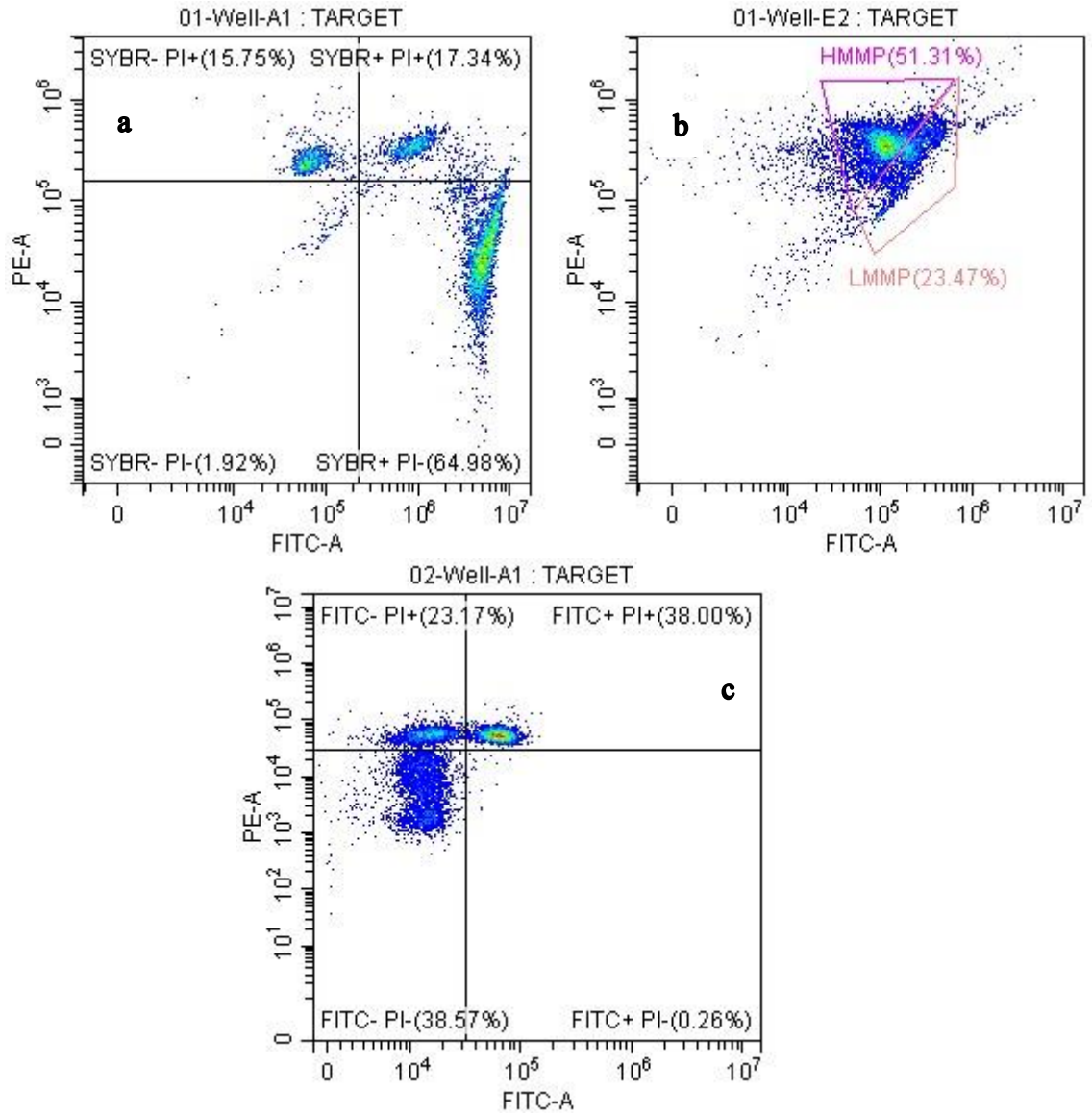
For flowcytometric analysis, a 5  $\mu\text{l}$  semen sample was diluted with Phosphate Buffer Solution (PBS) to have a concentration of 2.5 million spermatozoa/ml. An appropriate amount of sample was taken from the diluted semen for each analysis method, and the appropriate amount of fluorochrome dye was added according to the analysis procedure. Then, the prepared semen-dye mixtures were incubated at 38 °C for 30 minutes, and they were analyzed by a flowcytometry device (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) via CytExpert 2.2 software (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) connected to the system. At least 10,000 spermatozoa were counted, and a forward scatter area (FSC-A) versus side scatter area (SSC-A) density plot was used to exclude doublets (SPERM); doublet exclusion was further verified (TARGET) through a forward scatter area (FSC-A) versus forward scatter height (FSC-H) plot (Figure 1).



**Figure 1:** Exclusion of doublets by forward and side scatter areas of counted beams (left side, SPERM) and verification of exclusion of doublets from SPERM by area versus height of forward scattered beams (right side, TARGET)

**Şekil 1:** Sayılan partiküllerde ileri ve yan yüzey alanlarına göre çift sayımların çıkartılması (sol taraf, SPERM) ve SPERM içerisinde ileri yüzeylerin alan ve yüksekliklerine göre çıkarma işlemlerinin doğrulaması (sağ taraf, TARGET)

Viability was determined with the LIVE/DEAD Sperm Viability Kit (L7011, ThermoFisher). 246  $\mu\text{l}$  of diluted semen was taken and transferred to 96 microplate wells, and 2.5  $\mu\text{l}$  of SYBR-14 and 1.5  $\mu\text{l}$  of PI dye were added. Viable (SYBR+/PI-), moribund (SYBR+/PI+), dead (SYBR-/PI+), and non-stained (SYBR-/PI-) spermatozoa populations were determined in the histogram formed after the analysis (Figure 2a). In statistical analysis, only the percentage of viable (SYBR+/PI-) spermatozoa population was evaluated (10).



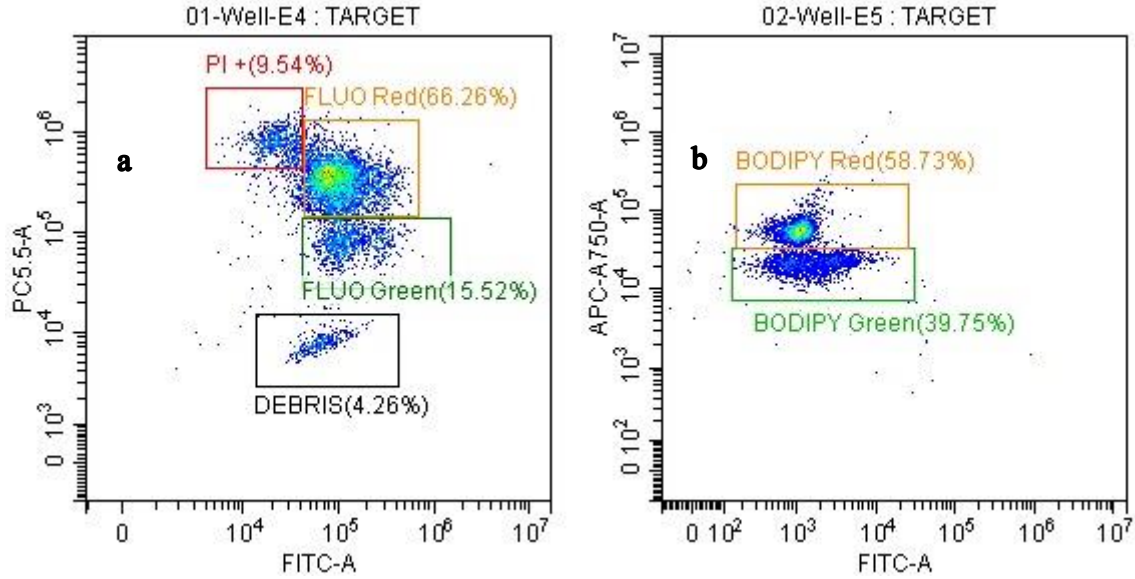
**Figure 2:** Determination of viability (a), HMMP (b) and AI (c) by gating on FITC vs. PE density plot chart.

**Şekil 2:** FITC ve PE düzlemlerinin yoğunluk grafiğine göre Canlılık (a), HMMP (b) ve AI (c) analizlerinde kapılama işlemleri.

Mitochondrial activity parameter was determined with the MitoProbe™ JC-1 Assay Kit (M34152, ThermoFisher). 247.5 µl of the diluted semen was transferred to the wells of 96 microplates, and 2.5 µl of JC-1 dye was added. In the histogram formed after the analysis, populations of spermatozoa with high mitochondrial activity (HMMP, orange fluoresce) and low mitochondrial activity (LMMP, green fluoresce) were determined (Figure 2b). The percentage of HMMP spermatozoa population was used in statistical analyses (7).

The AI parameter was determined by FITC-PNA/PI (V13242, ThermoFisher). 246 µl of diluted semen was transferred to the microplate wells, and 2.5 µl of FITC-PNA and 1.5 µl of PI dye were added. Viable and intact acrosome (FITC-/PI-), viable and acrosome damaged (FITC+/PI-), dead and acrosome intact (FITC-/PI+), and dead and acrosome-damaged (FITC+/PI+) spermatozoa populations were determined in the histogram formed after the analysis. (Figure 2c). In statistical analyses, only the percentage of viable spermatozoa with intact acrosomes (FITC-/PI-) were evaluated (7).

The Ci parameter was determined with Fluo-4 AM (F14201, ThermoFisher). 246 µl of diluted semen was transferred to the microplate wells and 2.5 µl of Fluo-4 AM and 1.5 µl of PI dye were added. In the histogram formed after the analysis, dead spermatozoa (PI+), viable non-capacitated spermatozoa (FLUO-Red), and viable capacitated spermatozoa (FLUO-Green) were determined (Figure 3a). In statistical analyses, only percentage of viable non-capacitated spermatozoa (FLUO-Red) were evaluated (7).



**Figure 3:** Determination of Ci (a) on FITC vs. PC5.5 and LP (b) on FITC vs. APC-A750 by gating on density plot chart.

**Şekil 3:** FITC ve P5.5 düzleminin yoğunluk grafiğine göre Ci (a) ve FITC ve APC-A750 düzleminin yoğunluk grafiğine göre LP (b) analizlerinde kapılama işlemleri.

The LP analysis was determined by BODIPY-C11 (D3861, ThermoFisher). 247.5 µl of diluted semen were transferred to the microplate wells, and 2.5 µl of BODIPY dye was added. In the histogram formed after the analysis, spermatozoa with a low lipid peroxidation level (BODIPY-Red) and spermatozoa with a high lipid peroxidation level (BODIPY-Green) were determined (Figure 3b). In statistical analyses, only percentage of spermatozoa with a low lipid peroxidation level (BODIPY-Red) were evaluated as % (7).

Before performing the statistical analysis, the data were examined with the Shapiro-Wilk test for normality and the Levene test for homogeneity of variances as parametric test assumptions. Descriptive statistics for each variable were calculated and presented as a table and figure. The Pearson correlation coefficient was used to determine the correlation between spermatological and flowcytometric variables. To test the differences in each parameter between sampling times of the season, General Linear Models with repeated measures design were used. When a significant difference was revealed, any significant terms were compared by Simple effect analysis with Bonferroni adjustment.  $P < 0.05$  was considered significant in all analyses. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics software Version 23.0.

### 3. Results

According to the results of the statistical analysis, the differences in the Volume, Concentration, TMOT, and PMOT between the BS, MS, and ES periods (Table 1) were statistically insignificant ( $p > 0.05$ ).



**Table 1:** Means of spermatological analysis of the stallion semen according to the BS, MS, and ES periods in the breeding season (Mean  $\pm$  SE).

**Tablo 1:** Aşım sezonu içinde SB, SO ve SS dönemlerine göre aygır spermalarının analiz sonuçlarının ortalamaları (Ort.  $\pm$  SH)

Parameters	Periods			Pooled SEM	P-value Samp. Time
	BS	MS	ES		
<b>Volume (ml)</b>	28.833	24.667	24.167	3.642	0.614
<b>Concentration</b> ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	404.021	236.018	273.172	68.586	0.205
<b>TMOT (%)</b>	70.000	70.750	72.083	3.695	0.922
<b>PMOT (%)</b>	32.417	31.000	28.500	3.499	0.727
<b>Viability (%)</b>	19.593 <sup>b</sup>	44.340 <sup>a</sup>	56.850 <sup>a</sup>	4.068	<0.001
<b>HMMP (%)</b>	42.992 <sup>b</sup>	57.072 <sup>a</sup>	47.202 <sup>ab</sup>	3.528	0.023
<b>AI (%)</b>	25.448 <sup>b</sup>	36.118 <sup>ab</sup>	42.236 <sup>a</sup>	4.338	0.031
<b>Ci (%)</b>	52.314 <sup>a</sup>	44.970 <sup>ab</sup>	40.913 <sup>b</sup>	2.457	0.008
<b>LP (%)</b>	56.647 <sup>a</sup>	45.130 <sup>b</sup>	37.863 <sup>b</sup>	2.718	<0.001

<sup>a,b</sup>: Differences between the means in the same line with different letters are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

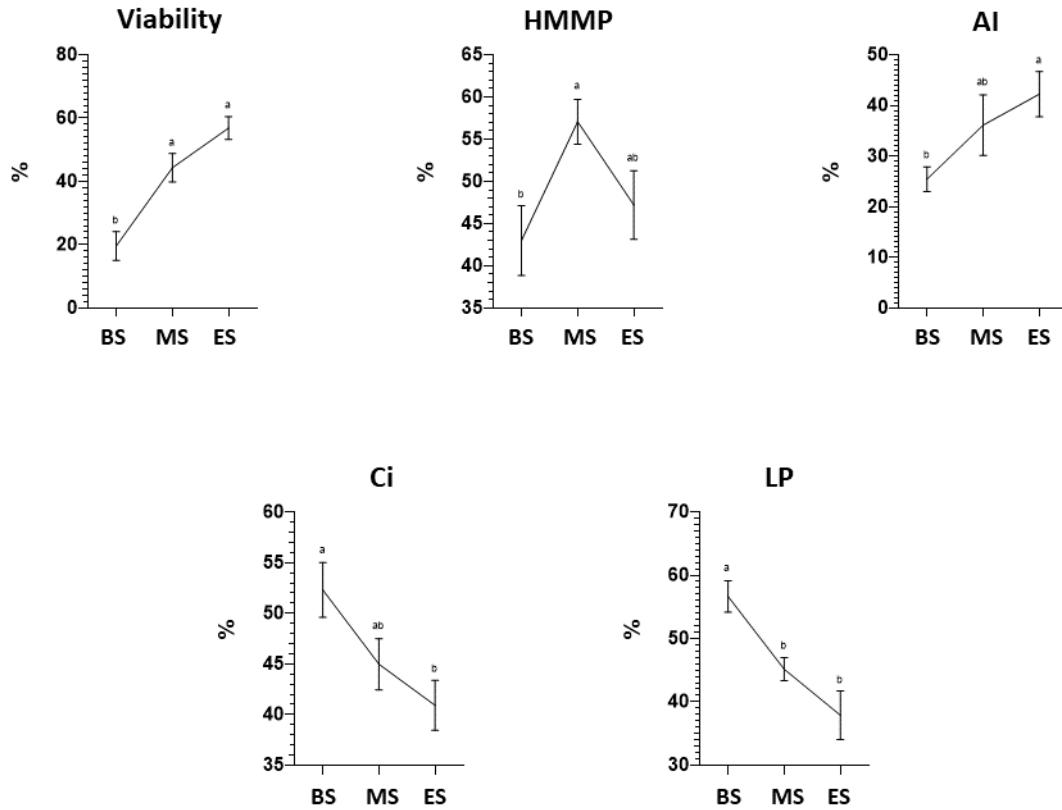
<sup>a,b</sup>: Aynı satırdaki farklı harflere ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).

In the flowcytometrical evaluations (Table 1; Figure 4), the viability values were determined to be higher in ES and MS than in BS ( $p < 0.001$ ), while the best viability results were obtained in the ES period. The highest values of the HMMP were obtained in MS ( $p < 0.05$ ). Although the ES values were determined to be numerically lower than MS, they were statistically insignificant. The lowest HMMP values were obtained from semen collected in BS. The results of the AI analysis were found to be lower in the BS period, and reached the highest values in the ES period ( $p < 0.05$ ), similar to Viability. Although the values of AI results in MS are numerically lower, they were not statistically significant according to ES values. While the Ci ( $p < 0.01$ ) and LP ( $p < 0.001$ ) parameters had the highest values in the BS period, unlike the results of other examinations, they showed a gradual decrease until the ES period. Although the MS values of the Ci parameter were lower than the BS, they were concluded to be statistically similar. The measured values of the LP analysis results in the BS period were statistically significant and higher than the other two periods.

#### 4. Discussion and Conclusion

Although it has been reported in many studies that there are differences in stallion semen in breeding and non-breeding seasons, conflicting results are still presented. On the other hand, although it is thought that there may be differences in semen quality in the official breeding season, which covers about six months and three seasons, few studies have been found on this subject (1). In the present study, the differences and similarities observed in the spermatological parameters of Arabian stallions in three different periods, such as BS (15th February – 15th March), MS (15th April – 15th May), and ES (30th May – 30th June), of the official breeding season (15th February – 30th June).

Volume, concentration TMOT and PMOT are considered the basic parameters of a spermatological examination. In particular, these parameters can be easily performed without the necessities of laboratory conditions, as well as the fact that TMOT ( $r=0.40$ ) and PMOT ( $r=0.46$ ) have a weakly positive correlation with fertility. These values form the basis of every spermatological examination, since volume and concentration are used in converting the parameters expressed as percentages into numerical values (11).



**Figure 4:** Differentiations in the measurements of flowcytometrical analyses of the stallion semen according to the BS, MS, and ES periods in the breeding season. a,b; Differences between the means in the same graphic with different letters are statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Figure 4:** Aşım sezonunda SB, SO ve SS periyotlarına göre aygır spermasının akış sitometri analizleri sonuçlarının değişimleri. a,b; Aynı grafikteki farklı harflere ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).

In a study, it was reported that the highest volume of semen and the lowest concentration were obtained from semen handled in the summer season (8). While the volume of semen increases, the concentration of spermatozoon decreases in these seasonal variations, causing the total number of spermatozoa in an ejaculate to remain the same. On the other hand, Gamboa et al., (1), concluded that the concentration values were statistically significant and higher in the January-March period compared to the March-May and May-July periods. In a different study on this subject, it was found that while volume and concentration parameters were not reported, the lowest total sperm count was obtained in the winter months (12). Otherwise, it was concluded that the motility values observed in fresh semen samples were at the lowest level in the winter months (4, 8), while they were similar in other seasons and reached the highest numerical values in the summer months. In a study that evaluated the semen collected in December, March, and June, it was mentioned that there was no statistical difference in terms of motility and progressive motility parameters in those months (13). Similar to the present study, Gamboa et al. (1) observed the highest progressive motility in the March-May period (39.24%) and the highest progressive motility in the May-July period (22.75 %). In the present study, unlike other studies, it was concluded that the volume, concentration, TMOT, and PMOT values of semen collected during the season at different periods in Arabian stallions were statistically insignificant. Numerically, the highest TMOT was observed in the ES period, while the highest volume, concentration, and PMOT values were obtained in the BS period. When these data were evaluated, it could be concluded that the findings obtained were mostly different. It can be thought that this situation may occur due to the geographical locations where the studies were conducted, the changes in daylight duration, and the strong differences between the seasons. In addition, the cyclic

pattern of reproductive activities of different breeds of stallions may differ according to the breed characteristics they belong to (12). In the study, it was revealed that the volume, concentration, TMOT, and PMOT parameters of Arabian stallions breeding in Türkiye did not change in a statistically significant way during the season and maintained similar values throughout the breeding season.

In addition to basic spermatological parameters, detailed examination methods that allow the functional characteristics of spermatozoa to be evaluated, thanks to the development of technology and ease of access, have begun to be integrated into the semen examination system. These methods, which were first used in spermatology as fluorescent dyes and subjective evaluation methods, can now be applied in an easy, fast, practical, and objective way with the development of flowcytometry technology. In the present study, the changes in Viability, AI, HMMP, Ci, and LP parameters in Arabian stallion semen during the breeding season were evaluated. Studies have reported that Viability values are higher in the spring than in the summer (8, 12). In addition, Crespo et al., (12) reported a decrease in sperm viability in winter, while Janet et al., (8), on the contrary, reported a decrease in summer. It was concluded that the viability of stallion semen evaluated in different periods during the breeding season was higher between January and May compared to the May-July period (1). On the other hand, the results obtained in the AI evaluation are quite conflicting. In the studies examining the acrosome integrity parameter, Janett et al. (8) obtained the highest AI value in the spring season, while Gamboa et al., (1) obtained the best AI examination result in the semen samples evaluated in the May-July period. On the other hand, Mislei et al. (7) stated that the highest AI and HMMP values were obtained in winter, while Ci and BODIPY values were obtained in summer. It was observed that the Viability and AI parameters were at their lowest levels in BS and increased towards ES in the present study. On the contrary, Ci and BODIPY values have been obtained highest in BS and lowest in ES. While HMMP values have been low in BS and ES, they have shown a significant increase in MS. When the presented study and other studies are evaluated, it could be observed that quite diverse and conflicting results have been obtained. Since similar functional examinations might be performed with many different methods, staining, and measurement procedures, it could be thought that different results can be obtained in this way. Furthermore, it can be seen that the seasons and periods in which the evaluations have been made were concluded different in all studies. In addition, many factors such as breeds, age, care-feeding conditions, past reproductive activity, and frequency of ejaculation during the season, might change semen quality and spermatological parameters. In the present study, the changes in the Viability, AI, HMMP, Ci, and LP parameters of Arabian stallions breeding in Türkiye in different periods within a breeding season were tried to be revealed.

It could be concluded from the results of the present study that basic spermatological parameters are insufficient in determining the quality of semen in stallions and that more detailed flowcytometric examinations should be evaluated. Moreover, when other studies are examined, it could be seen that the semen quality of stallions should be evaluated in terms of geographical location, care-feeding conditions, breed, and age. In conclusion, it has been observed that the best semen quality can be obtained in the period of MS (15 April – 15 May) for young (5-10) years old Arabian stallions breeding in Türkiye. In further studies, evaluations of different age groups, regions, management conditions, breeds, and especially fertility results will allow more precise and accurate results to be obtained.

### **Conflict of Interest**

The authors declared that there is no conflict of interest.

### **Funding**

This study was done with the project supported by The Scientific and Technological Research Council of Türkiye (TUBITAK) (Project number: 122O897), Türkiye.

## Authors' Contributions

Motivation / Concept: Kemal Tuna Olğaç

Design: Kemal Tuna Olğaç

Control/Supervision: Mehmet Borga Tırpan

Data Collection and / or Processing: Kemal Tuna Olğaç, Mehmet Borga Tırpan

Analysis and / or Interpretation: Kemal Tuna Olğaç, Mehmet Borga Tırpan

Literature Review: Kemal Tuna Olğaç

Writing the Article: Kemal Tuna Olğaç

Critical Review: Mehmet Borga Tırpan

## Ethical Approval

All procedures involving study animals in the experiment were approved by Ankara University Animal Experiments Local Ethics Committee (No:2022-20-178).

## References

1. Gamboa S, Rodrigues AS, Henriques L, Batista C, Ramalho-Santos J. Seasonal functional relevance of sperm characteristics in equine spermatozoa. *Theriogenology* 2010;73:950-958.
2. Chemineau P, Guillaume D, Migaud M, Thiéry JC, Pellicer-Rubio MT, Malpoux B. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reproduction in Domestic Animals* 2008;43:40-47.
3. Johnson L. Seasonal differences in equine spermatocytogenesis *Biology of Reproduction* 1991;44:284-291.
4. Hoffmann B, Landeck A. Testicular endocrine function, seasonality and semen quality of the stallion. *Animal Reproduction Science* 1999;57:89-98.
5. Clay CM, Squires EL, Amann RP, Nett TM. Influences of season and artificial photoperiod on stallions: luteinizing hormone follicle-stimulating hormone and testosterone. *Journal of Animal Science* 1988;66:1246-1255.
6. Morte MI, Rodrigues AM, Soares D, Rodrigues AS, Gamboa S, Ramalho-Santos J. The quantification of lipid and protein oxidation in stallion spermatozoa and seminal plasma: seasonal distinctions and correlations with DNA strand breaks, classical seminal parameters and stallion fertility. *Animal Reproduction Science* 2008;106:36-47.
7. Mislei B, Bucci D, Malama E, Bollwein H, Mari G. Seasonal changes in ROS concentrations and sperm quality in unfrozen and frozen-thawed stallion semen. *Theriogenology* 2020;144:89-97.
8. Janett F, Thun R, Niederer K, Burger D, Hässig M. Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. *Theriogenology* 2003;60:453-461.
9. Aurich C. Reprint of: Seasonal influences on cooled-shipped and frozen-thawed stallion semen. *Journal of Equine Veterinary Science* 2016;43:1-5.
10. Pruß D, Oldenhof H, Wolkers WF, Sieme H. Alginate encapsulation of stallion sperm for increasing storage stability. *Animal Reproduction Science* 2022;238:106945.
11. Jasko DJ. Evaluation of stallion semen. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 1992;8:129-148.
12. Crespo F, Wilson R, Díaz-Jimenez M, Consuegra C, Dorado J, Barrado BG, et al. Effect of season on individual stallion semen characteristics. *Animal Reproduction Science* 2020;223:106641.
13. Wrench N, Pinto CR, Klinefelter GR, Dix DJ, Flowers WL, Farin CE. Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen. *Animal Reproduction Science* 2010;119:219-227.



doi 10.33188/vetheder.1363187

Araştırma Makalesi / Research Article

## Primary bone tumors in dogs and cats: 98 cases

Arda Selin TUNC<sup>1,a</sup>, Kürşat FILIKCI<sup>2,b</sup>, Mehmet SAGLAM<sup>3,c</sup>, Osman KUTSAL<sup>1,d</sup>

<sup>1</sup>Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Şanlıurfa Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Şanlıurfa, Turkey.

<sup>3</sup>Aksaray University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Aksaray, Turkey.

ID 0000-0002-4813-7626<sup>a</sup>; 0000-0001-9710-948<sup>b</sup>; 0000-0001-8934-8529<sup>c</sup>; 0000-0003-3599-686<sup>d</sup>

### MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFORMATION:

#### Geliş / Received:

21 Eylül 23

21 September 23

#### Revizyon/Revised:

8 Kasım 23

8 November 23

#### Kabul / Accepted:

1 Aralık 23

1 December 23

#### Anahtar Sözcükler:

Kedi

Köpek

Primer Kemik Tümör

#### Keywords:

Cat

Dog

Primary Bone Tumor

©2024 The Authors.  
 Published by Veteriner  
 Hekimler Derneği. This is  
 an open access article  
 under CC-BY-NC license.  
 (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0)



### ABSTRACT

The aim of this study is to contribute to the current literature by determining the distribution of bone tumors in dogs and cats by breed, age, gender and location. Bone tumors are more common in dogs than cats, and the most common primary bone tumor in both species is osteosarcoma. The biopsy and necropsy reports of the Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, were retrospectively studied examining for cases of primary bone tumors in dogs and cats. This study's period encompassed from 2001 through 2020 (20 years). A total of 98 bone tumors were detected 70 in dogs and 28 in cats. Of the cases in dogs, 13 (18.57%) were necropsy, while 57 (81.43%) were biopsy. Sex distribution of bone tumors is in female dogs (n:28, 40%) and in male dogs (n:38, 54.29%). Also, females (n:17, 60.7%) and males (n:11, 39.3%) were observed in cats. In dogs, although 57.14% (n=40) were purebreds and 31.43% (n=22) were mongrel breeds, in cats, 75% of them were mongrel (n=21) and 7.1% (n=2) were purebred. While locations of tumors in dogs were appendicular (65.71%, n=46), axial (30%, n=21), locations of tumors in cats were appendicular (50%, n=14), axial (39.29%, n=11) and both appendicular and axial (10.71%, n:3). While 13 benign (18.57%) and 57 malignant (81.43%) tumors were observed in dogs, 4 benign (14.29%) and 24 malignant (85.71%) tumors were observed in cats. The data were analyzed in the SPSS program and no significant relationship was detected between the data (P>0.05). This study would contribute and conduce the comparative oncology for dogs and cats.

### Köpek ve kedilerde primer kemik tümörleri: 98 vaka

#### ÖZET

Bu çalışmanın amacı kedi ve köpeklerde kemik tümörlerinin ırk, yaş, cinsiyet ve lokasyona göre dağılımını belirleyerek güncel literatüre katkı sağlamaktır. Kemik tümörleri köpeklerde kedilere göre daha yaygındır ve her iki türde de en sık görülen primer kemik tümörü osteosarkomdur. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı biyopsi ve nekropsi raporları, köpek ve kedilerde primer kemik tümörü olguları retrospektif olarak incelendi. Bu çalışmanın dönemi 2001'den 2020'ye kadar (20 yıl) kapsamaktadır. Köpeklerde 70, kedilerde 28 olmak üzere toplam 98 kemik tümörü tespit edildi. Köpeklerde görülen vakaların 13'ü (%18,57) nekropsi, 57'si (%81,43) ise biyopsi idi. Kemik tümörlerinin cinsiyet dağılımı dişi köpeklerde (n:28, %40) ve erkek köpeklerde (n:38, %54,29) görülmektedir. Ayrıca kedilerde dişilerde (n:17, %60,7) ve erkeklerde (n:11, %39,3) gözlemlendi. Köpeklerin %57,14'ü (n=40) safkan, %31,43'ü (n=22) melez ırk olmasına rağmen, kedilerde %75'i (n=21) melez ve %7,1'i (n=2) safkandı. Köpeklerde tümörlerin yerleşim yerleri apendiküler (%65,71, n=46), aksiyal (%30, n=21) iken, kedilerde tümörlerin yerleşim yerleri apendiküler (%50, n=14), aksiyel (%39,29, n=11) ve hem apendiküler hem de aksiyaldi (%10,71, n:3). Köpeklerde 13 benign (%18,57) ve 57 malign (%81,43) tümör görülürken, kedilerde 4 benign (%14,29) ve 24 malign (%85,71) tümör görüldü. Veriler SPSS programında analiz edilmiş ve veriler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (P>0.05). Bu çalışma kedi ve köpeklerin karşılaştırmalı onkolojisine katkı sağlayacak ve yol gösterecektir.

**How to cite this article:** Tunç AS, Fılkıcı K, Sağlam M, Kutsal O. Primary bone tumors in dogs and cats: 98 cases. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 10-20, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1363187

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [scoskan@veterinary.ankara.edu.tr](mailto:scoskan@veterinary.ankara.edu.tr)

## 1. Introduction

Bone tumors include either the axial (vertebra, pelvis, ribs and skull) or appendicular (limbs like humerus, tibia etc.) skeleton. Bone tumors are classified as primary and secondary. Osteoma, osteochondroma, chondroma are primary benign tumors of bone, while osteosarcoma, giant cell tumor of bone, chondrosarcoma, fibrosarcoma are primary malignant tumors of bone (1,2).

Bone tumors are more common in dogs than cats, and the most common primary bone tumor in both species is osteosarcoma. Osteosarcoma is the most common primary bone tumor and is quite aggressive (3-5). In contrast to animals, primary bone tumors in humans are uncommon (6) and mostly benign, whereas secondary bone tumors, especially metastatic carcinomas, are malignant. Lungs and lymph nodes are the organs where bone tumors metastasize most frequently (1).

Large and giant dog breeds such as St. Bernard, Great Dane, Boxer, German shepherd dog and Irish setter are more susceptible to osteosarcomas. Age of tumor formation in dogs usually is between 6-9 years old. Some studies have shown that male dogs are more affected than female dogs (5,7). There is no significant difference in age, breed or gender in cats (8).

The aim of this study is to explain to pathological findings of bone tumors, their distribution and incidence and to contribute to the current literature by determining the distribution of primary bone tumors in dogs and cats by breed, age, gender and location in the period 2001 to 2020.

## 2. Material and Methods

The biopsy and necropsy reports of the Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, were retrospectively studied examining for cases of primary bone tumors in dogs and cats. This study's period encompassed from 2001 through 2020 (20 years). Data supplied from the reports contained the occurrence of metastasis in the necropsy cases, distributions of age, breed, gender, anatomical location of the tumors and histological components. A total of 98 bone tumors were detected 70 in dogs and 28 in cats. Of the cases in dogs, 13 (18.57%) were necropsy, while 57 (81.43%) were biopsy. Also, 6 of these 13 necropsy cases in dogs also had metastases (Table 1). Additionally, in this study, there was not about two different bone tumors in the same case.

**Table 1:** Information about dogs with metastasis detected.

**Tablo 1:** Metastazı tespit edilen köpekler hakkında bilgiler.

Number	Breed	Age	Gender	Localization	Diagnose	Site of metastasis
1.	Mongrel	7	Male	-	Chondroosteofibrosarcoma	Lung
2.	Labrador retriever	9	Male	Sinus	Osteosarcoma	Lung
3.	Mongrel	15	Female	Humerus	Osteosarcoma	Lung, kidney, and pancreas
4.	German shepherd	3	Female	Humerus	Fibrochondrosteosarcoma	Lung
5.	Mongrel	5	Male	Forelimb	Fibrosteoochondrosarcoma	Lung and scapular lymph node
6.	Labrador retriever	8	Male	Skull	Osteosarcoma	Lung

For pathological examinations, the tissue specimens were held in decalcification solutions. The samples were fixed in 10% buffered formalin solution (pH 7.2-7.4) and then processed routinely, embedded in paraffin, sectioned at 5  $\mu$ m, and stained with Hematoxylin Eosin and Masson's trichrome stains (9). All findings were evaluated and diagnosed under light microscopy (Leica DM 4000) and photographed (Leica DFC-280).

### Statistical analysis

Chi-square analysis was applied to the data in the SPSS (V26) program. The groups were compared with each other in pairs. For this purpose, subgroupings were made in some of the within-group data. For the breed distribution of cats and dogs, data were analyzed for each breed and the breeds were grouped as purebred/hybrid (Purebred Status). For age, classifications were preferred for cats (kitten, mature adult, senior, etc.) and dogs (Puppy, Juvenile, Mature Adult, etc.). For localization, tumors observed in cats and dogs were grouped as axial, appendicular and axial/appendicular and analyzed. For malignancy, tumors were grouped into benign and malignant in both cats and dogs. For gender, only male/female distinction was made. Within groups; "diagnosis" – "tumor characteristic" and "purity" – "Species" groups; Since "tumor characteristic" and "purity" are subgroups of the "species" group, they were not compared. In cases where any animal from the above had missing data, that animal was excluded from the relevant data analysis. According to the results obtained, the relationship was considered significant when  $P < 0.05$ .

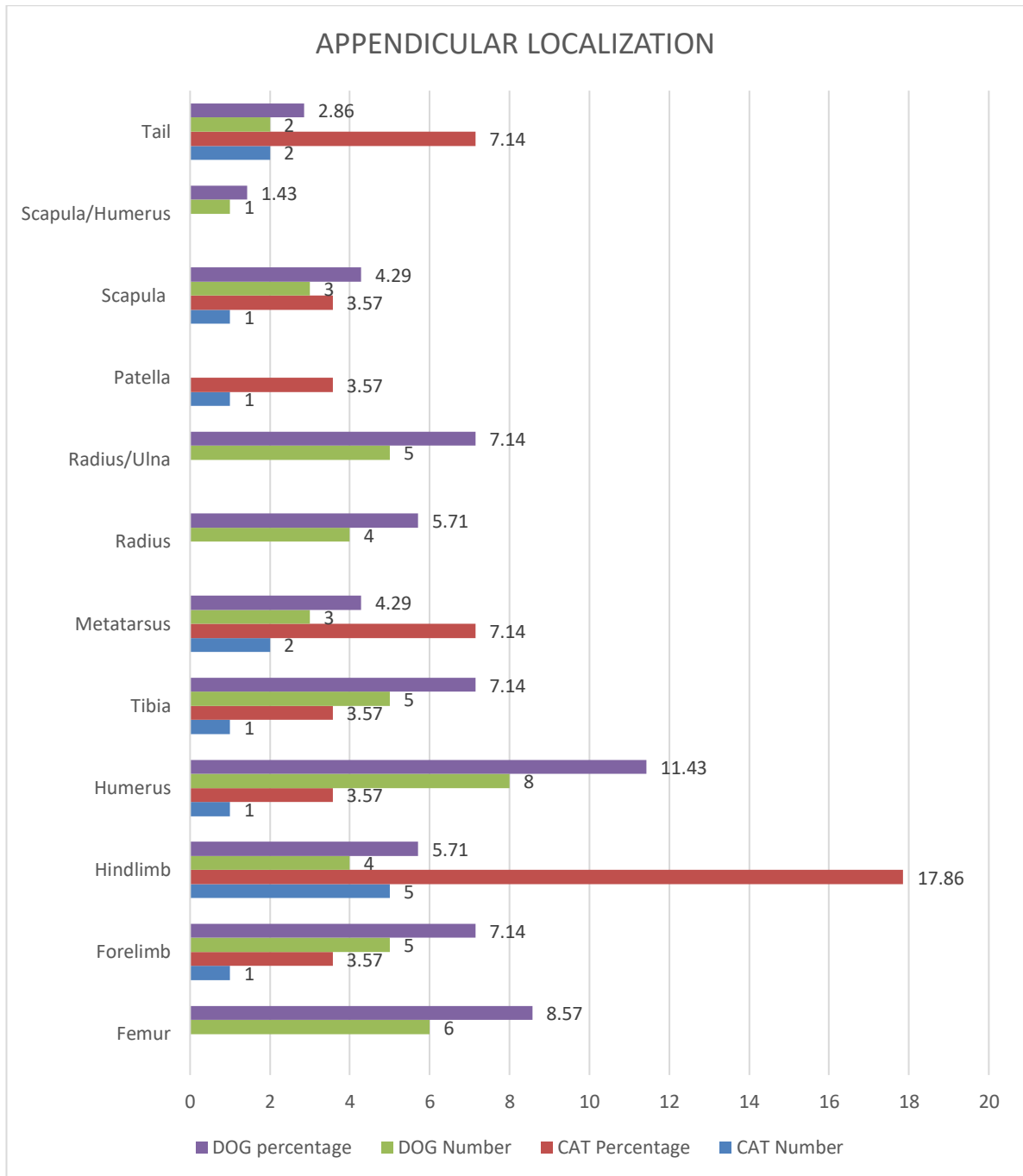
### 3. Results

Although the sex distribution of bone tumors is in female dogs (n:28, 40%) and in male dogs (n:38, 54.29%), there was no gender information on the dogs (n:4, 5.71%). Also, females (n:17, 60.7%) and males (n:11, 39.3%) were observed in cats.

Considering the breed distribution in dogs, although 57.14% (n=40) were purebreds and 31.43% (n=22) were mongrel breeds, 11.43% (n=8) could not find breed information in the records. Among the purebred breeds, the three breeds with the most tumors are Kangal (n=8, 11.43%), Terrier (n=7, 10%) and German Shephard (n=6, 8.57%), respectively. The least bone tumors were with breeds Turkish Mastiff, Siberian husky, Mastiff bulldog, Colie, Cocker, Boxer and Belgian Malinois (each one n=1, 1.43%), followed by Labrador Retriever (n:5, 7.14%), Rottweiler (n=3, 4.29%) and Golden Retriever (n=4, 5.71%) followed. Considering the breed distribution in cats, while 7.1% (n=2) were purebreds and 75% (n=21) were mongrel breeds, 5 animals (17.9%) in cats could not be found in the records. The purebred breeds were Bombay (n:1) and Ankara (n:1) breeds.

The dogs in the study were classified according to age by Harvey (10) and the cats by Quimby et al. (11). When the age distribution of animals in dogs was examined, the group with the most tumors was the Late Senior (10-11 years) group (27.14%, n=19), followed respectively by Early Senior (7-9 years) (25.71%, n=18), Mature Adult (2-6 years) (22.86%, n=16), Geriatric (12 years and older) (20%, n=14). In addition, 2 of the animals included in the study were Juvenile (6-12 months) (2.86%) and one of them was Puppy (0-5 months) (1.43%). In cats, when grouped according to age, it is seen that the group with the most tumors is Senior (10 years-older) (42.9%, n=12). This group was followed by Young Adult (1-6 years) (25%, n=7), Mature Adult (7-10 years) (21.4%, n=6) and most recently Kitten (0-up to 1 year) (3.6%, n:1). Age information of 7.1% (n=2) of the cats is not recorded.

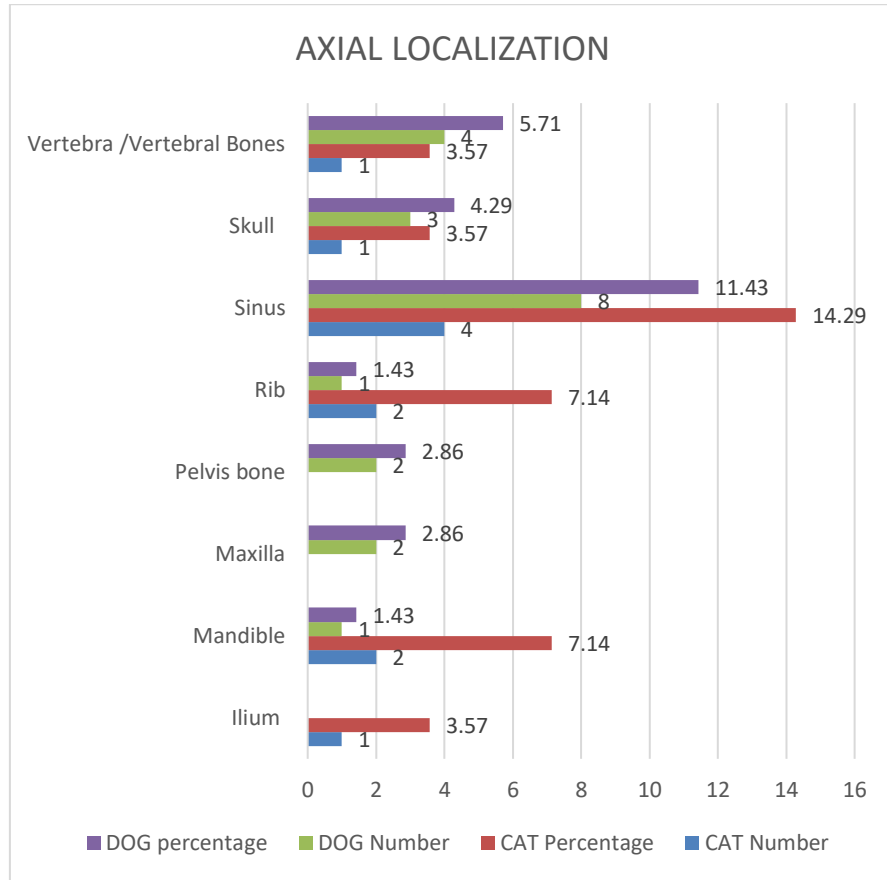
While locations of tumors in dogs were appendicular (65.71%, n=46), axial (30%, n=21), locations of tumors in cats were appendicular (50%, n=14), axial (39.29%, n=11) and both appendicular and axial (10.71%, n:3). There was no information of tumor location in dogs (4.29%, n:3). Commonly detected appendicular tumor locations in dogs were respectively humerus (17.39%, n=8), and femur (13.04%, n=6), whereas appendicular tumor locations in cats were hindlimb (35.7%, n=5), tail and metatarsus (14.29%, each one n=2) (Figure 1).



**Figure 1:** Appendicular localization of primary bone tumors noted in dogs and cats.  
*Şekil 1:* Köpek ve kedilerde görülen primer kemik tümörlerinin apendiküler lokalizasyonu.

Axial tumor localizations in dogs and cats were most commonly detected in the sinus, (38.1%, n=8), and (36.4%, n=4), respectively (Figure 2).

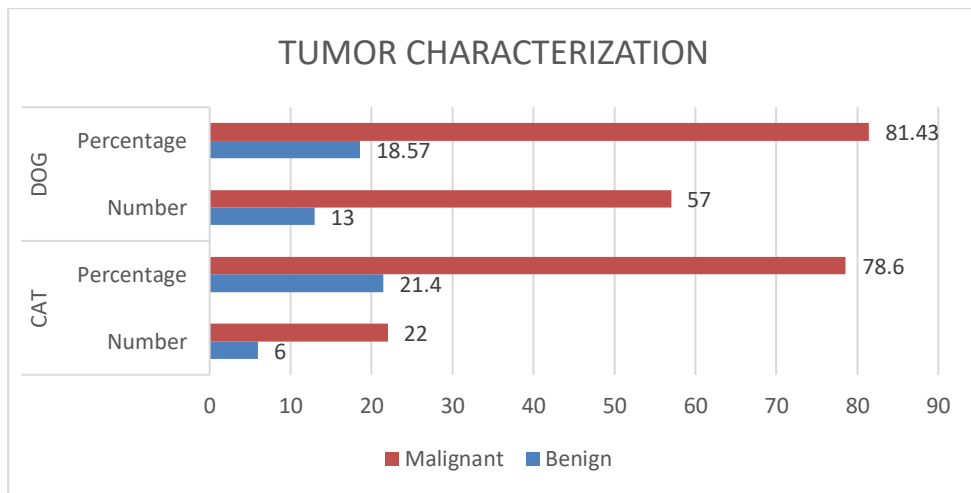




**Figure 2:** Axial localization of primary bone tumors noted in dogs and cats.

*Şekil 2:* Köpek ve kedilerde görülen primer kemik tümörlerinin aksiyal lokalizasyonu.

While 13 benign (18.57%) and 57 malignant (81.43%) tumors were observed in dogs, 4 benign (14.29%) and 24 malignant (85.71%) tumors were observed in cats (Figure 3).

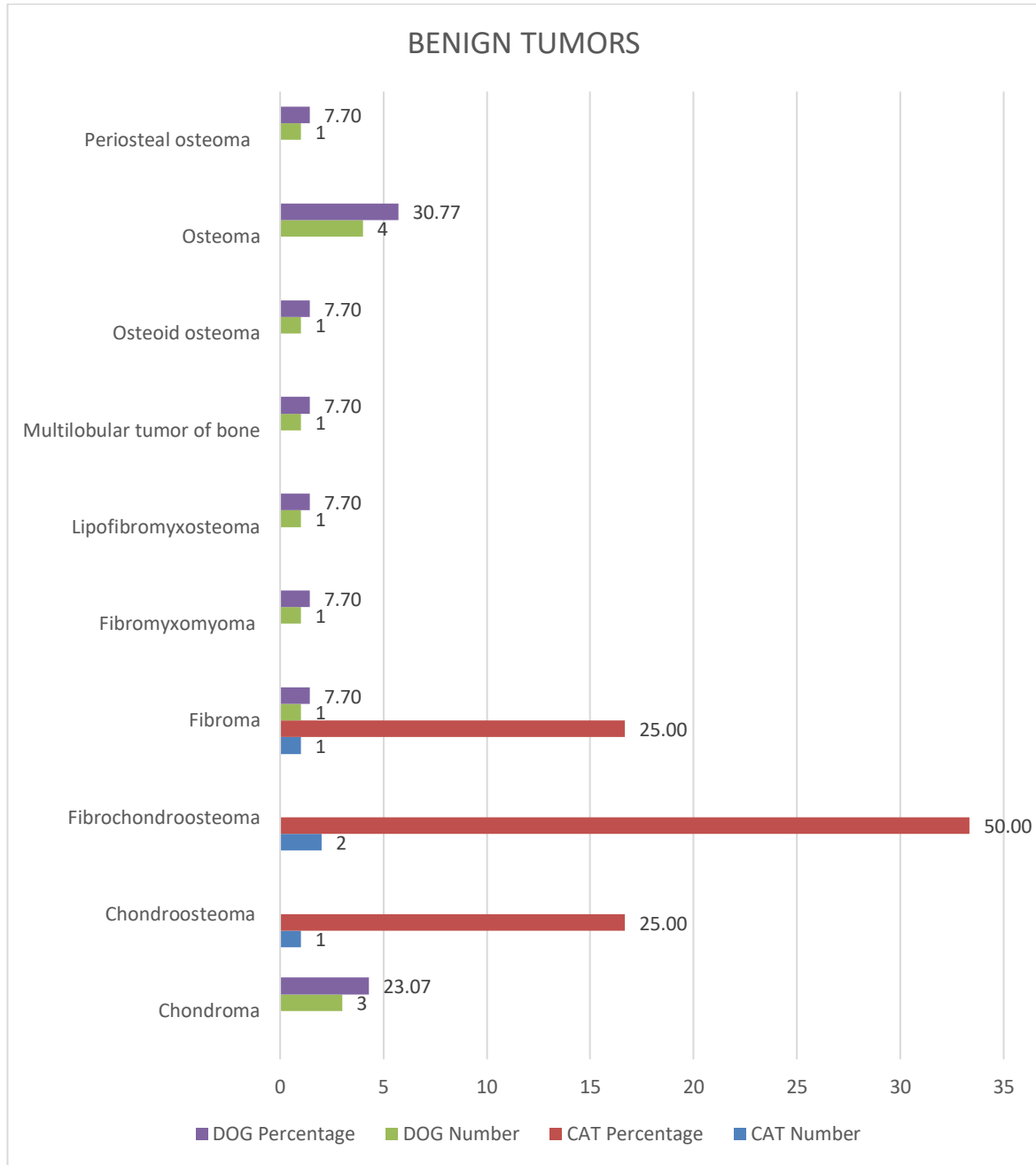


**Figure 3:** Tumor characterization of primary bone tumors noted in dogs and cats.

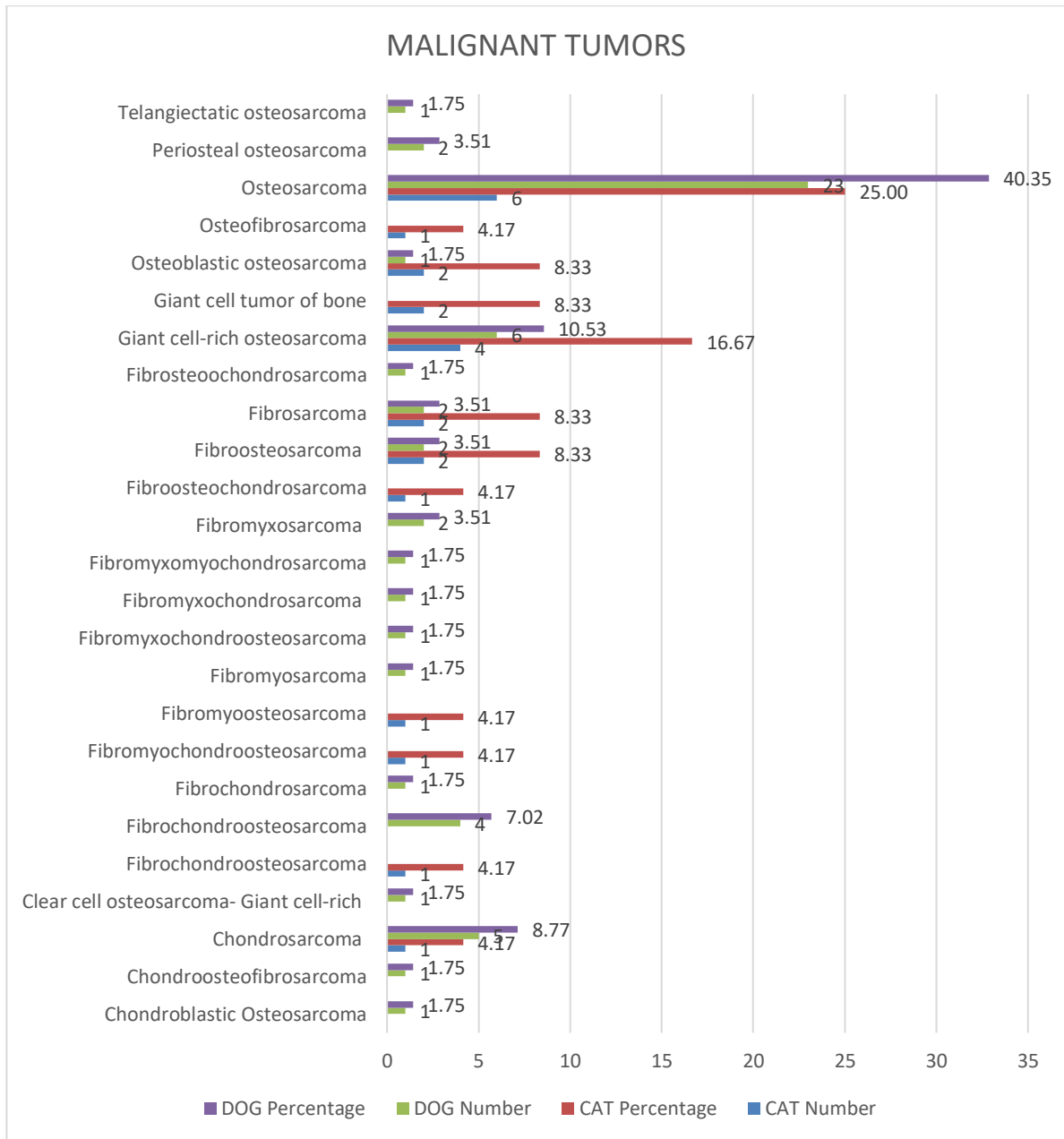
*Şekil 3:* Köpeklerde ve kedilerde görülen birincil kemik tümörlerinin tümör karakterizasyonu.

The most common benign tumors in dogs were osteoma (30.77%, n=4) and chondroma (23.07%, n=3) (Figures 6a-b). Osteosarcoma was the most common malignant tumor in dogs with a rate of 40.35% (n=23) (Figures 4, 5 and 6d-e). Fibrosarcoma (Figure 6c), chondrosarcoma etc. were also detected in dogs.

While benign tumors of the bone in cats were fibrochondrosteoma (50%, n=2), fibroma and chondrosteoma (25%, each one n=1), the most common malignant tumors were osteosarcoma (n=6, 25%) and giant cell-rich osteosarcoma (n=4, 16.67%) (Figures 4, Figure 5).



**Figure 4:** Benign primary bone tumors noted in dogs and cats.  
**Şekil 4:** Köpek ve kedilerde görülen iyi huylu primer kemik tümörleri.



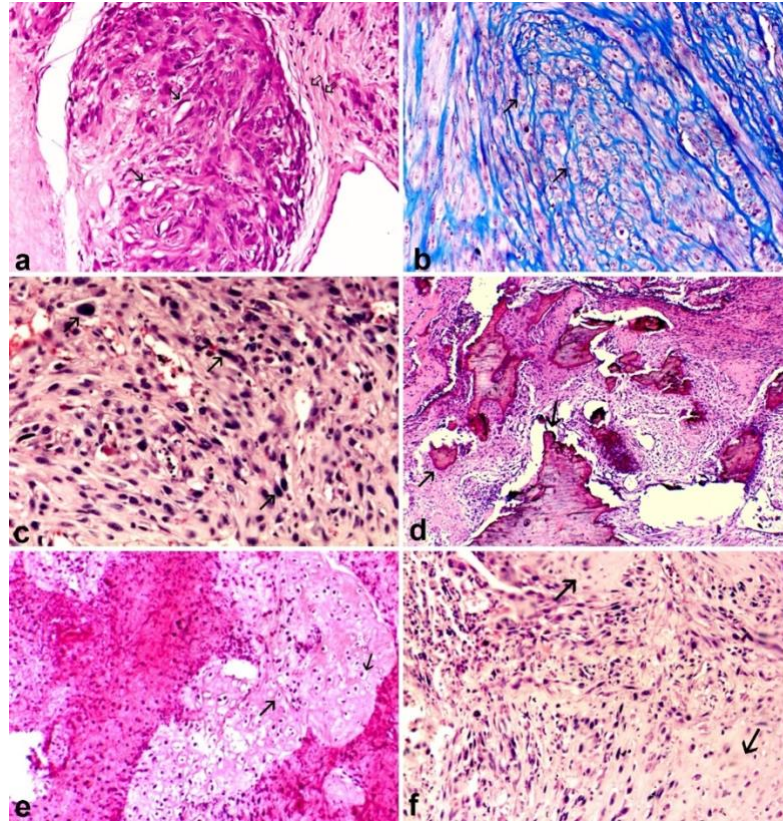
**Figure 5:** Malignant primary bone tumors noted in dogs and cats.

**Şekil 5:** Köpek ve kedilerde görülen malign primer kemik tümörleri.

In the necropsies performed, metastases of primary bone tumors (osteosarcoma) in dogs were found in the lung (n:6) (Figure 6f), lymph node (n:1), kidney (n:1) and pancreas (n:1). No metastasis was observed in cats.

#### Statistical results

Groups such as breed, age, gender, localization, diagnosis, tumor characteristics and pure breed were compared in pairs in the SPSS program. No significant results were detected in the analyzes ( $P>0.05$ ).



**Figure 6:** Histopathological images of some tumors occurred in dogs. **a.** Chondroma; uniformly structured chondrocytes and chondroblasts (black arrows), connective tissue capsule formed by fibrocytes and fibroblasts surrounding the chondroma (white arrows), HE, x400. **b.** Chondroma; uniform chondrocytes and chondroblasts (black arrows), Masson's trichrome stain, x400. **c.** Fibrosarcoma; atypical fibrocytes and fibroblasts (black arrows), HE, x400. **d.** Osteosarcoma; bone trabeculae and dense calcium precipitates (black arrows), HE, x100. **e.** Osteosarcoma; atypical osteoblasts (black arrows) with dense bone trabeculae and calcium precipitates, HE, x100. **f.** Lung metastasis of osteosarcoma; bone foci in the lung (black arrows), HE, x400.

**Şekil 6:** Köpeklerde meydana gelen bazı tümörlerin histopatolojik görüntüleri. **a.** Kondroma; uniform yapıdaki kondrositler ve kondroblastlar (siyah oklar), kondromun etrafın çevreleyen fibrosit ve fibroblastların oluşturduğu bağdokudan kapsül (beyaz oklar), HE, x400. **b.** Kondroma; uniform yapıdaki kondrosit ve kondroblastlar (siyah oklar), Masson's trichrome stain, x400. **c.** Fibrosarkoma; atipik fibrosit ve fibroblastlar (siyah oklar), HE, x400. **d.** Osteosarkoma; kemik trabekülleri ve yoğun kalsiyum çöküntüleri (siyah oklar), HE, x100. **e.** Osteosarkoma; yoğun kemik trabekülleri ve kalsiyum çöküntüleri ile atipik osteoblastlar (siyah oklar), HE, x100. **f.** Osteosarkomanın akciğer metastazı; akciğerde kemik odakları (siyah oklar), HE, x400.

#### 4. Discussion and Conclusion

Canine primary tumors, especially osteosarcomas, serve as models for human osteosarcomas, the most common malignant bone tumor in children (12,13). Therefore, it is necessary to examine primary bone tumors in dogs in detail.

In some literature, more bone tumors were found in male dogs and cats (7,14,15), and this information in dogs is compatible with this study (n: 38, 54.29%). However, the opposite situation was detected in cats. It has been noted that more tumors occur in female cats (n:17, 60.7%) than in male cats (n:11, 39.3%).

In the study, bone tumors were mostly observed in large breed dogs such as Kangal, German Shepherd, Turkish Mastiff, Siberian husky, Collie, Belgian Malinois, Rottweiler and Golden Retriever, and these data are also compatible with the literature (7, 16, 17). It was also stated in this study that it was also seen in small dogs such as terriers (n=7) and cocker (n=1). Nowadays, it has been observed that it is frequently noted in small breed dogs such as terriers, since they are easily fed at home in our country. A similar situation also applies to cats. Since tabby breed cats are bred a lot both on the street and at home in our country, they could have a very high risk of tumors (75%).

Although the age range of tumor formation in dogs is mostly stated in the literature as between 6-10 years of age (7, 16, 17), unfortunately, our study found that the highest rate is between the ages of 10-11 (Late Senior) group (27.14%, n=19). Secondly, the highest rate is observed in the 7-9 years (Early Senior) range (25.71%, n=18), while the 2-6 years (Mature Adult) range (22.86%, n=16) and 12 years and older (Geriatric) (20%, n=14) groups were also animal numbers at very similar and high rates. Interestingly, bone tumors were detected in only 3 animals between 0-12 months of age. In a study on osteomas in cats, the median age was 9 years (15). In this study, the highest rate in cats aged 10 and above (Senior) was most noted (42.9%, n = 12). It was seen in the age range of 1-6 years (Young Adult) (25%, n=7) and in the age range of 7-10 years (Mature Adult) (21.4%, n=6), respectively. Only one cat was between 0-1 years old. In this study, the highest rates were observed in dogs and cats aged 10 years and above. However, it was also noted that the age of tumor formation (to young adult) decreased in both cats and dogs.

Trost et al. (7) examined 90 primary bone tumors in dogs in a study over a 22-year period and 89 of them were malignant and only one was benign. 78 of 89 tumors were diagnosed as osteosarcoma (86.7%). When the anatomical location was examined, it was determined that the tumors were appendicular - 79.5% (n:62/78), axial - 19.2% (n:15/78) and appendicular/axial - 1.3% (n:1). While osteosarcomas were observed at forelimb (n:48), humerus (n:20), radius/ulna (n:13) from the appendicular skeleton respectively, osteosarcomas were noted head (n:7) and vertebral bones (n:4) from the axial skeleton. In present study, for dogs the appendicular skeleton was about two times more affected than the axial skeleton in this study. But no difference was observed between the two skeletal parts in cats. While axial tumor localizations in dogs and cats were most commonly detected in the sinus, (38.1%, n=8), appendicular tumor location in cats was mostly at hindlimb (35.7%, n=5), appendicular tumor location in dogs was mostly at humerus (17.39%, n=8).

In a study conducted on cats in Japan, tumors were detected in 1070 cats over a 23-year period. Only 26 of these tumors were bones and joints tumors and 8 of them were benign and were distributed as osteoma (n: 3), osteochondroma (n: 3), chondroma (n: 1). Additionally, among the 18 malignant tumors of the bones and joints, the majority were osteosarcoma (n:14) (4). Fiani et al. (15) examined the oral and maxillofacial regions tumors in cats in a study for 10 years and noted 7 cases of osteoma. In the present study, 4 benign (14.29%) and 24 malignant (85.71%) tumors were observed in cats. the most common malignant tumors of the bone were osteosarcoma (n=6, 25%) and giant cell-rich osteosarcoma (n=4, 16.67%). Osteosarcoma was the most common tumor like in dogs.

Although the preliminary diagnosis of primary bone tumors in dogs and cats seems to be related to the anatomical location and radiological appearance of the lesion, definitive diagnosis always needs histological examination of these tumor samples (18,19). However, if possible, immunohistochemistry should be performed in some cases to clarify the diagnosis (detect connective tissue or muscle tissue etc.). It is especially advantageous in helping to make a complete and accurate diagnosis (20).

This study was prepared to evaluate the distribution of bone tumors in dogs and cats in terms of breed, age, gender and location, to lay the foundation for future studies and to shed light on clinicians. It would also contribute and conduce the comparative oncology for dogs and cats.

### Conflict of Interest

The authors stated that they did not have any real, potential or perceived conflict of interest.

### Funding

This work is not supported by any Project.

### Authors' Contributions

Motivation / Concept: Arda Selin TUNÇ, Mehmet SAĞLAM

Design: Arda Selin TUNÇ, Kürşat FİLİKÇİ

Control/Supervision: Osman KUTSAL

Data Collection and / or Processing: Arda Selin TUNÇ, Kürşat FİLİKÇİ

Analysis and / or Interpretation: Arda Selin TUNÇ, Kürşat FİLİKÇİ

Literature Review: Arda Selin TUNÇ

Writing the Article: Arda Selin TUNÇ

Critical Review: Mehmet SAĞLAM, Osman KUTSAL

### Ethical Approval

An ethical statement was received from the authors that the data, information and documents presented in this article were obtained within the framework of academic and ethical rules and that all information, documents, evaluations and results were presented in accordance with scientific ethics and moral rules.

### References

1. Thompson KG, Dittmer KE. Tumors of bone. In: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. 5th ed. Iowa State Press: Ames, Wiley Black; 2017. p.356-424.
2. Leonardi L. Tumor of the musculoskeletal system. In: Leonardi L, editor. Bone tumors in domestic animals: comparative clinical pathology. Springer; 2022. p.31-145.
3. Quigley PJ, Leedale AH. Tumors involving bone in the domestic cat: a review of fifty-eight cases. *Vet Pathol* 1983;20(6):670-686.
4. Shida T, Yamada T, Maruo T, Ishida T, Kawamura H, Takeda H, et al. A retrospective study in 1,070 feline tumor cases of Japan. *Journal of the Japanese Veterinary Cancer Society* 2010;1:1-7.
5. Sabattini S, Renzi A, Buracco P, Defourny S, Garnier-Moiroux M, Capitani O, Bettini G. Comparative assessment of the accuracy of cytological and histologic biopsies in the diagnosis of canine bone lesions. *J Vet Intern Med* 2017;31(3):864-871.
6. Mangham DC, Athanasou NA. Guidelines for histopathological specimen examination and diagnostic reporting of primary bone tumours. *Clin Sarcoma Res* 2011;1(1):1-13.
7. Trost ME, Kommers GD, Brown CC, Barros CS, Irigoyen LF, Figuera RA, et al. Primary bone neoplasms in dogs: 90 cases. *Pesqui Vet Bras* 2012;32:1329-1335.
8. Kutsal O, Kaya Ü, Vural SA, Sağlam M. A survey of bone tumors in dogs and cats from 1986 to 2000 in Ankara. *Turk J Vet Anim Sci* 2003;27(1):109-115.
9. Luna GL. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. McGraw Hill Book Co, New York; 1968.
10. Harvey ND. How old is my dog? Identification of rational age groupings in pet dogs based upon normative age-linked processes. *Front Vet Sci* 2021;8: 643085.

11. Quimby J, Gowland S, Carney HC, DePorter T, Plummer P, Westropp J. 2021 AAHA/AAFP feline life stage guidelines. *J Feline Med Surg* 2021;23(3):211-233.
12. Al-Khan AA, Gunn HJ, Day MJ, Tayebi M, Ryan SD, Kuntz CA, et al. Immunohistochemical validation of spontaneously arising canine osteosarcoma as a model for human osteosarcoma. *J Comp Pathol* 2017;157(4):256-265.
13. Beck J, Ren L, Huang S, Berger E, Bardales K, Mannheimer J, et al. Canine and murine models of osteosarcoma. *Vet Pathol* 2022;59(3):399-414.
14. Selvarajah GT, Kirpensteijn J. Prognostic and predictive biomarkers of canine osteosarcoma. *Vet J* 2010;185(1):28-35.
15. Fiani N, Arzi B, Johnson EG, Murphy B, Verstraete FJ. Osteoma of the oral and maxillofacial regions in cats: 7 cases (1999-2009). *J Am Vet Med Assoc* 2011;238(11):1470-1475.
16. Ehrhart N. Longitudinal bone transport for treatment of primary bone tumors in dogs: technique description and outcome in 9 dogs. *Vet Surg* 2005;34(1):24-34.
17. Volker MK, Luskin IR. Oral osteoma in 6 dogs. *J Vet Dent* 2014;31(2):88-91.
18. Dernell WS, Straw RC, Withrow SJ. Tumors of the skeletal system. In: MacEwen E, editor. *Small animal clinical oncology*. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia; 2001. p.378-417.
19. Thompson RR, Pool KG. Tumors of bones. In: Meuten DJ, editor. *Tumors in domestic animals*. 4th ed. Iowa State Press: Ames; 2002. p.245-318.
20. Dittmer KE, Pemberton S. A holistic approach to bone tumors in dogs and cats: radiographic and histologic correlation. *Vet Pathol* 2021;58(5):841-857.



10.33188/vetheder.1299511

Araştırma Makalesi / Research Article

## Şanlıurfa ve çevresinde yetiştirilen süt sığırlarında süt kalite parametrelerinin karşılaştırılması

Mücahit KAHRAMAN<sup>1,a\*</sup>, Aydın DAŞ<sup>1,b</sup>, Gülşah GÜNGÖREN<sup>2,c</sup>, Yakup KESKİNBİÇAK<sup>3,d</sup>, Hamza YALÇIN<sup>4,e</sup>

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Kastamonu, Türkiye

<sup>3</sup>Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Programı, Bingöl, Türkiye

<sup>4</sup>Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

0000-0002-7757-2483 <sup>a</sup>; 0000-0003-0371-5434 <sup>b</sup>; 0000-0002-0360-7735 <sup>c</sup>; 0009-0003-0523-5394 <sup>d</sup>; 0000-0003-0733-7821 <sup>e</sup>

MAKALE BİLGİSİ/  
ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

19 Mayıs 23

19 May 23

Revizyon/Revised:

8 Kasım 23

8 November 23

Kabul / Accepted:

1 Aralık 23

1 December 23

Anahtar Sözcükler:

İnek sütü

Laktoz

Protein

Somatik hücre sayısı

Yağ

Keywords:

Cow milk

Lactose

Protein

Somatic cell count

Fat

©2024 The Authors.

Published by Veteriner

Hekimler Derneği. This is

an open access article

under CC-BY-NC license.

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)

org/licenses/by-nc/4.0)



ÖZET

Yapılan bu araştırmada, Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde yetiştirilen süt sığırlarında süt kalite parametrelerinin genel hatlarıyla belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada hayvan materyali olarak 5162 baş kültür sığırı ırkı kullanılmıştır. Süt kalite özellikleri Bentley Combi 150 Cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Araştırmadan elde edilen bulgulara en yüksek yağ, protein, laktoz ve kuru madde oranı sırasıyla %4,02; 3,34; 4,91 ve 13,18 olarak Adıyaman ilinde tespit edilmiştir. Somatik hücre sayıları Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde sırasıyla 270, 704, 230 ve 553 x 10<sup>3</sup> hücre/ ml olarak saptanmıştır. İller arasında yağ, protein, laktoz, kuru madde, üre ve somatik hücre sayısı değerlerinde yüksek düzeyde anlamlı istatistiksel farklılık tespit edilmiştir (P<0,001). Sonuç olarak, sunulan çalışmada Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde yetiştirilen süt sığırlarında önemli kalite parametreleri belirlenerek süt haritası mahiyetinde veriler oluşturulmuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre bölgede üretilen çiğ sütün Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen aralıklara uyumlu olduğu ifade edilebilir. Ancak işletmelerde sürü yönetimi ve sürü sağlığı bakımından önemli eksiklikler olduğunu ortaya koymaktadır.

### Comparison of milk quality parameters in dairy cattle raised in and around Şanlıurfa

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the milk quality parameters of dairy cattle raised in Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş and Şanlıurfa provinces in general terms. In the research, 5162 dairy cattle were used as animal material. Milk quality characteristics were determined using the Bentley Combi 150 device. According to the findings obtained from the research, the highest fat, protein, lactose and dry matter ratios were determined in Adıyaman province as 4.02%, 3.34% 4.91% and 13.18%, respectively. A high level of statistically significant difference was found between provinces in the values of fat, protein, lactose, dry matter, urea and somatic cell count (P<0.001). As a result, in the presented study, important quality parameters of dairy cattle raised in Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş and Şanlıurfa cities were determined and data in the form of milk maps were created. According to the results obtained from the study, it may be stated that the raw milk produced in the region complies with the ranges specified in the Turkish Food Codex. However, it reveals that there are important deficiencies in farms in terms of herd management and herd health.

**How to cite this article:** Kahraman M, Daş A, Güngören G, Keskinbiçak, Yalçın H. Şanlıurfa ve çevresinde yetiştirilen süt sığırlarında süt kalite parametrelerinin karşılaştırılması. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 21-28, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1299511

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [mucahitkahraman@harran.edu.tr](mailto:mucahitkahraman@harran.edu.tr)



## 1. Giriş

Sığır yetiştiriciliği, ürünlerinden ve hizmetlerinden yarar sağlanan önemli bir hayvancılık koludur. İnsan tüketimi için uygun gıda maddelerinin yanı sıra farklı endüstri kolları için gerekli hammaddeler sığırlar tarafından karşılanmaktadır. İnsanların günlük diyetlerinde almak zorunda olduğu hayvansal protein kaynağının yaklaşık %60'ı sığırlardan elde edilmektedir. Özellikle gelişmiş ülkelerde üretilen sütün hemen hemen tamamı sığırlardan karşılanmaktadır (1, 2). Süt, memeli canlıların yavrularını büyütmek amacıyla meme dokusundan salgıladığı kompleks yapıdaki bir üründür. Elde edildiği türe göre bileşim değerleri farklılık göstermekle birlikte başlıca su, protein, laktoz, yağ, mineral maddeler, vitaminler, enzimler ve diğer iz elementleri yapısında bulundurmaktadır (3).

Günümüzde üretim için kullanılan süt sığırlarının gelişiminde sistematik ıslah çalışmaları büyük rol oynamıştır (1). Son 100 yılda, süt sığırını popülasyonlarında seleksiyon işlemi, hem endüstri hem de toplumun taleplerini karşılayacak şekilde ilerlemiştir. Yirminci yüzyılın başlarında, süt sığırını yetiştiricileri süt üretimini artırmaya odaklanmıştı ancak yüksek verimli hayvanların seleksiyonu için sistematik bir strateji mevcut değildi (4). Bu dönemde entansif yetiştirme sistemlerinin gelişmesiyle birlikte muazzam seviyelere çıkan verim artışı, hayvan popülasyonlarında resesif genetik varyantların birikmesine neden olarak farklı sağlık sorunlarına yol açmıştır (5, 6). Süt sığırlarında yüksek süt verimi ile ilişkili mastitis insidansının artması ve kas dokularının aşırı büyümesinden kaynaklanan anormal fetal büyümenin neden olduğu güç doğumlar bu sorunlara örnek olarak verilebilir (7). Yirminci yüzyılın ortalarında hem genetik hem de istatistik alanındaki metodolojik gelişmeler, hesaplamalardaki teknolojik yeniliklerle birlikte güçlü çok özellikli analizlerin yolunu açmıştır (8). Sütçü hayvanların seçiminde süt performansının yanı sıra, konformasyon, fertilité ve süt kalite parametrelerinin yer aldığı damızlık değerlendirme sistemlerinin kullanımı yaygınlaşmıştır (9). Fizyolojik karakterler için daha karmaşık analitik teknikler geliştirilip seleksiyon programlarına dahil edilmesi, genetik ilerleme vasıtasıyla üretimde hızlı bir artış sağlanmıştır (4).

Günümüzde, süt sığırını seleksiyonunun odak noktası, salt üretim odaklı olmaktan ziyade daha dengeli bir üretim hedefine doğru kaymıştır (4). Dolayısıyla süt sığırını yetiştiriciliğinde konsolide, homojen, süt verimi yüksek, sütte yağ ve protein düzeyi yüksek, farklı hastalıklara dirençli, sığır sürülerinin oluşturulması hedeflenmektedir (10). Bu amaçla yapılması gereken ilk adım süt kalitesi ve somatik hücre sayısının belirlenmesidir (11). Ayrıca çiğ süttten elde edilen tereyağı, peynir gibi ürünlerin miktarı ve kalitesi, sütün içerdiği yağ, kuru madde ve protein oranı ile doğrudan ilişkilidir (12). Bu anlamda, süt içeriğinin analiz edilmesi gerek kaliteli süt ve süt mamulleri üretimi, gerekse ineğin meme sağlığının takibi açısından büyük önem arz etmektedir. Ayrıca ülkemizin farklı bölgelerinde üretilen sütlerin fiziko-kimyasal özelliklerinin ortaya çıkarılması bölgesel tanıtimda kullanım potansiyeli olan süt ürünlerinin standardizasyonu açısından önemlidir (13).

Bu araştırmada; Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa'da yetiştirilen süt sığırlarında süt kalite parametrelerinin (yağ, protein, laktoz, kuru madde, üre ve somatik hücre sayısı) genel hatlarıyla belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### Hayvan materyali

Araştırmada hayvan materyali olarak Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde faaliyet gösteren süt sığırını işletmelerinde yer alan 5162 baş sığır kullanılmıştır. Veriler 1/10/2021 tarihinden önce soy kütüğüne kaydedilmiş, en az on baş sürüye sahip işletmelerde suni tohumlama sonucu doğmuş saf sütçü ve/veya kombine ırklardan (Siyah-Alaca, Simmental) alınmıştır.

### Çiğ süt örneklerinin toplanması

Araştırma kapsamında bölgede faaliyet gösteren işletmelerde yer alan ineklerden sabah sağımindaki süt örnekleri toplanmıştır. Bu amaçla her bir inekten kulak numarasının yazılı olduğu barkot etiketleri yer alan steril örnek kaplarına 25 ml süt örneği alınmıştır. Süt örneklerinin içine Mikrotabs kapsül ilave edilmiştir (11). Bu kapsül içerdiği natamisin

ve bronopol sayesinde sütün kimyasal yapısını değiştirmeden korunmasını sağlamaktadır. Alınan örnekler soğuk zincirde (+4°C) muhafaza edilerek Harran Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde faaliyet gösteren şanlıurfa Çiğ Süt Analiz Laboratuvarı'na getirilmiştir.

### Laboratuvar Analizi

Laboratuvara gelen süt örnekleri önce sıcak su banyosunda +40°C'ye kadar ısıtılarak otomatik örnekleyiciye yüklenmiştir. Çiğ süt örneklerinde yağ, protein, laktoz, kuru madde oranı ve somatik hücre sayısı Dairyspec - FT ve Somacount ünitelerinden oluşan Combi 150 süt analizatörü (Bentley-Amerika Birleşik Devletleri) cihazı kullanılarak belirlenmiştir (11).

### İstatistiksel Analiz

Tüm analizlerde açık kaynak kodlu R programı temel stats paketi (R Core Team, 2022) kullanılmıştır (14). Verilerin normal dağılım varsayımı için Shapiro Wilk ve varyansların homojenliği için Levene testleri uygulanmıştır ( $P<0,05$ ). Gruplar arası farklılığın anlamlılığın tespiti için Kruskal Wallis H testi, anlamlı bulunan gruplar arasında farklılığın belirlenmesi için Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Sonuçlar, n, minimum, maksimum, ortalama, standart sapma, ortanca, ÇADG (Çeyrekler Arası Değişim Genişliği) ve sıra ortalaması olarak sunulmuştur. ÇADG, Q1 ve Q3 arasındaki farktır ve bu, veri setinin orta %50'sinin yayılımını gösterir. ÇADG'nin büyüklüğü veri setinin ne kadar homojen veya heterojen olduğunu gösterir. IQR küçüldükçe, veri noktaları medyan etrafında daha yoğun bir şekilde toplanır ve bu da daha homojen bir dağılımı işaret eder. Kruskal-Wallis H testinde sıra ortalaması (mean ranks), her grubun veri noktalarının sıralandırdıktan sonra alınan sıra değerlerinin ortalamasıdır. Testin amacı, bu sıra ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemektir. Gruplar arası farklılık yorumlanırken medyana göre değil sıra ortalamasına göre yapılmıştır. Zira Kruskal Wallis H testi medyan değil sıra toplamları üzerinden hesaplanmış, yorumlanırken her grupta toplanan sıra değerleri toplamlarının gruptaki veri sayısına bölünerek belirlenmiştir (15). Hesaplamalarda önem düzeyi  $P<0,05$  olarak hesaplanmıştır.

### 3. Bulgular

Araştırma kapsamında Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve şanlıurfa illerinde yetiştirilen ineklerden elde edilen sütlerde belirlenen kalite parametreleri ve somatik hücre sayısı değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Kalite parametreleri (yağ, protein, laktoz ve kuru madde) bakımından en yüksek değerler Adıyaman'da tespit edilirken; somatik hücre sayısı bakımından en ılımlı değer Kahramanmaraş'ta belirlenmiştir. İller arasında yağ, protein, laktoz, kuru madde üre ve somatik hücre sayısı değerlerinde yüksek düzeyde anlamlı istatistiksel farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,001$ ). Tablo 1'de Somatik hücre sayısı için ÇADG değerlerinin -verilen değişkenlere kıyasla-, veri noktalarının merkezi değer (medyan) etrafında oldukça yayıldığını ve veri setinin belirgin bir varyasyona sahip olduğu görülmektedir. Birinci çeyrek (Q1) ve üçüncü çeyrek (Q3) arasındaki geniş bir aralık, veri setinin orta %50'sinin geniş bir değer aralığını kapsadığını göstermektedir. Diğer değişkenlerin ise veri noktalarının medyana etrafında yoğun bir şekilde dağıldığı gözlemlenmiştir.

**Tablo 1:** İllere göre inek sütlerinde belirlenen kalite parametreleri ve somatik hücre sayısı**Table 1:** Quality parameters and somatic cell count in cow milk by province

Parametre	İl	n	Standart		Ortanca	Minimum	Maksimum	ÇADG	Sıra Ortalaması	Harf	P
			Ortalama	Sapma							
Yağ (%)	Adıyaman	852	4,02	0,83	3,95	2,51	8,23	1,15	2937,94	a	0.001
	Diyarbakır	2732	3,79	0,98	3,74	2,49	7,87	1,85	2533,20	b	
	K.Maraş	1452	3,85	0,86	3,88	2,46	6,8	1,08	2609,41	b	
	Ş.Urfa	126	2,83	0,51	2,65	2,5	4,94	0,21	896,77	c	
Protein (%)	Adıyaman	852	3,34	0,34	3,31	2,60	4,96	0,48	3062,83	a	0.001
	Diyarbakır	2732	3,19	0,26	3,19	2,51	6,06	0,32	2400,23	c	
	K.Maraş	1452	3,23	0,28	3,27	2,56	4,30	0,40	2643,70	b	
	Ş.Urfa	126	3,26	0,46	3,21	2,47	5,28	0,60	2540,48	bc	
Laktoz (%)	Adıyaman	852	4,91	0,21	4,95	2,60	5,34	0,19	3508,19	a	0.001
	Diyarbakır	2732	4,58	0,46	4,68	1,11	5,45	0,28	1866,23	b	
	K.Maraş	1452	4,90	0,25	4,93	1,31	5,43	0,16	3451,53	a	
	Ş.Urfa	126	4,34	0,85	4,65	1,21	5,32	0,69	1798,02	b	
Toplam Kuru Madde (%)	Adıyaman	852	13,18	1,03	13,30	9,01	17,37	1,50	3242,13	a	0.001
	Diyarbakır	2732	12,42	1,21	12,42	7,37	15,86	1,77	2314,18	c	
	K.Maraş	1452	12,88	0,97	12,91	7,25	15,39	1,17	2838,92	b	
	Ş.Urfa	126	11,24	1,14	11,37	7,19	14,17	1,11	944,23	d	
Üre (mg/dl)	Adıyaman	852	12,31	2,68	12,40	3,10	22,70	3,40	2619,09	b	0.001
	Diyarbakır	2732	11,69	2,33	11,80	0,10	20,20	2,80	2292,03	c	
	K.Maraş	1452	13,46	4,47	14,15	0,10	25,50	5,20	3226,11	a	
	Ş.Urfa	126	8,77	3,26	8,50	0,10	18,50	5,08	1175,37	d	
Somatik Hücre Sayısı (x10 <sup>3</sup> hücre/ml)	Adıyaman	852	270,09	284,65	179,00	10,00	1460,00	330,25	1787,49	c	0.001
	Diyarbakır	2732	704,29	442,74	675,00	5,00	1499,00	737,00	3319,20	a	
	K.Maraş	1452	230,43	265,67	152,50	3,00	1489,00	213,00	1649,69	d	
	Ş.Urfa	126	553,17	484,78	365,50	7,00	1450,00	875,50	2693,38	b	

ÇADG: Çeyrekler arası değişim genişliği

P: İstatistik önem düzeyi a,b,c,d : a en yüksek, d en düşük sıra ortalamasını gösterir. İkili harfler ( bc) ara geçiş gruplarını ifade eder.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde yetiştirilen ineklerden elde edilen sütlerin kalite parametreleri ve somatik hücre sayısı hakkında genel bir değerlendirme sunulması amaçlanmıştır. Süt ve süt ürünlerinin değerlendirilmesinde hijyen ile birlikte kalite parametreleri de göz önünde bulundurulmaktadır. Sütteki kuru madde miktarı, yağ, protein ve laktoz oranı ve somatik hücre sayısı süt kalitesini belirleyen en önemli parametrelerdir. Sütün bileşimindeki besin maddeleri; genotip, besleme, süt miktarı, laktasyon dönemi, hastalıklar ve geçici çevresel faktörler tarafından etkilense de (2), inek sütü genel olarak %12,6 kuru madde, %3,4 protein, %3,7 yağ, %4,7'i laktoz içermektedir (16).

Araştırmadan elde edilen bulgulara göre Adıyaman'dan elde edilen sütlerde yağ, protein ve laktoz ve kuru madde değeri bakımından önemli üstünlük belirlenmiştir. Oluşan bu farklılıkta süt bileşiminde etkili faktörler önemli rol oynamaktadır. Ayrıca süt yağı ile süt verimi arasında negatif korelasyon bulunmaktadır. Rasyonda kesif yem miktarının artması yağ oranını azaltır. Kaba yem oranının artması durumunda yağ oranı artırmaktadır (2). Süt içeriğinde bölgeler arasında gözlenen değişim, işletmelerdeki rasyon farkı ile birlikte süt verimi, genotip, sürü yönetimi gibi farklılıklarından ileri geldiği düşünülmektedir (2).

Çalışmadan elde edilen fiziko-kimyasal özellikler ile ilgili sonuçlar; konvansiyonel süt sığırları işletmelerinde edilen sütlerde bildirilen (17) kuru madde oranı (%12,52), yağ oranı (%3,31), protein oranı (%3,21), laktoz oranı (%4,91) ve Aydın ili Davutlar ilçesindeki bir sığırcılık işletmesinde yetiştirilen Kırmızı-Alaca sığırlarda süt kalite parametrelerinin değerlendirildiği bir çalışmada (18) bildirilen protein, laktoz (sırasıyla %3,22; %4,73) oranlarına Şanlıurfa ili haricinde benzerlik göstermektedir. Süt; protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineral madde yönünden zengin bir besindir. Sütte bulunan kuru madde oranı türlere göre farklılık göstermektedir. Kuru madde miktarı, özellikle kazein ve yağ oranı yüksek olan sütler daha çok peynir ve yoğurt yapımında kullanılmakta olup, bu ürünler, yüksek fiyatlarla satılmaktadır. Birçok gelişmiş ülkede süt fiyatları da besin madde içeriğine göre belirlenmektedir. Sütün bileşimindeki besin maddeleri genetik yapı, süt miktarı, beslenme, laktasyon dönemi, sağlık durumu ve geçici çevresel faktörlerden etkilenmektedir (2,4,8)

Araştırma kapsamında somatik hücre sayıları Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde sırasıyla 270, 704, 230 ve  $553 \times 10^3$  hücre/ml olarak saptanmıştır. Araştırmadan elde edilen somatik hücre sayısı sonuçları; konvansiyonel süt sığırları işletmelerinde edilen sütlerde (316.413 hücre/ml) bildirilen (17), Siyah Alaca ineklerde sütte somatik hücre sayısı üzerine etkili faktörlerin incelendiği bir çalışmada (19) elde edilen (217.430 hücre/ml) ve Aydın ili Davutlar ilçesindeki bir sığırcılık işletmesinde yetiştirilen Kırmızı-Alaca sığırlarda süt kalite parametrelerinin değerlendirildiği bir çalışmada (18) bildirilen ( $480 \times 10^3$  hücre/ml) değerler arasında yer aldığı saptanmıştır. Somatik hücreler, memelerin bağışıklık sisteminin ve meme bezinin koruyucu mekanizmalarının bir parçasıdır. Sütte her zaman bulunan bu hücreler, enfeksiyöz bir ajan memeye girdiğinde veya meme yaralandığında artmaktadır. Bireysel hayvan düzeyinde 100.000 hücre/ml süte kadar olan somatik hücre sayılarına normal fizyolojik aralık denir. Bununla birlikte, sağlıklı süt sığırlarında somatik hücre sayısı sağım fraksiyonu, laktasyon aşaması, parite ve ırk gibi fizyolojik faktörler tarafından belirlenir (11). Mevcut yasal düzenlemelere göre; Avrupa Birliği Komisyonu (1662/2006 no'lu tebliğinde) çiğ inek sütünde somatik hücre sayısının ml'de 400.000 adet ve altında olması istenmektedir (20). Ülkemizde ise Türk Gıda Kodeksi 2000/6 no'lu tebliğine göre çiğ inek sütünün ml'sindeki somatik hücre sayısının 500.000 adet ve altında olması gerektiği bildirilmiştir (21). Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde somatik hücre sayısı sırasıyla 553,17 ve  $704,29 \times 10^3$  hücre/ml olarak belirlenmiştir. Bu değerler normal olarak kabul edilen inek sütünde olması gereken değerlerin (mililitrede ortalama 20.000-500.000 adet) üzerinde tespit edilmiştir. Somatik hücre, meme dokusuna ait epitel hücreler, makrofajlar, lenfositler, nötrofiller olmak üzere değişik tip hücrelerden oluşmaktadır. Meme dokusuna bakteri girişiyle beraber yangısal bir cevap oluşmaktadır. Meme içi enfeksiyonlar sırasında sütte somatik hücre sayısı artmaktadır (11). Sütte somatik hücre sayısının artmasında etkili en büyük etkenlerden biri olan mastitis olarak adlandırılan meme bezlerinin yangısı protein, yağ ve laktozun sentezinden sorumlu olan meme bezlerindeki süt salgısı yapan hücrelerin zarar görmesine neden olmaktadır (22). Yüksek somatik hücre sayısı genellikle klinik ve subklinik mastitis enfeksiyonlarında belirleyici bir faktör olması nedeni ile meme sağlığı

hakkında olumsuz fikir veren bir kriter olarak kabul edilmektedir (23). Ayrıca mastitise bağılı olarak süt somatik hücre sayısının artması süt kompozisyonunda değişikliklere sebep olmakta ve süt kalitesini düşürmektedir (24).

Vücut sıvılarında organik bir molekül olarak bulunan üre, sütün normal komponentleri içerisinde yer almaktadır (25). Süt üre değeri, süt sığırlarının protein bakımından beslenme durumunu ortaya koyan önemli bir biyobelirteçtir (26). Sunulan çalışmada en düşük süt üre miktarı Şanlıurfa (8,77 mg/dl), en yüksek üre miktarı ise Kahramanmaraş (13,46 mg/dl) ilinde belirlenmiştir. Rasyondaki protein miktarının etkinliğinin göstergesi olarak kabul edilen süt üre miktarı (25), beslenme ve beslenme dışı (mevsim, yaş,laktasyon dönemi) gibi faktörlere bağılı olarak değişim göstermektedir (25, 27). Süt üre nitrojen miktarının azalması, rumen mikroflorasında değişiklik meydana gelmesi sonucu rumendeki amonyak oluşumunun azalmasından kaynaklanmaktadır. Hayvanların yetersiz miktarda protein alması, dokulardaki proteinlerin katabolizmasını artırarak barsaklarda üre emilimini artırmasına neden olarak süt üre miktarını artırmaktadır (28). Yapılan bazı çalışmalarda süt bileşimi ve süt veriminin de süt üre miktarı üzerine etki edebileceği ifade edilmiştir. Bu çalışmalarda süt üre değeri ile protein oranı arasında negatif; yağ oranı arasında ve süt verimi arasında pozitif bir korelasyonlar bulunduğu ifade edilmiştir. Ayrıca süt üre miktarı sağım sıklığı, sıcaklık stresi, ırk, yaş ve analiz yöntemine bağılı olarak değişim göstermektedir (25). Normal sütlerde üre nitrojeni 12–16 mg/dl aralığında değer almakla (25) birlikte; Akdeniz koşullarında yetiştirilen ineklerden elde edilen sütlerde 30,39 mg/dl olarak saptanmıştır (27). Farklı zamanlarda yapılan çalışmalarda süt üre değeri, 15-17 mg/dl (29), 11,15 mg/dl (30) ve ise 12,7-13,9 mg/dl (31) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda üre miktarı bakımından elde ettiğimiz veriler literatür bildirimlerinin alt sınırına yakın yer almaktadır. Bu durum rasyon, yaş ve analiz yöntemlerindeki farklılıklardan ileri gelmiş olabilir.

Mevcut çalışmada Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa illerinde yetiştirilen süt sığırlarında önemli kalite parametreleri belirlenerek süt haritası mahiyetinde veriler oluşturulmuştur. Süt kalite parametreleri üzerine etkili olan çok sayıda faktör (ırk, yaş, laktasyon seviyesi vb) bulunmaktadır (32). Bu faktörlerin çalışmamız kapsamında değerlendirilememesi kısıtlayıcı unsur olmakla birlikte, incelenen parametreler bakımından en düşük veriler genel olarak Şanlıurfa ilinde tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar bölgede üretilen çiğ sütün Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen aralıklara uyumlu olduğunu göstermektedir. Ancak bu sonuçlar işletmelerde sürü yönetimi ve sürü sağlığı bakımından önemli eksiklikler olduğunu ortaya koymaktadır.

### **Teşekkür**

Yazarlar, süt örneklerinin toplanılmasında katkı sunan Adıyaman, Diyarbakır, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği personellerine teşekkür eder.

### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

### **Finansal Kaynak Beyanı**

Bu çalışmada Karacadağ Kalkınma Ajansı tarafından "TRC/20/GDP-SUCS/0001" proje numarası ile desteklenen Şanlıurfa Çiğ Süt Analiz Laboratuvarı'ndan yararlanılmıştır.

### **Yazar Katkısı Beyanı**

Fikir/kavram: Mücahit Kahraman, Aydın Daş

Deney tasarımı: Mücahit Kahraman, Aydın Daş

Denetleme/Danışmanlık: Mücahit Kahraman, Aydın Daş

Veri toplama: Mücahit Kahraman, Aydın Daş, Gülşah Güngören, Yakup Keskinbıçak

Veri analizi ve yorum: Mücahit Kahraman, Aydın Daş, Hamza Yalçın

Kaynak taraması: Mücahit Kahraman

Makalenin yazımı: Mücahit Kahraman

Eleştirel inceleme: Mücahit Kahraman, Aydın Daş

## Etik Onay

Çalışma ile ilgili gerekli izinler Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (2021/005/05 Numaralı karar).

## Kaynaklar

1. Kahraman M, Yüceer Özkul B. Kuzey Amerika, Okyanusya ve Bazı Avrupa Ülkelerindeki Süt Sığırı Yetiştirici Birlikleri. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg* 2018;58:48-53.
2. Özbeyaz, C. Sığırı Yetiştiriciliği Ders Notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Ankara; 2012.
3. Özer B. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. *Sidas Medya Ltd Şti Toprak Ofset, Şanlıurfa* 2006;486.
4. Miglior F, Fleming A, Malchiodi F, Brito LF, Martin P, Baes CF. A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *JDS* 2017;100:10251-10271.
5. Ibeagha-Awemu EM, Kgwatalala P, Ibeagha AE, Zhao X. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mamm Genome* 2008;19:226-245.
6. Thomsen B, Horn P, Panitz F, Bendixen E, Petersen AH, Holm LE, Nielsen VH, Jørgen SA, Arnbjerg J, Bendixen C. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome Res* 2006;16: 97-105.
7. Wibowo TA, Gaskins CT, Newberry RC, Thorgaard GH, Michal JJ, Jiang Z. Genome assembly anchored QTL map of bovine chromosome 14. *Int J Biol Sci* 2008;4, 406.
8. Brito LF, Bédère N, Douhard F, Oliveira HR, Arnal M, Peñagaricano F, Schinckel AP, Baes CF, Miglior F. Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal* 2021;15:100292.
9. Cole JB, Dürr JW, Nicolazzi EL. Invited review: The future of selection decisions and breeding programs: What are we breeding for, and who decides?. *JDS* 2021;104:5111-5124.
10. Trukhachev V, Oliinyk S, Zlidnev N. Directions to improvement selection-technological features of cattle Ayrshire breed. *Proceedings of the 16th International Scientific Conference Engineering for Rural Development; 2017 May 24-27; Jelgava, Latvia.*
11. Kaskous S. Physiological Aspects of milk somatic cell count in dairy cattle. *Int J Livest Res* 2021;11,1-12.
12. Mu Y, Qi W, Zhang T, Zhang J, Mao S. Coordinated response of milk bacterial and metabolic profiles to subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J Anim Sci Biotechnol* 2023;14:60.
13. Sancak H, İşleyici Ö, Tuncay R, Sancak Y. Geleneksel olarak üretilen Bitlis Tulum peyniri ve kimyasal kalite nitelikleri. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2018;7:380-389.
14. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. URL [Online]. 2022 May 17; Available from: <https://www.R-project.org/>.
15. Hollander M, Wolfe DA, Chicken E. *Nonparametric statistical methods*. John Wiley & Sons, USA; 2015
16. Sezgin E, Atamer M, Koçak C, Yetişemiyen A, Gürsel A, Gürsoy A. (2010). *Süt Teknolojisi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi; 2007.
17. Alapala Demirhan S. Organik ve konvansiyonel süt sığırı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde bazı özelliklerin karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2012.
18. Yılmaz H. Kırmızı Alaca sığırlarının süt verimi ve süt kalite özellikleri üzerine bir araştırma. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 2010.
19. Böcekli H. Siyah Alaca İneklerde Sütte Somatik Hücre Sayısı Üzerine Etkili Faktörlerin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2015.
20. Anonim. Commission Regulation (EC) No: 1662/2006. Amending Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council Laying Down Specific Hygiene Rules for Food of Animal Origin 2006.
21. Anonim. Türk Gıda Kodeksi, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Tebliğ No:2000/6 2000.

22. Schallibaum M. Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. National Mastitis Council, Inc. 40th Annual Meeting Proceedings 2001;38- 46.
23. Temelli S, Şerbetcioğlu T. Bir süt işletmesinde işlenen inek sütlerinde somatik hücre sayısının dört yıllık periyottaki değişiminin incelenmesi. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2011; 30;1-7.
24. Félix Bueno VF, José MA, Soares NE, Nonato OA, Pereira OJ, Soares NRB, Garcia MJR, Werner TL. Somatic cell count: relationship to milk composition and period of the year in Goiás State, Brazil. *Ciencia Rural*, Santa Maria 2005;35;848-854.
25. Ayaşan T. Süt ineklerinin beslenmesinde süt üre nitrojenin önemi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University* 2009;2;27-33.
26. Gross JJ, Bruckmaier RM. Metabolic challenges in lactating dairy cows and their assessment via established and novel indicators in milk. *Animal* 2019;13;75-81.
27. Abdouli H, Rekik B, Haddad-Boubaker A. Non-nutritional factors associated with milk urea concentrations under Mediterranean conditions. *World Journal of Agricultural Sciences* 2008; 4;183-188.
28. Sederevičius A, Kabasinskiene A, Savickis S, Svedaite V, Makauskas S. Milk urea nitrogen as an important indicator of dairy cow nutrition review. *Veterinarija ir zootechnika* 2008;44;60-66.
29. Wambugu M, Wahome RG, Gachui C, Tanner J, Kaitho R. Evaluation of the use of milk urea nitrogen (MUN) as an indicator of nutritional status of dairy cattle in smallholder farms in kiambu district. Paper presented at the Faculty of Vet. Med. Biennial Conference; 1998 August 5-7; Nairobi, Kenya.
30. Arunvipas P, VanLeeuwen JA, Dohoo IR, Keefe GP, Burton SA, Lissemore KD. Relationships among milk urea-nitrogen, dietary parameters, and fecal nitrogen in commercial dairy herds. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2008;72;449-453.
31. Meeske R, Botha PR, Van der Merwe GD, Greyling JF, Hopkins C, Marais JP. Milk production potential of two ryegrass cultivars with different total non-structural carbohydrate contents. *South African Journal of Animal Science* 2009;39;15- 21.
32. Kaya U, Özkan H, Yazlık M, Çamdeviren B, Güngör G, Karaaslan İ, Yakan A. Comparative evaluation of major milk quality parameters of Holstein and Simmental cows at different lactation stages under similar environmental conditions. *Medycyna Weterynaryjna*, 2023;79;1-11.



doi 10.33188/vetheder.1354383

Araştırma Makalesi / Research Article

## Anticancer activity of bee venom components against lung cancer

Özge ÖZGENÇ ÇINAR<sup>1,a\*</sup><sup>1</sup> Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology Embryology, Ankara, Türkiyeid 0000-0002-8776-4788<sup>a</sup>

## MAKALE BİLGİSİ /

ARTICLE  
INFORMATION:Geliş / Received:  
2 Eylül 23  
2 September 23Revizyon/Revised:  
15 Kasım 23  
15 November 23Kabul / Accepted:  
4 Aralık 23  
4 December 23

## Anahtar Sözcükler:

Arı zehri  
Bal arısı  
Calu-3Keywords:  
Bee venom  
Calu-3  
Honey bee©2024 The Authors.  
Published by Veteriner  
Hekimler Derneği. This is  
an open access article  
under CC-BY-NC license.  
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)

## ABSTRACT

This study aims to determine the effects of bee venom on the proliferation capacity of Calu-3 cells and the migration ability of the cells. For this purpose, bee venom samples were collected from *Apis mellifera anatoliaca* in Muğla (Türkiye) provinces and Calu-3 cells were exposed to this bee venom. A test for cell viability using Calu-3 given bee venom in varied doses (20 µg/mL, 18 µg/mL, 15 µg/mL, 12 µg/mL, 10 µg/mL, 9 µg/mL, 7.5 µg/mL, 5 µg/mL, 2.5 µg/mL, 1.25 µg/mL, 0.625 µg/mL and 0.312 µg/mL) was conducted. And scratch assay was performed on cells treated with the doses (15 µg/mL, 10 µg/mL, 7.5 µg/mL, 1.25 and 0.312 µg/mL) and imaged every two hours for 24 hours. According to the results of our study's cell proliferation and scratch assays, bee venom had a cytotoxic and proliferative effect on Calu-3 cells which had a dose-dependent cytotoxic and proliferative effect. The study's outcomes how crucial dosage adjustment is in the use of bee venom in lung cancer studies due to its cytotoxic effect. Even though we have achieved a better understanding of how bee venom components work, our knowledge might still be improved by looking at how bee venom affects Calu-3 cells when combined with other substances or by developing the purification method for bee venom.

### Arı zehiri bileşenlerinin akciğer kanserine karşı antikanser etkisi

## ÖZET

Bu çalışma ile arı zehrinin Calu-3 hücrelerinin proliferasyon kapasitesi ve hücrelerin migrasyonu yeteneği üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlanmaktadır. Bu amaçla, Muğla ilinde yetiştirilen anadolu bal arısı (*Apis mellifera anatolica*) kolonilerinden arı zehri örnekleri toplanmıştır ve Calu-3 hücreleri bu arı zehrine maruz bırakılmıştır. Değişen dozlarda (20 µg/mL, 18 µg/mL, 15 µg/mL, 12 µg/mL, 10 µg/mL, 9 µg/mL, 7,5 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL, 1,25 µg/mL, 0,625 µg/mL ve 0,312) arı zehri verilen Calu-3 kullanılarak hücre canlılığı testi gerçekleştirilmiştir. Çeşitli dozlarda (15 µg/mL, 10 µg/mL, 7,5 µg/mL, 1,25 µg/mL ve 0,312 µg/mL) arı zehrine maruz bırakılan Calu-3 hücrelerinde yara iyileştirme deneyi yapılmış ve hücreler 24 saat boyunca her iki saatte bir görüntülenmiştir. Çalışmamızın hücre proliferasyonu ve yara iyileşmesi deneyi sonuçlarına göre, arı zehrinin Calu-3 hücreleri üzerinde doza bağlı olarak değişebilen sitotoksik ve proliferatif etkisi olduğu görülmüştür. Çalışma, akciğer kanseri çalışmalarında arı zehrinin sitotoksik etkisinden dolayı kullanımında doz ayarlamasının ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Arı zehiri bileşenlerinin nasıl çalıştığını daha iyi anlamış olsak da arı zehrinin diğer maddelerle birleştirildiğinde Calu-3 hücrelerini nasıl etkilediğine bakılarak veya arı zehiri için saflaştırma yöntemi geliştirilerek arı zehri hakkında bilinenler geliştirilebilir.

**How to cite this article:** Çınar Özgenç Ö. Anticancer activity of bee venom components against lung cancer. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 29-36, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1354383

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: ozgenc@ankara.edu.tr



## 1. Introduction

Honeybees, which are hymenopteran insects falling under the *Apis* genus, are renowned for their production and storage of valuable substances, including honey and various chemicals beneficial to humans (1). These bee-derived products used for human purposes encompass honey, propolis, bee pollen, bee bread, beeswax, and bee venom.

Bee venom (BV), also referred to as apitoxin and secreted by bee venom glands, is one of these bee products with a broad range of biological functions. It is a transparent and scentless liquid featuring a mixture of proteins with an acidic pH ranging from 4.5 to 5.5. Bees employ BV as a defense mechanism against potential threats. BV consists primarily of water, with a mere 0.1 gram of dry venom per drop (2). Its composition includes peptides like melittin, adolapin, apamin, and mast cell degranulating peptides. Additionally, it contains enzymes, notably Phospholipase A2, as well as low-molecular-weight compounds such as bioactive amines like histamine and adrenaline, along with minerals (3).

Since research on apitherapy began in the early 20th century, BV has been found to have numerous therapeutic applications for various diseases. Thanks to its anti-inflammatory properties, different forms of traditional BV therapy have been employed to alleviate pain and manage chronic inflammatory conditions like rheumatoid arthritis and multiple sclerosis (4). Moreover, BV has also been explored for its potential in neurodegenerative diseases such as Parkinson's Disease and Alzheimer's Disease (3). Beyond medicinal use, bee products have found applications in cosmetics (5,6). Besides all these, BV has been widely used in the treatment of tumors. BV peptides like melittin and phospholipase A2 have the potential to target various cancer cell types for anticancer or antimetastatic effects, including those found in the lung, kidney, liver, prostate, bladder, breast (mammary), and even leukemia (7,8,9).

Lung cancer remains the leading cause of cancer-related deaths worldwide despite significant advances in technology and treatment options. Among the various subtypes of primary lung cancer, adenocarcinoma, which arises from the body's mucus-producing cells, is the most commonly diagnosed. In fact, it accounts for approximately 40% of all lung cancer cases (10). Adenocarcinoma is known for its high aggressiveness and is often diagnosed in advanced stages, resulting in lower survival rates. Treatment of adenocarcinoma poses several challenges as it tends to be resistant to conventional treatments such as radiotherapy and chemotherapy. Overcoming these barriers often requires the integration of more than one therapeutic approach (11). We have concentrated our research on the Calu-3 cell line as our preferred in vitro model for studying the response of the airway epithelium against BV. It is believed that the Calu-3 cell line, which originates from human bronchial epithelium, possesses characteristics resembling serous cells (12). It has emerged as a widely used model for investigating a variety of aspects, including cellular responses to oxygen and ventilator-induced injuries, viral infections, bronchial epithelium-specific functional barrier properties, and drug transporters (13, 14, 15). In this study, we investigated the toxicity capacity of BV on Calu-3 cells exposed to different doses of BV. It is thought that determining the dose-dependent effect of BV on Calu-3 cells, which has not been determined before, will be advantageous in facilitating lung cancer treatment in both veterinary medicine and human medicine.

## 2. Material and Methods

### Bee venom collection, preparation and determination

The bee venom used in the study was collected in September 2021 from bee colonies in a producer-owned apiary (BeeSas Beekeeping) in Muğla, Türkiye. A sharp lancet was used to scrape the glass plates off after the bees' venom had dropped on them in order to collect the BV. The BV was freeze-dried and then stored until analysis in a freezer at 20 °C. The Muğla Sıtkı Koçman University Food Analysis Application and Research Center examined the BV content. Component analysis of apamine, phospholipase A2, and melittin was performed using an Agilent 1260

HPLC with a binary pump and degasser unit, together with an Agilent 1200 Series autosampler, autoinjector, column oven, and variable wavelength detector.

### Cell viability assay

The effect of BV on the cytotoxicity of Calu-3 cells was investigated using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) as a substrate. Calu-3 cells were seeding density in 96-well plates at a density of  $5 \times 10^3$  cells per well. Various BV concentrations were administered to cells for 24 hours, including 20  $\mu\text{g/mL}$ , 18  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 12  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 9  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.625  $\mu\text{g/mL}$ , and 0.312  $\mu\text{g/mL}$ . Cells were washed with fresh media and 100  $\mu\text{L}$  of MTT (5 mg/mL) was added to the wells following incubation. After the formazan salt produced after 4 hours of incubation was solubilized with sodium, the number of formazan salts at 570 nm was counted using a microplate reader (Sunrise, Tecan GmbH, Austria).

### Scratch assay

A density of between 70% and 80% confluence was attained after 24 hours of cell culture incubation of  $10 \times 10^4$  Calu-3 cells in 6-wells. The monolayer cells were scraped across the center of the well with a 1 mL pipette tip. PBS was used to gently wash the cells twice. Five different BV concentrations (15  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25 and 0.312  $\mu\text{g/mL}$ ) were given to fresh medium. Under the conditions of cell culture, cells were incubated for 24 hours. Cells were imaged every two hours and Leica Application Suit software (10X) was used to measure the size of every group's wound size.

### Statistical analysis

A two-way analysis of variance was utilized to assess the impact of BV concentrations on the outcomes of the MTT analyses. The factors that were determined to be significant underwent an advanced examination known as the Tukey test. Data were analyzed using the GraphPad Prism program (10th version), and they are shown as mean standard deviation. The statistical significance was denoted by the following symbols: \* P 0.05, \*\* P 0.01, \*\*\* P 0.001, and \*\*\*\* P 0.0001.

## 3. Results

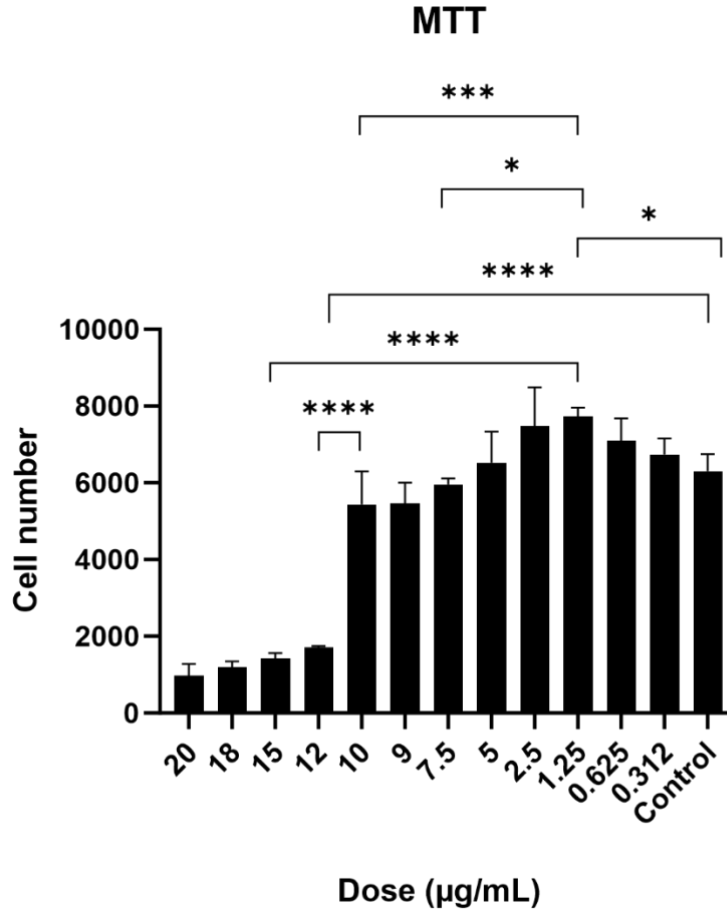
### Determination of bee venom

The percentages of apamin, phospholipase, and melittin in the sample of BV were determined. The quantities of apamin, phospholipase, and melittin in BV were estimated by HPLC-VWD to be 4.05%, 14.36%, and 70.98%, respectively.

### Cell viability assay

Cell viability test was performed on Calu-3 cells exposed to 20  $\mu\text{g/mL}$ , 18  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 12  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 9  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.625  $\mu\text{g/mL}$  and 0.312  $\mu\text{g/mL}$  concentrations of BV. The absorbance values that correspond to the 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000, and 12000 Calu-3 cell numbers were used to build a calibration curve. The cell numbers have been calculated using the calibration curve. The group exposed to BV at a concentration of 1.25  $\mu\text{g/mL}$  had the greatest number of Calu-3 cell viability, as was found from the results of the viability tests. There was a significant difference in the number of cells in the 1.25  $\mu\text{g/mL}$  group compared to the control group; however, no such variation was observed among the 0.312  $\mu\text{g/mL}$ , 0.625  $\mu\text{g/mL}$ , or 5

$\mu\text{g/mL}$  groups. Between the groups exposed to 7.5  $\mu\text{g/mL}$  and higher concentrations of BV and the 1.25  $\mu\text{g/mL}$  group, there is a statistically significant difference. In addition, cell cytotoxicity considerably rises when BV concentrations reach 12  $\mu\text{g/mL}$  and above.



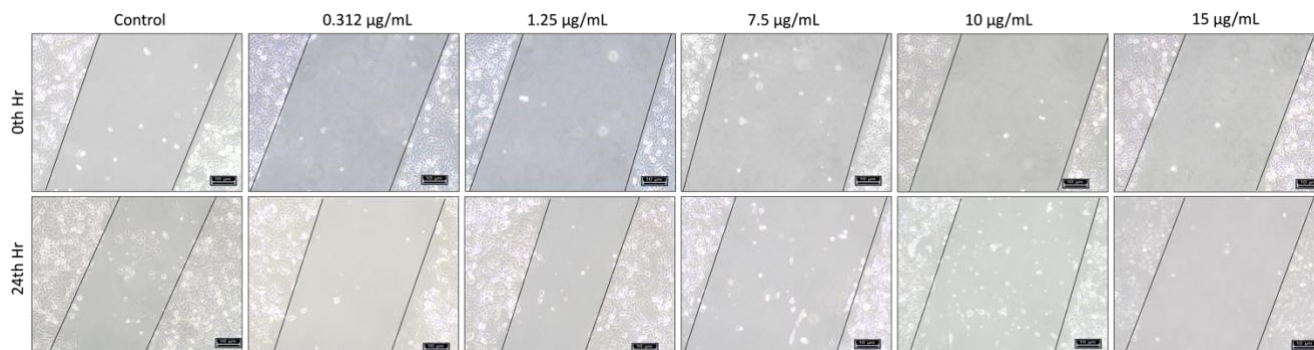
**Figure 1:** Calu-3 cells numbers exposed to 20  $\mu\text{g/mL}$ , 18  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 12  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 9  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.625  $\mu\text{g/mL}$  and 0.312  $\mu\text{g/mL}$  concentrations of BV obtained from the absorbance values of the MTT test (\*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ).

**Şekil 1:** MTT testinin absorbans değerlerinden elde edilen arı zehirinin 20  $\mu\text{g/mL}$ , 18  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 12  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 9  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 5  $\mu\text{g/mL}$ , 2.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.625  $\mu\text{g/mL}$  and 0.312  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarına maruz kalan Calu-3 hücreleri sayıları (\*  $P < 0,05$ , \*\*\*  $P < 0,001$ , \*\*\*\*  $P < 0,0001$ ).

### Scratch assay

Scratch assay was performed on Calu-3 cells exposed to 15  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , 1.25  $\mu\text{g/mL}$  and 0.312  $\mu\text{g/mL}$  concentrations of BV. At the end of 24 hours, the wound line was not completely closed in any group, including the control group. In the group exposed to 1.25  $\mu\text{g/mL}$  BV, the wound line closed relatively more than the other groups. In the 0.312  $\mu\text{g/mL}$ , 7.5  $\mu\text{g/mL}$ , and 10  $\mu\text{g/mL}$  groups, the wound line closure levels were near to one

another. In the 15 µg/mL group, it was observed that at the end of the 2nd hour, the cells were observed to lose their cytoplasmic extensions and were thought to be progressing towards apoptosis.



**Figure 2:** Scratch assay results of 15 µg/mL, 10 µg/mL, 7.5 µg/mL, 1.25 µg/mL and 0.312 µg/mL and control groups.

*Şekil 2: 15 µg/mL, 10 µg/mL, 7,5 µg/mL, 1,25 µg/mL ve 0,312 µg/mL ve kontrol gruplarının yara iyileşmesi analizi sonuçları.*

#### 4. Discussion and Conclusion

Due to its anticancer effects and also anti-inflammatory, antioxidant, antifungal, antiviral, antibacterial, and analgesic qualities BV is the most investigated venom among other arthropod venoms (7,9). Numerous research conducted both in vitro and in vivo have reported that BV affects the cell cycle, angiogenesis, apoptosis, cytotoxicity, and metastasis of cancerous cells (3, 16, 17, 18, 19, 20). In this study, we investigated the anticancer effect of BV on the Calu-3 cells. We especially focused on which doses of BV are more effective in damaging Calu-3 cells. The following doses were chosen for this purpose: 20 µg/mL, 18 µg/mL, 15 µg/mL, 12 µg/mL, 10 µg/mL, 9 µg/mL, 7.5 µg/mL, 5 µg/mL, 2.5 µg/mL, 1.25 µg/mL, 0.625 µg/mL, and 0.312 µg/mL (13).

Cell proliferation and scratch assay results of our study have shown that BV has both proliferative and cytotoxic effects on Calu-3 cells. It is found that these effects depend on the range of the doses. BV had a statistically significant proliferative effect on Calu-3 cells when applied at 1.25 µg/mL however, it showed a certain cytotoxic effect at doses of 12 µg/mL and above. Between the control group and the remaining doses, there is no noticeable difference. In a study investigating the effect of BV treatment on A549 human lung cancer cells, viability tests were performed using BV doses of 0.5 µg/mL, 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL and 20 µg/mL. A comparable explanation for our findings was provided by stating that BV had a dose-dependent effect and that A549 cells were not toxically affected by BV at a concentration of 1 µg/mL (21). Zhang et al. showed that BV inhibits blood vessel formation to reduce tumor invasion. However, they showed that this effect would be significantly effective after the 4mg/ml dose and above. It has been indicated that the use of BV in lower doses is no different from the control group in the treatment of small-cell lung cancer, similar to our study (22). Research on cancers other than lung cancer, including pancreatic, colon, and hepatocellular carcinoma, reported no significant difference in response to a 1 µg/mL BV dose when compared to control groups (23,24,25). In the study conducted on lung cancer cells, the effects of BV were investigated and indicated that BV increases the production of reactive oxygen species. In the study where doses ranging from 0.5 µg/mL to 8 µg/mL were selected, it was shown that BV causes mitochondrial damage and apoptosis known as ferroptosis, in every dose. They demonstrated that the wound line closed over time in the BV-exposed cells (1 µg/mL) group than in the

control group, indicating that BV inhibited the migration of lung cancer cells (26). In addition to all these, there are also some studies conducted on healthy cells such as mesenchymal stem cells, showing that the effect of BV on cells is dose-dependent (27). Other studies examining the effects of BV on different cancer cell lines such as lung, breast, leukemia and cervical cancer have also revealed similar findings that BV is cytotoxic on cancer cell lines even at 0,5-1 µg/mL doses (28,29,30,31,32,33). This is believed to be caused by variations in the BV isolation technique or the lung cell line that was employed.

According to the results of our study's cell proliferation and scratch assays, BV had a cytotoxic and proliferative effect on Calu-3 cells which is capable of varying based on dosages. The study's outcomes how crucial dosage adjustment is when employing BV due to its cytotoxic effect in lung cancer studies. Even though we have achieved a better understanding of how BV components work, our knowledge might still be improved by looking at how BV affects Calu-3 cells when combined with other substances or by developing the purification method for BV.

### Conflict of Interest

The author declared that there is no conflict of interest

### Funding

This research received no grant from any funding agency/sector.

### Authors' Contributions

Motivation / Concept: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Design: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Control/Supervision: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Data Collection and / or Processing: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Analysis and / or Interpretation: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Literature Review: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Writing the Article: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

Critical Review: Özge ÖZGENÇ ÇINAR

### Ethical Statement

An ethical statement was received from the authors that the data, information, and documents presented in this article were obtained within the framework of academic and ethical rules and that all information, documents, evaluations and results were presented in accordance with scientific ethics and moral rules

### References

1. Somwongin S, Chantawannakul P, Chaiyana W. Antioxidant activity and irritation property of venoms from Apis species. *Toxicon* 2018;145:32-39.
2. Bellik Y. Bee venom: its potential use in alternative medicine. *Anti-infective agents* 2015;13: 3-16.
3. Moreno M, Giralt E. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. *Toxins* 2015;7:1126-1150.
4. Wehbe R, Frangieh J, Rima M, El Obeid D, Sabatier JM, Fajloun Z. Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. *Molecules* 2019;24(16):2997-2298.
5. Hozzein WN, Badr G, Al Ghamdi AA, Sayed A, Al-Waili NS, Garraud O. Topical application of propolis enhances cutaneous wound healing by promoting TGF-beta/Smad-mediated collagen production in a

- streptozotocin-induced type I diabetic mouse model. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015;37(3):940-954.
6. Goharshenasan P, Amini S, Atria A, Abtahi H, Khorasani G. Topical application of honey on surgical wounds: A randomized clinical trial. *Complementary Medicine Research* 2016;23(1):12-15.
  7. Oršolić, N. Bee venom in cancer therapy. *Cancer and metastasis reviews* 2012;31:173-194.
  8. Khamis AA, Ali EM, Abd El-Moneim MA, Abd-Alhaseeb MM, El-Magd MA, Salim EI. Hesperidin, piperine and bee venom synergistically potentiate the anticancer effect of tamoxifen against breast cancer cells. *Biomedicine & pharmacotherapy* 2018;105:1335-1343.
  9. Małek A, Strzemski M, Kurzepa J, Kurzepa J. Can Bee Venom Be Used as Anticancer Agent in Modern Medicine? *Cancers* 2023;15(14):3714.
  10. Foster KA, Avery ML, Yazdanian M, Audus KL. Characterization of the Calu-3 cell line as a tool to screen pulmonary drug delivery. *International journal of pharmaceutics* 2000; 208(1-2):1-11.
  11. Hutchinson BD, Shroff GS, Truong MT, Ko JP. Spectrum of lung adenocarcinoma. In *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* 2019;40(3):255-264.
  12. Denisenko TV, Budkevich IN, Zhivotovsky B. Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma. *Cell death & disease* 2018;9(2):117.
  13. Kreft ME, Jerman UD, Lasič E, Hevir-Kene N, Rižner TL, Peternel L, Kristan K. The characterization of the human cell line Calu-3 under different culture conditions and its use as an optimized in vitro model to investigate bronchial epithelial function. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015; 69:1-9.
  14. DiGuilio KM, Rybakovsky E, Baek Y, Valenzano MC, Mullin JM. The multiphasic TNF- $\alpha$ -induced compromise of Calu-3 airway epithelial barrier function. *Experimental Lung Research* 2023;1-14.
  15. Zhu Y, Chidekel A, Shaffer TH. Cultured human airway epithelial cells (calu-3): a model of human respiratory function, structure, and inflammatory responses. *Critical care research and practice* 2010;2010:1-8.
  16. Liu CC, Hao DJ, Zhang Q, An J, Zhao JJ, Chen B, Yang, H. Application of bee venom and its main constituent melittin for cancer treatment. *Cancer Chemother. Pharmacol* 2016;78(6):1113-1130.
  17. Gajski G, Garaj-Vrhovac V. Melittin: a lytic peptide with anticancer properties. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013;36:697-705.
  18. Jo M, Park MH, Kollipara PS, An BJ, Song HS, Han SB, Kim JH, Song MJ, Hong JT. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012;258:72-81.
  19. Jamasbi E, Batinovic S, Sharples RA, Sani MA, Robins- Browne RM, Wade JD, Separovic F, Hossain MA. Melittin peptides exhibit different activity on different cells and model membranes. *Amino Acids* 2014;46: 2759-2766.
  20. Pandey P, Khan F, Khan MA, Kumar R, Upadhyay TK. An Updated Review Summarizing the Anticancer Efficacy of Melittin from Bee Venom in Several Models of Human Cancers. *Nutrients* 2023;15(14):3111.
  21. Hwang YN, Kwon IS, Na HH, Park JS, Kim KC. Dual Cytotoxic Responses Induced by Treatment of A549 Human Lung Cancer Cells with Sweet Bee Venom in a Dose-Dependent Manner. *Journal of Pharmacopuncture* 2022;25(4):390.
  22. Zhang SF, Chen Z. Melittin exerts an antitumor effect on non-small cell lung cancer cells. *Molecular medicine reports* 2017;16(3):3581-3586.
  23. Zhao J, Hu W, Zhang Z, Zhou Z, Duan J, Dong Z, Liu H, Yan C. Bee venom protects against pancreatic cancer via inducing cell cycle arrest and apoptosis with suppression of cell migration. *J. Gastrointest Oncol* 2022;13: 847-858.

24. Mansour GH, El-Magd MA, Mahfouz DH, Abdelhamid IA, Mohamed MF, Ibrahim NS, Hady AAbdel Wahab A, Elzayat EM. Bee venom and its active component Melittin synergistically potentiate the anticancer effect of Sorafenib against HepG2 cells. *Bioorganic Chem* 2021;116:105329.
25. Yaacoub C, Rifi M, El-Obeid D, Mawlawi H, Sabatier JM, Coutard B, Fajloun Z. The Cytotoxic Effect of *Apis mellifera* Venom with a Synergistic Potential of Its Two Main Components-Melittin and PLA2-On Colon Cancer HCT116 Cell Lines. *Molecules* 2021;26:2264.
26. Li X, Zhu S, Li Z, Meng YQ, Huang SJ, Yu QY, Li B. Melittin induces ferroptosis and ER stress-CHOP-mediated apoptosis in A549 cells. *Free Radical Research* 2022;56(5-6):398-410.
27. Özgenç Ö, Sevin S. Wound healing effects of bee venom on adipose tissue derived mesenchymal stem cells. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2023;94(1):59-66.
28. Yu JE, Kim Y, Hong DE, Lee DW, Chang JY, Yoo SS, Kim MJ, Son DJ, Yun J, Han SB. Bee Venom Triggers Autophagy-Induced Apoptosis in Human Lung Cancer Cells via the mTOR Signaling Pathway. *J Oncol* 2022; 2022:8916464.
29. Lee C, Bae SS, Joo H, Bae H. Melittin suppresses tumor progression by regulating tumor-associated macrophages in a Lewis lung carcinoma mouse model. *Oncotarget* 2017;8:54951–54965.
30. Kadasah SF, Alrefaei AF, Ali HA. Efficacy of *Prunus armenica*, Bee venom, and their combinations on p53 and Bcl-2 gene expression in human pancreatic and lung cancer cells. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences* 2023:1-7.
31. Lee HL, Park SH, Kim TM, Jung YY, Park MH, Oh SH, Yun HS, Jun HO, Yoo HS, Han SB. Bee venom inhibits growth of human cervical tumors in mice. *Oncotarget* 2015;6:7280–7292.
32. Obeidat M, Al-Khraisat IF, Jaradat DMM, Ghanim BY, Abdallah QM, Arqoub DA, Sabbah D, Al-Sanabra OM, Arafat T, Qinna NA. Melittin peptide quantification in seasonally collected crude bee venom and its anticancer effects on myelogenous K562 human leukaemia cell line. *BMC Complement Med Ther* 2023;23: 132.
33. Borojeni SK, Zolfagharian H, Babaie M, Javadi I. Cytotoxic Effect of Bee (*A. mellifera*) Venom on Cancer Cell Lines. *J. Pharma-copunct* 2020;23:212–219.



doi 10.33188/vetheder.1363077

Araştırma Makalesi / Research Article

## Molecular survey of endosymbiotic bacteria in the honeybee ectoparasite *Varroa destructor* in Türkiye

Nafiye KOÇ İNAK<sup>1,a\*</sup><sup>1</sup> Department of Parasitology, Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara, Turkey.ORCID ID 0000-0003-2944-9402<sup>a</sup>MAKALE BİLGİSİ /  
ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

19 Eylül 23

19 September 23

Revizyon/Revised:

11 Aralık 23

11 December 23

Kabul / Accepted:

18 Aralık 23

18 December 23

Keywords:

Candidatus Cardinium  
Endosymbiotic bacteria  
*Varroa destructor*  
16S rDNA

Anahtar Sözcükler:

Candidatus Cardinium  
Endosimbiyotik bakteri  
*Varroa destructor*  
16S rDNA©2024 The Authors.  
Published by Veteriner  
Hekimler Derneği. This is  
an open access article  
under CC-BY-NC license.  
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)

ABSTRACT

*Varroa destructor* is recognized as the predominant ectoparasite affecting Western honey bees (*Apis mellifera* L.) globally, representing a significant threat to the sustainability of bee colonies. The bacterial community of the digestive system and body tissues of *Varroa* mites has been documented in previous studies, however, the diversity and prevalence of detected endosymbiotic bacteria remain limited. In this study, the existence of four commonly found endosymbiotic bacteria including *Wolbachia*, *Cardinium*, *Spiroplasma*, and *Rickettsia* was investigated in various *Varroa* mite populations collected from Turkish apiaries. Almost half of the sampled population was infected with at least one endosymbiotic bacteria. *Wolbachia* endosymbiont was detected as the most prevalent genus, observed in six populations followed by *Cardinium* present in three populations. Furthermore, *Spiroplasma* and *Rickettsia* endosymbionts were each detected in one sample. To our knowledge, this study provides the first molecular characterization of *Cardinium* endosymbionts in *V. destructor*. The identity of 16S rDNA sequences of *Cardinium* was 98.9% of the sequence of *Cardinium* reported from another mite species, *Brevipalpus papayensis*, in the NCBI database. The study contributes new insights into the endosymbiotic bacterial community of *Varroa* mites. Understanding the diversity and prevalence of endosymbiotic bacteria in *Varroa* mites could facilitate the development of targeted management strategies to control *Varroa* infestations and improve honeybee health.

### Türkiye’de bal arısı ektoparaziti *Varroa destructor*’un endosimbiyotik bakterilerinin moleküler araştırması

ÖZET

*Varroa destructor*, dünya genelinde bal arılarının (*Apis mellifera* L.) bir ektoparazit olarak kabul edilmekte ve arı kolonilerinin sürdürülebilirliği için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. *Varroa* akarlarının sindirim sistemi ve vücut dokularındaki bakteri topluluğu daha önceki çalışmalarda büyük ölçüde ortaya çıkarılmış olsa da, tespit edilen endosimbiyotik bakterilerin çeşitliliği ve yaygınlığı oldukça sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada, Türkiye arıcılık kovanlarından toplanan çeşitli *Varroa* popülasyonlarında yaygın bulunan dört endosimbiyotik bakterinin (*Wolbachia*, *Cardinium*, *Spiroplasma* ve *Rickettsia*) varlığı araştırılmıştır. Örneklenen popülasyonların neredeyse yarısı en az bir endosimbiyotik bakteri ile enfekte bulunmuştur. *Wolbachia* endosimbiyotik bakterisi, altı popülasyonda tespit edilerek en yaygın cins olarak kaydedilmiş ve ardından üç popülasyonda bulunan *Cardinium* yer almıştır. Ayrıca, *Spiroplasma* ve *Rickettsia* endosimbiyotik bakterileri her biri bir örnekte tespit edilmiştir. Bu çalışma, *Cardinium* endosimbiyotik bakterisinin *V. destructor*’de ilk moleküler karakterizasyonunu sunmaktadır. Elde edilen 16S rDNA dizileri, NCBI veritabanında bulunan *Brevipalpus papayensis*’ten rapor edilen *Cardinium* dizisi ile %98.9’u ile benzerlik göstermektedir. Bu çalışma, *Varroa* akarlarında tespit edilen endosimbiyotik bakteri çeşitliliğinin genişlemesine katkı sunmaktadır. *Varroa* akarlarında bulunan endosimbiyotik bakterilerin çeşitliliği ve yaygınlığını anlamak, *Varroa* enfestasyonlarını kontrol etmek ve arı sağlığını iyileştirmek için hedefe yönelik kontrol stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

**How to cite this article:** İnak Koç N. Molecular survey of endosymbiotic bacteria in the honeybee ectoparasite *Varroa destructor* in Türkiye. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 37-45, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1363077

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [nafiyekoc@ankara.edu.tr](mailto:nafiyekoc@ankara.edu.tr)



## 1. Introduction

The primary constituent of honeybee populations is predominantly the species *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), which holds a global distribution. It has been used to produce honey, wax, and various other products associated with apiculture as well as play a crucial role in the pollination of plant species (1). Türkiye is known as the world's second-largest honey-producing country, with 8 million beehives and a honey yield of 110 thousand tons annually (2). However, the Turkish beekeeping industry currently suffers from considerable losses in honey production that are caused by a multitude of factors.

*Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae) holds a preeminent status as the principal obligatory ectoparasite affecting the Western honey bee, *Apis mellifera*, on a global scale (3). *Varroa* species directly harm honeybee colonies by consuming hemolymph and fat body tissues, which leads to decreased body weight and reduced honeybee lifespan (1, 4). Hence, effective treatment approaches are required to enhance animal welfare and performance. Among them, tau-fluvalinate, flumethrin, coumaphos, and amitraz are commonly preferred due to their in-hive selectivity (5, 6). However, with inappropriate usage, the beekeeping industry is facing the development of resistance and also the existence of chemical residues in bee products such as honey and beeswax (7, 8).

Arthropods serve as hosts for a multitude of facultative symbiotic bacteria (9). These bacteria can influence the host in commensal, mutualistic, or even parasitic ways, thereby having profound implications for several crucial aspects of the host's nutritional physiology (10), reproduction (11), vector capability (12), or defense mechanisms (13). Given the robust interdependency between symbiont and host, the absence of symbionts could potentially lead to fitness defects (14). In addition, these bacteria can lead to cytoplasmic incompatibility, which was previously suggested as a promising tool for pest control (15). In previous studies focusing on the microbial community of *V. destructor*, various taxonomic groups have been identified as prevalent. Specifically, *Morganella* sp. and *Enterococcus* sp. were found to be the most common taxa, as reported by Hubert et al. (16). Additionally, Enterobacteriaceae were detected in 50–88% of *Varroa* mites in Poland (17). Furthermore, a significant proportion of the sequences retrieved from *V. destructor* samples were attributed to actinomycete bacteria, as indicated by Cornman et al. (18). Notably, certain oxalotrophic bacteria, classified within the Proteobacteria and Actinobacteria phyla, were also identified in *V. destructor* (19). In addition to these findings, endosymbiotic bacteria, namely *Wolbachia* and *Spiroplasma*, have been confirmed to inhabit *V. destructor* (16, 20, 21).

Despite these previous studies, little is known about the endosymbiotic bacterial community of *V. destructor*. This study aims to fill this gap by examining the occurrence of four commonly found endosymbiotic bacteria (*Wolbachia*, *Cardinium*, *Rickettsia*, and *Spiroplasma*) across 23 different *V. destructor* populations in Türkiye.

## 2. Material and Methods

### Mite collection and DNA extraction

The populations of *V. destructor* were sampled from 23 different apiaries using the powdered sugar method in Türkiye in 2022. Mite samples were transported to the laboratory in 90% ethanol for further processing.

To avoid surface contamination in genomic DNA, a surface sterilization procedure was employed prior to the genomic DNA extraction. The sterilization process followed established protocols (22) and aimed to eliminate external contaminants and potential microbial interference. Initially, the mites were subjected to a dual 5-minute wash in a 0.1% (w/v) benzalkonium chloride solution, which was followed by two separate 5-minute rinses in 100% (v/v) ethanol. Subsequently, the cleaned mites were left to air-dry on sterile filter paper. Following the sterilization process, the genomic DNA was isolated from pools of 10 mites using the Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit (Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. The extracted DNAs were kept at -20 °C for subsequent analyses.

## Screening of bacteria using PCR

The presence of four common symbiotic bacteria across 23 *Varroa* populations was investigated through the application of the conventional polymerase chain reaction (PCR). Specific primers targeting the 16S ribosomal RNA (rRNA) of each bacterium, along with the conditions for PCR reactions, are detailed in Table 1.

**Table 1:** Primers, fragment sizes, sequences, and annealing temperature of used primers in this study  
**Table 1:** Çalışmada kullanılan primerler, sekans dizimleri ve bağlanma sıcaklıkları

Bacteria	Gene	Fragment size	Primers	Sequence (5–3)	T <sub>A</sub> (°C)	References
<i>Cardinium</i>	16S rDNA	450	CLO_F1 CLO_R1	GGAACCTTACCTGGGCTAGAATGTATT GCCACTGTCTTCAAGCTCTACCAAC	54	(39)
<i>Wolbachia</i>	<i>wsp</i>	600	Wsp_F Wsp_R	TGGTCCAATAAGTGATGAAGAACTAGCTA AAAAATTAAACGCTACTCCAGCTTCTGCAC	58	(40)
<i>Spiroplasma</i>	16S rDNA	450	Spoul-F Spoul-R	GCTTAACTCCAGTTCGCC CCTGTCAATGTTAACCTC	55	(41, 42)
<i>Rickettsia</i>	16S rDNA	800	Rb_F Rb_R	GCTCAGAACGAACGCTATC GAAGGAAAGCATCTCTGC	58	(43)

PCR amplifications were performed in a total volume of 30 µl, comprising 2 µl of mite DNA (ranging between 40–50 ng/µL ng/µL), 1 µl of both the forward and reverse primers, 11 µl of PCR-grade water, and 15 µl of the Takara MasterMix (Takara, Japan), using the TProfessional thermocycler (Biometra, Germany). The nuclease-free water as a negative control, and DNAs originating from *Wolbachia*, *Cardinium*, *Rickettsia*, and *Spiroplasma* as a positive control were included in all reaction setups. Each individual PCR reaction was iterated three times to ensure the negativity. The resulting PCR products were subsequently subjected to gel electrophoresis on a 1.5% agarose gel in 0.5x TBE buffer. Visualization of the separated fragments was accomplished following staining with SYBRTM Safe DNA gel stain (Thermo Fisher Scientific, USA), utilizing a UV transilluminator. The PCR products were purified using the HighPrep PCR clean-up system (MagBio Genomics) and were sequenced using the aforementioned primers (Macrogen, Amsterdam, The Netherlands).

The *Cardinium* sequences obtained in the present study and found in other mite species from public GenBank were aligned using MAFFT v7 (23) with “Auto” strategy. A Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree based on 16S rRNA sequences belonging to *Cardinium* endosymbionts was constructed with IQ-TREE web server (24) using the K2P+I model (identified to be the best-fit model by ModelFinder; 25) with 1000 ultrafast bootstraps. The resulting phylogenetic tree was visualized and annotated using the Interactive Tree of Life software (iTOL v6) (<https://itol.embl.de>).

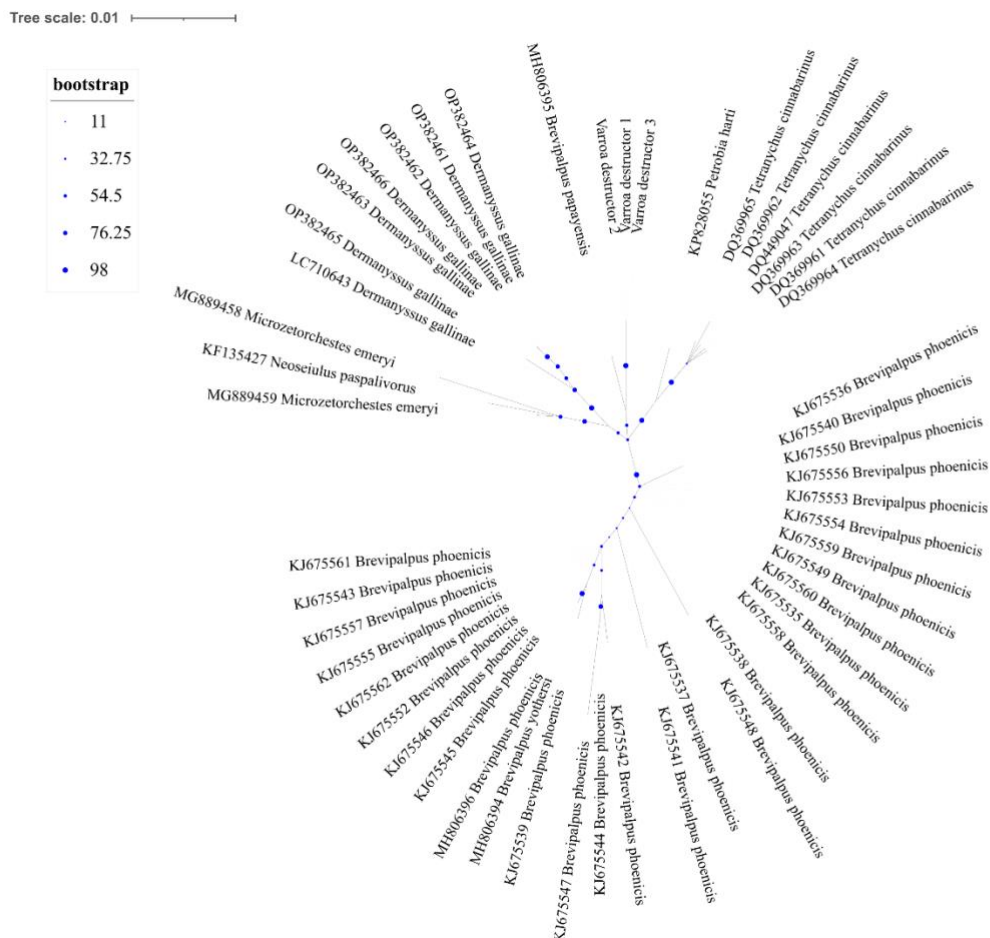
## 3. Results

A total of 23 DNA samples originating from *Varroa* mites were subjected to investigation for the presence of four distinct endosymbiotic bacteria (*Wolbachia*, *Cardinium*, *Rickettsia*, and *Spiroplasma*) (Table 2). The initial identification of bacterial presence was conducted through agarose gel analysis, employing a comparison of product sizes according to a positive reference sample. Subsequently, all identified positive samples were sequenced and acquired sequences were submitted to the public GenBank database (accession numbers: *Wolbachia*; OR992605-OR992610, *Candidatus Cardinium*; OR982396-OR982398, *Spiroplasma*; OR982394, *Rickettsia*; OR982395). Upon conducting a BLASTn search using the acquired sequences, notable similarities were found, with >99%, 98.9%, 99.7%, and 99% corresponding to the deposited sequences of *Wolbachia* (KX146861), *Candidatus Cardinium* (MH806395), *Spiroplasma* (CP029202), and *Rickettsia* endosymbiont (MF156623) respectively, within the NCBI database.

**Table 2:** Presence of endosymbiotic bacteria in sampled *Varroa destructor* populations  
**Table 2:** Örneklenen *Varroa destructor* popülasyonlarındaki endosimbiyotik bakteri varlığı

No	Population	Location	Wolbachia	Cardinium	Spiroplasma	Rickettsia
1	VAR1	Ankara/Ayaş	-	-	-	-
2	VAR2	Ankara/Bala	+	-	-	-
3	VAR3	Ankara/Beypazarı	+	-	-	-
4	VAR4	Ankara/Çankaya	-	-	-	-
5	VAR5	Ankara/Çubuk	+	+	-	-
6	VAR6	Ankara/Güdül	-	-	-	-
7	VAR7	Ankara/Gölbaşı	-	-	-	-
8	VAR8	Ankara/Gölbaşı	+	-	-	-
9	VAR9	Ankara/Gölbaşı	-	-	-	-
10	VAR10	Ankara/Haymana	-	-	-	-
11	VAR11	Ankara/Kalecik	-	-	-	-
12	VAR12	Ankara/Kalecik	-	-	-	-
13	VAR13	Ankara/Kazan	-	-	-	-
14	VAR14	Ankara/Kazan	-	-	-	-
15	VAR15	Ankara/Kızılcahamam	+	-	-	-
16	VAR16	Ankara/Kızılcahamam	-	-	+	-
17	VAR17	Ankara/Kızılcahamam	-	-	-	-
18	VAR18	Ankara/Nallıhan	+	-	-	-
19	VAR19	Ankara/Polatlı	-	-	-	-
20	VAR20	Hatay	-	+	-	-
21	VAR21	Muğla	-	-	-	-
22	VAR22	Ordu	-	-	-	+
23	VAR23	Zonguldak	-	+	-	-

Among the 23 adult *Varroa* populations, *Wolbachia* emerged as the prevailing genus, being identified in six populations. *Cardinium* was detected in three populations, representing the first documented in *V. destructor*. The phylogenetic analyses revealed that the obtained *Cardinium* sequences clustered together with the closest sequence belonging to *Brevipalpus papayensis* (Figure 1). Moreover, *Rickettsia* and *Spiroplasma* endosymbionts were each encountered in one sample. Each bacterium is isolated within separate populations, while a population (VAR5) demonstrates the co-presence of both *Wolbachia* and *Cardinium*.



**Figure 1:** A phylogenetic tree of *Cardinium* sequences belonging to mite species. The sequences obtained in the present study are shown in bold.

**Şekil 1:** Akar türlerine ait *Cardinium* dizilerinin filogenetik ağacı. Bu çalışmada elde edilen diziler koyu renkle gösterilmiştir.

#### 4. Discussion and Conclusion

The bacterial community of the digestive system and body tissues of *Varroa* mites had been determined in previous studies (16, 26, 27). In many cases, the bacterial diversity of the microbiome of *Varroa* samples was determined two times less when compared to the honeybee sample. The lower bacterial diversity observed in *Varroa* mites may be explained by the transmission of bacteria from honeybees to mites rather than vice versa (27). Furthermore, this symbiotic bacteria community had lower diversity in *Varroa* mites than Honeybees. Although *Wolbachia* and *Spiroplasma* were identified within *V. destructor*, *Cardinium* and *Rickettsia* have not yet been observed (16, 20, 21). This study provides the occurrence of these two endosymbiotic bacteria in *Varroa* mites.

*Wolbachia* is a widely distributed symbiotic bacteria in terrestrial arthropods, with approximately 20–70% of insect species, marking it as one of the most frequently encountered genera of endosymbiont bacteria discovered to date (28). *Wolbachia* symbionts primarily result in reproductive anomalies such as cytoplasmic incompatibility, induction of parthenogenesis, and feminization (29). While *Wolbachia* infections have been extensively studied in certain insect species, their presence in *Varroa* mites seemed to be less explored at that time and it has been found in *V. destructor* recently (20). Additionally, the vertical transmission of endosymbiotic bacteria occurs more frequently;

however, horizontal transmission of *Wolbachia* between honey bees and *Varroa* mites has been documented (20). In this study, we detected that six (26%) out of 23 adult *Varroa* populations were infected with *Wolbachia* endosymbiont with the identity of 99% in the NCBI database.

*Candidatus* *Cardinium* infections have been reported in a variety of arthropod species, with over 50% of chelicerates known to harbor this bacterium (27). Unexpectedly, despite its widespread occurrence, *Candidatus* *Cardinium* has not been documented in *Varroa* populations. Similar to *Wolbachia*, *Cardinium* is also a symbiotic bacterium capable of influencing reproductive systems (30). In the present study, the *Cardinium* was detected in three out of 23 *Varroa* populations, showing 99.8% similarity with deposited sequences of *Cardinium* obtained from *Brevipalpus papayensis* (MH806395). To our knowledge, this is the first report of *Cardinium* infection in *V. destructor*. Moreover, one of these populations was also infected with *Wolbachia*, consistent with the findings of previous studies by Zchori-Fein and Perlman (30), and Koç et al. (22) which documented co-infection in the mite species *Metaseiulus occidentalis* and *Dermanyssus gallinae* respectively.

*Rickettsia* are classified as maternally inherited Alphaproteobacteria, estimated to be found in approximately one of four terrestrial arthropods (27). In insect populations, *Rickettsia* spp. have been known to modify reproduction and fecundity (31, 32). An unidentified rickettsia-like organism was first reported in the rectum of *Varroa* by analyzing histological sections using transmission microscopy (33). In addition, Diplorickettsia (an obligatory intracellular parasite with a close relation to the genus *Rickettsia*) was found in *Varroa* (27). In this study, we found only one *Rickettsia* positive sample, and BLAST analysis showed that the obtained *Rickettsia* sequence had 99% similarity with *Rickettsia* endosymbiont of *Chrysoperla pallida* (MF156623) (34). The study represents the first molecular characterization of *Rickettsia* endosymbiont in *V. destructor* except for the above-mentioned cases. Some *Rickettsia* endosymbionts have mutualistic relationships with their hosts and may provide benefits. Following the first detection of *Rickettsia* endosymbionts in *Varroa* mites, further investigations are needed to delve into their biological roles in greater detail.

*Spiroplasma* is a genus of bacteria known to infect various arthropods, including insects and horizontal transmission between different insect species has been documented (35). Honeybees also serve as reservoirs for *Spiroplasma*, and these bacteria are currently considered occasional pathogens (36). A potential honeybee pathogen *Spiroplasma* was exclusively found in *V. destructor* sampled from winter debris (16). In this study, the use of specific primers in PCR confirmed the presence of *Spiroplasma* in a single sample with a 99.7% similarity to *S. melliferum* (CP029202). *Spiroplasma melliferum* has been identified as the potential cause of neurological disorders in honeybees but is also recognized as facultative (secondary) symbionts, with 33 and 54% prevalence in colonies in the USA and Brazil respectively (36). It has been reported that the prevalence of *S. melliferum* in the samples from the honeybee colony increased from 5% in February to 68% in May and subsequently declined to 25% in June and 22% in July (37). Supportingly, *Spiroplasmosis* was known as “May disease” in honeybees in southwestern France (38). There is a chance of encountering a limited number of positive cases owing to the duration of our sample collection.

The endosymbiotic bacteria in arthropods have been investigated for many years because of their crucial role in host biology. However, studies specifically regarding the endosymbionts of *Varroa* mites have not been extensively conducted. These studies are also important to clarify the horizontal transmission of endosymbiotic bacteria between honeybees and mites as they are both arthropods. This study demonstrated the presence of *Wolbachia*, *Cardinium*, *Rickettsia*, and *Spiroplasma* endosymbionts in adult female *V. destructor* with the first molecular identification of *Cardinium* and *Rickettsia* symbionts.

### Conflict of Interest

No potential conflict of interest was reported by the authors.

### Funding

This study is not funded.

### Authors' Contributions

Motivation / Concept: Nafiye KOÇ İNAK  
Design: Nafiye KOÇ İNAK  
Control/Supervision: Nafiye KOÇ İNAK  
Data Collection and / or Processing: Nafiye KOÇ İNAK  
Analysis and / or Interpretation: Nafiye KOÇ İNAK  
Literature Review: Nafiye KOÇ İNAK  
Writing the Article: Nafiye KOÇ İNAK  
Critical Review: Nafiye KOÇ İNAK

### Ethical approval

An ethical statement was received from the authors that the data, information and documents presented in this article were obtained within the framework of academic and ethical rules and that all information, documents, evaluations and results were presented in accordance with scientific ethics and moral rules

### References

1. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 2010;103:96-119.
2. FAOSTAT (2023) Livestock primary production. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. (Accessed 15 Sep 2023)
3. Traynor KS, Mondet F, de Miranda JR, Techer M, Kowallik V, Oddie MA, Chantawannakul P, McAfee A. *Varroa destructor*: a complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends Parasitol* 2020;36(6):592–602
4. Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, Lim D, Joklik J, Cicero JM, Ellis JD, Hawthorne D, vanEngelsdorp D *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116(5):1792–1801.
5. Johnson RM, Huang ZY, Berenbaum MR. Role of detoxification in *Varroa destructor* (Acari: Var-roidae) tolerance of the miticide tau-fluvalinate. *Int J Acarol* 2010;36(1):1–6.
6. Blacquièrre T, Altreuther G, Krieger KJ. Evaluation of the efficacy and safety of flumethrin 275 mg bee-hive strips (PolyVar Yellow®) against *Varroa destructor* in naturally infested honey bee colonies in a controlled study. *Parasitol Res* 2017;116(1):109–122
7. Bogdanov S. Contaminants of bee products. *Apidologie* 2006;37(1):1–18.
8. Koç N, İnak E, Jonckheere W, Van Leeuwen T. Genetic analysis and screening of pyrethroid resistance mutations in *Varroa destructor* populations from Turkey. *Experimental and Applied Acarology* 2021;84(2):433-444.
9. Jang S, Kikuchi Y. Impact of the insect gut microbiota on ecology, evolution, and industry. *Curr Opin Insect Sci* 2020;41:33–39.
10. Akman Gündüz E, Douglas AE. Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. *Proc Biol Sci* 2009;276(1658):987–991.
11. Kageyama D, Narita S, Watanabe M. Insect sex determination manipulated by their endosymbionts: incidences, mechanisms and implications. *Insects* 2012;3(1):161–199.
12. Weiss B, Aksoy S. Microbiome influences on insect host vector competence. *Trends Parasitol* 2011;27(11):514–522.
13. Brownlie JC, Johnson KN. Symbiont-mediated protection in insect hosts. *Trends Microbiol* 2009;17(8):348–354.
14. Moran NA, McCutcheon JP, Nakabachi A. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annu Rev Genet* 2008;42:165–190.

15. Zabalou S, Riegler M, Theodorakopoulou M, Stauffer C, Savakis C, Bourtzis K. Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101(42):15042-15045.
16. Hubert J, Erban T, Kamler M et al. Bacteria detected in the honeybee parasitic mite *Varroa destructor* collected from beehive winter debris. *J Appl Microbiol* 2015;119:640–54.
17. Gliniski Z, Jarosz J. *Serratia marcescens* artificially contaminating brood and worker honey bees, contaminates the *Varroa jacobsoni* mite. *J Apic Res* 1990;29:107–111.
18. Cornman RS, Schatz MC, Johnston JS et al. Genomic survey of the ectoparasitic mite *Varroa destructor*, a major pest of the honey bee *Apis mellifera*. *BMC Genomics* 2010;11:1.
19. Maddaloni M, Pascual DW. Isolation of oxalotrophic bacteria associated with *Varroa destructor* mites. *Lett Appl Microbiol* 2015;61:411–7.
20. Pattabhiramaiah M, Brückner D, Reddy MS.. Horizontal transmission of Wolbachia in the honeybee subspecies *Apis mellifera carnica* and its ectoparasite *Varroa destructor*. *International journal of environmental sciences* 2011;2(2):514-523.
21. Grau T, Brandt A, DeLeon S, Meixner MD, Strauß JF, Joop G, Telschow A. A comparison of Wolbachia infection frequencies in *Varroa* with prevalence of deformed wing virus. *Journal of Insect Science* 2017;17(3):72.
22. Koç N, Nalbantoğlu S. Microbiome comparison of *Dermanyssus gallinae* populations from different farm rearing systems and the presence of common endosymbiotic bacteria at developmental stages. *Parasitol Res* 2023;122(1):227-235.
23. Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics* 2019;20(4):1160-1166.
24. Trifinopoulos J, Nguyen LT, von Haeseler A, Minh BQ. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research* 2016;44(1):232-235.
25. Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TK, Von Haeseler A, Jermin LS. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods* 2017;14(6):587-589.
26. Sandionigi A, Vicario S, Prosdocimi EM, Galimberti A, Ferri E, Bruno A, Balech B, Mezzasalma V, Casiraghi M. Towards a better understanding of *Apis mellifera* and *Varroa destructor* microbiomes: introducing ‘phyloh’ as a novel phylogenetic diversity analysis tool. *Mol Ecol Resour* 2015;15:697–710.
27. Hubert J, Kamler M, Nesvorna M, et al. Comparison of *Varroa destructor* and Worker Honeybee Microbiota Within Hives Indicates Shared Bacteria. *Microb Ecol* 2016;72:448-459.
28. Weinert LA, Araujo-Jnr EV, Ahmed MZ, Welch JJ. The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proc R Soc B* 2015;282:20150249.
29. Werren J, Baldo L, Clark M. Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:741–751.
30. Zchori-Fein E, Perlman SJ. Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. *Mol Ecol* 2004;13:2009–2201.
31. Hagimori T, Abe Y, Date S, Miura K. The first finding of a Rickettsia bacterium associated with parthenogenesis induction among insects. *Curr Microbiol* 2006;52:97–101.
32. Cass BN, Himler AG, Bondy EC, Bergen JE, Fung SK, Kelly SE, et al. Conditional fitness benefits of the Rickettsia bacterial symbiont in an insect pest. *Oecologia* 2015;180:169–79.
33. Liu TP, Ritter W. Morphology of some microorganisms associated with the female mite *Varroa jacobsoni*: a survey by electron microscopy. In: Needham GR, Page RE Jr, Delfinado-Baker M, Bowman CE (eds). *Africanized honeybees and bee mites*. Ellis Horwood: Chichester; 1988. p. 467-474.
34. Gerth M, Wolf R, Bleidorn C. et al. Green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) are commonly associated with a diversity of rickettsial endosymbionts. *Zoological Lett* 2017;3:12.

35. Jaenike J, Polak M, Fiskin A, Helou M, Minhas M. Interspecific transmission of endosymbiotic *Spiroplasma* by mites. *Biol Lett* 2007;3:23–25.
36. Schwarz RS, Teixeira EW, Tauber JP, Birke JM, Martins MF, Fonseca I, Evans JD. Honey bee colonies act as reservoirs for two *Spiroplasma* facultative symbionts and incur complex, multiyear infection dynamics. *Microbiol Open* 2014;3:341–355.
37. Zheng H, Powell JE, Steele MI et al. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017;201701819.
38. Mouches C, Bove JM, Albisetti J. Pathogenicity of *Spiroplasma apis* and other spiroplasmas for honey-bees in southwestern France. *Ann Microbiol (Inst Pasteur)* 1984;135A:151–155.
39. Gotoh T, Noda H, Ito S. *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. *Heredity* 2007;98(1):13–20.
40. Jeyaprakash A, Hoy MA. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: wsp sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol Biol* 2000;9(4):393–405.
41. Montenegro H, Souza WN, Da Silva LD, Klaczko LB. Male-killing selfish cytoplasmic element causes sex-ratio distortion in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 2000;85(5):465–470.
42. Osaka R, Ichizono T, Kageyama D, Nomura M, Watada M. Natural variation in population densities and vertical transmission rates of a *Spiroplasma* endosymbiont in *Drosophila hydei*. *Symbiosis* 2013;60(2):73–78.
43. Gottlieb Y, Ghanim M, Chiel E, Gerling D, Portnoy V, Steinberg S, Tzuri G, Horowitz AR, Belausov E, Mozes-Daube N, Kontsedalov S, Gershon M, Gal S, Katzir N, Zchori-Fein E. Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Appl Environ Microbiol* 2006;72(5):3646–3652.





DOI: 10.33188/vetheder.1370543

Araştırma Makalesi / Research Article

## Van gölünde inci kefali (*Alburnus tarichi* Guldenstaedtii, 1814) avcılığı yapan balıkçı işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı ve mevcut sorunları

Ömer GEZGİNÇ<sup>1,a\*</sup>, Yavuz CEVGER<sup>2,b</sup><sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Ankara, TürkiyeORCID: 0000-0003-1056-1090<sup>a</sup>; 0000-0002-2806-2532<sup>b</sup>MAKALE BİLGİSİ /  
ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

3 Ekim 23

3 October 23

Revizyon/Revised:

7 Aralık 23

7 December 23

Kabul / Accepted:

19 Aralık 23

19 December 23

Anahtar Sözcükler:

İnci kefali balığı

Sosyo-ekonomik yapı

Su ürünleri

Van gölü

Keywords:

Aquaculture

Lake Van

Pearl Mullet

Socio-economic

structure

©2024 The Authors.

Published by Veteriner

Hekimler Derneği. This is

an open access article

under CC-BY-NC

license.

(https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0)



ÖZET

Bu araştırmada Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı faaliyetinde bulunan işletme sahiplerinin sosyo-ekonomik yapısının ve mevcut sorunlarının ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmanın ana materyalini, Bitlis ve Van İl Tarım ve Orman Müdürlüklerince düzenlenmiş Su Ürünleri Ruhsat Tezkeresine sahip ve Van Gölü'nde aktif olarak İnci Kefali balığı avcılığı faaliyetinde bulunan 72 adet balıkçı işletmesinden elde edilen verilerden oluşmaktadır. İşletme sahiplerinin yaş ortalaması 39,69 yıl, büyük bir kısmının ilkököl (%48,6) mezunu olduğu, meslekteki tecrübelerinin ortalama 18,17 yıl olduğu, çoğunun (%47,2) başka iş seçeneği olmadığı için bu mesleği icra ettikleri ve %72,2'sinin sosyal güvencesinin olmadığı tespit edilmiştir. İşletme sahiplerinin %87,5'i inci kefalinin yanında başka bir ekonomik faaliyet de gerçekleştirmediği, %48,60'ı avcılığı bırakmayı düşünmekte ve %38,9'unun balıkçılık kooperatifine üye oldukları belirlenmiştir. Balıkçılık teknelerinin boyları ortalaması 12,56 m ve motor güçleri ortalamasının 135,8 BG olduğu tespit edilmiştir. Bir sezonda ava çıkılan gün sayısı ortalama 214,03 gün ve işçi sayısı ortalama 2,38 kişi olarak tespit edilmiştir. Araştırmanın yapıldığı dönemde, iklim değişikliği-kuraklık, fiyatlardaki düşüklük ve istikrarsızlık, örgütlenme, balıkçı barınakları, balıkların üreme döneminde yasa dışı yapılan avcılık, aşırı avcılık ve hayalet avcılığa neden olan misina ağların kullanılması sorunları tespit edilmiştir. Bu çalışmanın, Van Gölü'nde İnci kefalini avcılığı için geliştirilecek politikalar ve alınacak tedbirler açısından yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

### *Socio-economic structure and current problems of fishing enterprises made hunting pearl mullet (*Alburnus tarichi* Guldenstaedtii, 1814) in lake Van*

ABSTRACT

In this research, it is aimed to reveal the socio-economic structure and current problems of the enterprise owners engaged in pearl mullet fishing activities in Lake Van. The main material of the study consists of the data of 72 fishery enterprises that have Fisheries Licenses issued by Bitlis and Van Provincial Directorates of Agriculture and Forestry and are actively engaged in pearl mullet fishing in Lake Van. It was determined that the average age of enterprise owners is 39.69 years, most of them are primary school graduates (48.6%), their experience in the profession is 18.17 years on average, most of them (47.2%) practice this profession because they have no other job option and 72.2% of them did not have social security. It was determined that 87.5% of the enterprise owners carry out another economic activity besides pearl mullet fishing, 48.60% of the enterprise owners are considering quitting hunting and 38.9% of them were members of a fishery cooperative. It has been determined that the average length of the fishing boats is 12.56 m and the average engine power of the boats is 135.8 HP. The average number of laborers in enterprises was determined as 2.38 people. During the research period, problems such as climate change-drought, low prices and instability, organization, fishing port, illegal fishing during the spawning period of fish, overfishing and the use of fishing line causing ghost fishing were identified. It is thought that this study will guide policies to be developed and measures to be taken for pearl mullet fishing in Lake Van.

**How to cite this article:** Gezginc Ö, Cevger Y. Van gölünde inci kefalini (Alburnus tarichi Guldenstaedtii, 1814) avcılığı yapan balıkçı işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı ve mevcut sorunları. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 46-59, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1370543

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [omergezginc@hotmail.com](mailto:omergezginc@hotmail.com)

## 1. Giriş

Üç tarafı denizlerle çevrili olan Türkiye, sahip olduğu çok sayıda akarsu, baraj, göl ve göletler sayesinde su ürünleri avcılığı ve yetiştiriciliği bakımından önemli bir konuma sahiptir (1-2). Bu su kaynakları arasında yer alan Van Gölü, yüzey alanı 3.712 km<sup>2</sup>, ortalama 171 m ve maksimum 451 m derinliğe sahip olan Türkiye'nin en büyük gölüdür. Sahip olduğu 9,7-9,9 pH ve yaklaşık % 22 tuzluluk oranıyla Dünya'nın en büyük sodalı gölü olduğu bilinmektedir. Bu sıradışı özellikteki suya sahip olan Van gölünde yaşayabilen, ekonomik öneme sahip ve avcılığı yapılan tek tür inci kefalidir (3-5).

Van Gölü'nde İnci kefalı avcılığının bir av sezonu dokuz ay kadar sürmektedir ve balığın üreme dönemi olan 15 Nisan ile 15 Temmuz arası av yasağı bulunmaktadır. Bu dönemde, inci kefalleri Van Gölü'ne dökülen tatlı su nehirlerine göç ederler. Göç hareketi için, İnci Kefalleri akarsuların su sıcaklığının 13°C olmasını ve göl ile akarsu arasındaki iyon dengesinin kurulmasını beklerler. Yumurtalarını bırakan anaçlar göle geri dönerler (3). Akarsuyun akışına ters yönde gerçekleştirilen bu göç hareketi aynı zamanda görsel şölen de oluşturmaktadır.

Türkiye'de 2022 yılında içsularda avlanan su ürünleri toplam miktarı 33.256 ton, inci kefalı av miktarı ise 9.991 ton olarak gerçekleşmiştir (6). Bu verilere göre Türkiye'de içsulardaki avcılığın %30'u inci kefalı avcılığından karşılanmaktadır. Bu yönüyle inci kefalı avcılığı, gölün kıyısındaki kırsal bölgelerde yaşayan insanlar için önemli bir geçim kaynağı olmaktadır ve inci kefalı üreme biyolojisinin gerekliliği olarak tatlı sulara yaptığı göç esnasında oluşturduğu görsel şölen ile de turistik ve ekolojik öneme sahiptir. İnci kefalı sahip olduğu bu özellikler ile Van Gölü havzasında ciddi bir ekonomik potansiyel yaratmaktadır.

Bu bahsedilen özelliklerin ve İnci Kefali stokunun korunması, geliştirilmesi kadar sosyo-ekonomik yapı da ayrıca önem arz etmektedir. Nitekim, sosyo-ekonomik verilerin balıkçılık yönetim politikaları için önemli olduğu Akdeniz Genel Balıkçılık Komisyonu tarafından vurgulanmıştır (7). Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığının sosyo-ekonomik yapısı üzerine az sayıda çalışma (4-5) olsa da sürdürülebilir balıkçılık için verilerin güncel tutulması önemli görülmektedir.

Bu çalışmada, Van Gölü'nde inci kefalı avcılığı faaliyetinde bulunan işletme sahiplerinin sosyo-ekonomik yapısının ve mevcut sorunlarının araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

Çalışmanın ana materyali, Bitlis ve Van İl Tarım ve Orman Müdürlüklerince düzenlenmiş Su Ürünleri Ruhsat Tezkeresine sahip ve Van gölünde aktif olarak inci kefalı balığı avcılığı faaliyetinde bulunan Bitlis'te 11, Van ilinde 61 olmak üzere toplamda 72 adet balıkçı işletmesinin verilerinden oluşmaktadır. Bu işletmelerin 2021-2022 sezonu avcılık faaliyetine ilişkin verileri tam sayım yöntemi kullanılarak elde edilmiştir.

Ölçekler itibarıyla yapılan gruplandırmada araştırma kapsamına alınan balıkçılık işletmelerinin "küçük ölçekli balıkçılık işletmesi" kapsamında olmaları göz önünde bulundurulmuştur. Küçük ölçekli balıkçılığın tanımı üzerine yapılan literatür çalışmasında, Dünya'da konu ile ilgili olarak genel bir tanımın ortaya konulamadığı görülmüştür. Nitekim bu konuda; teknelerin yapısı, boyutu, kullanılan av malzemesi, teknolojisi, balıkçılığın yasal av sezonuna göre yıl boyu ya da mevsimlik yapılması gibi bir çok faktörün bulunmasının, küçük ölçekli balıkçılık için genel geçer bir tanımın yapılmasını imkânsız hale getirdiği FAO tarafından da ifade edilmiştir (8). Bununla birlikte, konu ile ilgili olarak yapılan bir çok çalışmada küçük ölçekli balıkçılığın sınıflandırılmasında 12 metrelik tekne boyunun bir referans olarak alındığı görülmüştür (9-11). Dolayısıyla, bu çalışmada balıkçılık işletmeleri, 12 m ve daha küçük tekne boyuna sahip olan işletmeler (34 adet) ve 12 m'den büyük tekne boyuna sahip işletmeler (38 adet) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Böylelikle oluşturulan iki gruptaki işletme sayılarının nispeten birbirine yakın olmaları sağlanarak karşılaştırılabilir analiz sonuçlarının elde edilmesi amaçlanmıştır.

Sosyo-ekonomik durumu ortaya koymak için oluşturulan veri temin formunda; işletme sahibinin yaşı, eğitim düzeyi, avcılıktaki tecrübesi, avcılık dışında başka bir geliri olup olmadığı, işgücü, sosyal güvence durumları, gelir memnuniyetleri, balık avcılığını seçme nedeni, kullanılan av araçları, tekne özellikleri gibi sorular yer almaktadır.

Elde edilen veriler, SPSS Statics Version 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statics for Windows 25.0. Armonk NY IBM Corp.) ve Microsoft Excel programları ile işlenerek tekne boyları üzerinden oluşturulan ölçekler itibarıyla analiz edilmiş ve değerlendirilmiştir. Veriler değerlendirilirken frekans, yüzde, minimum, maksimum,

ortalama ve standart sapma değerlerinden oluşan tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır.

### 3. Bulgular

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yapan işletme sahiplerinin yaşları ve mesleki tecrübelerine ilişkin sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1:** Gruplar itibariyle işletme sahiplerinin yaşları ve mesleki tecrübeleri

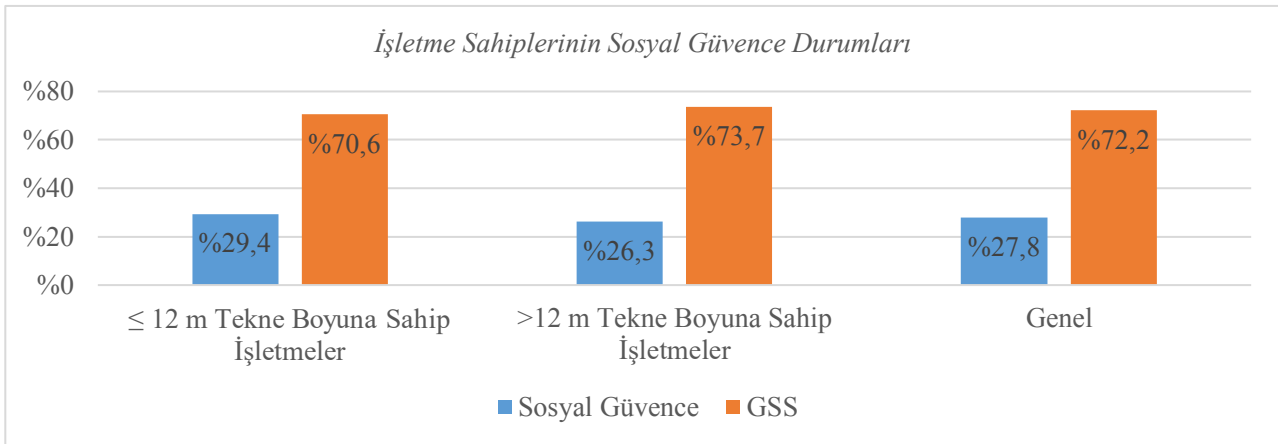
**Table 1:** Ages and professional experiences enterprise owners by groups

Parametre	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Yaş	20	64	39,69	10,94
Mesleki Tecrübe (Yıl)	2	37	18,17	8,78

Tablo 1 incelendiğinde, işletme sahiplerinin yaşları ortalamasının 39,69 ve mesleki tecrübelerinin ortalamasının 18,17 yıl olduğu görülmektedir.

İşletme sahiplerinin bazı sosyo-ekonomik özellikleri Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2'ye göre işletmelerin verileri teknelerin uzunluğuna göre iki kısımda verileri sunulmuştur. Genel olarak işletme sahiplerinin %48,6'sının ilkokul mezunu olduğu ve tekne boy uzunluğu arttıkça eğitim düzeyinin yükseldiği tespit edilmiştir. İşletme sahiplerinin %47,2'sinin başka iş seçeneği olmadığından dolayı İnci Kefali avcılığını yaptıkları ve %38,9'unun balıkçılıkla ilgili bir kooperatife üye olduğu tespit edilmiştir. Balıkçıların %52,7'sinin bu işten sağladıkları gelirden memnun olmadığı ve tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde bu oran işletmeler genelindeki ve diğer gruptaki oranın üzerinde çıktığı belirlenmiştir. Geleneksel kıyı balıkçılığı desteklemesinden faydalananların oranı %94,4 iken memnun olanların oranı ise %30,9 olduğu ve tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde bu oranlar diğer gruptaki ve işletmeler genelindeki oranın üstünde çıktığı tespit edilmiştir.



**Şekil 1:** İşletme sahiplerinin sosyal güvence durumları

**Figure 1:** Social security status of enterprise owners

**Tablo 2:** Gruplar düzeyinde tekne sahiplerinin bazı sosyo-ekonomik özellikleri**Table 2:** Some socio-economic characteristics of boat owners at group level

Kriter	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	Yüzde (%)	Frekans	Yüzde (%)	Frekans	Yüzde (%)
<b>Eğitim Durumu</b>						
İlkokul	19	55,9	16	42,1	35	48,6
Ortaokul	8	23,5	13	34,2	21	29,2
Lise	6	17,6	8	21,1	14	19,4
Üniversite	1	3	1	2,6	2	2,8
<b>İnci Kefali Avcılığı Yapma Nedeni</b>						
Baba/aile mesleği olması	10	29,4	14	36,8	24	33,3
Başka iş seçeneği olmadığı için	17	50	17	44,8	34	47,2
Göle karşı olan tutku	5	14,7	6	15,8	11	15,3
Ek iş	2	5,9	1	2,6	3	4,2
<b>Gelir Memnuniyeti</b>						
Memnun	3	8,8	1	2,6	4	5,6
Kararsız	17	50	13	34,3	30	41,7
Memnun Değil	14	41,2	24	63,1	38	52,7
<b>Kooperatif Üyeliği</b>						
Evet	16	47,1	12	31,6	28	38,9
Hayır	18	52,9	26	68,4	44	61,1
<b>Geleneksel Kıyı Balıkçılığı Desteği</b>						
Faydalananlar	33	97,1	35	92,1	68	94,4
Memnun Olanlar	13	39,4	8	22,9	21	30,9

İşletme sahiplerinin sosyal güvencelerine ait veriler Şekil 1'de sunulmuştur. Şekil 1 incelendiğinde işletme sahiplerinin %72,2'sinin sosyal güvencesinin olmadığı görülmektedir. Bu oran tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde, işletmeler geneline ve diğer gruba göre daha yüksek çıkmıştır. İşletme sahiplerinin çoğunluğu, sosyal güvencesi olmayan ve yardıma muhtaç kişilerin ya da aile içindeki geliri kişi başına düşen aylık gelir tutarı asgari ücretin üçte birinden az olan kişilerin ücretsiz olarak sağlık hizmetlerinden yararlanmasını sağlayan genel sağlık sigortası (GSS) uygulamasından faydalanmaktadır. Bazı işletme sahipleri de kamuda işçi, köy korucusu gibi sosyal güvenceye sahip görevlerde bulunmaktadırlar.

İşletme sahiplerinin diğer ekonomik faaliyetlerine ilişkin veriler Tablo 3'te sunulmuştur.

**Tablo 3:** İşletme sahiplerinin diğer ekonomik faaliyetlerine ilişkin veriler**Table 3:** Data on other economic activities of enterprise owners

Diğer Ekonomik Faaliyet	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Serbest Meslek	4	12,5	7	22,6	11	17,5
Emekli	0	0	4	12,9	4	6,3
Çiftçi	13	40,6	8	25,8	21	33,3
İşçi	15	46,9	12	38,7	27	42,9
Genel	32	100	31	100	63	100

Tablo 3'e göre, işletme sahiplerinin %87,5'i İnci Kefali avcılığının yanında başka bir ekonomik faaliyet de gerçekleştirdiği saptanmıştır. Avcılık dışında başka bir ekonomik faaliyetle uğraşanların çoğunluğu (%42,9) işçidir ve bu oranın her iki grupta da en yüksek düzeyde olduğu görülmektedir.

İşletme sahiplerinin İnci Kefali avcılığını bırakma düşüncelerinin nedeni Tablo 4'te sunulmuştur.

**Tablo 4:** İşletme sahiplerinin avcılığı bırakma düşüncelerinin nedeni**Table 4:** Reasons why enterprise owners think of quitting hunting

Tekne Sahiplerinin Avcılığı Bırakma Düşüncesinin Nedeni	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Maliyetler yüksek	10	62,4	13	68,4	23	65,8
Fiyat düşük	3	18,8	3	15,8	6	17,1
Devlet desteği yetersiz	0	0,0	2	10,5	2	5,7
Balık stokunun azalması	3	18,8	1	5,3	4	11,4
Genel	16	100	19	100	35	100

Van Gölü'nde balıkçı işletme sahiplerinin %48,60'ı inci kefali avcılığını bırakmayı düşündükleri belirlenmiştir. Tablo 4 incelendiğinde, avcılığı bırakmayı düşünenlerin %65,8'inin maliyetlerin yüksek olmasından dolayı İnci Kefali avcılığını bırakmayı düşündükleri saptanmıştır. Bu oran tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde diğer gruba göre daha yüksek çıkmıştır.

İşletme sahiplerine ait bazı teknik bulgular Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5:** İşletmelere ait bazı teknik bulgular**Table 5:** Some technical findings of enterprises

Parametre	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Tekne Boy Uzunluğu (m)	7,5	16,8	12,56	2,13
Motor Gücü (BG)	22	280	135,8	51,57
Bir Sezonda Ava Çıktıkları Gün Sayısı	150	250	214,03	26,84

Tablo 5 incelendiğinde, Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığında kullanılan teknelerin boyları ile motor güçlerinin genel ortalaması sırasıyla 12,56 m ve 135,8 BG (beygir gücü) olarak tespit edilmiştir. Van Gölü'nde işletme sahiplerinin bir sezonda ava çıktıkları gün sayısının genel ortalaması ise 214,03 gün olarak tespit edilmiştir.

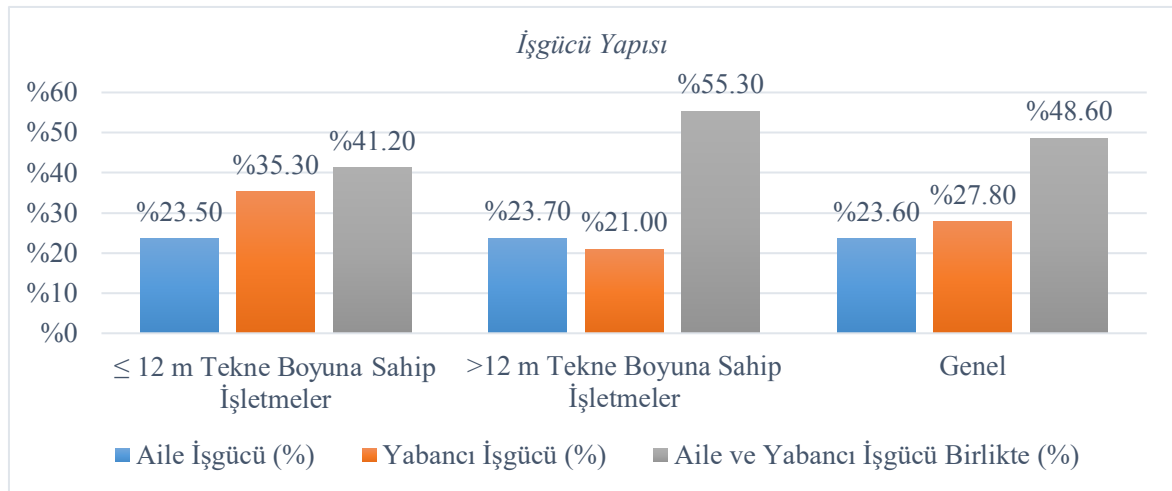
İşletme sahiplerinin teknelerini elde etme şekillerine ilişkin veriler Tablo 6'da sunulmuştur.

**Tablo 6:** Teknelerin satın alma/yaptırılma şekilleri**Table 6:** Ways of purchasing/building boats

Tekne Satın Alma/Yaptırılma Şekli	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Öz sermaye	20	58,8	23	60,5	43	59,7
Miras	3	8,8	6	15,8	9	12,5
Şahıstan Borç	6	17,6	5	13,2	11	15,3
Kredi	5	14,8	4	10,5	9	12,5
Genel	34	100	38	100	72	100

Tablo 6 incelendiğinde, Van Gölü'nde İnci Kefali Avcılığında kullanılan teknelerin %59,7'si öz sermaye ile elde edilmiştir. Tekneyi borçlanma yoluyla elde etme oranı tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde (%32,4), tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelere (%23,7) ve işletmeler geneline (%27,8) göre yüksek olduğu görülmektedir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yapan işletmelerin işgücü yapısına ait sonuçlar Şekil 2'de verilmiştir.

**Şekil 2:** İşletmelerdeki işgücü yapısı**Figure 2:** Labor force of structure in enterprises

Van Gölü'nde balıkçılık işletmelerindeki işgücü ortalaması 2,38 kişi olarak tespit edilmiştir. İşletmelerin %23,60'ında sadece aile işgücü, %27,80'inde sadece yabancı işgücü ve %48,60'ında hem aile hem de yabancı işgücü birlikte kullanılmaktadır. Şekil incelendiğinde, yabancı işgücünden yararlanma oranı tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde diğer gruba göre daha yüksek çıktığı görülmektedir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığını etkileyen çevresel etmenlere ilişkin bulgular Tablo 7'de verilmiştir.

**Tablo 7:** İşletme sahiplerinin avcılığını etkileyen çevresel etmenler**Table 7:** Environmental factors affecting hunting by enterprise owners

Avcılığı Etkileyen Çevresel Etmenler	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Hava şartlarının değişmesi	6	17,6	10	26,3	16	22,2
Su sıcaklıklarının değişmesi	5	14,7	3	7,9	8	11,1
Su kirliliği	14	41,2	7	18,4	21	29,2
İklim Değişikliği-Kuraklık	9	26,5	18	47,4	27	37,5
Genel	34	100	38	100	72	100

Tablo 7 incelendiğinde, işletmeler genelinde İnci Kefali avcılığını etkileyen çevresel etmen olarak işletme sahiplerinin çoğunluğu (%37,5) iklim değişikliği-kuraklık olduğunu belirtmişlerdir. Bu konuda, tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde de en yüksek oranın (%47,4) iklim değişikliği-kuraklık olduğu görülmektedir.

İşletme sahiplerine avcılıkta en çok karşılaştıkları sorunlara ilişkin bulgular Tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8.** İnci Kefali avcılığında en çok karşılaşılan sorunlar**Table 8:** Most common problems in pearl mullet hunting

En Çok Karşılaşılan Sorun	≤ 12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		>12 m Tekne Boyuna Sahip İşletmeler		Genel	
	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Balık stoklarının azalması	2	5,9	2	5,3	4	5,6
Aşırı avcılık yapılması	3	8,8	4	10,5	7	9,7
Balıkçıların bilinçsiz avcılık yapması	11	32,3	12	31,6	23	31,9
Su kaynaklarının kirlenmesi	4	11,8	0	0,0	4	5,6
Balıkçı örgütlenmesindeki yetersizlik	2	5,9	2	5,2	4	5,6
Su ürünleri sanayinin yetersiz olması	1	2,9	0	0,0	1	1,4
Fiyatların istikrarsız olması	7	20,6	12	31,6	19	26,3
Pazarlama kanallarının yetersizliği	2	5,9	3	7,9	5	6,9
Depolama koşullarının yetersizliği	2	5,9	0	0,0	2	2,8
Yasa Dışı Avcılık	0	0,0	3	7,9	3	4,2
Genel	34	100	38	100	72	100

Tablo 8'e göre, işletmeler genelinde işletme sahiplerinin %31,9'unun en çok karşılaşılan sorun olarak balıkçıların bilinçsiz avcılık yapmasını, %26,3'ünün fiyatların istikrarsız olmasını beyan ettikleri görülmektedir. Tablo incelendiğinde bu sorunlara ait oranların her iki grupta da yüksek olduğu görülmektedir.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Çalışma kapsamındaki işletme sahiplerinin yaşları ortalaması 39,69 yıl olarak bulunmuştur (Tablo 1). Genç balıkçıların babalarından miras aldıkları bu işi yapmaktadırlar ancak daha iyi olanaklarda iş imkânlarına sahip olmaları durumunda avcılığa devam etmek istememektedirler. Avcılıktaki şartların daha iyi hale getirilmesi, gençlerin hem sektörde kalmasına hem de kırsaldan kente göçün önüne geçilmesine katkı sağlayacaktır. Van Gölü'nde yapılan bir

çalışmada tekne sahiplerinin yaş ortalaması 40 olarak bulunmuştur (5) ve bu çalışma ile uyumludur. Bazı çalışmalardaki yaş ortalamasına ait sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir (12-16).

Çalışma kapsamındaki tekne sahiplerinin bu meslekteki tecrübelerinin ortalama 18,17 yıl olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu süre tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde 17,47 yıl, tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde 18,79 yıl olarak tespit edilmiş olup, bu değerlerin birbirleri ve genel ortalama ile benzer olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar Foça, Gökçeada ve Düzce'de yapılan çalışmalardaki sonuçlarla benzer olduğu tespit edilmiştir (16-18). Akdeniz bölgesi, Fiji, Karadeniz bölgesi, Ege denizinde yapılan çalışmalar (11,19-21) ile Karadeniz bölgesinde yapılan başka bir çalışmadaki (12) sonuçların yaptığımız çalışmayla uyumsuz olduğu belirlenmiştir.

İşletme sahiplerinin %48,6'sının ilkökul, %29,2'sinin ortaokul, %19,4'ünün lise ve %2,8'nin üniversite mezunu olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Çalışmada, tekne boy uzunluğu azaldıkça ilkökul eğitim seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Van Gölü balıkçılığının sosyo-ekonomik yapısı ile ilgili yapılan çalışmada tekne sahiplerinin %62'sinin ilkökul, %23'ünün ortaokul, %13'ünün lise ve %2'sinin üniversite mezunu olduğu tespit edilmiştir (5). Bitlis ilinde bulunan Nazik gölünde yapılan bir çalışmada balıkçıların %78'inin (13), Türkiye'nin Doğu Akdeniz kıyılarında yapılan bir çalışmada balıkçıların %68,8'inin (20), Düzce'de (Akçakoca) yapılan bir çalışmada balıkçıların %67'sinin (18), Akdeniz sahil şeridinde yapılan bir çalışmada balıkçıların %66'sının (23) ilkökul mezunu olduğu belirlenmiştir. Balıkçıların çoğunluğunun ilkökul mezunu olduğu bu çalışmalar, yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir. Burkina Faso'da yapılan bir çalışmada en yüksek eğitim seviyesinin ortaokul olduğu tespit edilmiştir (24) ve bu sonuçların çalışmamızla uyumlu olmadığı belirlenmiştir.

İşletme sahiplerinin mesleki tecrübeleri ve eğitim düzeylerine ilişkin elde edilen sonuçların karşılaştırıldığı bazı çalışmalarla olan uyumsuzluğunun bölgesel ve ulusal farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Van Gölü'nde tekne sahiplerinin çoğunun (%47,2) başka iş seçeneği olmadığı için bu mesleği icra ettikleri tespit edilmiştir (Tablo 2). Bu oranın yüksek çıkmasının nedeni olarak; İnci Kefali avcılığı daha çok göle kıyısı olan ve insanların geçimini sağlayacak düzeyde iş imkânlarının olmadığı köylerde/mahallelerde yapılmasından kaynaklı olduğu söylenebilir. Bu oran, tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde diğer gruba göre daha düşük kalmıştır. Bu durumun nedeni olarak, babadan miras yoluyla bu işi yürütenlerin çoğunluğunun tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde yer alması gösterilebilir. Diğer nedenler arasında ise tekne sahiplerinin %33,3'ünün baba mesleği olması, %15,3'ünün gölde çalışma tutkusundan dolayı ve %4,2'sinin ek iş olarak Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yaptıkları belirlenmiştir. Van Gölü balıkçılığının sosyo-ekonomik yapısı ile ilgili yapılan bir çalışmada tekne sahiplerinin %26'sının baba mesleği, %29'unun gölde çalışma tutkusu ve %45'inin zorunluluktan dolayı balıkçılık yaptıkları tespit edilmiştir (5). Çalışmamızdaki baba mesleği oranı bu çalışmadakinden yüksek çıkmıştır ve bu durum tekne sahiplerinin bir kısmının emeklilik, yaşlılık gibi nedenlerden dolayı bu işi tamamen çocuklarına devretmelerden kaynaklanmış olduğu düşünülebilir. Bazı çalışmalarda balıkçıların çoğunluğunun aile/baba mesleği olmasından dolayı balıkçılık yaptıkları belirlenmiştir (25-26). Bazı çalışmalarda balıkçıların çoğunluğunun işsizlikten dolayı balıkçılık yaptıkları tespit edilmiştir (18,27-28). Çalışmamızdaki en yüksek oran olan "başka iş seçeneği olmadığı" faktörü işsizlik olarak değerlendirildiğinde bu bahsedilen çalışmalar ile çalışmamızın benzer olduğu söylenebilir.

Van Göl'ünde İnci Kefali avcılığı yapan tekne sahiplerinin %52,7'sinin gelirlerinden memnun olmadıkları belirlenmiştir (Tablo 2). Bu oran tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde daha yüksek çıkmıştır. Tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde kararsızların oranının yüksekliği, gruplar arasındaki bu farklılığın üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Akdeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada balıkçıların %83'ü gelirlerinin yetersiz olduğunu ve Çanakkale'deki (Kuzey Ege) balıkçıların %65,70'inin balıkçılık gelirlerinden memnun olmadıkları saptanmıştır (23,26). Bu sonuçlar çalışmamızla uyumlu olup, balıkçıların çoğunluğunun balıkçılıktan elde ettikleri gelirlerinden memnun olmadıkları tespit edilmiştir.

Van Gölü'nde balıkçı işletme sahiplerinin %38,9'unun balıkçılık kooperatifine üye oldukları tespit edilmiştir (Tablo 2). Tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde bu oran diğer gruba göre daha yüksek çıkmıştır. Kooperatifin kuruluş yeri daha çok tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerin bulunduğu balıkçı barınaklarını kapsamasından dolayı bu gruptaki işletmelerde fazla sayıda üyelik gerçekleşmiştir. Bu çalışmada balıkçıların örgütlenme düzeyinin nicel ve nitel olarak zayıf kaldığı belirlenmiştir. Akdeniz bölgesinde yapılan



çalışmada balıkçıların %83'ünün (23), Akdeniz bölgesindeki başka bir çalışmada balıkçıların %60'ının (11), Çanakkale'deki (Kuzey Ege) balıkçıların %61,57'sinin (26), Doğu Karadeniz'de yapılan çalışmada balıkçıların %54'ünün su ürünleri ya da balıkçılık kooperatifine üye oldukları (14) tespit edilmiştir. Bu sonuçların çalışmamızla uyumlu olmadığı belirlenmiştir. Çalışmamızdaki su ürünleri kooperatifinin amacı doğrultusunda aktif olamadığı için üye sayısı sınırlı kalmış ve örgütlenme düzeyini genişletememiştir.

Bu çalışmadaki işletmelerin %94,4'ünün geleneksel kıyı balıkçılığı desteklemesinden faydalandığı ve işletmelerin yaklaşık %70'inin desteklemeden memnun olmadığı belirlenmiştir (Tablo 2). Desteklemeden faydalananların oranı yüksek olsa da memnun olanların oranı düşük kalmıştır. Avcılar, desteklemenin önemli masraf kalemlerinden bir tanesini bile karşılamamasından dolayı memnun olmadıklarını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada elde edilen masraf kalemlerine ait bulgular ile destek miktarı karşılaştırıldığında, destek miktarının masraf kalemlerine ciddi anlamda katkı sağlamadığı tespit edilmiştir. Oluşturulan gruplar arasında ise desteklemeden faydalananların ve memnun olanların oranı tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olanlarda daha yüksek çıkmıştır. Bu gruptaki işletme sahipleri destek miktarını düşük bulsalar da hiç destekleme olmamasından daha iyi olduğu düşüncesine hâkim olmalarından dolayı memnuniyetlerini belirtmişlerdir. Bu düşüncenin, gruplar arasındaki farklılığın üzerinde etkili olabileceği değerlendirilmektedir.

İşletme sahiplerinin %72,2'sinin sosyal güvencesinin olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 1). Tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmelerde bu oran diğer gruba göre yüksek çıkmıştır. Bu yüksekliğin nedeninin; kamuda işçi, köy korucusu gibi sosyal güvenceye sahip görevlerde bulunan işletme sahiplerinin sayısının tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde fazla olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda balıkçıların çoğunun sosyal güvencesinin olmadığı tespit edilmiştir (5,27,29). Bu sonuçlar ile bu çalışmadaki oranlar benzerdir. Bazı çalışmalarda ise balıkçıların çoğunluğunun sosyal güvencesinin olduğu belirlenmiştir (12,17,25,26,30). Bu çalışmalardaki oranlar ile yapılan bu çalışmadaki sonucun farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu uyumsuzluğun nedeninin, Van Gölü'ndeki tekne sahiplerinin faydalandıkları genel sağlık sigortası haklarının iptal olması endişesi, prim ödeme zorluğu ya da konu ile ilgili kurum-kuruluşların denetimlerinin yetersizliğinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

İşletme sahiplerinin %87,5'i Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığının yanında başka bir ekonomik faaliyet de gerçekleştirmektedirler (Tablo 3). Bu oranın yüksek çıkması, balıkçıların sadece avcılıktan kazandıkları gelirle geçimlerini sağlayamadıkları ve sadece avcılık konusunda uzmanlaşmadıklarından dolayı Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı geleneksel düzeyde yapıldığı şeklinde yorumlanabilir. İşletme sahipleri diğer ekonomik faaliyetlerle daha çok avcılığın yasak olduğu üç aylık dönemde uğraşmaktadırlar. Avcılık dışında başka bir ekonomik faaliyetle uğraşanların çoğunluğu (%42,9) işçidir. Serbest meslek sahibi olan işletme sahipleri daha çok turizm işi yapmakta olup, bunların işçilik ve çiftçiliğe göre daha çok yan gelir sağladıkları tespit edilmiştir. Keban baraj gölündeki çalışmada balıkçıların %32,25'i sadece balıkçılık yapmakta iken tarım faaliyeti ile balıkçılığı beraber sürdürenlerin oranının %67,74 olduğu (27), İznik gölündeki balıkçıların %33,67'sinin sadece balıkçılık, %63,33'ünün balıkçılık dışında tarım faaliyeti ile beraber balıkçılık yapmakta olduğu (25), Doğu Karadeniz'deki balıkçıların %62'sinin balıkçılık dışında ikinci gelirinin olduğu (12) bulunmuştur. Bu sonuçların yapılan çalışmaya yakın olduğu tespit edilmiştir. Bazı çalışmalardaki sonuçlara göre balıkçıların çoğunun geçimini sadece balıkçılık faaliyetinden sağladığı ve çalışmamız ile farklı olduğu düşünülmektedir (12,18,21,23,26,28,31-33). İnci Kefali'nin ekonomik değerinin düşük olmasından dolayı gelirleri düşük kalan işletme sahipleri geçimlerini sağlayabilmek için avcılığın yanında ek bir iş yapmaktadırlar. Özellikle avcılığın yasak olduğu üç aylık dönemde balıkçılar geçimlerini sağlayabilmek için çoğunlukla inşaat sektöründe çalışmaktadırlar. Bu anlamda çalışmamızdaki sonuçların bahsedilen diğer çalışmalardan farklılığının bu şekilde açıklanabileceği düşünülmektedir.

Van Gölü'nde balıkçı tekne sahiplerinin %48,60'ının İnci Kefali avcılığını bırakmayı düşündükleri tespit edilmiştir (Tablo 4). Bu oranın tekne sahiplerinin neredeyse yarısını oluşturduğu ve yüksek olduğu düşünülmektedir. Bu olumsuz durumun, avcılığın yapıldığı göle kıyısı olan köy/mahallelerdeki aktif nüfus için işsizlik, kırsaldan kente göç gibi bazı sorunlara yol açacağı düşünülmektedir. İşletmeler genelinde, avcılığı bırakmayı düşünenlerin %65,8'i maliyetlerin yüksek olması, %17,1'i fiyatların düşük olması, %11,4'ü balık stokunun azalması ve %5,7'si devlet desteğinin yetersiz olmasından dolayı bırakmayı düşündüklerini belirtmişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda da

balıkçıların çoğunluğunun bu mesleği bırakmak istedikleri tespit edilmiştir ve bu yönüyle bu çalışmalar bulduğumuz sonuçlarla benzerdir (5,13,23,26). Başka bir çalışmada bulunan (14) sonuç ise çalışmamızdan farklıdır. İnci Kefali'nin ekonomik değerinin ve talebinin, Türkiye genelinde denizde avlanan balık türlerine göre düşük olmasından dolayı Van Gölü'ndeki balıkçıların gelirlerinin düşük olması bu farklılığın nedeni olabileceği düşünülmektedir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığında kullanılan teknelerin boylarının genel ortalaması 12,56 m olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Van Gölü'nde yapılan başka bir çalışmada tekne boy ortalaması  $12\pm 2,25$  m olarak tespit edilmiştir (4). Bu sonuç yapılan çalışma ile uyumludur. Edirne ili Yeni Karpuzlu baraj gölünde yapılan çalışmada tekne boyları 4,00-6,99 m arasında değiştiği (29), Ulubat (Apoloyont) gölünde yapılan çalışmada tekne boyları 6-6,30 m arasında değişmekte (34), Seyhan baraj gölünde yapılan çalışmada tekne boylarının 6,10-7,00 m arasında değiştiği (32), Manyas gölünde yapılan çalışmada tekne boyları 4-8,5 m aralığında değişmekte (35), Karasu (Sakarya) bölgesi deniz balıkçıları üzerine yapılan araştırmada tekne boyları (%60,72) 6,5-8,00 m arasında yoğunlaştığı (15), Bursa İznik gölünde yapılan çalışmada tekne boyları 6,00-9,00 m arasında değiştiği (25), Işıklı (Denizli) gölünde yapılan çalışmada tekne boyları 5,00-7,30 m arasında olduğu (36), Eğirdir gölündeki çalışmada tekne boy uzunluğu ortalama  $6,0\pm 0,05$  m olduğu (31), Fiji'deki küçük ölçekli balıkçıların tekne boyları 8-20 m arasında değiştiği (19), Kenya Naivasha gölündeki balıkçı teknelerinin ortalama uzunlukları 7,1 m (37) ve Nazik gölünde yapılan bir çalışmada ise balıkçı tekne boy ortalaması  $6,5\pm 1,34$  m olarak tespit edilmiştir (13). Bu bahsedilen çalışmalarda tekne boyları yaptığımız araştırmadakinden daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum balıkçılıkla ekonomik faaliyet anlamında uğraşan kesimin daha büyük tekneler edinmek için yeterli sermaye birikimine sahip olmaması ya da bu amaçla sağlanan finansman olanaklarının yeterli ve uygun koşullarda olmaması, avcılık tekniklerine göre teknelerin boylarının farklılık göstermesi, bu çalışmalarda bahsedilen bölgelerde Van Gölü'ndeki avcılığa göre daha küçük ölçekli balıkçılık yapılması gibi sebeplere bağlanabilir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığında kullanılan teknelerin %59,7'si tekne sahiplerinin öz sermayeleriyle elde edilmiştir (Tablo 6). Tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerin teknelerini borç yoluyla elde etme oranı diğer gruptaki işletmelerden yüksek çıkmıştır. Tekne boy uzunluğu 12 m'nin üstünde olan işletmeler genellikle ortaklık yapısıyla kurulduğundan şahıslar kendi sermayelerini ortaya koyarak teknelerini elde ettiklerinden bu grupta borçlanma oranı diğer gruba göre düşük kalmıştır. Orta ve Doğu Karadeniz bölgelerinde yapılan çalışmada tekne sahiplerinin %75,16'sı (38), Karadeniz bölgesinde yapılan başka bir çalışmada tekne sahiplerinin %79,87'si (20) kendi imkanları ile teknelerini elde ettikleri bildirilmiştir. Türkiye'nin Kuzeydoğu Akdeniz kıyısında Hatay ilinde yapılan çalışmada balıkçıların %59'u öz sermayesiyle tekne sahibi olduğu bildirilmiştir (28). Bu çalışmalarda tekne elde etme şekillerine ait sonuçlar çalışmamızla benzerdir.

Bu çalışmada işletmelerin kullandığı teknelerin motor gücünün genel ortalaması 135,8 BG olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Van Gölü'nde yapılan bir çalışmada teknelerin motor gücü ortalaması  $92\pm 36,75$  BG olarak tespit edilmiştir (4). Bu sonuç yapılan çalışmadaki değerden düşüktür. Çalışmamızda bu sonucun yüksek çıkmasının nedeni; tekne sahiplerinin son zamanlarda tekne motorlarında değişikliğe gidip, daha yüksek güce sahip motorları tercih etmelerinden kaynaklanmaktadır. Eğirdir gölünde yapılan çalışmada teknelerin motor güçlerinin ortalama 10 HP olduğu (31), Keban baraj gölünde yapılan çalışmada tekne motor güçlerinin 7-32 HP arasında değiştiği (27), Güney Karadeniz'de yapılan çalışmada teknelerin motor gücü ortalama 61 HP (12), Foça'da yapılan çalışmada teknelerin ortalama motor gücü 324 HP (16), Vietnam'daki çalışmada teknelerin motor gücü 11-80 HP arasında değiştiği (39), Nazik gölünde yapılan çalışmada teknelerin motor güçleri  $14,11\pm 6,08$  BG (13) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızla farklılık göstermekte olup, bu değerlerin av sahalarına, avcılık tekniklerine, bölgelere, uluslara ve ekonomik olanaklara göre değişebileceği düşünülmektedir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yapan tekne sahiplerinin bir sezonda ava çıktıkları gün sayısı minimum 150, maksimum 250 ve ortalama 214,03 gün olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Bu değer Düzce ili Akçakoca ilçesinde yapılan çalışmada balıkçıların yarısının 7 aydan fazla balıkçılık faaliyetinde buldukları (18), Aşağı Sakarya nehri balıkçılığı üzerine yapılan çalışmada balıkçıların av süresinin 150-270 gün arasında değiştiği (40), Ege denizinde yapılan bir çalışmada av süresinin 70-305 gün arasında değiştiği ve ortalama  $191\pm 62$  gün olduğu (21), Eğirdir gölünde yapılan çalışmada 108-300 gün arasında değiştiği tespit edilmiştir (31) ve yeni karpuzlu baraj gölündeki balıkçıların avlanma süresi 100-299 gün arasında değişmektedir (29). Bu sonuçlar çalışmamızla benzerdir.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yapan işletmelerdeki işçi sayısı minimum 1 kişi, maksimum 6 kişi ve ortalama 2,38 kişi olarak tespit edilmiştir. Van Gölü balıkçılığının sosyo-ekonomik yapısını ortaya koymak için yapılan bir çalışmada teknelerde çalışan iş gücü  $2,34 \pm 0,77$  kişi olduğu (5), Karasu balıkçı teknelerindeki işçi sayısı 1-8 kişi arasında değişmektedir (15) ve bu sonuçlar çalışmamızla benzerdir. Vietnam'da yapılan bir çalışmada teknede çalışanların sayısının 7-12 arasında değiştiği (39), Foça'daki bir çalışmada teknelerde kaptan dâhil çalışan sayısının ortalama 4 kişi olduğu (16), Mersin Taşucu'nda trol teknelerinde yapılan çalışmada işçi sayısının ortalama 4 kişi olduğu (41) tespit edilmiştir. Bu sonuçların yapılan çalışmayla uyumsuz olduğu tespit edilmiştir. Bu uyumsuz durum, bahsedilen çalışmalar gırgır ve trol avcılığı üzerine yapılan çalışmalar olup, bu avcılık yöntemlerinde kullanılan teknelerin, işgücü ihtiyacının farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çalışma kapsamındaki işletmelerin %23,60'ında sadece aile işgücü, %27,80'inde sadece yabancı işgücü ve %48,60'ında aile ve yabancı işgücü birlikte kullanılmaktadır (Şekil 2). Doğu Karadeniz'de yapılan bir çalışmada teknelerdeki işgücünün %20'si aile işgücü, %50'si yabancı işgücü, %7'si hem aile hem yabancı işgücü ve %23'ü de tekne sahibinin kendisinin çalışmasıyla karşılandığı tespit edilmiştir (14). Akdeniz bölgesi sahil şeridindeki deniz balıkçılığı üzerine yapılan çalışmada işçilerin %76'sı yabancı, %22'si aile, %22'sinin hem yabancı hem aileden olduğu tespit edilmiştir (23). Bu söz edilen çalışmalardaki değerler çalışmamızla farklılık göstermektedir ve bu durum bölgesel ve sosyo-ekonomik farklılıktan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yabancı işgücünden yararlanma oranı tekne boy uzunluğu 12 m ve altında olan işletmelerde diğer gruba göre daha yüksek çıkmıştır. Göl çevresinde, özellikle bu işletmelerin bulunduğu yerlerdeki gençlerin sektör içerisinde aktif olarak yer almalarından dolayı bu oranın daha yüksek çıktığı düşünülmektedir.

Tüm Dünya'da etkisini gösteren iklim değişikliği-kuraklık Van Gölü'nü de etkilemektedir. İklim değişikliği-kuraklık ile göldeki su seviyesi de azalmakta ve tabanı taşlık bir yapıya sahip olan Van Gölü'ndeki teknelerin bu taşlardan dolayı pervaneleri kırılabilir. Bundan dolayı pervane tamiratı ya da değişimiyle tekne bakım-onarım masrafları artmakta ve işletme sahiplerinin kârlılığını olumsuz etkilemektedir. Bu sorunun engellenmesi için yetkili otoriteler tarafından taşlık zemindeki taşların kırılarak ya da gölden uzaklaştırılarak veya balıkçı barınaklarının yeniden inşası ile teknelerin kullanımına uygun hale getirilmesi yönünde çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca bu sorunun temelindeki en önemli neden olan iklim değişikliği-kuraklık konusunda insanların en etkili şekilde bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Böylece tekne sahiplerinin bu sorundan kaynaklı maliyetleri azalacak ve balıkçı barınakları daha kullanışlı olacaktır.

Van Gölü'nde İnci Kefali avcılığı yapan işletme sahipleri fiyatların belirlenmesinde etkili olamamaktadırlar. Tekne sahipleri sezon başlamadan önce tekne bakım-onarım, ağ masrafları gibi bazı giderler için komisyoncu/toptancıya borçlanmaktadırlar. Komisyoncular, tekne sahiplerinin sezon boyunca avladıkları balıkları borçlarına göre fiyat belirleyerek satın almaktadırlar. Van ve Bitlis illerinde bir balık halinin ya da pazarının olmaması ve fiyatların belirlenmesinde tek söz sahibinin komisyoncuların olduğu bir piyasada fiyatların istikrarsız olması kaçınılmazdır. Böylece fiyat düşüklüğü oluşmakta, avcılar fiyatlar konusunda söz sahibi olamamakta ve kârlılıkları da olumsuz etkilenmektedir. Van ve Bitlis illerinde bir balık halinin ya da pazarının kurulması, balıkçıların ortak hareket etmeleri ve inci kefalinin en iyi şekilde tanıtımının yapılarak Türkiye genelinde ya da balık işleme sektörüne ham madde sağlama gibi alternatif pazarların oluşturulmasıyla bu sorunun çözümü sağlanabilir.

Van Gölü'ndeki balıkçı barınaklarının güvenlik ve işlevsellik açısından yetersizliği İnci Kefali avcılığını etkilemektedir. Barınaklarda teknelerin bakım-onarımının yapılması için uygun çekek yerlerinin olmaması ve bu nedenle karaya çekilirken vinç gibi iş makinelerinin kullanılması Van Gölü'nde tekne sahiplerinin maliyetlerinin artmasına yol açmaktadır. Van gölünde balıkçı barınaklarına uygun çekek yerlerinin inşa edilerek ve barınakların daha işlevsel, güvenli olması için yetkili mercilerin gereken özeni göstermelerinin ya da ilgili kurumlarca bu konuda desteklemelerin sağlanmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Bölgede İnci Kefali avcılığı ile ilgili kooperatifin amacına göre hizmet etmediği, üyelerinin çıkarlarını sağlama, alet-ekipman temini, ucuzca girdi temini, avlanan balıkların depolanması ve pazarlanması gibi konularda yetersiz kalmaktadır. Kooperatifin bahsedilen konularda daha aktif olması için çaba sarf etmesi ve üye sayısının artırılarak birlikteliğin geliştirilmesiyle örgütlenme sorununun önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Van Gölü'nde resmi olarak izinleri olmadığı halde avcılık yapan balıkçılar, özellikle balıkların üreme

döneminde göç yollarına ağlar atarak yumurtalı balıkları bilinçsiz bir şekilde avlamaktadırlar. Bu şekilde nesli yakın tehdit altında olan İnci Kefali stokuna zarar vermekte ve resmi olarak avlamaya izni olan avcılar için inci kefali avcılığının sürdürülebilir olması açısından olumsuz bir durum oluşturmaktadır. Tekne sahipleri, konu ile ilgili denetimlerin artırılması ve yetkili mercilerin bu soruna daha kalıcı bir çözüm bulmalarını beklemektedirler.

Van Gölü'nde endemik bir tür olan ve nesli yakın tehdit altında olan İnci Kefalinin aşırı avcılığının yapılmaması büyük önem arz etmektedir. Aşırı avcılığın engellenmesi konusunda tekne sahiplerinin görüşleri sorulmuştur. İşletme sahiplerinin bir kısmı, bir seferde tutulan av miktarının sınırlandırılmasının bu konu için önemli olduğunu belirtmişlerdir. Van Gölü'nde endemik bir tür olan İnci Kefali stokunun korunması ve avcılığının sürdürülebilir olması açısından bu durum yetkili mercilerce gözden geçirilebilir.

Aşırı avcılığın engellenmesi konusunda tekne sahiplerinin bir kısmı, çok miktarda balık avlanmasına neden olan misina ağlarının Van Gölü'nde kullanımının yasaklanmasının aşırı avcılığın engellenmesine ve nesli yakın tehdit altında olan İnci Kefali stokunun zarar görmemesinin önüne geçilmesi açısından yararlı olacağını düşünmektedirler. Çalışma esnasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi ile yapılan görüşmede, misina ağların seçiciliğinin düşük olmasından dolayı fazla miktarda balık avladığını, bu ağların avcılık esnasında çabuk kopabilen bir yapısının olmasından dolayı gölde mikroplastik yükünü artırmakta ve ghost (hayalet) avcılığa neden olarak hem balık stokuna zarar verdiği hem de göldeki diğer canlılara zarar verdiği ifade edilmiştir (42). Bu nedenle Van Gölü'nde misina ağların kullanımının uygunluğunun yetkili otoritelerce yeniden değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Sonuç olarak, bu çalışmadaki sosyo-ekonomik veriler ve belirlenen sorunlar Van Gölü'nde sürdürülebilir balıkçılık, geliştirilecek politikalar ve alınacak tedbirler açısından yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

### **Teşekkür**

Bu çalışma birinci yazarın doktora tezinden üretilmiştir ve çalışmanın genişletilmiş özeti, 20-23 Ekim 2022 tarihinde düzenlenen IV. Ulusal Hayvancılık Ekonomisi Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Makalenin yazarları arasında bu çalışma kapsamında herhangi bir kişisel ve finansal çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### **Finansal Kaynak Beyanı**

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

### **Yazar Katkısı Beyanı**

Fikir/kavram: Ömer GEZGİNÇ, Yavuz CEVGER

Denetleme/Danışmanlık: Yavuz CEVGER

Veri toplama: Ömer GEZGİNÇ

Veri analizi ve yorum: Ömer GEZGİNÇ, Yavuz CEVGER

Kaynak taraması: Ömer GEZGİNÇ

Makalenin yazımı: Ömer GEZGİNÇ, Yavuz CEVGER

Eleştirel inceleme: Yavuz CEVGER

### **Etik Onay**

Bu makaledeki sunulan verilerin, bilgilerin ve dokümanların akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edildiği, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçlarının bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunulduğuna dair yazarlardan etik beyan alınmıştır.

## Kaynaklar

1. Şakıma İ ve Çevrimli MB. Türkiye Su Ürünleri Sektöründe Mevcut Durum, Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Vet Hekim Der Derg 2021;92(2):198-218.
2. Arslan G ve Yıldız PO. Türkiye Su Ürünleri Sektörüne Genel Bakış. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi 2021;7(1):46-57.
3. Akkuş M. Van Gölü Balıkçılık Yönetimi ve İnci Kefali (*Alburnus tarichi* Guldenstaedtii, 1814) Koruma Çalışmaları. Doğanın Sesi Dergisi 2021;8: 47-59.
4. Bozaoğlu AS, Akkuş M, Yeşil A. Pearl Mullet (*Alburnus tarichi* (Guldenstaedtii, 1814)) Fishing with Trammel Nets in Lake Van. Comm J Biol 2019;3(1):27-31.
5. Bozaoğlu AS, Yeşil A. The Socio-Economic Structure of Lake Van Fishery. Fresenius Environmental Bulletin 2019;(28)10 7206-7211.
6. TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu Su Ürünleri İstatistikleri Veri Tabanı. Erişim Adresi: [https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr], Erişim Tarihi: 31/12/2022.
7. FAO. Report of the Forty-third Session of the General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM), Athens, Greece, 4-8 November 2019, GFCM Report no.43, 2020, Rome. https://doi.org/10.4060/ca8379en
8. FAO. Fisheries and Aquaculture. Small-scale fisheries. Erişim Adresi: [https://www.fao.org/fishery/en/ssf/en], Erişim Tarihi: 24.05.2021.
9. Anonymous. Official Journal of the European Union. Regulation (EU) No 508/2014 of the European Parliament and of the Council 15 May 2014 on the European Maritime and Fisheries Fund and Repealing Council Regulations (EC) No 2328/2003, (EC) No 861/2006, (EC) No 1198/2006 and (EC) No 791/2007 and Regulation (EC) No 1255/2011 of the European Parliament and of the Council. 2014, Brussels, Belgium.
10. Karakuş Y. Avrupa Birliği'nde Küçük Ölçekli Balıkçılığın Sosyo-Ekonomik Durumu, Yönetimi ve Türkiye ile Karşılaştırılması. AB Uzmanlık Tezi, 2015, Ankara.
11. Taşdan K, Çeliker SA, Arısoy H, Ataseven Y, Dönmez D, Gül U, Alkan D. Akdeniz Bölgesi'nde Su Ürünleri Avcılığı Yapan Sosyo-Ekonomik Analizi. TEAE Yayın No: 179, 2010, Ankara.
12. Dağtekin M, Mısır Ds, Şen İ, Altuntaş C, Balçık Mısır G, Çankaya A. Small-scale Fisheries in the Southern Black Sea: Which Factors Affect Net Profit? Acta Ichthyologica et Piscatoria 2021;(51)2:145-152.
13. Bozaoğlu AS & Akkuş M. Nazik Gölü Balıkçılığı Üzerine Bir Araştırma. Anadolu Çev ve Hay Dergisi 2019;4(3) 380-386.
14. Erdoğan Sağlam N, Özbek G, Düzgüneş E. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Deniz Balıkçılarının Sosyoekonomik Yapısı. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2016;(33)3:259-270.
15. Uzmanoğlu S, Soylu M. Karasu (Sakarya) Bölgesi Deniz Balıkçılarının Sosyo-Ekonomik Yapısı. EÜ Su Ürünleri Dergisi 2006;(23)Ek-1/3:515-518.
16. Ünal V. Viability of Trawl Fishing Fleet in Foça (The Aegean Sea), Turkey and Some Advices to Central Management Authority. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 2004;(4):93-97.
17. Doğan K, Gönülal O. Gökçeada (Ege Denizi) Balıkçılığı ve Balıkçıların Sosyo-Ekonomik Yapısı. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi 2011;(2)5:57-69.
18. Yağlıoğlu D. Akçakoca (Batı Karadeniz) Balıkçılığı ve Balıkçıların Sosyo-Ekonomik Analizi. Ormancılık Dergisi 2013;(9)1:35-42.
19. Reddy M. Economic Analysis of Artisanal Fisheries in Fiji: Issues of Profitability and Sustainability. South Pacific Studies 2004(25)1:35-47.
20. Çeliker SA, Korkmaz AŞ, Dönmez D, Gül U, Demir A, Genç Y, Kalanlar Ş, Özdemir İ. Karadeniz Bölgesi'nde Su Ürünleri Avcılığı Yapan İşletmelerin Sosyo-Ekonomik Analizi. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 143, 2006, Ankara.
21. Birkan R, Öndes F. Socio-economic Characteristics of Small-Scale Fisheries in the Aegean Sea, Turkey (eastern Mediterranean) Acta Ichthyol Piscat 2020;50(3) 257-268.
22. Sangün L, Güney Oİ, Berk A. Economic Efficiency Performance of Small-Scale Fisheries In The East Mediterranean Coast Of Turkey. New Medit N 2018;(4):71-80.

23. Erdoğan Sağlam N, Karadal E. Akdeniz Bölgesi Sahil Şeridi Deniz Balıkçılığının Sosyoekonomik Yapısı. Süleyman Demirel Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi 2016;(12)2:158-169.
24. Sanon VP, Ouedraogo R, Toe P, El Bilali H, Lautsch E, Vogel S And Melcher AH. Socio-economic Perspectives of Transition in Inland Fisheries and Fish Farming in a Least Developed Country. Sustainability 2021;(13):2985.
25. Doğan K. İznik Gölü (Bursa) Gümüş Balığı Avcılığı Yapan Tekne Sahibi Balıkçıların Sosyo-Ekonomik Analizi. Journal of Fisheries Sciences 2009;(3)1:58-67.
26. Şahin E, Özekinci U. Socio-economic Status of Small-Scale Fisheries, Çanakkale (Northern Aegean) Turkey. COMU J Mar Sci Fish 2020;(3)1:19-26.
27. Dartay M, Duman E, Duman M, Ateşşahin T. Keban Baraj Gölü Pertek Bölgesi Balıkçılarının Sosyo-Ekonomik Analizi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2009;(26)2:135-138.
28. Gürlek M, Atay B. Socio-economic Status of Small-Scale Fishery of the Hatay Region in Northeastern Mediterranean Coast of Turkey. NESciences 2021;(6)2:112-126.
29. Uzmanoğlu S, Soylu M. Yeni Karpuzlu Baraj Gölü Balıkçılarının Sosyo-Ekonomik Yapısı. Ege J Fish Aqua Sci 2012;(29)4:175-179.
30. Çeliker SA, Korkmaz AŞ, Dönmez D, Gül U, Demir A, Genç Y, Kalanlar Ş, Özdemir İ. Ege Bölgesi'nde Su Ürünleri Avcılığı Yapan İşletmelerin Sosyo-Ekonomik Analizi. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 168, 2008, Ankara.
31. Uzmanoğlu S, Morkoyunlu Yüce A, Bilgin F, Soylu M. Eğirdir Gölü Balıkçı Profili. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi 2013;(9)2:8-13.
32. Ergüden D, Ergüden SA, Öztekin R. Seyhan Baraj Gölü (Adana) Balıkçı Profili Durumu. Ulusal Su Günleri 2007, Türk Sucul Dergisi 2007(3-5)5-8: 447-454.
33. Yücel Ş. Orta Karadeniz Balıkçılığı ve Balıkçıların Sosyo-Ekonomik Durumu. EÜ Su Ürünleri Dergisi 2006;(1)3:529-532
34. Özer A, Soylu M, Uzmanoğlu S. Uluabat (Apolyont) Kadın Balıkçılarının Profili. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi 2010(25)2:11-24.
35. Avan S. Manyas Gölü Balıkçılarının Sosyo-ekonomik Yapısı. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2007, İstanbul.
36. Cesur M, Çapkın K, Cilbiz M. A Socio-economic Analysis of Fishermen in Işıklı Lake, Denizli, Turkey. Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture 2014;2:85-92.
37. Yongo Eo, Morara G, Ojuok J, Nyamweya C, Ojwang Wo, Masai M and Wasike C. Socio-economic Aspects of Fisheries Management in Lake Naivasha. African Journal of Tropical Hydrobiology and Fisheries 2013;(13):27-32.
38. Özyurt R. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgeleri'nde Yapılan Küçük Ölçekli / Artisanal Balıkçılığın Sosyo-Ekonomik Durumu. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2013, Trabzon.
39. Luong Nt. Economic Performance Indicators for Coastal Fisheries – The Case of Pure-Seining In Khanh Hoa, Vietnam. Master Thesis in Fisheries and Aquaculture Management and Economics. The Norwegian College of Fishery Science University of Tromsø, Norway & Nha Trang University, 2009, Vietnam.
40. Reis İ, Cerim H, Ateş C. Aşağı Sakarya Nehri Balıkçılarının Sosyo-Ekonomik Analizi. Aquat Res 2020;(3)2:66-71.
41. Rad S, Delioğlan Ş. Taşucu Trol Teknelerinin Ekonomik Yapısı ve Performansı. Journal of Fisheries Sciences 2008;(2)3:216-223.
42. Akkuş M. Van Gölünde İnci Kefali Avcılığı. 2021;(Gezginç Ö, Röportaj Yapan).



doi 10.33188/vetheder.1329707

Olgu Sunumu / Case Report

## A rare case of perivulvar hemangiosarcoma in a bitch

Zeynep GÜNAY UÇMAK <sup>1,a\*</sup>, Gülay YÜZBAŞIOĞLU ÖZTÜRK <sup>2,b</sup>, İsmail KIRŞAN <sup>1,c</sup>, Aslıhan BAYKAL <sup>1,d</sup>,  
 Ahmet GÜLÇUBUK <sup>2,e</sup>, Egemen MAHZUNLAR <sup>3,f</sup>

<sup>1</sup> Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University- Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University- Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye

<sup>3</sup> Institute of Graduate Studies, Istanbul University- Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye

<sup>ID</sup> 0000-0003-2530-1291<sup>a</sup>; 0000-0002-1761-0409<sup>b</sup>; 0000-0003-0780-0118<sup>c</sup>; 0000-0002-2107-1874<sup>d</sup>; 0000-0002-9722-8831<sup>e</sup>; 0000-0002-6815-6082<sup>f</sup>

### MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFORMATION:

#### Geliş / Received:

19 Temmuz 23

19 July 23

#### Revizyon/Revised:

5 Eylül 23

5 September 23

#### Kabul / Accepted:

20 Eylül 23

20 September 23

#### Anahtar Sözcükler:

Dişi Köpek

Hemanjiosarkom

İmmünohistokimya

Perivulvar

#### Keywords:

Bitch

Hemangiosarcoma

Immunohistochemistry

Perivulvar

©2024 The Authors.

Published by Veteriner

Hekimler Derneği. This is

an open access article

under CC-BY-NC license.

(https://creativecommons.

org/licenses/by-nc/4.0)



### ABSTRACT

An 11-year old, Rottweiler bitch was presented to the clinic with the complaint of a huge mass protruding from the left side of the vulvar labium. The bitch had been ovariohysterectomized due to the pyometra 2 years ago. The perivulvar mass was surgically removed by using an electrocautery device under general anesthesia. Macroscopically, the pedunculated mass was 20 cm x 25 cm in diameter, capsulated and slightly firm. Histopathological examination revealed that the mass was a hemangiosarcoma originating from the mucosa. Marked anisocytosis and anisokaryosis were noted in microscopic examination. Immunohistochemically, neoplastic cells showed positive staining for von-Willebrand factor-related antigen. On postoperative 3<sup>rd</sup> and 12<sup>th</sup> month follow-up protocols, the female dog was in good health condition and no metastases were detected in any organ. In this report, clinical follow-up, histological and immunohistological examination of a rare perivulvar hemangiosarcoma case in a female dog was presented.

### Dişi bir köpekte nadir bir perivulvar hemanjiosarkom olgusu

#### ÖZET

Onbir yaşında, Rottweiler ırkı, dişi bir köpek vulvar labiumun sol yanından çıkıntı yapan kitle şikayeti ile kliniğimize getirildi. Köpeğe 2 yıl önce pyometra nedeniyle ovariohisterektomi uygulanmıştı. Genel anestezi altında elektrokoter cihazı kullanılarak perivulvar kitle cerrahi olarak çıkarıldı. Makroskopik olarak 20 cm x 25 cm çapında, kapsüllü ve hafif sert saph kitle görüldü. Histopatolojik incelemede, kitlenin mukozadan köken alan bir hemanjiosarkom olduğu saptandı. Mikroskopik incelemede belirgin anizozitoz ve anizokaryoz kaydedildi. İmmünohistokimyasal olarak neoplastik hücreler, von-Willebrand faktörü ile ilişkili antijen için pozitif boyanma gösterdi. Operasyon sonrası 3. ve 12. ay takip protokollerinde köpeğin sağlık durumu iyiydi ve herhangi bir organa metastaz göstermedi. Bu olgu sunumunda, dişi bir köpekte nadir görülen bir perivulvar hemanjiosarkom olgusunun klinik takibi, histolojik ve immünohistolojik bulguları sunulmuştur.

**How to cite this article:** Uçmak Günay Z, Öztürk Yüzbaşıoğlu G, Kırşan İsmail, Baykal A, Gülçubuk A, Mahzunlar E. A rare case of perivulvar hemangiosarcoma in a bitch. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 60-65, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1329707

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: zeynep.gunayucmak@iuc.edu.tr

## 1. Introduction

Hemangiosarcomas (HSA) are malignant tumors of endothelial cells which are usually spindle-shaped in appearance (1). The mean age of diagnosis ranges from 9 to 12 years in dogs (2). Although no sex and breed predisposition are specified, German Shepherd, Boxer, Great Dane, Golden Retriever, English Setter and Pointer breeds have increased incidence (3). Though the primary involvement site is the spleen, HSA can affect the liver, heart, lungs, kidneys, skin, oral cavity, muscle, and peritoneum (3-5). Although visceral HSAs are very aggressive tumors with high mortality rates, dermal HSAs have lower metastatic potential and less aggressive biological behaviour (2, 4, 6). Compared to visceral hemangiosarcomas, cutaneous hemangiosarcomas are less aggressive and show a low metastasis rate. It has been reported that chronic solar irradiation can be the cause of dermal hemangiosarcoma (7). It was aimed to report clinical follow-up, histological and immunohistological examination of a rare perivulvar hemangiosarcoma case in a bitch.

## 2. Case Story

An 11-year-old, Rottweiler bitch was presented to the clinic with the history of a large tumor mass protruding from the left side of the vulvar labium. The owner noticed the perivulvar mass one year ago when it was approximately three cm in diameter vertically. However, any treatment had not been applied at this time. The tumoral mass was approximately 25 cm in diameter (Figure 1A.), capsulated and had a slightly firm structure. The bitch had been ovariohysterectomized due to the pyometra 2 years ago.



**Figure 1:** (a) A huge mass on the left perivulvar area, (b) Image of the operation area after the mass was surgically extirpated.

**Şekil 1:** (a) Sol perivulvar bölgede büyük bir kitle, (b) Kitle cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra operasyon bölgesinin görüntüsü.

## Clinical examination and treatment

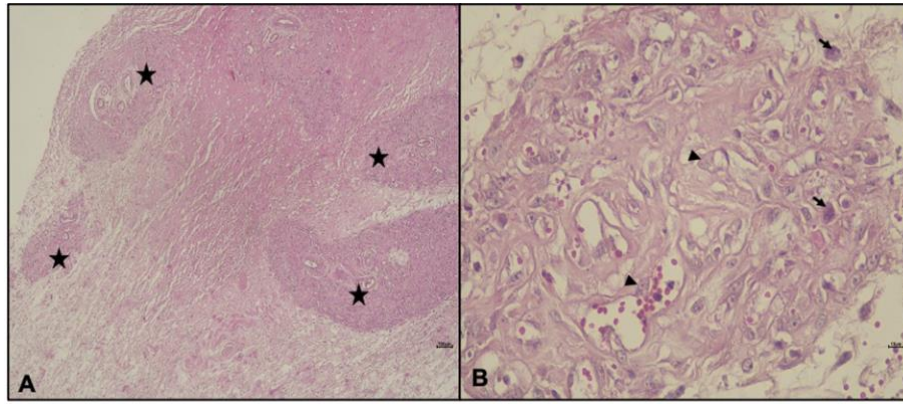
Complete blood count (CBC) and biochemical parameters (glucose, creatinine, blood urea nitrogen, blood urea nitrogen/creatinine (BUN/CREA), total protein, globulin, albumin, albumine/globuline (ALB/GLOB), alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, calcium and inorganic phosphorus) were within normal limits. There was no evidence of vaginal disorders such as hyperplasia, prolapses or tumor in the vaginal examination. Three-view thoracic radiography and abdominal ultrasonography were applied to determine the presence of any metastasis. Any metastatic foci were not visualized on abdominal organs and thorax. General anesthesia was induced by 1% propofol (4 mg.kg<sup>-1</sup>, iv) (Lipuro®, Braun, England) and maintained with 3% isoflurane (Forane likid®, Abbott Laboratories, England) and 2% oxygen combination. The perivulvar mass was surgically removed by using an electrocautery device. The skin was sutured with an absorbable material (Monocryl No:2/0, Medeks, Turkey) by subcutaneous simple continued route (Figure 1B.). The suture line healed within ten days. For postoperative care; enrofloxacin 5% (5 mg.kg<sup>-1</sup>, sc, s.i.d.) (Bayartil-K® 5%, Bayer, Türkiye), vitamin B12 (40 mcg.kg<sup>-1</sup>, im, s.i.d.) (Dodex®, Deva, Türkiye), sucralfate (1 g, per



dog, oral, s.i.d.) (Antepsin®, Bilim İlaç, Türkiye) and meloxicam (0.2 mg.kg<sup>-1</sup>, sc, s.i.d.) (Maxicam®, Sanovel, Türkiye) were prescribed for a week.

### Histopathological examination

Surgically removed tissues were submitted to the pathology department of our faculty for histopathological examination. Tissue samples were fixed in 10% neutral buffered formalin. After being routinely processed they were embedded in paraffin. Sections cut at 4 µm in thickness were stained with Hematoxylin&Eosin (H&E) to be evaluated with light microscopy. Tissue sections were immunohistochemically stained with anti-von Willebrand (vWF) factor antibody (1:1000; rabbit polyclonal, Ab6994; Abcam) using streptavidin–biotin–peroxidase method described before (7). Macroscopically, the pedunculated mass was 20 cm x 25 cm in diameter, capsulated and slightly firm. The cut surface was hemorrhagic and contained black colored areas.

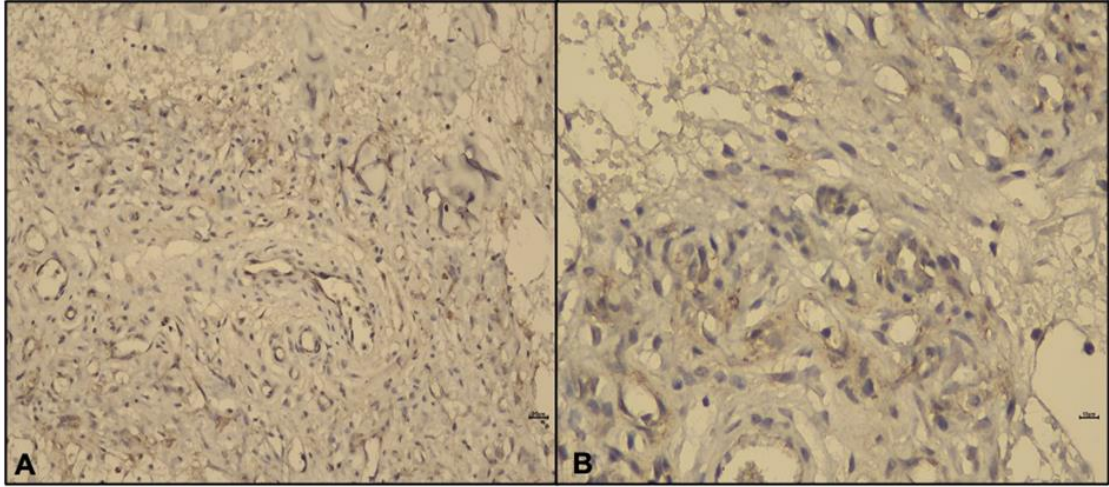


**Figure 2. (a)** The neoplasm is composed of islets of neoplastic cells (stars) scattered in loose collagen. H&E, Bar = 1000 µm, **(b)** Pleomorphic neoplastic cells that formed the irregular vascular spaces and irregular shaped vascular channels filled with red blood cells (RBCs) in their lumens (arrowhead). Marked anisocytosis, anisokaryosis and mitotic figures (arrow) are seen. H&E, Bar=10 µm.

**Şekil 2. (a)** Neoplazm, gevşek kollajen içinde dağılmış neoplastik hücre adacıklarından (yıldızlar) oluşur. H&E, Bar = 1000 µm, **(b)** Düzensiz vasküler boşlukları ve lümenlerinde kırmızı kan hücreleriyle dolu düzensiz şekilli vasküler kanalları oluşturan pleomorfik neoplastik hücreler (ok başı). Belirgin anizositoz, anizokaryoz ve mitotik figürler (ok) görülüyor. H&E, Bar=10 µm.

Histopathological analysis revealed that the extirpated mass was a hemangiosarcoma, originating from the mucosa of the perivulvar area. Histologically, the tumor consisted of haphazardly scattered islets of different sizes in loose collagen (Figure 2A.). The neoplastic cells that formed the irregular vascular spaces were varying from spindle to polygonal in shape with small to moderate amounts of eosinophilic cytoplasm and indistinct cytoplasmic borders. The nuclei of individual cells were hyperchromatic, round to oval, containing 2-3 prominent nucleoli. Marked anisocytosis and anisokaryosis were noted (Figure 2B.). Mitosis was few with 3 per 10 high-power field. Immunohistochemically, neoplastic cells showed positive staining for von-Willebrand factor-related antigen (Figure 3A. and Figure 3B.).

Abdominal ultrasonography, thoracic radiography, hemogram and some biochemical parameters were performed three months after the operation to check for metastases and no suspicious mass was observed. Similarly, the female dog was found to be in good health at the follow-up one year later.



**Figure 3:** Immunohistochemical staining of the neoplastic cells for von Willebrand Factor (vWF). Positive reaction were observed in tumor cells as intracytoplasmic brown granules. The sections were counterstained with Mayer hematoxylin. (a) Bar = 20 µm and (b) Bar= 10 µm

**Şekil 3:** Von Willebrand Faktörü (vWF) için neoplastik hücrelerin immünohistokimyasal boyanması. Tümör hücrelerinde intrasitoplazmik kahverengi granüller halinde pozitif reaksiyon gözlemlendi. Kesitler, Mayer hematoksilin ile karşıt boyamaya tabi tutuldu. (a) Bar = 20 µm ve (b) Bar = 10 µm

### 3. Discussion and Conclusion

The incidence of HSA is high in dogs than any other animal species (3). The occurrence of HSAs has usually been reported in dogs older than 8 years of age (2,3). In consistent with the previous reports, this dog with perivulvar hemangiosarcoma was 11 years old. Although no breed predisposition was specified in the literature (3), Rottweiler was not one of the breeds that had increased incidence. Studies showed that neutering increase HSA development especially in the spleen and heart. Hormonal association with canine HSA has been reported with regard to spaying, and female dogs spayed at a later age have a higher percentage of HSA development compared to female dogs spayed at an early age (8,9). Spayed female dogs have 5 times more risk of HSA than intact female dogs (10). Torres de la Riva et al. (8) suggested, cells that become sensitive to estrogen as a result of multiple cycles may undergo neoplastic transformation with the disappearance of the protective effect of estrogen after sterilization. In this case, HSA developed 2 years after the female dog has been neutered at 9 years old.

HSAs are malignant tumors of vascular endothelial cells (1). In the current case, the histomorphological findings such as marked anisocytosis, anisonucleosis, and irregular vascular canals surrounded by polymorphic neoplastic cells confirmed the tumor as HSA. Azizi et al. (11) considered the presence of blood vessels of different sizes lined by polymorphic endothelial cells as evidence of malignancy. Von-Willebrand factor antibody has been used to identify vascular neoplasms in dogs (12). Immunohistochemical examination of neoplastic cells showed a positive reaction to the von-Willebrand factor.

Although anemia and neutrophilic leukocytosis were the most common hematological abnormalities of HSA (13), CBC and biochemical parameters were determined within reference ranges in this case. However, CBC parameters became close to the upper limit of the reference range one month after the surgical removal of the perivulvar mass. An increase in hematological parameters may have occurred as a result of the presence of a large amount of bleeding focus in HSA tumors and the elimination of blood accumulation with tumor excision as Brown (4) reported. In dogs, the most common primary sites for HSA are the spleen, liver and right auricle of the heart, although primary dermal HSAs have also reported (3-5). Primary HSAs of the vagina are quite rare in both domestic animals and humans. There are case reports of vulvar HSA in a dog (14), cow (15) and mare (16) in the literature. In this report, a rare case of HSA in perivulvar mucosa of a female dog is presented. The main mechanisms of metastasis of HSA are via the

hematogenous route and the common sites of metastasis are the lung, liver and omentum (17). Cutaneous HSA tends to have a lower metastatic rate, and they are generally associated with longer survival times (2). Also, lung metastasis and atrial metastasis were not observed in a female dog with vulva-vaginal hemangiosarcoma (14). In this case, no metastasis was found in the clinical examinations performed during one year after the surgical intervention. There were several reports on the treatment of HSA with chemotherapy, antiangiogenic drugs, surgery or their combinations (18,19). Treatment with surgery and chemotherapy (doxorubicin) combination was provided longer survival time compared to the dogs treated with surgery alone (274 days versus 66 days) (19). Sorenmo et al. (18) reported that median survival times in dogs with HSA treated with surgery alone were 3 weeks to 2 months whereas the median survival times of the dogs treated with surgery and chemotherapy combination were 3 to 6 months. In this case, only surgery was performed as a treatment of HSA and unlike with Sorenmo et al. (18), the dog is still alive although one year has passed since treated surgically. It was concluded that HSA cases could be treated by surgery alone but it should be followed-up regularly during the post-operative life time.

### **Conflict of Interests**

There is no personal or financial conflict of interest between the author(s) of the article within the scope of the study.

### **Funding**

During this study, any pharmaceutical company that has a direct connection with the subject of the research, a company that provides and/or produces medical instruments, equipment and materials, or any commercial company, during the evaluation process of the study, will receive financial and/or any moral support that may adversely affect the decision to be made regarding the study.

### **Authors' Contributions**

Motivation / Concept: Zeynep Günay Uçmak, Gülay Yüzbaşıoğlu Öztürk

Design: İsmail Kırşan, Ahmet Gülçubuk

Control/Supervision: İsmail Kırşan, Ahmet Gülçubuk

Data Collection and / or Processing: Aslıhan Baykal, Egemen Mahzunlar

Analysis and / or Interpretation: Zeynep Günay Uçmak, Gülay Yüzbaşıoğlu Öztürk

Literature Review: Zeynep Günay Uçmak, Gülay Yüzbaşıoğlu Öztürk

Writing the Article: Zeynep Günay Uçmak

Critical Review: Gülay Yüzbaşıoğlu Öztürk, İsmail Kırşan

### **Ethical Approval**

An ethical statement was received from the authors that the data, information and documents presented in this article were obtained within the framework of academic and ethical rules, and that all information, documents, evaluations and results were presented in accordance with scientific ethics and morals.

### **References**

1. Weiss E. Tumours of the soft (mesenchymal) tissues. Bull World Health Organ 1974; 50: 101-110.
2. Clifford CA, Mackin AJ, Henry CJ. Treatment of canine hemangiosarcoma: 2000 and beyond. J Vet Intern Med 2000; 14: 479-485.

3. Clendaniel DC, Sivacolundhu RK, Sorenmo KU, Donovan TA, Turner A, Arteaga T, et al. Association between macroscopic appearance of liver lesions and liver histology in dogs with splenic hemangiosarcoma: 79 cases (2004–2009). *J Am Anim Hosp Assoc* 2014; 50: e6–e10.
4. Brown NO. Hemangiosarcomas. *Vet Clin North Am Small Anim* 1985; 15(3): 569-575.
5. Yoo S, Kim J, Myung HW, Woo S, Chung DJ, Lee AJ, et al. Primary intrapelvic hemangiosarcoma in a dog. *J Vet Med Sci* 2017; 79(1): 192–196.
6. Nielssen A. Hemangiosarcoma. In: Rubin SI, Carr AP, editors. *Canine Internal Medicine Secrets*. St Louis Missouri (USA): Mosby; 2007. p. 370-372.
7. Hendrick, M.J. Mesenchymal tumors of the skin and the soft tissues. In: Meuten DJ, editor. *Tumors in domestic animals*. 5<sup>th</sup> ed. NewYork (USA): John Wiley & Sons; 2020. p.162.
8. Torres de la Riva G, Hart BL, Farver TB, Oberbauer AM, McV Messam LL, Willits N, et al. Neutering dogs: Effects on joint disorders and cancers in golden retrievers. *PLoS One* 2013; 8: e55937.
9. Zink MC, Farhooody P, Elser SE, Ruffini LD, Gibbons TA, Rieger RH. Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in gonadectomized Vizslas. *JAVMA* 2014; 244: 309–319.
10. Ware WA, Hopper DL. Cardiac tumors in dogs: 1982–1995. *J Vet Intern Med* 1999; 13: 95–103.
11. Azizi S, Amirmohammadi M, Kheirandish R, Davoodian Z, Goodarzi M. Occurrence of haemangiosarcoma on the gingiva of a calf: a case report. *Bulg J Vet Med* 2017; 20: 183-188.
12. von Beust BR, Suter MM, Summers BA. Factor VIII-related antigen in canine endothelial neoplasms: an immunohistochemical study. *Vet Pathol* 1988; 25(4): 251-255.
13. Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ, Linder KE. Tumors of the hemolymphatic system. In: Meuten DJ, editor. *Tumors in Domestic Animals*. NewYork (USA): John Wiley & Sons Edition; 2020. p. 203-320.
14. Hill TP, Lobetti RG, Schulman ML. Vulvovaginectomy and neo-urethrostomy for treatment of haemangiosarcoma of the vulva and vagina. *J S Afr Vet Assoc* 2000; 71(4): 256–259.
15. Stephan F, Sharun K, Varghese E, Hamza P, George AJ. Vulvar and vestibulovaginal hemangiosarcoma in a cow: morphological and histopathological observations. *Iran J Vet Res* 2022; 23(4): 375–379.
16. Gumber S, Baia P, Wakamatsu N. Vulvar epithelioid hemangiosarcoma with solar elastosis in a mare. *J Vet Diagn Invest* 2011; 23(5): 1033-1036.
17. Gülbahar MY, Güvenç T, Beşalti Ö. Splenic hemangiosarcoma with abdominal dissemination in a dog. *Turkish J Vet Anim Sci* 1998; 22(5): 459-464.
18. Sorenmo K, Duda L, Barber L, Cronin K, Sammarco C, Osborne A, et al. Canine hemangiosarcoma treated with standard chemotherapy and minocycline. *J Vet Intern Med* 2000; 14(4): 395–398.
19. Batschinski K, Nobre A, Vargas-Mendez E, Tedardi MV, Cirillo J, et al. Canine visceral hemangiosarcoma treated with surgery alone or surgery and doxorubicin: 37 cases (2005-2014). *Can Vet J* 2018; 59(9): 967–972.



doi 10.33188/vetheder.1387684

Olgu Sunumu / Case Report

## Extrauterine pregnancy in a chihuahua bitch

Ahmet GOZER <sup>1,a\*</sup>, Onur BAHAN <sup>2,b</sup>, Gökhan UYANIK <sup>3,c</sup>, Büşra KÜÇÜKKARA <sup>1,d</sup>, Ebru ARSLANHAN <sup>1,e</sup>,  
Gökhan DOĞRUER <sup>1,f</sup>

<sup>1</sup> Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, Hatay, Turkey

<sup>2</sup> Yozgat Bozok University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, Yozgat, Turkey

<sup>3</sup> Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, Kayseri, Turkey

ORCID 0000-0001-8658-5916<sup>a</sup>; 0000-0003-0878-6338<sup>b</sup>; 0000-0003-4488-3055<sup>c</sup>; 0000-0002-0686-6097<sup>d</sup>; 0000-0002-6417-9041<sup>e</sup>; 0000-0002-8000-0646<sup>f</sup>

### MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFORMATION:

#### Geliş / Received:

8 Kasım 23  
8 November 23

#### Revizyon/Revised:

19 Aralık 23  
19 December 23

#### Kabul / Accepted:

2 Ocak 24  
2 January 24

#### Keywords:

Bitch  
Extrauterine  
Pregnancy

#### Anahtar Sözcükler:

Ekstrauterin  
Gebelik  
Köpek

©2024 The Authors.  
Published by Veteriner  
Hekimler Derneği. This is  
an open access article  
under CC-BY-NC license.  
(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)



### ABSTRACT

A four-year-old, 5.3 kg multiparous female Chihuahua bitch was presented to the Obstetrics and Gynaecology Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Hatay Mustafa Kemal University for a routine post-partum genital organ examination one day after parturition. Vital parameters were within the normal ranges. On vaginal examination, there was found no fetal structure in the birth canal. Transabdominal ultrasonography showed no distinct signs of a fetus. However, the radiographic examination detected a round, compact form of fetal skeletal structure in the abdomen. An exploratory laparotomy was decided to remove the fetal structure. Complete haematological and biochemistry analysis illustrated neutrophilia, thrombocytosis, and increased C-reactive protein level. During the surgery, a vascularised mass containing the fetus was removed from the abdomen. As a result of dissection and radiographic examination of the mass, it was determined that it contained a fetus. In conclusion, it was concluded that extrauterine pregnancy in bitches is asymptomatic and may be diagnosed by radiographic examination in the postpartum genital organ examination.

### Chihuahua ırkı bir köpekte ekstrauterin gebelik

#### ÖZET

Dört yaşında, 5,3 kg ağırlığında, multipar dişi Chihuahua ırkı bir köpek, doğum sonrası birinci günde rutin genital organ muayenesi için Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Kliniği'ne getirildi. Vital parametreler normal sınırlardaydı. Vajinal muayenede doğum kanalında fetal yapıya rastlanmadı. Transabdominal ultrasonografide fetüse dair bir bulguya rastlanmadı. Ancak radyografik incelemede abdomende yuvarlak, kompakt bir fetal iskelet yapısı tespit edildi. Fetal yapının çıkarılması için tanı amaçlı laparotomi yapılmasına karar verildi. Tam kan sayımında nötrofil ve trombositosis, serum biyokimya analizinde ise C-reaktif protein düzeyinde artış belirlendi. Operasyon sırasında abdomende içerisinde fetüsün bulunduğu vaskularize bir kitle çıkarıldı. Kitlenin diseksiyonu ve radyografik muayenesi sonucunda içerisinde fetüs olduğu tespit edildi. Sonuç olarak köpeklerde ekstrauterin gebeliğin asemptomatik olduğu ve doğum sonrası genital organ muayenesinde radyografik inceleme ile teşhis edilebileceği sonucuna varıldı.

**How to cite this article:** Gozer A, Bahan O, Uyanık G, Küçükpara B, Arslanhan E, Doğruer G. Extrauterine pregnancy in a chihuahua bitch. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 66-72, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1387684

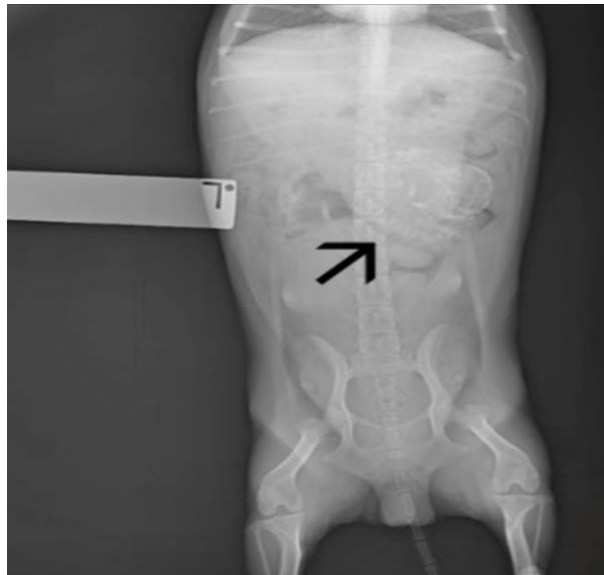
\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [ahmetgozer@gmail.com](mailto:ahmetgozer@gmail.com)

## 1. Introduction

Extrauterine pregnancy refers to establishing pregnancy outside the uterus (1). The leading causes of extrauterine pregnancy include trauma, uterine rupture, the backward movement of the ovum, high-dose oxytocin administration, and uterine anomalies (2). Specific clinical symptoms of extrauterine pregnancy are none (3). Hence, it is generally diagnosed accidentally during ultrasonography, radiography, and computed tomography examinations (4). After the diagnosis, surgical removal of the extrauterine tissue is the most effective treatment option (5). This case report aimed to present extrauterine pregnancy in a Chihuahua bitch.

## 2. Case Story

A four-year-old, 5,3 kg multiparous Chihuahua bitch was presented to Hatay Mustafa Kemal University Veterinary Faculty Health Practice and Research Hospital for a routine post-partum genital organ examination one day after parturition. Upon physical examination, the bitch was active, alert, and had a good appetite. The bitch had normal vital parameters: a body temperature of 38,2 °C, a heart rate of 92 bpm, and a respiratory rate of 24/min. On detailed anamnesis, it was learned that the bitch whelped two pups at an interval of 24 hours; the first pup was born alive, and the second pup was a stillbirth. In the reproductive history, it was learned that bitch showed estrus every six months, the first and second pregnancies were normal, and no medical and surgical treatment was carried out. In the first pregnancy, five puppies were born alive. Four puppies were born in the second pregnancy, and two died within the first ten days. On the vaginal examination, the birth canal was typical, and no fetal findings were found. Abdominal ultrasonography examination revealed no signs of fetal structures in the uterus and abdominal cavity. However, radiographic examination detected the fetal head and spines in the abdomen (Figure. 1).



**Figure 1:** Abdominal ventrodorsal radiography of the bitch, fetal structure (arrow)

*Şekil 1: Köpeğin ventrodorsal abdominal radyografisi, fetal yapı (ok)*

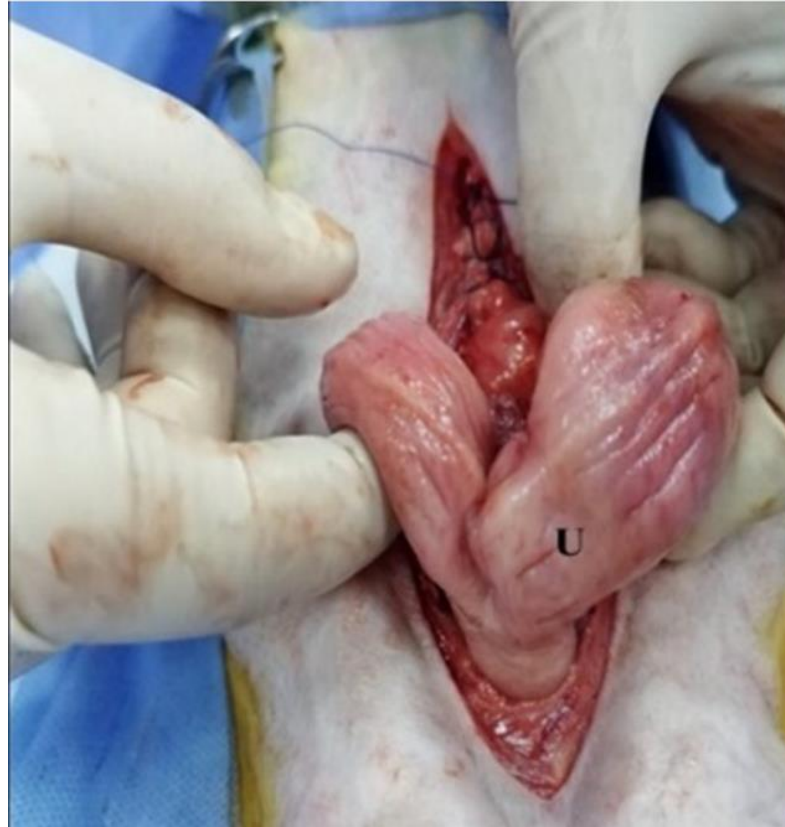
Therefore, an exploratory laparotomy was decided to remove the fetal structure. Blood samples were collected from *v.cephalica* into tubes without anticoagulants for preoperative haematological and biochemical analysis. A complete blood count (CBC) indicated neutrophilia and thrombocytosis. Blood biochemistry analysis showed that values were within normal limits except for the C-reactive protein (Table 1).

**Table 1:** Haematological and biochemistry parameters of the bitch  
**Tablo 1:** Köpeğin hematolojik ve biyokimyasal parametreleri

Parameter	Result	Refereneces Values	Evaluation
WBC (m/mm <sup>3</sup> )	16,60	6.0-17.0	N
LYM (%)	9,40	10.0-30.0	↓
NEU (%)	86,70	50.0-80.0	↑
NEU (#)	14,40	3.0-13.60	↑
EOS (%)	0,70	2.0-10.0	↓
EOS (#)	0,10	0.10-1.70	N
RBC (m/mm <sup>3</sup> )	6.80	5.50-8.50	N
MCV (fL)	66.30	58.0-73.0	N
HCT (%)	45.60	35.0-55.0	N
MCH (pg)	20	20.0-25.0	N
MCHC (g/L)	30.20	28.0-40.0	N
RDW (%)	9.30	8.0-12.0	N
HGB (g/dL)	13.80	10.0-18.0	N
MPV (fL)	9	5.0-12.0	N
PDW (%)	7.90	6.0-10.0	N
CREA (mg/dL)	0.79	0.30-1.70	N
CRP (mg/dL)	5.20	0.20-0.90	↑
GGT (IU/L)	10.0	1.0-10.0	N
GOT (IU/L)	28.30	10.0-88.0	N
GPT (IU/L)	20.0	10.0-109.0	N
URE (mg/dL)	18.0	10.70-59.920	N
ALB (g/dL)	2.30	2.30-4.40	N
ALP (U/L)	181.0	1.0-280.0	N
CA (mg/dL)	9.20	9.20-11.10	N

WBC: white blood cell; LYM: lymphocyte; NEU: neutrophil; EOS: eosinophil, RBC: red blood cell; MCV: mean corpuscular volume; HCT: hematocrit; MCH: mean corpuscular haemoglobin; MCHC: mean corpuscular haemoglobin concentration; RDW: red cell distribution width; HGB: haemoglobin; MPV: mean platelet volume; PDW: platelet distribution width; CREA: creatine; CRP: C-reactive protein; GGT: gamma-glutamyl transferase; GOT: aspartate aminotransferase; GPT: alanine aminotransferase; URE: urea; ALB: albumin; ALP: alkaline phosphatase; CA: calcium; Normal (N), ↑ (increase), ↓ (decrease).

The bitch was premedicated with xylazine hydrochloride (1 mg/kg b.w., intramuscularly, SID, Xylazinbio® 2%, Interhas, Czech Republic) and ketamine hydrochloride (11 mg/kg b.w., SID, intramuscularly, SID, Ketazol 10%, Interhas, Czech Republic). Then, the bitch was placed on ventral recumbency. After the endotracheal intubation, anaesthesia was induced with 2 % isoflurane and %100 oxygen (Foran® Adeka, Piramal, USA). Midline laparotomy surgery was performed to remove the existing fetal structure in the abdomen. After reaching the abdomen, it was observed that the uterus had the characteristics of the postpartum period, and there was no tear or rupture in the uterus (Figure 2).



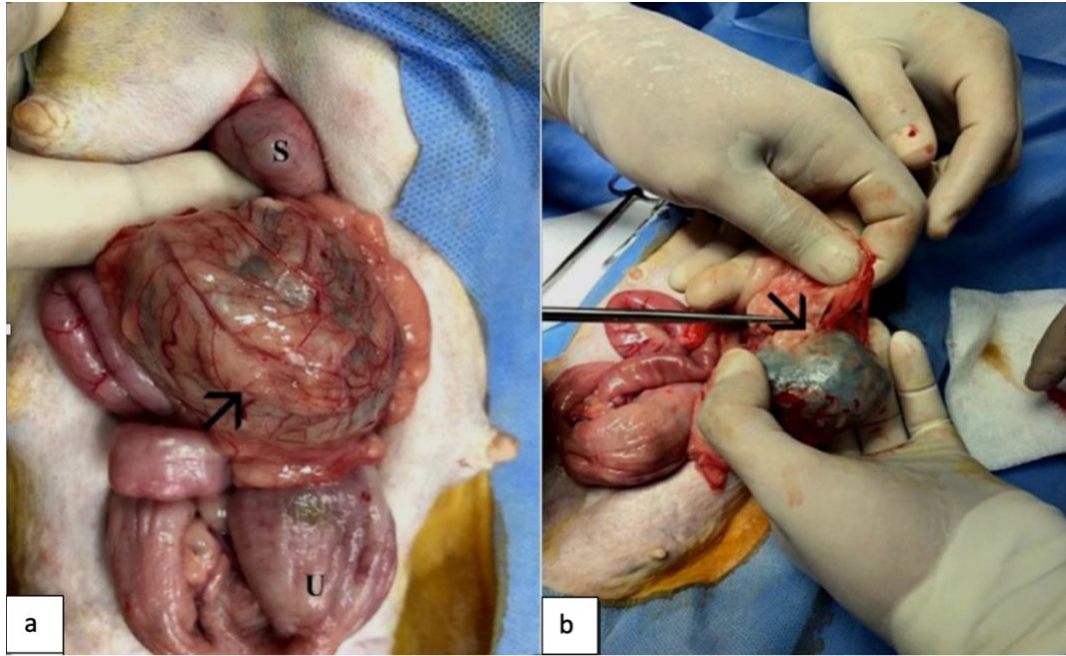
**Figure 2:** Intraoperative images of the uterus (U).

**Şekil 2:** Uterusun (U) operasyondaki görüntüsü

Upon examining the abdomen, a vascularised mass surrounded by mesenteric adipose tissue was detected in the left abdominal region, adhering to the abdominal wall (Figure 3). On palpation, the mass was firm and adhered to the abdominal wall, but there was no adhesion to other organs in the abdomen, such as the spleen, stomach, and intestines. The mass was removed by blunt dissection from the surrounding mesenteric fat and abdominal muscle tissues (Figure 3).

After the removal of the mass, the peritoneum, muscles, and subcuticular connective tissues were sutured with the continuous locked suture technique, and the skin was sutured with the simple continuous suture method with 2.0 PGA surgical thread (Trusynth, USA). To prevent post-operative pain and infections, a single dose of meloxicam hydrochloride (0.2 mg/kg b.w., subcutaneously, SID, Meloksikam, Bavet®, Turkey) and amoxicillin-clavulanic acid (20 mg/kg b.w., subcutaneously, SID, Synulox, Zoetis, USA) was administered for three days.

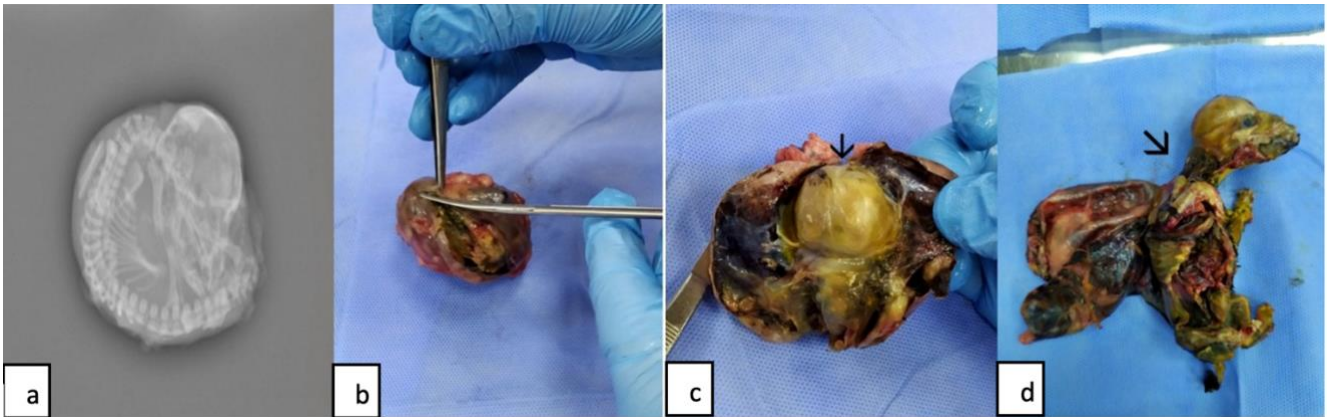




**Figure 3:** (a): Intraoperative images of the uterus (U), the mass containing the fetus (arrow), and the stomach (S); (b); Blunt dissection of the mass containing the fetus (arrow)

**Şekil 3:** (a) Operasyon esnasında uterus (U), fetüsü barındıran kitle (ok) ve midenin (S) görüntüsü; (b) fetüsü barındıran kitlenin diseksiyonu (ok)

After the surgery, a radiographic examination of the mass was performed. In the examinations, the fetal skull, ribs, and vertebrae were detected. Following the incision of the mass, it was found that the fetus was decayed, the fetal extremities and skull were developed, and the hair follicles began to develop in the lower parts of the body (Figure 4).



**Figure 4:** Radiographic image of the removed mass (a). Dissection of the mass (b). Macroscopic view of the fetus in the mass (c). Fetus (arrow)(d)

**Şekil 4:** Çıkarılan kitlenin radyografik görüntüsü (a). Kitlenin diseksiyonu (b). Kitle içindeki fetüsün makroskobik görünümü (c). Fetüs (ok)(d)

### 3. Discussion and Conclusion

Extrauterine pregnancy is defined as the occurrence of pregnancy outside the uterus. Two types of extrauterine pregnancy are present: tubal and abdominal (1,3). Tubal pregnancy occurs when the mature oocyte fertilises and remains in the oviduct. Abdominal pregnancy, on the other hand, occurs in two different ways: primary and secondary. In primary abdominal pregnancy, the fertilised ovum passes into the abdomen and develops in the abdominal cavity after fertilisation of the mature oocyte. Secondary pregnancy is formed as a result of the uterine rupture and falling into the abdominal cavity for various reasons following the implantation of the fetus into the uterus. Its aetiology includes trauma, uterine rupture, the backward movement of the ovum, high-dose oxytocin administration, and uterine anomalies (1,2,3).

Differentiation of the subtypes of extrauterine pregnancy is made by clinical findings and histopathology. The presence of rupture in the uterus, the localisation of the fetus in the extrauterine region, and the presence of placentation confirmed by histopathological analysis are indicators of secondary extrauterine pregnancy (1). However, observing the scar tissue and rupture in the uterus can remain inconclusive in the differentiation of primary and secondary extrauterine pregnancy (1). Since uterine injuries and regeneration of small tears can occur promptly. In many cases of extrauterine pregnancy, no ruptures or scar tissues were observed in the uterus (4,6). Therefore, the histological presence of placentation is the most accurate evidence of secondary pregnancy cases (7), and all cases without the findings as mentioned above should be called secondary extrauterine pregnancy (7). In this case, no rupture was found in the inspection of the uterus during the intraoperative period. Considering all these, it was thought that the fetus may have fallen into the abdomen, and a secondary extrauterine pregnancy may have occurred as a result of the rupture of the uterus in the previous parturition of the bitch.

In this case report, extrauterine pregnancy was diagnosed by radiography during routine post-partum examination, and there were no specific clinical symptoms related to extrauterine pregnancy. This is compatible with the literature since extrauterine pregnancy cases are generally asymptomatic (1), and the diagnosis is made incidentally with radiography, ultrasonography, and computed tomography taken for various reasons (3,4,5).

The primary treatment approach following the diagnosis is removing the extrauterine tissue by surgical method. It was stated that an ovariectomy operation can be performed together with the removal of the extrauterine tissue (4,5). In the present case, extrauterine pregnancies were diagnosed incidentally by the radiographic examination for the postpartum genital organ examination. No necrosis, haemorrhage, or tear was detected in the ovary and uterus. For this reason, only the removal of the mass was performed without performing an ovariectomy operation.

It was stated that bitches are generally healthy in cases of extrauterine pregnancy (5,8). The severity of clinical findings in the cases varies depending on the adhesion of extrauterine tissue to the abdominal tissues and the necrosis of the extrauterine tissue (9). In some cases, clinical findings related to the gastrointestinal system, such as anorexia, vomiting, and diarrhoea, may be observed due to the adhesion of the mass to the intestines (10). This case report observed that the extrauterine tissue had no adhesion to the abdominal organs. Accordingly, haematological and biochemistry findings were found to be between reference values. A weak increase in the C-reactive protein (CRP) level was only noted. However, this increase seems to be related to the inflammatory process of parturition and shows a trend similar to that of previous studies (11,12).

In conclusion, extrauterine pregnancy is asymptomatic, and haematological and biochemistry analysis shows no distinctive results. It is generally diagnosed accidentally by different imaging techniques in bitches. The transabdominal ultrasonographic examination may not be practical in diagnosing extrauterine pregnancy. Therefore, the radiographic examination must be performed to diagnose extrauterine pregnancy in bitches. Surgical removal of the extrauterine is the primary treatment option.

### Conflict of Interests

The authors declare that there was no conflict of interest.

## Funding

There was no financial support in this study.

## Authors' Contributions

Motivation/Concept: Ahmet GOZER, Onur BAHAN

Design: Ahmet GOZER, Gökhan UYANIK

Control/supervision: Ahmet GOZER, Gökhan DOĞRUER

Data Collection: Büşra KÜÇÜKKARA, Ebru ARSLANHAN

Analysis and/or Interpretation: Ahmet GOZER

Literature Review: Ahmet GOZER, Büşra KÜÇÜKKARA, Ebru ARSLANHAN

Writing the Article: Ahmet GOZER, Gökhan UYANIK

Critical Review: Ahmet GOZER, Gökhan DOĞRUER

## Ethical Statement

An ethical statement was received from the authors that the data, information and documents presented in this article were obtained within the framework of academic and ethical rules and that all information, documents, evaluations and results were presented in accordance with scientific ethics and moral rules.

## References

1. Corpa JM. Ectopic pregnancy in animals and humans. *Reprod* 2006; 131: 631–640.
2. Sagar PV, Kumar PR, Raghunath M. Ectopic fetal maceration in a Labrador bitch. *Livest Sci* 2017; 8: 8–10.
3. Bhatta BR, Kaphle K, Shrestha S, Kafle A. Extrauterine pregnancy in bitch: A mini-review. *IJGRR* 2020; 6(1): 1-4.
4. Yenilmez K, Dogan H. A case of secondary abdominal ectopic pregnancy in a bitch. *Vet Rec Case Rep* 2022; 10(1): e238.
5. Myung HW, Lee AJ, Kim JY, Kim JH, Eom KD, Kim JH, Eom KD, Kim HJ, Do SH, Kim HY, Chung DJ. Secondary abdominal pregnancy with foetal mummification diagnosed using computed tomography in a dog: a case report. *Vet Med (Praha)* 2016; 61(1): 51-55.
6. Maksimović A, Preldžić D, Lutvikadić I, Zahirović A, Hadžijunuzović-Alagić D, Čamo D, An unusual case of ectopic abdominal pregnancy in a bitch-a case report. *Vet Arh* 2020; 90(5): 535-541.
7. Berghella V, Wolf SC. Does primary omental pregnancy exist? *Gynecol Obstet Invest* 1996; 42: 33–136.
8. Eddey PD. Ectopic pregnancy in an apparently healthy bitch. *J Am Anim Hosp Assoc* 2012; 48:194–197.
9. Johnson CA. Disorders of pregnancy. *Vet Clin Small Anim Pract* 1986; 16(3): 477-482.
10. Maksimović A, Preldžić D, Lutvikadić I, Zahirović A, Hadžijunuzović-Alagić D, Čamo D. An unusual case of ectopic abdominal pregnancy in a bitch-a case report. *Vet Arh* 2020; 90(5): 535-541.
11. Goldírová K, Fialkovičová M, Tóthová C, Galova J, Sesztáková E, Kováč G, Pošiváková S. Changes in C-reactive protein, haptoglobin concentrations and some haematological parameters in female dogs before mating, during pregnancy and after parturition. *Magy Allatorvosok Lapja* 2018; 140(2): 85-90.
12. Rota A, Milani C, Contiero B, Artusi E, Holst BS, Romagnoli S. Evaluation of serum C-reactive protein concentration as a marker of impending parturition and correlation with progesterone profile in peri-partum bitches. *Anim Reprod Aci* 2019; 204: 111-116.



10.33188/vetheder.1284911

Derleme Makale / Review Article

## Süt sığırlarında silaj fermantasyon son ürünlerinin yem tüketimi ve süt verimi üzerine etkisi

**Oğuzhan KAHRAMAN<sup>1,a</sup>, Zekeriya Safa İNANÇ<sup>1,b\*</sup>, Deniz ŞİŞMAN<sup>1,c</sup>, Emel DEMİRCİ<sup>1,d</sup>**

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya

<sup>a</sup>0000-0002-9315-5276; <sup>b</sup>0000-0003-0832-9209; <sup>c</sup>0009-0002-9649-2910; <sup>d</sup>0009-0007-0933-3898

### ÖZET

#### MAKALE BİLGİSİ /

#### ARTICLE INFORMATION :

#### Geliş / Received:

18 Nisan 23

18 April 23

#### Revizyon/Revised:

20 Temmuz 23

20 July 23

#### Kabul / Accepted:

18 Ağustos 23

18 August 23

#### Anahtar Sözcükler:

Fermentasyon

Silaj

Süt Verimi

Yem Tüketimi

#### Keywords:

Feed consumption

Fermentation

Silage

Water Consumption

Yem bitkilerinin silolanarak saklanması, taze mahsulün besin değerini koruyan ve pH'yı düşüren bir fermantasyon işlemine dayanır. Ana prensip, bitkideki suda çözünen karbonhidratların laktik asit bakterileri tarafından kullanılarak laktik asit üretilmesidir. Laktik asit dışında silaj fermantasyonunu değerlendirmek için dikkat edilen son ürünler uçucu yağ asitleri, alkoller, amonyak konsantrasyonları ve çeşitli mikrobiyal popülasyonlardır. Bununla birlikte, silo ortamında farklı fermantasyonlar meydana gelebilir. Bu farklılıklar substrata, mikrobiyal popülasyonlara, bitkinin nem içeriğine ve silolama sırasında yemin tamponlama kapasitesine bağlıdır. Fermentasyon, silajın besin kalitesini ve hayvan performansını etkiler. İstenmeyen fermantasyonlar gerçekleşirse silajın tadı bozulur ve yem tüketimi düşer. Ayrıca bozuk silajlar hayvan sağlığı için risklidir. İyi fermente edilmiş silaj, süt ineklerinde herhangi bir risk oluşturmadan ve verim performansını etkilemeden rasyonlarda kullanılabilir. Silaj fermantasyon son ürünleri yem tüketimi dışında sindirim sisteminden emilen besin madde profilini de etkiler. Bu etki ile süt verimi ve sütün kompozisyonu değişiklik gösterebilir. Silaj kalitesine etki eden faktörler istenilen fermantasyonun şekillenmesinde etkilidir. Bu derlemede silaj kalitesine etki eden faktörlerin fermantasyon son ürünlerine etkileri ve bu ürünlerin süt verimi ve yem tüketimi üzerine etkileri tartışılarak açıklanmıştır.

## *The effect of silage fermentation end products on feed consumption and milk yield in dairy cow*

### ABSTRACT

The ensiling of forages is based on a fermentation process that preserves the nutritional value of the fresh crop and lowers the pH. The main principle is to produce lactic acid by using the water-soluble carbohydrates in the plant by the lactic acid bacteria. Other than lactic acid, the end products considered to evaluate silage fermentation are volatile fatty acids, alcohols, ammonia concentrations and various microbial populations. However, different fermentations may occur in the silo ambience. These differences depend on the substrate, microbial populations, moisture content and the buffering capacity of the feed during ensiling. Fermentation affects the nutritional quality of the silage and animal performance. If undesirable fermentations occur, the palatability of the silage will deteriorate and feed consumption will decrease. In addition, spoiled silages are risky for animal health. Well-fermented silage can be used in rations without posing any risk to dairy cows and affecting yield performance. Silage fermentation end products affect the nutrient profile absorbed from the digestive system, as well as feed consumption. With this effect, milk yield and composition of milk may change. Factors affecting silage quality are effective in shaping the desired fermentation. In this review, the effects of factors affecting silage quality on fermentation end products and the effects of these products on milk yield and feed consumption are discussed and explained.

©2024 The Authors.  
 Published by Veteriner Hekimler Derneği. This is an open access article under CC-BY-NC license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)



**How to cite this article:** Kahraman O, İnanç ZS, Şişman D, Demirci E. Süt sığırlarında silaj fermantasyon son ürünlerinin yem tüketimi ve süt verimi üzerine etkisi. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 73-82, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1284911

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [zsafa.inanc@selcuk.edu.tr](mailto:zsafa.inanc@selcuk.edu.tr)

## 1.Giriş

Kaba yemler çiftlik hayvanları tarafından genellikle taze olarak tüketilir. Bunun yanında uzun süre kullanılması ve karşılaşılabilecek olumsuz koşullara önlem almak amacıyla kaba yemleri çeşitli yollarla muhafaza etmek mümkündür. Yemlerin muhafazası güneşte kurutma (saman, yonca vb.), suni kurutma ve silaj yapımı yoluyla sağlanabilir. Süt sığırlarını silajla beslemenin yem tüketimi ve süt verimini artırmadaki olumlu etkileri hakkında çok sayıda çalışma mevcuttur (1, 2). Silaj, sığır, koyun ve diğer geviş getiren hayvanlara verilebilen veya anaerobik çürütücüler için biyoyakıt hammaddesi olarak kullanılabilen, fermente edilmiş ve yüksek nemli kaba yemlerdir. Silolama, mikroorganizmaların yemdeki fermente edilebilir şekerleri kullandığı ve başta laktik asit ve uçucu yağ asitlerinin açığa çıktığı anaerobik fermentasyonlar altında yapılır (3). Mısır silajı ruminantlarda, süt üretimini artırmak için uygun maliyetli sindirilebilir bir enerji kaynağı olarak yüksek verimli süt ineklerinin rasyonlarındaki ana bileşenlerden biridir (4).

Yemleri silolamanın amacı, taze mahsulle karşılaştırıldığında yüksek oranda kuru madde, enerji ve sindirilebilir besin maddesi içeren stabil bir yem üretmektir. Silodaki mikrobiyal fermentasyon esnasında çeşitli son ürünler üretilir ve bu son ürünler silajın besleyici yönünü değiştirebilir (5). Son ürünlerin oluşumu, havasız ortamda saklanan yemlerdeki çözünür karbonhidratların fermentasyonu ile gerçekleşir. Bu fermentasyon sürecinde bazı besin maddeleri de parçalanarak hayvanlar için daha kolay değerlendirilebilir hale gelir. Bunun dışında silaj aromatik kokusu, sulu yapısı ve yumuşaklığı sayesinde süt sığırları için çok lezzetlidir. Silajın tüm bu özellikleri süt üretiminin artmasına katkıda bulunur. Dolayısıyla gelişmiş ülkelerde kış aylarında başta süt inekleri olmak üzere, geviş getiren hayvanların çoğu için temel yem maddesi silajdır.

Silaj fermentasyonunu değerlendirmek için dikkat edilen son ürünler organik asitler, alkoller, amonyak konsantrasyonları ve çeşitli mikrobiyal popülasyonlardır. Oluşan son ürünlerinden organik asitler ve alkollerin üretim miktarının belirlenmesi, silaj fermentasyonlarının değerlendirilmesinin temelidir. Silaj kalitesi bakımından değerlendirilebilen diğer son ürünler mikotoksinler ve azotlu bileşiklerdir. Silaj kalitesi bakımından değerlendirilebilen diğer son ürünler mikotoksinler ve azotlu bileşiklerdir.

Geviş getiren hayvanların performansı, rasyonun sindirilebilirliği, sindirilebilir enerjiyi metabolik veya net enerjiye dönüştürme verimliliğinden çok yem tüketimiyle yakından ilişkilidir (6). Silaj fermentasyon karakteristikleri yem tüketimi dışında sindirim sisteminden emilen besin madde profilini de etkiler. Bu etki ile birlikte süt verimi ve sütün kompozisyonu değişiklik gösterebilir (7). Silaj fermentasyon son ürünlerinden özellikle laktik asitin silaj kalitesi ve tüketimine etkileri hakkında çalışmalar yapılmış olsa da diğer son ürünlerin yem tüketimi ve süt verimine etkileri üzerinde fazla durulmamıştır. Bu sebeple bu derlemede, silaj kalitesine etki eden faktörler ve fermentasyon sürecinde sonra ortaya çıkan son ürünlerin, yem tüketimi ve süt verimine etkileri ilişkilendirilerek değerlendirilmiştir.

### Silaj fermentasyon son ürünlerine etki eden faktörler

Silaj yapma süreci genellikle 4 aşamaya ayrılır: (1) silodaki ilk aerobik aşama, (2) fermentasyon aşaması, (3) siloda stabil kalma aşaması ve (4) silonun açılıp silajın havaya maruz kaldığı çıkış aşaması (8). Silaj yapımında uygun fermentasyon sağlanarak tüketiminin olumsuz etkilenmemesi istenir. İdeal bir fermentasyonda, homolaktik asit bakterileri çoğalmak için suda çözünür karbonhidratları (örn. sükröz ve glikoz) kullanır ve yalnızca laktik asit üretirler. Organik asitlerden olan laktik asit üretimi ile silolama süresince düşük düzeyde kuru madde ve enerji kaybı olur (9).

Aktif fermentasyon aşaması başlamadan önce, siloda kalan oksijen, su, karbondioksit, ısı ve serbest amonyak, yemde bulunan enzimlerin aktivitelerine, proteolitik aktiviteye, aerobik mikroorganizmalar, maya ve enterobakteriler gibi fakültatif aerobik mikroorganizmaların faaliyet göstermesine olanak verir (10). Aerobik mikroorganizmalar solunuma katkıda bulunabilse de, bitki dokusunun solunumu silodan oksijenin uzaklaştırılması ve ısı üretilmesi için birincil kaynaktır.

Silaj, silodan çıkarılırken veya açıkta kaldığı için havaya maruz kaldığında, fermentasyon asitleriyle diğer son ürünler aerobik bakteriler, mayalar ve küfler tarafından oksitlenir. Bunun sonucunda potansiyel olarak sindirilebilir maddeler olan fermentasyon ürünlerinin kaybıyla besin değeri azalır. Silajdaki fermentasyon ürünlerinin konsantrasyonu, hem mahsulün ilk kimyasal içeriği hem de silolama süresi boyunca gelişen mikroorganizma tipleri tarafından belirlenir (8). Silajın hava ile temas etmesiyle öncelikle maya üremeye başlar, sonrasında küfler ürer ve silajda küfler görünür hale gelene kadar besin madde kaybı yaklaşık %16 olur (9). Ekonomik kayıpların yanında bozulan silaj, dolaylı olarak hayvan sağlığını ve verimini de olumsuz etkiler. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada Gerlach ve ark. (11), keçilere yedirilmeden önce 8 gün boyunca açık havaya maruz bırakılan mısır silajlarında kuru madde tüketiminin %53 azaldığını bildirmiştir. Windle ve Kung

(12), düveleri taze ve bozulmuş silaj içeren TMR ile besledikleri bir çalışmada, havaya maruz bırakılan silajı içerikli TMR'ı tüketen grupta, kuru madde tüketiminin düştüğünü ve rumen sıvısında daha fazla maya ürediğini belirlemişlerdir. Silajların aerobik maruz kalma sırasında meydana gelen değişiklikleri tanımlamak için yapılmış bir çalışmada, mikrobiyolojik sonuçlara göre, aerobik maruziyetin dördüncü gününden sonra bozulmanın mayalar tarafından başladığını, ardından küfler ve aerobik mezofilik bakteriler tarafından başladığını göstermiştir. Aerobik bozulmanın ileri aşamalarında küfler sıklıkla gözlenmiştir.

Silo anaerobik hale geldikçe, çeşitli anaerobik ve fakültatif mikroorganizmalar artarak yemdeki şeker ve organik asitleri fermente eder. Başlıca fermentatif mikrobiyal gruplar laktik asit bakterileri (LAB), enterobakteriler, clostridia ve mayalardır (9). Bitki biyokütlesinin laktik asit bakterileri (LAB) tarafından laktik asit ve diğer faydalı organik asitler üretmek ve pH'ı bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini önleyecek seviyelere düşürmek için fermentasyonunu takiben çok sayıda biyolojik ve teknolojik faktör silaj kalitesini etkiler (13). Homofermentatif ve fakültatif heterofermentatif laktik asit bakterileri ilavesi, laktik asit fermentasyonunu iyileştirmek, zararlı epifitik mikroorganizmaları inhibe etmek ve silolanmış yemlerin besin kalitesini korumak için yaygın olarak kullanılmaktadır (14). Laktik asit bakterilerinin etki biçimleri, laktik asidin asetik aside fermentasyonu, maya ve klostridial büyümenin inhibisyonu yoluyla silajların aerobik bozulması ile açıklanmaktadır (8). LAB dışındaki mikroorganizmalar fermentasyonda önemli bir yer alıyorsa, karbondioksit formundaki kuru madde kaybı genellikle büyüktür. Bu durum özellikle glikozdan etanol üreten mayalar veya laktat veya glikozdan bütirat üreten klostridialar için geçerlidir (15). Bu bağlamda, *Lactobacillus plantarum* gibi bakteri içeren silaj katkıları, silaj pH'ını hızla düşürmek, fermentasyon sırasında istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını önlemek ve bunun sonucunda silaj kalitesini iyileştirmek için kullanılır (16).

Yaş mahsullerin silolanması bütirik asit fermentasyonu ve atık üretimi riskini artırır, daha yüksek fermentasyon kayıplarına neden olur ve genellikle silajın hijyenik kalitesini ve besleme değerini tehlikeye atar (17). Silolanacak yemin nem içeriğini azaltılması (suda çözünür karbonhidratların düzeyini artırmak ve su aktivitesini azaltmak) amacıyla biçimden sonra tarlada soldurma yapılarak silodan sızıntı kayıpları önlenmeye çalışılır. Tarlada hızlı bir soldurma elde etmek, kuru madde ve besin değeri kayıplarını azaltmak için gereklidir. Hasattan hemen sonra silajlık mahsulü yaymak, kuruma hızı üzerinden elde edilecek olan silaj kalitesine büyük bir etkiye sahiptir (18). Silajın hammadesinin kesimi sonrası silolama işleminin gecikmesi, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını artırabilir ve silaj kalitesini etkileyebilir (17).

Silolanacak bitkinin hasat zamanı ile ilgili yapılan çalışmalarda bitkinin şeker içeriğinin öğleden sonraki kesimlerde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Sabah ve öğleden sonra biçilen yonca karşılaştırıldığında, öğleden sonraki biçimde, içeriğindeki kolay eriyebilir karbonhidrat düzeyi ilkbahar, yaz ve sonbaharda sırasıyla %17, %18 ve %22 artmıştır (19). Bu durum fotosentez aktivitesi ile açıklanmıştır ve silaj yapımında kolay eriyebilir şeker miktarının arttırılması için önerilmektedir. Benzer şekilde Brito ve ark. (20) da, öğleden sonra biçilen yoncanın toplam yapısal olmayan karbonhidrat düzeyinin, sabah biçilene göre daha yüksek olduğunu ve öğleden sonra biçilen yoncadan elde edilen silajı tüketen ineklerde süt veriminin arttığını belirtmişlerdir.

Çevre sıcaklığının 40°C'nin üzerindeki uzun süreli çevre sıcaklığı silolanan yemde protein hasarına (denatürasyon) neden olabilir ve özellikle baklagil ve çayır otu yemlerinin aminoasit düzeyini etkiler. Denatürasyon, 38°C'nin altında yavaşça gerçekleşir ve bu eşiğin üzerindeki her 14°C artışla ikiye katlanır (21). Uzun süreli yüksek sıcaklıklar sonucunda silajda kahverengi renk görülmeye başlar ve bu silajlarda tüketim ile sindirilebilirlik düşer. Bunun sonucunda, silajın hem kuru maddesi hem de kalite kayıpları açısından olumsuz etkilenmesine neden olur (22). Yüksek çevre sıcaklığı, özellikle clostridia ve enterobakteriler gibi istenmeyen mikroorganizmaların büyümesiyle bağlantılı olarak silaj üretimi için ek bir zorluk oluşturmaktadır. 20°C'ye kıyasla 40°C'de silolanan mısırdaki laktik/asetik asit oranının düşmesine rağmen, daha yüksek sıcaklıkta yapılan silaj aerobik stabiliteyi azaltmıştır. Yüksek sıcaklıklarda bozulmanın daha hızlı olduğunu, bu numunelerin 20°C'de havaya maruz kalanlara göre daha yüksek maya ve küf sayılarına sahip olduğunu buldular (8).

45 ila 50 °C'nin üzerindeki uzun süreli yüksek sıcaklıklar, denatüre proteine ve ADIN (Asit deterjanda çözünmeyen nitrojen)'de artışlara yol açabilir. Bu aralıktaki sıcaklıklar, başarılı bir fermentasyon elde etmek için gerekli olan birçok laktik asit bakterisi için de zararlı olabilir. Bu nedenle, yem uygun partikül büyüklüğünde olmalı, hızlı bir şekilde paketlenmeli ve mümkün olan en kısa sürede havayı yem kütesinden uzak tutmak için sıkıca kapatılmalıdır (5).

Silolama esnasında partikül büyüklüğünün önemi ile ilgili olarak, çavdar otu silajı (ÇS) ve mısır silajının (MS) partikül uzunluğunun, süt ineklerinin performansına etkisinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, ineklerin MS ile beslendiğindeki KM alımı, ÇS bazlı diyetlere göre 3,2 kg/gün daha yüksek bulunmuş. Kısa parça uzunluğu ÇS ayrıca, uzun

**Tablo 1:** Yaygın kullanılan silajlarda tavsiye edilen son ürünler (5)**Table 1:** Recommended end products for commonly used silages (5)

	Baklagil silajı KM< %30-35	Baklagil silajı %35-55 KM	Çayır otu silajı % 25-25 KM	Mısır silajı %30-40 KM	Yüksek nemli mısır %70-75 KM
pH	4,3-4,5	4,7-5,0	4,3-4,7	3,7-4,0	4-4,5
Laktik asit, %	6-8	2-4	6-10	3-6	0,5-2
Asetik asit, %	2-3	0,5-2	1-3	1-3	<0,5
Propiyonik asit, %	<0,5	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Bütirik asit, %	<0,5	0	<0,5-1	0	0
Etanol, %	0,5-1,0	0,5	0,5-1,0	1-3	0,2-2,0
NH <sub>3</sub> -N, % toplam N	10-15	<12	8-12	5-7	<10

parça uzunluğu ile karşılaştırıldığında 0,9 kg/gün daha yüksek bir KM alımı ile sonuçlanmış. ÇŞ:MS bazlı diyetlerle beslenen inekler, sadece ÇŞ içeren diyetlerle beslenenlere göre 2,4 kg/gün daha fazla süt ürettiği bulunmuştur (23).

Silolama işleminin yavaş olması ve silo yapımı uygulamaları da silaj kalitesini etkileyen faktörlerden biridir. Paketleme hızı, paket yoğunluğu, kullanılan katkı maddesi türü, partükül uzunluğu, kaplama yöntemi ve silo yönetimi gibi yönetim faktörleri de silaj fermantasyonunu ve oluşacak son ürünleri etkileyebilir (24). Paketleme veya kapatmanın geciktiği silajlarda enterobakterilerin aktivitesinde ve heterolaktik fermantasyonda bir artış da görülebilir, bu da asetik asit konsantrasyonunda bir artışa yol açar (15).

Silo kapatma işleminin 4 gün geciktirilmesi, silajlarda %11'e varan kuru madde kayıplarına, maya sayısında artışa ve suda çözünen karbonhidratlarda % 65'e varan düşüşe neden olduğu görülmüş. Bu gecikmeye bağlı olarak fermantasyon sırasında oluşabilecek etil esterler, süt ineklerinde yem alımını olumsuz etkileyebilmektedir (11). Gecikmelere bağlı olarak ortam koşullarının değişmesi, mikroorganizma kompozisyonlarını da etkiler. Buna örnek olarak, mısır silajı üzerinde çalışan Kim ve Adesogan'un (25) 40°C'de depolanan silajlarda, 20°C'de depolanan silajlara göre daha az maya bulunduğunu göstermesi verilebilir. Bunker ve kısaç silolarında, tipik olarak araba lastikleri ile konumlandırılan polietilen örtü silajın korunmasında oksijen geçirgenliği olduğundan tartışmalıdır. ABD, Kansas'ta 127 çiftlikte bunker silolarında yapılan dört yıllık bir çalışmada, üst yüzeyden 50 cm derinlikte organik madde kaybı ortalama %47 olarak bulunmuştur (8).

Analiz için gönderilen birçok silaj numunesi örnek alınması ve nakliye sırasında bozulmaya uğrayabileceğinden, Tablo 1'de yaygın olarak kullanılan silajlarda oluşan son ürünlerin tavsiye edilen düzeyleri dikkatle incelenmelidir. Aksi halde, analizlerin çiftlikteki numunenin bileşimini tam olarak yansıtmamasına neden olabilir (5). Örneğin, %30 DM'nin altındaki baklagil silajları klostridial olarak değerlendirilmez; ancak, bu silajlarda nem içeriği çok yüksek olduğunda bunun olma olasılığı kesinlikle daha yüksektir.

### Silaj pH'sı ve laktik asitin süt verimine etkisi

Silolanan numunenin fermantasyonunun bir ölçüsü olan pH, silaj kalitesinde önemli bir ölçüdür. Silajlama sırasında laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen laktik asit (pKa 3,86), genellikle silajlarda en yüksek konsantrasyonda bulunan ve fermantasyon sırasında pH'ın düşmesine en fazla katkıda bulunan organik asittir (5). Çeşitli silajlarda istenen pH aralıkları baklagil silajında 4,3-4,7, mısır silajlarında 3,7-4,8 arasında değişmektedir (26). Genel olarak baklagil silajları, mısır veya diğer ot silajlarından daha yüksek bir pH'a sahiptir ve daha yüksek tamponlama kapasiteleri nedeniyle silajlanmaları daha uzun sürer (26). Silaj pH'sına etki eden birçok faktör olsa da genel olarak laktik asit bakterileri arzu edilen pH'ya ulaşmayı sağlar. Laktik asit fermantasyonları sırasında mahsulden diğer organizmalara göre en düşük KM ve enerji kaybına neden olduğundan, silajlarda istenen organizmalar olarak laktik asit bakterileri listelenir (5). Hızlı bir pH düşüşü, proteinin aşırı bozulmasına neden olabilen enterobakteriler veya clostridia tarafından istenmeyen fermantasyon riskini azaltır. Ayrıca silajda mayaların varlığı istenmeyen olarak kabul edilir çünkü bu mikroorganizmalar silajın asitleşmesine katkıda bulunmaz (mayalar şekerleri neredeyse sadece etanol ve karbondioksit fermente eder) ve silajda aerobik bozulma sorunlarıyla ilişkilidir (27).

Silajın laktik asit içeriğinin artırılması, rumende laktik asit yükünü artırır. Ancak bu asidin çok azı, rumende laktatı kullanan bakteriler tarafından parçalanıp uçucu yağ asitlerine dönüştürüldüğü için muhtemelen geri kalanı biriktirmektedir. Silajın son pH'sı en çok laktik asit konsantrasyonu ve mahsulün tamponlama kapasitesi ile ilgilidir (5).

Silaj asitleri, ineğin kendi tükürüğü veya rasyondaki ek tamponlarca nötrleştirilir. Silaj asitleri nötrleştirilmezse

rumende toplam asit artacaktır. Dengesiz rasyonlarla rumen laktik asidi parçalama kapasitesi tehlikeye girmediği sürece, silajlardaki yüksek laktik asit seviyeleri rumen laktik asit konsantrasyonlarında önemli bir artışa neden olmaz ve rumen asidozu şekillenmez (28). Fakat, Erdman (29), silaj fermantasyonu son ürünlerini ve bunların yem tüketimi üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmaları derlemiş ve daha yüksek asit konsantrasyonlarının ve buna bağlı olarak pH'daki düşüşün yem tüketimini sınırladığı sonucuna varmıştır. Silaj fermantasyonu son ürünlerinin metabolizması ile ilgili yapılan çalışmalarda süt ineklerinin yem tüketimini değiştirdiği rapor edilmiştir (30, 31) ancak, organik asitlerin veya silaj pH'sının bireysel etkilerini tahmin etmek zordur.

Silaj mikrobiyal inokulantlar silaj fermantasyonunu, aerobik stabiliteyi ve potansiyel olarak hayvan performansını iyileştirmek için kullanılan canlı mikroorganizmalardır (32). Fakat silaj katkısı olarak laktik asit bakterilerini kullanan bazı çalışmalarda, silajın kalitesine etki etmeden de süt verimini artırdığı bildirilmiştir (33). Laktik asit bakterisi (LAB) kullanılarak hazırlanan yonca silajlı rasyonu tüketen ineklerin süt veriminin arttığı belirlenmiştir (34). LAB silaj katkısının süt ineklerinin performansı üzerindeki etkilerini değerlendiren 31 çalışmanın meta-analizinde, Oliveira ve ark. (35), LAB katkı maddesi ile hazırlanan silajları tüketen hayvanlarda süt veriminin 0.37 kg/gün arttığını bildirmiştir. Kung ve ark. (5) ve Oliveira ve ark. (35) tarafından incelenen çalışmalarda inek başına ortalama süt verimini diyetle bakılmaksızın artırarak süt sığırlarının performansını iyileştirmiştir. Ayrıca Oliveira ve ark. (35), ortalama süt verimi 40 kg/gün olan ineklerde de süt veriminde artış gözlemlenmiştir. Bu durum LAB silaj katkısından kaynaklanan süt verimi artışının daha yüksek seviyelerde de olabileceğini göstermektedir. LAB ile hazırlanan yonca silajlarını tüketen ineklerin yem tüketiminin de arttığı belirtilmiştir (34). Artan yem tüketimi süt verimindeki artışı açıklamaktadır.

### **Silaj uçucu yağ asitlerinin (UYA) süt verimi ve yem tüketimine etkisi**

Silaj fermantasyonu sırasında farklı karboksilik asitler üretilir, laktik asit arzu edilen ve en baskın fermantasyon ürünüdür, çünkü silaj pH'sını yalnızca minimum kuru madde ve enerji kayıpları ile birlikte etkili bir şekilde düşürür (36). Gerek silajdan gelen gerekse rumen bakterileri tarafından üretilen laktik asit, rumende hızla UYA'lara, başlıca glukoneojenik öncül olan madde olan propiyonik asite metabolize edilir (37). Chen ve ark. (38) toplam karışık rasyonlara (TMR) propionik asit ilavesi yaparak silolamış ve sonuç olarak kolay eriyebilir şekerlerin korunduğunu laktik asit üretiminin azaldığını rapor etmişlerdir. Bu şekilde silajın açılıp oksijene maruz kaldığı dönemde korunan şekerler sayesinde laktik asit üretiminin devam ederek aerobik stabiliteye destek olduğunu vurgulamışlardır. Kısa zincirli yağ asitleri arasında propionik asit en yüksek antimikotik aktiviteye sahiptir (39). Mısır silajı siloda oksijene maruz kaldığında aerobik mikroorganizmalar ısınmaya ve bozulmaya neden olabilir. Laktik asidi metabolize eden mayalar, mısır silajında birincil bozulma organizmalarıdır (30). Havaya maruz kalma nedeniyle bozulan silaj, besin madde kaybı ve hayvan performansı üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle istenmez. Kung ve ark. (40), propiyonik asit ilave ederek hazırladıkları mısır silajlarında maya sayısının ilavesiz kontrol grubuna göre düşük kaldığını belirlemiştir. Fakat propiyonik asit düzeyi yüksek silajları tüketen ineklerde süt verimi ve yem tüketimi artış göstermemiştir.

Asetik, propiyonik ve bütirik asit, rumende üretilen baskın UYA'lardır ve bunların konsantrasyonları, yem alımına, pH'a, diyet bileşimine ve geçiş oranlarına bağlı olarak değişebilir. Geviş getiren hayvanlara verilen diyetlerin değiştirilmesinin CH<sub>4</sub> emisyonlarında bir değişikliğe ve UYA oranlarında değişikliklere yol açtığı iyi bilinmektedir. Kırmızı yonca ve ot silajı kullanılan bir çalışmada, silajların kalitesinin sığırların CH<sub>4</sub> emisyonlarında özellikle silaj kalitesinin hem CH<sub>4</sub> hem de rumen metabolitlerinin iki düşük kaliteli silaj arasında nasıl farklılık gösterebileceğini göstermiş, ayrıca, gözlemlenen CH<sub>4</sub> emisyonlarındaki değişikliklerin, fermantasyon türünden ziyade fermantasyonların kapsamıyla nasıl daha fazla ilişkili olabileceğini de açıklamışlardır (41).

Çoğu silajda, asetik asit en yüksek ikinci konsantrasyona sahip fermantasyon ürünüdür (5), genellikle kuru maddenin %1-3'ü arasında değişir (Tablo 1). Aşırı ıslak silajlar (<%25 KM), uzun süreli fermantasyonlar (yüksek tamponlama kapasitesi nedeniyle), gevşek paketleme veya yavaş silo doldurma, yüksek asetik asit konsantrasyonlarına (KM'de >%3-4) sahip silajlarla sonuçlanabilir. Laktik aside benzer şekilde, asetik asit konsantrasyonu genellikle kuru madde düzeyi ile ters orantılıdır. Silajdaki asetik asit tüketildiğinde, rumende emilebilir ve enerji için kullanılabilir. Aynı zamanda süt veya vücut yağına dahil edilebilir. Susuz veya sulu amonyakla muamele edilen silajlar daha yüksek asetik asit konsantrasyonlarına sahip olma eğilimindedir (42). Asetik asit bakterileri zorunlu aerobik, aside toleranslı bakterilerdir. Acetobacter'in silajdaki aktivitesi aerobik bozulmayı başlatabileceklerinden istenmez. Genel olarak mayalar, aerobik bozulmanın ana başlatıcılarıdır ve asetik asit bakterileri sadece küçük bir rol oynar. Ayrıca mayanın seçici inhibisyonu, silajda asetik asit bakterilerinin



çoğalmasını da artırabilir (43). Bu sebepten dolayı asetik asitin normal konsantrasyon aralığında olması yararlı olabilir, çünkü asetik asit silajdaki istenmeyen mayaları inhibe etme ve silaj havaya maruz kaldığında daha iyi stabilite sağlamaya destek olur. Dolayısıyla asetik asit içeriği çok düşük olan silajların açıldıktan sonra stabilitesi bozulabilir.

Bir çalışmada *Lactobacillus buhneri* inokule edilerek hazırlanan silajlarda asetik asit miktarı arttığı halde silaj tüketimine ve süt verimine olumsuz bir etki göstermemiştir (44). Şeker pancarı silajı, mısır silajı ve yüksek nemli mısır silajlarının asetik asit içeriklerinin sırasıyla %0.5, 0.65 ve 1.02 olarak belirlendiği bir çalışmada yüksek nemli mısırın tüketim oranı daha yüksek bulunmuş, süt verimi bakımından ise üç silaj arasında farklılık belirlenmemiştir (45). Aşırı derecede yüksek asetik asit konsantrasyonları (>%4-6), çoğunlukla enterobakteriler, klostridia veya heterolaktik asit bakterilerinin baskın olduğu istenmeyen (ancak doğal) fermantasyonlarla karakterize edilen aşırı ıslak (>%70 nem) silajlarda tespit edilir (36). Yüksek kül içeriğine (>%15) sahip baklagil silajlarında uzun süreli fermantasyona bağlı olarak asetik asit miktarı yükselebilir. LAB'nin inokulant olarak kullanıldığı silajlarda asetik asit düzeyi yüksek olmaktadır (46).

Süt sığırlarında asetik asidin kuru madde alımına etkisi üzerine başka bir çalışmada, 100 kg CA başına 1 gr asetik asit / kg KM'lik bir artış, KM alımında <17,3 gr / kg KM asetik asit konsantrasyonları için 1,2 g'lık bir azalmaya yol açtığı, 17.3-60 gr asetik asit / kg KM'den, diyet KM'sindeki her ilave gr asetik asit için KM alımında azalma 5.6 gr olarak sonuçlandırılmıştır. (100 kg CA başına) (47).

Nkosi ve arkadaşlarına göre (48), 0,1 g/kg KM'nin üzerindeki bütirik asit konsantrasyonları, *Clostridium spp.* cinsinin mikrobiyal aktivitesini yansıtır. Clostridia genellikle silaj pH'sının 5.0-5.5 düzeylerinde kalmasına neden olur, bununla birlikte bütirik asit üreterek ortamdaki proteini parçalarlar. Clostridia nedeniyle silajlarda daha yüksek kuru madde kayıpları ve amonyak-N seviyesi olmaktadır. Amonyak, amin ve amidler gibi protein yıkım ürünlerinin silaj tüketimini azalttığından şüphelenilmektedir. Bütirik asidin kendisi silaj tüketimini önemli ölçüde etkileyebilir, ancak protein parçalanma ürünlerinin varlığı bakımından bir belirleyici rol oynar. Tveit ve ark. (49), silajdaki amin konsantrasyonu ile bütirat arasındaki korelasyonun çok düşük olduğunu (<%0,21) bulmuşlardır. Bütirik asit içeriği yüksek silajlar genellikle besin değeri açısından düşüktür ve çözünür besinlerin çoğu bozunduğu için daha yüksek ADF ve NDF seviyelerine sahiptir. Ayrıca bu tür silajlar çözünür protein konsantrasyonları yüksek olabilir ve süt verimini olumsuz yönden etkileyebilen protein tabiatında amin bileşikleri içerebilir (50). Yüksek bütirik asit konsantrasyonları sütsığırlarında ketozise neden olabilir ve silajın enerji değeri düşük olduğu için yem tüketimi ve verimde kayıplar görülür. Bu sebeple hayvandaki süt verimine direkt olarak etkisi olduğu söylenebilir (51). Bütirik asit düzeyi artan silajlar ekşimiş tereyağı gibi kokar, tadı bozulur ve genellikle zeytin yeşili bir renge sahiptir. Bu durum hayvanlarda organoleptik tepki olarak yem tüketiminde azalmaya yol açar (5).

### Silajdaki etanolün yem tüketimi ve süt verimine etkisi

Etanol rumende asetik aside dönüştürülür veya rumen duvarı tarafından emilir (52) ve daha sonra süt yağına dönüştürülebilir veya vücut metabolizması veya büyüme için kullanılabilir. Yüksek kaliteli çayır otu silajı için üst sınır 10 g etanol/kg KM olarak bildirilmiştir (44). Etanol mayalar dışında çeşitli mikroplar (heterolaktik asit bakterileri, enterobakteriler) tarafından da üretilebilir ve genellikle mısır ve baklagil silajlarında düşük düzeydedir (% 0,5-1,5). Aerobik koşullar altında da birçok maya türü laktik asidi CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya indirgeyerek silaj pH'sında artışa neden olur ve bu da diğer birçok zararlı organizmanın çoğalmasına neden olur (36). Mayalar anaerobik silaj koşullarında, şekerleri etanol ve CO<sub>2</sub>'ye fermente eder. Silajda oluşan etanol mevcut şeker miktarını azaltır ve bunun yanında süt tadına da olumsuz etki yapabilir (53). Silajlardaki yüksek etanol konsantrasyonları (>%3-4) genellikle yüksek sayıda maya ile ilişkilidir ve bu tür silajlar genellikle havaya maruz kaldıklarında kolayca bozulur çünkü mayalar bu koşullar altında laktik asidi asimile edebilir. Laktik asit üretiminin aksamasıyla silaj pH'ında bir artış olur ve bu da diğer birçok bozulma organizmasının büyümesini tetikler (36). Yüksek miktarlarda etanol ayrıca yüksek kuru madde kayıplarıyla ilişkilidir ve yüksek miktarlarda yedirildiğinde sütün organoleptik kalitesini düşürerek tadının bozulmasına neden olabilir. Ayrıca ruminant hayvanlarda etanolden kaynaklı zehirlenmeler de rapor edilmiştir (54).

Alkol içeriği silajın tadını bozduğu için ineklerde yem tüketimini düşürür. Yapılan bir çalışmada etanol içeriği yüksek silaj dahil edilen TMR larla beslenen sığırlarda yem tüketimi ve süt verimi düşüş eğilimi göstermiştir (55). Raun ve Kristensen (56) ise yemlerine 14 g/kg KM düzeyinde ilave edilen propanolün yem tüketimi ve süt verimine etki etmediği fakat süt yağında düşüşe sebep olduğunu vurgulamıştır. Bu durum ruminantların rumen mikroorganizmaları sayesinde alkolü metabolize etme kapasitelerini yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Diğer bir çalışmada %0.7 KM düzeyinde etanol içeren

arpa silajı ile beslenen süt sığırlarında süt verimi önemli düzeyde düşüş göstermiştir (53). Yüksek seviyelerde asetik asit veya etanolle beslenen süt ineklerinin performansının incelendiği çalışmada, rasyonlarına etanol eklenen inekler, kontrol (35,8 kg/gün) veya asetik asit (35,3 kg/gün) rasyonlarıyla beslenenlere göre daha fazla süt (37,9 kg/gün) verdi; bunun başlıca nedeni olarak daha yüksek KM alımına sebep olduğu anlaşılmıştır (57).

### **Silaj fermentasyonu sırasında oluşan amonyağın yem tüketimi ve süt verimine etkisi**

Silaj kalitesine etki eden bir diğer parametre amonyak düzeyidir. Özellikle yüksek protein içeriklerinden dolayı baklagillerden elde edilen silajlarda amonyak düzeyi fazla olabilmektedir. Örneğin, yoncanın yüksek ham protein içeriği, düşük çözünür karbonhidrat konsantrasyonları ve yüksek tamponlama kapasitesi nedeniyle silolanması zordur. Silolama sırasındaki yetersiz KM içeriği ve zor sıkıştırma ile birleşen bu özellikler, yüksek amonyak-N konsantrasyonuna sahip silajların elde edilmesiyle sonuçlanır (58). Silajlardaki amonyak-N, bitki proteolitik enzimleri veya klostridial mikroorganizmalar tarafından proteinlerin parçalanmasından kaynaklanır (59). Siloda yoğun klostridial aktivite ve yavaş bir pH düşüşü, %12'den fazla amonyak-N konsantrasyonuna sahip silajların üretilmesinden sorumlu olabilir (Kung ve Shaver, 2001). Bir meta-analizde kullanılan yonca silajlarının amonyak-N konsantrasyonları %0.2-11 arasında değişmekte ve bu geniş aralığa rağmen silajdaki amonyağın yem tüketimi üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği belirtilmiştir (59).

Yonca silajındaki amonyağın inekler tarafından değerlendirilebilirliği hala tartışılmaktadır. Silolanan yemdeki proteinin yüksek oranda amonyak-N'na parçalanma oranı, genellikle rumende amonyak konsantrasyonlarının artmasına katkıda bulunur (60).

Rumende amonyak, amino asitler ve peptidlerle birlikte ham protein olarak geri kazanılır; ancak ineklerde kullanım yeri farklıdır. Rumende lif sindiren mikroorganizmalar için amonyak gerekli bir besindir, ancak kullanım derecesi rumende bulunan karbonhidratların miktarına ve çözünürlüğüne bağlı olarak değişir (61). Bazı araştırmalarda, çayır otu silajındaki amonyak-N'nun süt ineği performansı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Van Os ve ark. (62), %13'e karşı %6 amonyak-N içeren ot silajlarıyla beslenen ineklerde önemli bir yem tüketimi düşüşü ve süt üretiminde azalma eğilimi olduğunu göstermiştir. Yaptıkları çalışmada, %13 amonyak-N içeren silajla beslenen ineklerde rumen amonyak düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Bir başka çalışmada süt ineklerine verilen ot silajındaki amonyak-N oranı %7'den %20'ye çıktığında yem tüketimi 0.3 kg KM/gün düşmüştür (63). Huhtanen ve ark. (7) da çayır otu silajındaki yüksek amonyak-N konsantrasyonlarının, yem tüketimi ve süt üretimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğunu vurgulamıştır. Diğer bir çalışmada da şeker pancarı silajı, mısır silajı ve yüksek nemli mısır silajının amonyak içerikleri sırasıyla %5.55, 8.9 ve 9.89 olarak belirlenmiş ve yüksek nemli mısır silajının en yüksek tüketim oranına sahip olduğu, süt verimlerinin ise benzer olduğu belirlenmiştir.

## **2.Sonuç**

Silaj, sığır rasyonlarında çokca terih edilen birkaba yemdir. Birçok ülkede silaj, süt ineği rasyonlarının %50-70'ini oluşturur. Rasyonlara yüksek oranlarda katıldığı için silajın kalitesi ve tüketimi oldukça önemlidir. Laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan silajdaki son ürünler hayvanın performansını doğrudan etkilemektedir. Doğru silolama işlemi uygun fermentasyonun sağlanmasında en kritik noktadır. Kaliteli bir silajla beslemenin verim performansına etkileri bir çok çalışmada ortaya konmuştur. Bundan dolayı fermentasyon son ürünlerinin bilinmesi ve süt ineklerinin performansına etkileri dikkat edilmesi gereken bir konudur. Silaj fermentasyon karakteristiklerinin dengeli ve uygun seviyelerde olması için gelecekteki araştırmalarda etkili ve sürdürülebilir silolama yöntemleri, fermentasyonun erken aşamasında aerobik stabiliteyi artıran silaj katkıları, yemleri daha verimli paketlemek için geliştirilen ekipmanlar, havaya maruz kalan bozulmuş silajların zararları ve aerobik bozulmayı etkileyen faktörlerle ilgili çalışmalar planlanmalıdır.

## **Çıkar Çatışması Beyanı**

Makalenin yazar/yazarları, çalışma kapsamında herhangi bir kişisel ve finansal çıkar çatışması yoktur.

## Finansal Kaynak Beyanı

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

## Yazar Katkısı Beyanı

Fikir/kavram: Oğuzhan KAHRAMAN, Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ

Deney tasarımı: Oğuzhan KAHRAMAN, Zekeriya Safa İNANÇ

Denetleme/Danışmanlık: Zekeriya Safa İNANÇ

Veri toplama: Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ

Veri analizi ve yorum: Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ

Kaynak taraması: Oğuzhan KAHRAMAN, Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ, Zekeriya Safa İNANÇ

Makalenin yazımı: Oğuzhan KAHRAMAN, Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ, Zekeriya Safa İNANÇ

Eleştirel inceleme: Oğuzhan KAHRAMAN, Zekeriya Safa İNANÇ

## Etik Onay

Bu makaledeki sunulan verilerin, bilgilerin ve dokümanların akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edildiği, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçlarının bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunulduğuna dair yazarlardan etik beyan alınmıştır.

## Kaynaklar

1. Vargas E, Mustafa AF, Seguin P. Effects of feeding forage soybean silage on milk production, nutrient digestion, and ruminal fermentation of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2008;91(1):229-35.
2. Cattani M, Guzzo N, Mantovani R, Bailoni L. Effects of total replacement of corn silage with sorghum silage on milk yield, composition, and quality. *J Anim Sci Biotechnol* 2017;8(1):15.
3. Bolsen KK, Ashbell G, Weinberg ZG. Silage fermentation and silage additives-Review. *Asian-Australas J Anim Sci* 1996;9(5):483-94.
4. Aleixo JA, Daza J, Keim JP, Castillo I, Pulido RG. Effects of Sugar Beet Silage, High-Moisture Corn, and Corn Silage Feed Supplementation on the Performance of Dairy Cows with Restricted Daily Access to Pasture. *Animals* 2022;12(19).
5. Kung L, Jr., Shaver RD, Grant RJ, Schmidt RJ. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *J Dairy Sci* 2018;101(5):4020-33.
6. Mertens D. Regulation of forage intake. *Forage Quality Evaluation and Utilization* 1994. 450-93 p.
7. Huhtanen P, Nousiainen JI, Khalili H, Jaakkola S, Heikkilä T. Relationships between silage fermentation characteristics and milk production parameters: analyses of literature data. *Livest Prod Sci* 2003;81(1):57-73.
8. Wilkinson J, Davies D. The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass Forage Sci* 2013;68(1):1-19.
9. Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, Elferink SJO, Spoelstra SF. Microbiology of ensiling. *Silage Sci and Technol* 2003; 42:31-93.
10. McAllister T, Hristov A. The fundamentals of making good quality silage. *Adv Dairy Sci Technol* 2000; 12:381-99.
11. Gerlach K, Roß F, Weiß K, Büscher W, Südekum KH. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agric Food Sci* 2013;22(1):168-81.
12. Windle M, Kung Jr L. The effect of a feed additive on the feeding value of a silage based TMR exposed to air. *J Dairy Sci* 2013; 91:16.
13. Okoye CO, Wang Y, Gao L, Wu Y, Li X, Sun J, et al. The performance of lactic acid bacteria in silage production: A review of modern biotechnology for silage improvement. *Microbio Res* 2023; 266:127-212.
14. Oliveira AS, Weinberg ZG, Ogunade IM, Cervantes AAP, Arriola KG, Jiang Y, et al. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation,

- aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2017;100(6):4587-603.
15. Borreani G, Tabacco E, Schmidt RJ, Holmes BJ, Muck RE. Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J Dairy Sci* 2018;101(5):3952-79.
  16. Lara EC, Bragiato UC, Rabelo CHS, Messana JD, Reis RA. Inoculation of corn silage with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* associated with amylolytic enzyme supply at feeding. *Anim Feed Sci and Techno* 2018; 243:22-34.
  17. Gomes ALM, Jacovaci FA, Bolson DC, Nussio LG, Jobim CC, Daniel JLP. Effects of light wilting and heterolactic inoculant on the formation of volatile organic compounds, fermentative losses and aerobic stability of oat silage. *Anim Feed Sci and Techno* 2019; 247:194-8.
  18. Rotz CA. How to maintain forage quality during harvest and storage. *Adv Dairy Sci Technol* 2003; 15:227-39.
  19. Morin C, Tremblay GF, Bélanger G, Bertrand A, Castonguay Y, Drapeau R, et al. Nonstructural carbohydrate concentration during field wilting of PM- and AM-cut alfalfa. *Agron J* 2012;104(3):649-60.
  20. Brito AF, Tremblay GF, Bertrand A, Castonguay Y, Bélanger G, Michaud R, et al. Alfalfa Cut at Sundown and Harvested as Baleage Improves Milk Yield of Late-Lactation Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2008;91(10):3968-82.
  21. Pitt R, Muck R. A diffusion model of aerobic deterioration at the exposed face of bunker silos. *J Agri Eng Res* 1993;55(1):11-26.
  22. Borreani G, Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *J Dairy Sci* 2010;93(6):2620-9.
  23. Tayyab U, Wilkinson RG, Charlton GL, Reynolds CK, Sinclair LA. Grass silage particle size when fed with or without maize silage alters performance, reticular pH and metabolism of Holstein-Friesian dairy cows. *Animal* 2019;13(3):524-32.
  24. Cherney J, Cherney D. Assessing silage quality. *Silage Sci Technol* 2003; 42:141-98.
  25. Kim SC, Adesogan AT. Influence of Ensiling Temperature, Simulated Rainfall, and Delayed Sealing on Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Corn Silage. *J Dairy Sci* 2006;89(8):3122-32.
  26. Kung L, Shaver R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Wisconsin Team Forage* 2001; 13:20-8.
  27. Driehuis F, Wikselaar PG. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high dry matter grass silage. *J Sci Food Agric* 2000;80(6):711-8.
  28. Ward R. Fermentation analysis of silage: use and interpretation. *Cumberland Valley Analytical Services* 2008.
  29. Erdman R, editor. Silage fermentation characteristics affecting feed intake. *National Silage Prod. Conference* 1993 Feb 25-23; Ithaca, NY. 1993.
  30. Mahanna B, Chase LE. Editors. Practical applications and solutions to silage problems. *Silage Sci Technol* 2003; 42:855-95.
  31. Grant RJ, Ferraretto LF. Silage review: Silage feeding management: Silage characteristics and dairy cow feeding behavior. *J Dairy Sci* 2018;101(5):4111-21.
  32. Muck RE, Nadeau EMG, McAllister TA, Contreras-Govea FE, Santos MC, Kung L. Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *J Dairy Sci* 2018;101(5):3980-4000.
  33. Steen RWJ, Unsworth EF, Gracey HI, Kennedy SJ, Anderson R, Kilpatrick DJ. Evaluation studies in the development of a commercial bacterial inoculant as an additive for grass silage. *Grass Forage Sci* 1989;44(4):381-90.
  34. Monteiro HF, Paula EM, Muck RE, Broderick GA, Faciola AP. Effects of lactic acid bacteria in a silage inoculant on ruminal nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and lactation performance of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 2021;104(8):8826-34.
  35. Oliveira AS, Weinberg ZG, Ogunade IM, Cervantes AAP, Arriola KG, Jiang Y, et al. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 2017;100(6):4587-603.
  36. McDonald P, Henderson N, Heron S. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow, England Chalcombe; 1991.
  37. Larsen M, Kristensen N. Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *Animal* 2013;7(10):1640-50.
  38. Chen L, Guo G, Yuan X, Shimojo M, Yu C, Shao T. Effect of Applying Molasses and Propionic Acid on Fermentation Quality and Aerobic Stability of Total Mixed Ration Silage Prepared with Whole-plant Corn in Tibet. *Anim Biosci* 2014;27(3):349-56.
  39. Stallings C, Townes R, Jesse B, Thomas J. Changes in alfalfa haylage during wilting and ensiling with and without additives. *J Anim Sci* 1981;53(3):765-73.
  40. Sheperd A, Smagala A, Endres K, Bessett C, Ranjit N, et al. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *J Dairy Sci* 1998;81(5):1322-30.
  41. Bica R, Palarea J, Lima J, Uhrin D, Miller GA, Bowen JM, et al. Methane emissions and rumen metabolite concentrations in cattle fed two different silages. *Sci Rep* 2022;12(1):5441.

42. Kung L, Robinson JR, Ranjit NK, Chen JH, Golt CM, Pesek JD. Microbial Populations, Fermentation End-Products, and Aerobic Stability of Corn Silage Treated with Ammonia or a Propionic Acid-Based Preservative. *J Dairy Sci* 2000;83(7):1479-86.
43. Elferink S, Driehuis F, Gottschal JC, Spoelstra SF. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Electronic Conference on Tropical Silage*; 2000 Sep 17-30; Italy, Rome. 2000.
44. Thaysen J. Die Produktion von qualitativ hochwertigen Grassilagen. *Übers Tierernährg.* 2004; 32:57-102.
45. Aleixo JA, Daza J, Keim JP, Castillo I, Pulido RG. Effects of Sugar Beet Silage, High-Moisture Corn, and Corn Silage Feed Supplementation on the Performance of Dairy Cows with Restricted Daily Access to Pasture. *Animals* 2022;12(19):2672.
46. So S, Wanapat M, Cherdthong A. Effect of sugarcane bagasse as industrial by-products treated with *Lactobacillus casei* TH14, cellulase and molasses on feed utilization, ruminal ecology and milk production of mid-lactating Holstein Friesian cows. *J Sci Food Agric* 2021;101(11):4481-9.
47. Gerlach K, Daniel JLP, Jobim CC, Nussio LG. A data analysis on the effect of acetic acid on dry matter intake in dairy cattle. *Anim Feed Sci and Tech* 2021; 272:114782.
48. Nkosi BD, Meeske R, Palic D, Langa T, Leeuw KJ, Groenewald IB. Effects of ensiling whole crop maize with bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability, and growth performance of lambs. *Anim Feed Sci Tech* 2009;154(3-4):193-203.
49. Tveit B, Lingaas F, Svendsen M, Sjaastad V. Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. *J Dairy Sci* 1992;75(9):2421-32.
50. Kung L, Shaver R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on forage* 2001;3(13):1-5.
51. Kung L, editor *Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment. California Alfalfa & Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference*; 2010: University of California, California, Davis, 2010.
52. Bruning CL, Yokoyama MT. Characteristics of Live and Killed Brewer's Yeast Slurries and Intoxication by Intraruminal Administration to Cattle. *J Dairy Sci* 1988;66(2):585-91.
53. Randby Å, Selmer-Olsen I, Baevre L. Effect of Ethanol in Feed on Milk Flavor and Chemical Composition. *J Dairy Sci* 1999;82(2):420-8.
54. Peixoto P, Brust L, Brito M, França T, Malafaia P, Tokarnia C. Ethanol poisoning in cattle by ingestion of waste beer yeast in Brazil. *CABI International* 2011. 494-8 p.
55. Kristensen NB, Storm A, Raun BML, Røjen BA, Harmon DL. Metabolism of Silage Alcohols in Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2007;90(3):1364-77.
56. Raun BML, Kristensen NB. Metabolic effects of feeding ethanol or propanol to postpartum transition Holstein cows. *J Dairy Sci* 2011;94(5):2566-80.
57. Daniel JLP, Amaral RC, Sá Neto A, Cabezas-Garcia EH, Bispo AW, Zopollatto M, et al. Performance of dairy cows fed high levels of acetic acid or ethanol. *J Dairy Sci* 2013;96(1):398-406.
58. Muck RE, editor. *The art and science of making silage. 41st West Alfalfa & Forage Symp*; 2011 Dec 11-13; Las Vegas, Nevada 2011
59. García Á. Ammonia-N concentration in alfalfa silage and its effects on dairy cow performance: A meta-analysis. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 2017. p. 175-84.
60. Givens DI, Rulquin H. Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. *Anim Feed Sci Tech* 2004;114(1):1-18.
61. Soest PJV. editor *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Ithaca, New York: Cornell University Press; 1994.
62. Van M, Dulphy J, Baumont R, Jailler M, Ballet J, editors. *The influence of ammonia and amines on grass silage intake and intake behaviour in dairy cows. Ann zootech*; 1995.
63. Wright D, Gordon F, Steen R, Patterson D. Factors influencing the response in intake of silage and animal performance after wilting of grass before ensiling: A review. *Grass Forage Sci* 2000;55(1):1-13



doi 10.33188/vetheder.1375103

Derleme / Review

**Nükleik asit temelli moleküler yöntemler: Köpeklerde genetik markerlar****Hasan Zafer ŞAFAK<sup>1,a</sup>, Murat SAĞLAM<sup>2,b</sup>, Banu YÜCEER ÖZKUL<sup>3,c\*</sup>**<sup>1,2</sup>Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Ankara, TürkiyeID 0009-0004-8803-8261<sup>a</sup>; 0000-0002-5630-7736<sup>b</sup>; 0000-0002-7036-6230<sup>c</sup>MAKALE BİLGİSİ /  
ARTICLE INFORMATION:

ÖZET

Geliş / Received:

13 Ekim 23

13 October 23

Revizyon/Revised:

29 Aralık 23

29 Aralık 23

Kabul / Accepted:

2 Ocak 24

2 January 24

Dünyada ve Türkiye’de çok sayıda köpek genotipi bulunmaktadır. Bu köpek genotipleri çeşitli amaçlar (av, çoban, bekçi, arama-kurtarma köpeği vb) doğrultusunda yetiştirilmektedir. Geçmişte avcılıkla başlayan köpek ve insan birlikteliği günümüzde birçok alanda devam etmektedir ve ilk evciltelen tür olması muhtemeldir. Köpeklerin kökeni, evrimi ve birbirleri ile olan genetik uzaklıkların belirlenmesinde, köpeklerin bir veya birkaç yerde mi evcilleştirildiğini, evcilleştirildiği zamanı ve yerini tespit etmek, evcil köpekler arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için çeşitli yöntemlerden (mitokondrial DNA (mtDNA), mikrosatelit, tek nükleotid polimorfizmi (SNP), kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) gibi) yararlanılmaktadır. Bu analizlerin çoğu populasyon genetiği esasına dayanmaktadır. Diğer evcil türlerde olduğu gibi, köpeklerin de farklı yer ve zamanlarda evcilleştirilmeleri farklı köpek ırklarının oluşmasına neden olmuştur. Köpek yetiştiriciliğinde değişik birleştirme metodları ve seleksiyon uygulanarak farklı amaçlara uygun köpek ırkları meydana getirilmiştir. Birçok hayvan türünde olduğu gibi köpekler üzerinde de farklı genetik çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla genetik markerlardan (kalça displazisi gibi kalıtsal hastalıkların tespiti, yavru cinsiyetinin belirlenmesi, ikizlik ve freemartinismus olgularının tespiti, genom haritalarının çıkarılması vb) faydalanılmaktadır. Bu derlemede, köpeklerde marker genlerin kullanımı hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Sözcükler:

Gen

Köpek

Marker

nükleik asit

Keywords:

Dog

gene

marker

nucleic acid

**Nucleic acid-based molecular methods: Genetic markers in dogs**

ABSTRACT

There are many dog genotypes in the world and in Turkey. These dog genotypes are bred for various purposes (hunting, herding, guarding, search and rescue dog, etc.). The association of dogs and humans, which started with hunting in the past, continues in many areas today and is likely to be the first domesticated species. Various methods such as mitochondrial DNA (mtDNA), microsatellite, single nucleotide polymorphism (SNP), truncated fragment length polymorphism (RFLP) are used to determine the origin, evolution and genetic distance between dogs, to determine whether dogs were domesticated in one or several places, to determine the time and place of domestication, and to determine genetic variation among domestic dogs. Most of these analyses are based on population genetics. As with other domestic species, the domestication of dogs in different places and times has led to the formation of different dog breeds. Different breeding methods and selection have been applied in dog breeding to create dog breeds suitable for different purposes. As in many animal species, different genetic studies are carried out on dogs. For this purpose, genetic markers (detection of hereditary diseases such as hip dysplasia, determination of puppy sex, detection of twinning and freemartinismus cases, genome mapping etc.) are used. In this review, information about the use of marker genes in dogs is given.

©2024 The Authors.  
Published by Veteriner Hekimler Derneği. This is an open access article under CC-BY-NC license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>)



**How to cite this article:** Şafak HZ, Sağlam M, Özkul Yüceer B. Nükleik asit temelli moleküler yöntemler: Köpeklerde genetik markerlar. Vet Hekim Der Derg 95 (1): 83-96, 2024. DOI: 10.33188/vetheder.1375103

\* Sorumlu Yazar e-posta adresi / Corresponding Author e-mail address: [yuceerbanu@hotmail.com](mailto:yuceerbanu@hotmail.com)

## 1. Giriş

Türkiye hayvan gen kaynakları bakımından zengin bir ülkedir. Farklı coğrafik yapıya ve geniş bir yüz ölçümüne sahip olan Türkiye’de farklı köpek genotipleri bulunmaktadır. Bu köpek genotipleri yüzyıllardır Anadolu topraklarında saf olarak yetiştirilmiş, bulunduğu bölge şartlarına adapte olmuş ve üstün yeteneklere sahip genotiplerdir. Bu genotiplerin çoğu çoban veya av köpeği olarak kullanılmaktadırlar (1).

Arkeolojik kalıntılar köpeğin MÖ 12000 yıllarında Mezopotamya’da evcilleştirildiğini göstermektedir ve ilk evciltiren tür olması muhtemeldir (2). Evcilleştirildikten sonra günümüze kadar çok sayıda köpek ırkı elde edilmiş olup köpeklerin kullanım amaçlarında değişiklikler olmuştur. Bugün FCI (Uluslararası Kinoloji Federasyonu)’a kayıtlı 356 köpek ırkı mevcuttur (3).

Köpeklerin evrimi, insanların etkisi altında yapay seleksiyon yöntemiyle gerçekleştirilen bir süreci kapsamaktadır. Köpeklerin evrimi hem fiziksel hem de sosyokültürel olarak gerçekleşmiştir. Normal şartlar altında canlıların evrim süreci, doğal çevrenin etkisi altında gerçekleşir. Ancak köpeklerin evrimi sırasında insanların ciddi katkıları olmuştur. Köpeklerde evrim süreci, insanların ve toplumun beklentilerine göre şekillenmiş ve bu durum köpeklerin normalde sahip olamayacakları özelliklere sahip olmalarına yol açmıştır (4).

Köpeklerde, teknolojik gelişmelere uygun bir şekilde farklı alanlarda kullanılmıştır. Önceleri köpeklerden bekçi, avcı ve çoban köpeği olarak yararlanılmıştır. Bu nedenle de ilk ortaya çıkan ve kullanılan ırklar bekçi, çoban ve av köpekleridir. Sonra köpeklerin koruma içgüdülerinden faydalanılarak koruma ve dövüş köpekleri ortaya çıkmıştır. Özellikle büyük ırklar melezlenmiş ve müsabaka yeteneği iyi olan köpekler elde edilmiştir. Bu dönemde özellikle Mastif ırkı köpeklerin sayıları artmıştır. Bu köpekleri, 1. Dünya savaşında kullanılmaya başlanarak halen yetiştirilmekte olan polis ve asker teşkilatındaki köpekler takip etmiştir. 1. Dünya savaşında, köpekler yaralıları kurtarmak için arama kurtarma amaçlı olarak eğitilmişlerdir. Günümüzde ise, enkaz altındaki insanları arama, mayın, bomba ve uyuşturucu madde arama, hastalık teşhisi gibi birçok alanda eğitilmekte ve kullanılmaktadırlar. Geçmişte avcılıkla başlayan köpek ve insan birlikteliği günümüzde birçok alanda devam etmektedir (2).

Farklı amaçlarla yetiştirilen ve kullanılan köpeklerde yavru seçimi çok önemlidir. Yavru seçimi fenotipik özelliklere bakılarak davranış testleri ile yapılmaktadır. Bu testlerin sonuçları eğiticilerin deneyim veya önceliklerine göre değişiklik gösterebilmektedir. Oysa belirteç gen olarak bilinen genetik markerlar kullanılarak yapılan Marker Destekli Seleksiyon (MAS) çalışmalarında objektif sonuçlar elde edilmektedir. Ayrıca, istenilen verim özelliklerinin geliştirilebilmesi için generasyon aralığı kısaltmakta ve daha kısa sürede ilerleme sağlanmakta, verimlerin tespitinde cinsiyete bağlı olarak yaşanan sıkıntılar bertaraf edilmektedir. Böylelikle yavru seçimlerinde hata ihtimalide azalmıştır (5).

## 2. Marker genler

Genetik marker canlıda, belli bir genetik özelliğin veya hastalığın varlığına işaret eden gen; belirleyici gen, genetik belirleyici anlamına gelmektedir. Günümüzde genetik markerlar moleküler genetiğin gelişmesiyle birlikte birçok hayvan türünde; babalık tayini, kalıtsal hastalıklar, akrabalık, yavru cinsiyetinin belirlenmesi, ikizlik ve freemartinismus olgusu, genetik uzaklığın tahmini, genom haritalarının çıkarılması, kantitatif karakterler ile ilgili lokusların belirlenmesi ve marker destekli seleksiyon gibi birçok alanda kullanılmaktadır (6).

Biyoteknolojideki gelişmeler günümüzde hızla ilerlemektedir. Özellikle PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tekniğinin bulunmasından sonra genetik çalışmalar iyice hız kazanmıştır. Köpek genom haritası çıkarılmış ve uluslararası biyoteknoloji merkezinin web sitesinde (7) Temmuz 2004 tarihinde yayınlanmıştır. Birbirini takip eden araştırmalar ortaya koymuştur ki köpekler, davranışların ve hastalıkların genetik altyapısını açıklamak için ideal hayvanlardan biridir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda, farklı davranış özelliği sergileyen köpeklerde genetik açıdan da farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (8; 9; 10).

### 3. Genetik Markerlar

Genetik marker (işaretleyici-belirteç), kromozom üzerinde bilinen konuma sahip bir DNA dizisidir. Genetik markerler, farklı amaçlarla kullanılabilirler. Örneğin, kalıtsal bir hastalığı sorumlu gen ile ilişkilendirmeye yardımcı olabilir veya henüz tanımlanmamış ancak yaklaşık konumu bilinen yakındaki bir genin kalıtımını izlemek için kullanılabilir. Genetik markerin kendisi bir genin parçası olabilir veya bilinen bir işlevi olmayabilir (11).

DNA, 1970'lerin başlarına kadar bilim insanları tarafından incelenmesi zor bir moleküldü. DNA dizilerinin incelenmesi protein ve RNA dizilerini incelemek veya genetik analizler yapmak suretiyle yani indirekt yollar ile mümkün olmaktadır. Günümüzde ise durum tamamen değişmiştir. Artık DNA'nın belli bir bölgesini kesip çıkarmak, bu bölgenin kopyalarını ve nükleotid dizilerini hatta genom dizilerini kısa bir sürede elde edebilmek mümkün hale gelmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction - PCR), DNA içerisinde yer alan, dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen ortak bir isimdir (11). Bu yöntem ilk kez 1985'te bilim dünyasına sunulduğundan beri, hem araştırmalarda hem de klinik laboratuvarlarda tanıya yeni bir bakış açısı getirmiştir. Aslında PCR işlemi (DNA polimerizasyonu-DNA'nın kopyalanarak çoğaltılması) canlı hücrelerde devamlı olmaktadır. PCR, DNA polimerizasyon işleminin belli özel amaçlar için minik deney tüplerinde (PCR tüpleri) veya cam borucuklarda yapılan bir kopyasıdır. Canlı hücreler içindeki polimerizasyon işlemi, PCR tüpleri içinde, gerekli tüm kimyasal maddeler konularak ve ısı parametreleri uygulanarak taklit edilmektedir (12).

Polimeraz zincir reaksiyonunun temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerini tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primerle sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesi bir başka ifade ile çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanmaktadır. Bir PCR döngüsü denatürasyon (denaturation), primerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır (13).

PCR tekniğinin günümüzde birçok alanda kullanıldığı görülmektedir. Başlıca kullanım alanları; çeşitli araştırmalar, klonlama, dizi analizi ve genom haritalarının çıkarılması, beşeri hekimlikte birçok hastalığın tanısında (örak hücre anemisi, kistik fibrozis, fragile X sendromu, AIDS, lösemi, vb), veteriner hekimlikte bakteriyel (*Salmonella* (Tifo ve Paratifo), *Mycoplasma*, vb) ve viral hastalıkların (Lökosis Tavuk İnfeksiyöz Anemisi, İnfeksiyöz Laringotrakeitis, Marek ve Newcastle hastalığı ve Avian İnfluenza vb) tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların dışında tarımda (tohum saflığının belirlenmesi), adli tıp örneklerinin genetik olarak tiplendirilmesi ve doku transplantasyonu için doku tiplerinin belirlenmesi gibi birçok alanda da kullanılabilir (12; 13).

Günümüzde kullanılan genetik markerlar; RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), RFLP (Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi), AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi), STR (Mikrosatellit), SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) ve DNA dizi analiz yöntemi olarak adlandırılmaktadır (14).

#### **RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)**

RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) tekniği ilk defa 1990 yılında rastgele seçilmiş primerlerin kullanıldığı ve PCR yöntemini temel alan bir teknik olarak ortaya çıkmıştır (15). Aynı dönemde başka bir araştırma grubu tarafından AP-PCR (Arbitrarily Primed-PCR) olarak isimlendirilmiştir (16). Daha sonra bu metodla aynı temele dayanan ancak 10 nükleotidden daha kısa primerlerle çalışılarak DAF (DNA Amplification Fingerprinting) olarak isimlendirilen benzer bir metod bildirilmiştir (17).

RAPD tekniğinin en büyük avantajı ilgilenilen taksonun genleriyle ilgili herhangi bir ön bilgi gerektirmemesidir. Tüm organizmalar için aynı oligonükleotid primer seti kullanılabilir ve bu oligonükleotid özgün bölgelere rastgele bağlanarak çoğaltma yapabilmektedir (18).



Rastgele amplifiye edilmiş polimorfik DNA (RAPD), PCR tabanlı bir prosedürdür ve koyun, sığır, keçi, manda, deve ve at popülasyonları arasındaki genetik ilişkilerin değerlendirilmesinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. RAPD tekniği, kullanımının basitliği, polimorfizm için hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesi gibi özelliklere sahip olması nedeniyle daha fazla kullanım alanı bulmaktadır (19).

Bununla beraber metodun bazı dezavantajları da bulunmaktadır. RAPD kullanım açısından kolay olmasına karşın, belirteçleri dominanttır ve bu nedenle heterozigotları teşhis etmek zordur. Çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin tekrarlanabilirliği, reaksiyona giren tüm değişkenlere bağlı olduğundan düşük olabilmektedir. Bunun için yöntemin optimize edilmesi oldukça önem taşımaktadır (18).

RAPD yönteminin hayvancılıkta kullanım alanları;

1. Genetik çeşitlilik çalışmaları (20; 21; 22; 23),
2. Akrabalık düzeyinin belirlenmesi (24),
3. Genom haritalarının çıkarılması (25; 26),
4. Genetik markerların tespiti (27),
5. Hayvansal ürünlerin orjinlerinin belirlenmesi (28).

### **RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism - Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi)**

DNA'yı belirli nükleotid sıralarından kesen bakteriyel kökenli restriksiyon enzimlerinin (restriksiyon endonükleaz enzimi) keşfedilmesi ile moleküler biyoloji alanında önemli gelişmeler yaşanmıştır. RFLP tekniği DNA düzeyinde polimorfizm elde etmek amacıyla günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (29). Bakteriler, bakteriyofajlara (bakterileri enfekte ederek çoğalan viruslar) karşı savunma mekanizması olarak çeşitli restriksiyon enzimleri oluşturmaktadırlar. Bu enzimler DNA molekülünü özgün tanıma sıralarından kesebilen enzimlerdir. Bir bakteri bakteriyofajlar tarafından enfekte edildiği zaman, konakçı bakterilerin endonükleaz enzimleri fajların DNA'sını çeşitli noktalardan keserek o fajın konakçı bakteride çoğalmasını önlemiş olmaktadır (30). RFLP tekniği Southern blot ve PCR tabanlı olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır.

Restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kullanıldığı bu yöntemde, Restriksiyon endonükleazlar, restriksiyon bölgeleri olarak bilinen DNA'nın sadece spesifik baz dizilerini tanımakta ve diziyi bu bölgelerden kesmektedir.

Evrin ve popülasyon genetiği çalışmalarında restriksiyon enzimlerinden yararlanılarak çok önemli farklılıklar tespit edilmiştir. RFLP analizleri hem çekirdek ve hem de mitokondriyal genomda oldukça faydalı bilgiler ortaya koymaktadır (14).

RFLP yönteminin hayvancılıkta kullanım alanları;

1. Genetik polimorfizmlerin saptanması (28; 31, 32; 33; 34),
2. Rekombinant DNA teknolojisi (35),
3. Genom haritalarının çıkarılması (26).

### **AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism - Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi)**

Vos ve ark., (36), PCR kaynaklı markerların süre avantajını ve RFLP yönteminin güvenilirliğini birleştiren yeni bir yöntem geliştirmiş ve bu tekniğe AFLP adını vermişlerdir. Seçici primerlerin kombinasyonları kullanılarak birçok polimorfik bant tespit edilebildiğinden, AFLP, genom bilgilerinin daha kolay elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir (37).

AFLP tekniği ile polimorfizm elde etme olasılığı oldukça yüksektir ve genom hakkında herhangi bir ön bilgi olmadan bu teknik uygulanabilmektedir. Elde edilen her bir marker oldukça güvenilir ve bilgi sağlayıcıdır (38). Ancak, AFLP tekniğinin dominant markerler vermesi önemli bir eksikliğidir. Ayrıca AFLP tekniğinde 50-100 gibi çok sayıda çoğaltılmış parçacık elde edildiği için bunların analizlerinin otomatik olarak bilgisayar kontrolünde yapılması gerekmektedir. Genetik haritalamada AFLP markerleri genellikle kromozomların sentromer ve telomer (uç bölgeleri) bölgelerinde toplanmaktadır. Bu durum kromozomların diğer bölgelerinin analizlerini güçleştirmektedir (39).

AFLP yönteminin hayvancılıkta kullanım alanları;

1. Genetik polimorfizmlerin tanımlanması (40; 41; 42),
2. Parmak izi teknolojisi (43; 44; 45),
3. Mikrosatellitlerin tespit edilmesi (46; 47),
4. Genetik haritalama ve QTL çalışmaları (48; 49).

### **STR (Short Tandem Repeat - Mikrosatellit Analizi)**

Ko-dominant belirteçlerden olan mikrosatellit DNA lokusları; 2-6 nükleotid uzunlukta, kısa ve tekrarlanan DNA dizilerini ifade etmektedir. Mikrosatellitler; basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeats, SSR) veya kısa ard arda tekrarlar (Short Tandem Repeats, STR) olarak adlandırılırlar.

Mikrosatellit lokuslardaki farklı alleller PCR ile çoğaltılan DNA parçasındaki farklı nükleotid dizilerinin belirlenmesiyle ortaya konmaktadır (50). STR'ler, detaylı bir şekilde incelenerek doğrulanmış primer bazlı multipleksler kullanılarak amplifiye edilir ve boyutlarına göre ayrılırlar (51).

Her bir allelde tekrar eden birimlerin sayıları birbirlerinden farklılık göstermektedir. Mikrosatellitler, lokus başına 10-3 ile 10-4 gibi yüksek mutasyon oranlarına sahiptirler ve buna bağlı olarak bir lokusta allel sayısı oldukça fazla olabilmektedir. Ayrıca mikrosatellitlerin kodominant markerler vermesi ve PCR ile kolaylıkla çalışılabilmesi kullanım alanlarını artırmaktadır (38, 52).

STR yönteminin hayvancılıkta kullanım alanları;

1. Irk içi ve ırklar arası genetik çeşitliliğin saptanması (53; 54; 55; 56; 57),
2. Babalık testi (58; 59; 60),
3. Tehlike altındaki popülasyonların durumlarının belirlenmesi (61),
4. Genom haritaları (62; 63).

### **SNP (Single Nucleotide Polymorphism - Tek Nükleotid Polimorfizmi)**

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) genomun herhangi bir bölgesindeki tek nükleotiddeki dizilim farklılıklarıdır. Genomda oldukça yaygın bulunan bu markerlara intron ve ekzon bölgelerinde, 500–1000 baz çifti sıklıkta rastlanabilmektedir (64; 65). Tek bir nükleotid varyasyonunun polimorfizm olarak tanımlanabilmesi için, popülasyonun en az %1'inin DNA'sında meydana gelmesi gerekmektedir. SNP'ler, hücrenin protein ve enzimatik mekanizmasını değiştiren genlerde varyasyonlara neden olmaktadır (65).

Genetik varyasyonun %90'ını oluşturan SNP'ler otomasyona yüksek düzeyde uyum sağlamaları ve diğer markerlara göre daha duyarlı analizlerin yapılmasına olanak tanımları nedeniyle hayvancılıkta son yıllarda oldukça geniş bir kullanım alanı bulmuşlardır. Gen kodlayan bölgelerde görülen SNP varyantları, bir proteinin amino asit sekansını değiştirmekte ve protein fonksiyonunu doğrudan etkilemektedir (66).

Gen kodlayan bölgelerdeki SNP sayısının yaklaşık 10000-50000 dolaylarında olduğu tahmin edilmektedir (67). Günümüzde aynı anda çok fazla sayıda SNP'in analizine olanak tanıyan otomasyon sistemleri geliştirilmiştir. Meydana gelen bu gelişmeler doğrultusunda yüksek çözünürlüğe sahip SNP çipleri ile genom boyu ilişki analizleri gerçekleştirilebilmektedir. Elde edilen bilgiler ışığında genomik seleksiyon olanaklı bir hale gelmiştir (68).

Genetik çalışmalarda SNP markerleri kullanımının yaygınlaşmasının 4 önemli nedeni bulunmaktadır (69).

Üzerinde durulan hemen her lokusta diğer moleküler yöntemlere göre çok daha fazla marker elde edilmektedir.

SNP herhangi bir gen ürünü karşılığı bulunan bölgelerde bulunmakta ve bu nedenle doğrudan fenotipi etkilemektedir (Siyah Alaca sığırlarında BLAD hastalığında olduğu gibi).

SNP'ler mikrosatellitlere oranla daha kararlı bir şekilde döllere aktarılmaktadır. Bu durum uzun vadede seleksiyon markeri olarak SNP'lerin kullanımını daha uygun hale getirmektedir.

DNA mikroarray teknolojisi kullanılarak daha fazla lokusun irdelendiği genetik çalışmalarda SNP markerleri mikrosatellitlere oranla daha kullanışlı markerlardır.

SNP yönteminin hayvancılıkta kullanım alanları;

1. Genetik çeşitlilik,
2. Babalık testleri,
3. Genomik seleksiyon ve
4. Genom haritalama çalışmalarıdır (70).

### DNA Dizi Analizi Yöntemi

Bireyler arasındaki genetik farklılıkların tespit edilmesinde kullanılan etkin yöntemlerin başında DNA dizi analizi yöntemi gelmektedir. Otomatik DNA dizi analizi cihazlarının geliştirilmesi ve elde edilebilirliklerinin kolaylaşması sonucunda moleküler biyoloji çalışmalarında DNA dizi analizinden yararlanılması gittikçe yaygınlaşmaktadır (71).

DNA dizi analizi veya sekanslama nükleotid baz diziliminin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Analiz, bir nükleik asit dizisinin diğerine hibridizasyonu esasına dayanmaktadır. Çoğunlukla gen mutasyonlarının (delesyon, insersiyon vb) ve kalıtsal hastalıkların tespiti ve rekombinant DNA oluşumlarının tayininde kullanılmaktadır (72).

DNA dizi analizinin genetik temeli 1970'li yıllarda ortaya konan iki farklı yöntemeye dayanmaktadır. Bunlardan ilki 1977 yılında Maxam ve Gilbert tarafından ortaya konan ve bazı nükleotidlere (A, T, C ya da G) özgü kimyasal kesim reaksiyonu temelinde geliştirilen yöntemdir. Maxam-Gilbert yöntemi olarak ifade edilen bu teknikte dizi analizi yapılacak hedef DNA bölgesinin uç kısımları radyoaktif madde ile etiketlenmekte ve bazlara özgün noktalardan kesim yapabilen çeşitli kimyasal maddeler ile DNA molekülü 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Farklı uzunluklarda DNA parçacıkları elde edilmektedir. Daha sonra poliakrilamid jel elektroforezi ile parçacıklar ayrılmakta ve otoradyografi ile görüntülenmektedir. En son olarak otoradyografi sonucu görüntülenen bantlardan yararlanılarak DNA dizisi elde edilmektedir (71).

Sanger yöntemi olarak bilinen diğer bir DNA dizi analizi yöntemi, günümüzde kullanılmakta olan otomatik DNA dizi analizi tekniklerinin öncüsü olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem laboratuvar ortamında (invitro) gerçekleştirilen DNA replikasyonu işleminin kontrollü bir şekilde yarıda kesilmesi temeline dayanmaktadır. İkili sarmal DNA tek eksenli hale getirilmekte ve hedef DNA bölgesinin bir bölümü ile komplementer olan kısa bir DNA parçacığı, bu bölge ile hibrit oluşturmaktadır. Bu primer/hedef DNA (template) karışımı DNA polimeraz enzimi tarafından katalize edilen ve primere yeni nükleotidlerin ilave edilmesi temelinde 4 ayrı reaksiyon alt grubunda incelenmektedir. Her bir reaksiyonda 4 tip deoksiniükleotidlere (dA, dC, dG ve dT) ilave olarak deoksiniükleotidlerde var olan 3' OH grubunu taşımayan dideoksiniükleotidler (ddN) de bulunmaktadır. Yeni sentezlenen DNA molekülü, primerin uç kısmı etiketlenerek veya sentez sırasında etiketli deoksiniükleotid ilave ederek radyoaktif etiketli hale getirilmektedir. Yeni DNA eksen sentezinin yapılması nükleotidlerin serbest 3' OH grubuna eklenmesi ile devam etmekte ve uzayan eksene ddNTP eklendiği zaman eksen uzaması devam edememektedir. Polimeraz reaksiyonu, ddNTP'lerin nadir ve rasgele ilave edildiği durumlarda yürütülmekte ve ayrıca farklı bazlarda sonlandırılan farklı uzunluklarda DNA molekülleri seti elde edilmektedir. Maxam-Gilbert yönteminde olduğu gibi, her bir reaksiyon grubuna ait parçacık seti, poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrılmakta ve otoradyografi ile görüntülenerek doğrudan jelden okunmaktadır (38).

### 4. Köpeklerde Genetik Yapı

Uluslararası Kinoloji Federasyonu (FCI)'na kayıtlı 356 köpek ırkı bulunmaktadır (3). Köpeklerin kökeni, evrimi ve birbirleri ile olan genetik uzaklıkların belirlenmesinde, evcilleştirme zamanı ve yerinin tespitinde ve ırklar arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesinde mitokondrial DNA (mtDNA), mikrosatellit, SNP, MHC ve RFLP gibi genetik analizlerden yararlanılmaktadır. Bu analizlerin çoğu populasyon genetiği esasına dayanmaktadır (73).

Köpek mtDNA haplotipleri; haplogrup A, B, C, D, E ve F şeklinde 6 ana filogenetik gruba ayrılmakta ve köpeklerin bu gruplarda yer alma yüzdeleri sırasıyla %71.2, 18.0, 7.6, 2.5, 0.3 ve 0.3 olarak bildirilmektedir (74). Dünyadaki köpeklerin hemen hemen %100'ü üç büyük haplogruptan birini taşımaktadır (A %55-85, B %10-35, C%5-15). Ayrıca birkaç haplotipten birini taşıyan köpeklerin çoğu neredeyse her populasyonda paylaşılmaktadır. Özellikle,

14 haplotip Avrupa, Anadolu, Ortadoğu, Güneybatı Asya, ve Doğu Asya'daki köpeklerde ortak olup Universal Tipler (UT) olarak adlandırılmaktadır (75).

Köpeklerin genetik yapıları bize hem köpek ırkları arasındaki akrabalık ilişkileri hem de ırkların coğrafik göçleri hakkında fikir vermektedir. Köpeklerin genetik yapılarıyla ilgili yapılan genetik marker çalışmaları özellikle kalıtsal hastalıkların teşhisi ve davranış bozuklukları üzerine yoğunlaşmıştır.

## 5. Dünyada Köpekler Üzerinde Çalışılan Marker Genler

Dünyada köpekler üzerinde birçok genetik çalışma yapılmaktadır. Bu amaçla genetik markerlar da kullanılmaktadır. Genetik markerlar kullanılarak kalıtsal hastalıkların teşhisi yapılabilir, davranış bozukluklarının genetik alt yapısı araştırılabilir, köpeklerin saf ırk olup olmadıkları belirlenebilir veya hangi ırkın/ırkların genini taşıdıklarının tespiti yapılabilir (76).

Köpeklerdeki davranışsal özelliklerin genetik temeli, insanlardaki çeşitli genetik belirteçler (yani aday genler) kullanılarak geniş çapta değerlendirilmektedir (77). Zira, köpeklerde davranış bozuklukları önemli bir toplum sorunu haline gelmiştir. Bugünkü ortalama 400 farklı saf köpek ırkı incelendiğinde her bir ırk için farklı özellikler amaçlanarak seleksiyon yapıldığı gözlenmektedir. Bu saf ırkların sadece morfolojik değil, davranış olarak da farklılık gösterdikleri görülmektedir (78; 79). Dünya geneline bakıldığında Pitbull, Japanese Tosa ve Fila Brasileiro ırklarının yasaklı ırklar olduğu görülmektedir (80). Bir başka açıdan incelendiğinde Türk Silahlı Kuvvetleri ve Dünya ordularında Belçika Malinois, Labrador Retriever ve Alman Çoban Köpeklerinin diğer ırklara göre daha fazla kullanıldıkları görülmektedir. Farklı şartlarda ve ortamlarda aynı ırkların kullanılması veya yasaklanması saldırganlığın sadece çevresel bir faktör olmadığını genetik yapıyla da ilişkili olduğunu göstermektedir.

Günümüzde köpeklerde davranış konusunda yapılan genetik çalışmaların oldukça fazla olduğu dikkat çekmektedir. Örneğin, bazı hormonlar, nörotransmitter maddeler ve enzimlerin hayvanlarda davranış üzerine etkili olduğu gözlemlenmiştir (81). Nörotransmitter maddeler merkezi sinir sisteminin işleyişinde oldukça önemli olup, insan ve hayvan davranışlarında kritik rol oynamaktadır (82). Yapılan bazı araştırmalarda, enzimler, hormon taşıyıcılar ve reseptörlerdeki SNP gibi genetik değişimlerin farklı davranışlar ile ilişkili oldukları bildirilmiştir (83). Köpeklerin saldırganlıkları üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, serotoninin diğer nörotransmitter maddelere göre saldırganlığı daha fazla etkilediği görülmektedir (81). Davranışla ilgili yapılan diğer araştırmalar, dopamin taşıyıcı gen ve androjen reseptör geni gibi nörotransmitter maddeleri düzenleyen genler üzerine yoğunlaşmıştır.

Golden Retriever ırkı köpeklerde serotonin reseptörlerinin (htr1A, htr1B, htr2A ve slc6A4) agresif davranış özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve incelenen haplotiplerin agresiflik ile ilgili bir duruma neden olmadığı gözlemlenmiştir (84).

Proskura ve ark., (79) köpeklerde agresif davranışların genetik temelini ortaya çıkarmak amacıyla 2 farklı geni incelemişlerdir. Bu çalışmada, dopamin reseptör geninin (DRD4) değişik tekrarlarından oluşan polimorfizmler ve serotonin reseptör genindeki (HTR2B) C/T değişimi incelenmiştir. Toplam 121 köpeğin incelendiği çalışmada (21 agresif davranış gösteren, 100 sakin mizaçlı köpek), dopamin taşıyıcı genin intron 2 bölgesindeki polimorfizmin köpeklerde agresif davranışla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Serotonin reseptör geni (HTR2B) üzerinde olan C/T tek nükleotid polimorfizminin, sakin ve agresif köpekler arasında benzerlik gösterdiği ve agresif davranışa etki etmediği belirlenmiştir.

Lit ve ark., (85) dopamin taşıyıcı gen üzerindeki değişimlerin (SLC6A3) davranışa etkilerini araştırmışlardır. Bu genin intron kısmında 12 nükleotidlik insersiyon "poly (A)" olduğunu tespit etmişlerdir. 138 Malinois ırkı köpek üzerinde yürütülen çalışmada, bu değişimin (poly(A)) köpeklerde davranış değişikliğinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir.

Konno ve ark., (86) tarafından Androjen reseptör (AR) geninin köpeklerde saldırganlık davranışı üzerine etkileri araştırılmıştır. Androjen Reseptör (AR) geninin ekson 1 bölgesi içindeki polimorfik trinükleotid tekrarları 171 köpek üzerinde yürütülen bu çalışmada gözlemlenmiştir. Androjen reseptör geninin (AR); erkek köpeklerde saldırganlıkla ilgili olduğu tespit edilmiş olup dişi köpeklerde bu etkiye rastlanmamıştır.

Japonyaya özgü Shiba Inu ırkı köpekler üzerinde yürütülen bir araştırmada, c.471T>C genindeki polimorfizm

(nöral/epitel yüksek affiniteli glutamat taşıyıcı) ile SLC1A2 geni arasında "yabancılara karşı saldırgan davranış" ile ilgili önemli ilişki tespit edilmiş olup c.471T>C genindeki polimorfizmin Shiba Inu ırkı köpeklerde agresif davranıştan sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (87).

Köpeklerde bildirilen yaklaşık 500 kalıtsal hastalık içinde 100'den fazlasının tek nokta mutasyonu ile ortaya çıktığı bilinmektedir. Günümüzde çok sayıda hastalık genetik markerlar ile tespit edilebilmektedir. Bu da erken teşhis ve marker destekli seleksiyon için temel oluşturmaktadır (88). Ayrıca, bazı kalıtsal hastalıklar çok sayıda köpek ırkını etkilemektedir. Oluşumunda genetik yapının etkili olduğu deri hastalıkları (genodermatozlar) buna örnek gösterilebilir. Bu hastalıklar aynı zamanda hayvan refahını da önemli ölçüde azaltmaktadır. Seleksiyon programlarında bu durumun dikkate alınması gereklidir (77).

## 6. Marker Destekli Seleksiyon (MAS)

Hayvanların genetik yapısına bakılarak fenotipik değerlerinin tahmin edilmesi ve buna göre seleksiyonun yapılmasıdır. Bu amaçla günümüzde genetik (DNA) markerler kullanılmaktadır.

Geleneksel seleksiyon yöntemlerine göre önemli avantajları vardır. Geleneksel seleksiyon yöntemlerinde hayvanların genetik değeri kendisinin veya akrabalarının performanslarına (verimlerine) göre yapıldığından oldukça zor, yorucu, uzun zaman gerektiren ve pahalı bir uygulamadır. Nitekim bazı karakterler bakımından bireylerin genetik değerlerinin belirlenmesi için hayvanların belli bir yaşa kadar büyütülmeleri ve yüzlerce akrabasının performansının incelenmesi gerekmektedir. Marker Destekli Seleksiyon'da bunlara gerek yoktur.

Kantitatif bir karakteri etkileyen gen ya da gen bölgeleri doğrudan bilinmediğinde genlerle ilişkili (bileşik olan) DNA markerleri kullanılmaktadır. Markerlar kromozomlarda yerleri bilinen, kalıtımı izlenilebilen ancak fonksiyonları bilinmeyen sınırlı bölgelerdir. Genetik markerler çok sayıda amaç için kullanılmaktadır. Bu amaçlardan biri de seleksiyondur (89).

Kantitatif karakterleri etkileyen genlerin yerleştiği lokuslar QTL olarak adlandırılır. QTL ler, DNA'nın bir bölgesi olup hayvanların fenotipinde etkili olurlar. Markerler kullanılarak QTL ler bakımından seleksiyon yapılmaktadır. Seleksiyon çalışmalarında QTL ile marker arasındaki uzaklık çok önemlidir. Bu uzaklık fazla olunca markerin ıslahta etkisi az olmaktadır. Çünkü mayoz bölünme sırasında crossing over olma olasılığı artmaktadır.

QTL ler kullanılarak yapılan seleksiyonda sınırlı sayıda marker kullanıldığı için ilerleme ancak ele alınan QTL in etkisiyle sınırlı olmaktadır. Oysa sınırlı sayıda marker kullanmak yerine genomdaki tüm markerlere ait bilginin kullanılması yani SNP lerin kullanılması seleksiyonda daha etkili olmaktadır (89).

Marker destekli seleksiyondan faydalanılarak çiftlik hayvanlarında süt kalitesi, üreme özellikleri, köpeklerde kalça veya dirsek displazisi olmayan, saldırgan mizaçta veya sakin mizaçta, tüy rengi, egzersize bağlı kollaps hastalığı gibi görev performansını önemli derecede etkileyebilecek hastalıklar bakımından genetik markerlar kullanılarak seleksiyon yapılmaktadır.

Damızlık köpek seçimi ve yavru seçiminde bakılan özellikler farklılık göstermektedir. Damızlık seçiminde damızlık köpeklerin iskelet yapısının düzgün, doğru bir duruşa sahip olmasına, egzersize bağlı kollaps, kalça displazisi gibi hastalıklar taşımamasına, üreme hastalıklarından arı olmasına ve üreme sisteminin sağlıklı olmasına dikkat edilir. Yavru seçiminde ise sosyalizasyon aşamasındaki yavrulara uygulanan; yükseklik korkusu, sosyal dominans, sosyallik, yüksek sese tepki, oyuncaklara ilgi vb karakter testleri ile mizaçları anlaşılmasına çalışılır. Marker destekli seleksiyon, saldırgan veya sakin mizaça göre yavru seçilmesine olanak sağlayabilir. Bu durum, sakin mizaç istenen arama kurtarma köpeklerinin ve saldırgan mizaç istenen keşif köpeklerinin seçiminde önemli olmaktadır.

## 7. Genomik Seleksiyon

Tüm genomu kapsayan binlerce (veya yüzbinlerce) marker (SNP) kullanılarak damızlık adaylarının damızlık değerlerinin istatistiksel metotlar yardımıyla tahmin edilmesi ve bu tahmine göre yapılan seleksiyona Genomik Seleksiyon denir. Genomik seleksiyon, önemli verim özelliklerinde genetik varyasyona neden olan polimorfizm ile markerlar (SNP ler) arasındaki ilişkilere dayanır.

Genomik seleksiyonun yapılabilmesi için öncelikle referans popülasyonlarda hayvanların genetik ve fenotipik bilgileri kombine edilerek tahmini genomik damızlık değeri hesaplanır ve bir formül geliştirilir. Bu formül kullanılarak aday hayvanlar sadece genetik özelliklerine bakılarak damızlık olarak seçilirler.

Genomik seleksiyondan daha önce kullanılan marker destekli seleksiyon yöntemlerinde az sayıda marker (dolayısıyla az sayıda QTL) kullanıldığı için kantitatif özelliklerin ıslahında başarı sınırlı olmuştur. Çünkü kantitatif özellikler etkileri küçük yüzlerce veya binlerce polimorfizmden etkilenmektedir. Genom boyu DNA markerlarıyla yapılan seleksiyonda (genomik seleksiyon) bütün lokusların etkileri dikkate alınmaktadır.

SNP'lerin belirlenmesi DNA dizileme yöntemi ile mümkün olabilmektedir. DNA dizileme (DNA sekans) (genom boyu ilişki analizi, GWAS), bütün genomun veya bir DNA bölgesinin nükleotit dizisinin belirlenmesidir. Bu yöntemle görevleri hakkında bir bilgi olmayan genlerin verim veya hastalıklarla ilişkileri ve bu genlerin yerleri belirlenmeye çalışılır. DNA dizi analizi ile bütün genomun veya bazı DNA bölgelerinin dizilişi çıkartılarak verimler ile ilişkilendirilmeye çalışılır. Bu durum SNP'lerin belirlenmesi ve bunların verimlerle ilişkilerinin ortaya konmasına imkan sağlamaktadır. Böylece genomik seleksiyon mümkün olabilmektedir (89).

## 8. Sonuç

Marker genlerle ilgili araştırmalar yıllardır devam etmektedir. Mevcut marker genlerin ve yeni keşfedilen marker genlerin fenotipe etkileri gün geçtikçe ortaya konulmaktadır.

Marker genlerin kullanımı ile hastalıkların erken teşhis edilmesinin kolay, hızlı ve daha güvenilir hale geleceği ve bu markerlardan faydalanılarak marker destekli seleksiyon yapılabileceği değerlendirilmektedir. Aynı zamanda, köpek yetiştiriciliğinde önemli bir problem olan kalça displazisi gibi bozuklukların marker destekli seleksiyon ile önceden tespiti yapılarak görülme sıklığının azaltılabileceği öngörülmekte ayrıca görev köpeklerinin seçiminde davranışla ilgili marker genlerin incelenerek davranışa etkilerinin tam olarak ortaya çıkarılmasının görev köpeklerinin seçimi ve gruplandırılmasında önemli olacağı düşünülmektedir.

Türk çoban köpeği (Kangal), Malaklı, Akbaş çoban köpeği, Zağar, Sultan Tazısı, Çatalburun ve Zerdava gibi yerli köpek ırkları ile ilgili genetik çalışmaların artmasının gelecek yıllarda bu ırkların saf olarak yetiştirilmeleri ve bu ırklara özgü davranışların genetik temelini ortaya konulmasında önemli olacağı öngörülmektedir.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların herhangi bir çıkar çatışması beyanı bulunmamaktadır.

## Finansal Kaynak Beyanı

Çalışma için herhangi bir finansal bir destek alınmamıştır.

## Yazar Katkısı Beyanı

Bu bölümde makalenin yazar/yazarlarının çalışmaya katkıları aşağıdaki başlıklar yardımıyla yazar(lar)ın isim-soyisimleri kullanılarak belirtilmelidir.

Fikir/kavram: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK

Deney tasarımı: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK

Denetleme/Danışmanlık: Banu YÜCEER ÖZKUL

Veri toplama: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK, Murat SAĞLAM

Veri analizi ve yorum: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK

Kaynak taraması: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK, Murat SAĞLAM

Makalenin yazımı: Banu YÜCEER ÖZKUL, Hasan Zafer ŞAFAK, Murat SAĞLAM

Eleştirel inceleme: Banu YÜCEER ÖZKUL

## Etik Onay

Bu makaledeki sunulan verilerin, bilgilerin ve dokümanların akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde edildiği, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçlarının bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunulduğuna dair yazarlardan etik beyan alınmıştır.

## Kaynaklar

1. Yüceer Özkul B, Doka PCK, Özen D, Özbaşer FT, Özarslan B, Atasoy F. Correlation between live weight and body measurements in certain dog breeds. *South African Journal of Animal Science*, 2021; 51(2):151-159.
2. Atasoy F, Kanlı O. Türk çoban köpeği Kangal. Medisan yayınevi, ISBN:975-7774-55-3, 1. Baskı; 2004.
3. FCI breeds nomenclature Erişim: [<https://www.fci.be/en/Presentation-of-our-organisation-4.html>]  
Erişim tarihi: 26.10.2022
4. Tunçay GY. Dogs with their environmental bioethics aspect evolution process. ISBN 978-625-7562-88-1; 2021.
5. Özbeyaz C, Kocakaya A Süt sığırlarında genomik değerlendirme. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2011; 51(2): 93 - 104.
6. Bayraktar M, Gürses M. Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı. *F Ü Sağ Bil Vet Derg* 2014; 28 (2): 99-106.
7. Plassais J. Whole genome sequencing has gone to the dogs *Nat Commun* 2019; 10: 1489.
8. Lindblad TK, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, Kamal M, Clamp M, Chang JL, Kulbokas EJ, Zody MC. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* 2005; 438: 803-819.
9. Houbt K, Rigterink A. Genetics of canine behavior (A review). *World Journal of Medical Genetics* 2014; 4 (3): 46-57.
10. Spady TC, Ostrander EA. Canine behavioral genetics: pointing out the phenotypes and herding up the genes. *Perspectives in Human Genetics* 2008; 82 (1): 10-18.
11. National Human Genome Research Institute, Genetic Marker. Erişim: [<https://www.genome.gov/genetics-glossary/Genetic-Marker>] Erişim Tarihi: 29.07.2023
12. Çarlı TK. Polymerase chain rection (PCR) ile ilgili sıklıkla karşılaşılan sorular ve yanıtları. Erişim:[ [www.protekt.com.tr/dokumanlar/pcr\\_nedirguneygokcelik.doc](http://www.protekt.com.tr/dokumanlar/pcr_nedirguneygokcelik.doc)]  
Erişim Tarihi:14.04.2016
13. Arda N, Temizkan G. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemlere genel bakış. *Nobel Tıp Kitabevi*, 2.Baskı; 2021.
14. Aras ES. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ders Notları Erişim: [<http://atlasbiyo.com>] Erişim Tarihi: 30.07.2023.
15. Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research* 1990; 18: 6531-6535.
16. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 1990; 18: 7213-7218.
17. Caetano Anolles G, Bassam BJ, Gresshoff PM. High resolution DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primer. *Biotechnology* 1991; 9: 553-557.
18. Özaydın S. RAPD (rastgele arttırılmış polimorfik DNA) belirleyicileri ve bitki sistematigi. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2004; 6.
19. Kumar A. PCR-based randomly amplified polymorphic DNA used for molecular characterization and detection of genetic diversity in sheep breeds. *The Pharma Innovation Journal* 2021; 10 (3): 18-21.
20. Ali AB, Ahmed MMM, Aly OM. Relationship between genetic similarity and some productive traits in local chicken strains. *African Journal of Biotechnology* 2003; 2 (2): 46-47.

21. Binbaş P, Cemal İ. Koruma altındaki Çine Çaparı koyunlarda genetik çeşitlilik. *Journal of Adnan Menderes University Agricultural Faculty* 2016; 13 (1): 71-78.
22. Elmacı C, Öner Y, Öziş S, Tuncel E. RAPD analysis of DNA polymorphism in Turkish sheep breeds. *Biochemical Genetics* 2007; 45: 691-696.
23. Kumar M. Analogy of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different *Jatropha curcas* genotypes. *African Journal of Biotechnology* 2008; 7 (23).
24. Bhattacharya K, Kumar S, Joshi D, Kumar P. Estimation of inbreeding in cattle using RAPD markers. *Journal of Dairy Research* 2003; 70: 127-129.
25. National Human Genome Research Institute, Polymerase Chain Reaction. Erişim: [<https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymerase-Chain-Reaction>] Erişim Tarihi: 30.07.2023.
26. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1980; 32 (3): 314-331.
27. Rao A, Bhat VK, Totey SM. Detection of species-specific genetic markers in farm animals through Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) genetic analysis. *Biomolecular Engineering* 1996; 13 (5): 135-138.
28. Ahmed MMM. Species identification in meat origin farm animals through DNA technology. *biotechnology in animal husbandry*. 2005; 21 (1-2): 13-15.
29. Stres B. The first decade of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) in microbial ecology. *Acta Agriculturae Slovenica* 2006; 88: 65-73.
30. Griffiths JFA. Mitochondrial inheritance in filamentous fungi. *Journal of Genetics* 1996; 75: 403-414.
31. Cemal İ, Karaca O, Davis GM, Galloway SM, Yılmaz O. Molecular genetic testing of Karya sheep for booroola and inverdale mutations. In *International Scientific Conference, Challenges of the Balkan Animal Industry and the Role of Science and Cooperation (BALNIMALCON) 2009*; 108-111.
32. Yılmaz O, Cemal I, Karaca O, Sevim S, Öztürk M, Ata N. Calpastatin gene polymorphism in Turkish sheep breeds. *International Scientific Conference (BALNIMALCON): Challenges of the Balkan Animal Industry and the Role of Science and Cooperation, 2013*.
33. Yılmaz O, Cemal I, Karaca O. Genetic diversity in nine native Turkish sheep breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics* 2014; 45 (4): 604-8.
34. Yılmaz O, Sezenler T, Ata N, Yaman Y, Cemal I, Karaca O. Polymorphism of the ovine calpastatin gene in some Turkish sheep breeds. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 2014; 38 (4): 354-7.
35. Solak M, Bağcı H, Şengil AZ, Öztaş S. Moleküler genetik ve rekombinant DNA teknolojisi (temel ilkeler). *Afyon Kocatepe Üniversitesi Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırmalar Vakfı Yayınları No: 5, Ankara, 2000*.
36. Vos P., Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 1995; 23 (21): 4407-4414.
37. Malik MH. AFLP based breed marker present a decree for Pakistani Sahiwal cattle breed identification. *Pakistan J Zool* 2022; 1-9.
38. Avise JC. *Molecular markers. Natural history and evolution*, 2nd Ed.; 2004.
39. Zabeau M, Vos P. Selective restriction fragment amplification: A general method for DNA fingerprinting. *European patent application no.0534858 a 1. European Patent Office, Paris, 1993*.
40. Sevim S, Cemal İ, Yılmaz O, Karaca O. Mastitis resistance genes in dairy cattle. *International Animal Science Congress of Turkish and Relatives Communities 2012*; 11-13.
41. Sheng HL, Jun R, Evens G, Hua-Shui A, Jun G, Ke-Fei C, Neng-Shui D. AFLP markers for genomic DNA fingerprinting in pigs. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology* 2007; 1 (1): 9-12.
42. Foulley JL. Genetic diversity analysis using lowly polymorphic dominant markers: the example of AFLP in pigs. *Journal of Heredity* 2006; 97 (3): 244-252.
43. Marsan PA, Antaldi GV, Bertoni G, Valentini A, Cassandro M, Kuiper M. AFLP markers for DNA fingerprinting in cattle. *Animal Genetics* 1997; 28 (6): 418-426.
44. Negrini R, Nijman IJ, Milanese E, Moazami-Goudarzi K, Williams JL, Erhardt G, et. al. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Animal Genetics* 2007; 38 (1): 60-66.



45. Utsunomiya YT, Bomba L, Lucente G, Colli L, Negrini R, Lenstra JA, Erhardt G, Garcia JF, Marsan PA. Revisiting AFLP fingerprinting for an unbiased assessment of genetic structure and differentiation of taurine and zebu cattle. *Bmc Genetics* 2014; 15 (47).
46. Nijman I, Otsen M, Verkaar E. Hybridization of Banteng (*Bos javanicus*) and Zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity* 1999; (90): 10-16.
47. Santana QC. Microsatellite discovery by deep sequencing of enriched genomic libraries. *Biotechniques* 2009; 46 (3).
48. Barendse WSM, Armitage LM, Kossarek A, Shalom BW, Kirkpatrick AM, Ryan D, et. al. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics* 1994; 6: 227-235.
49. Otsen M, Bieman M, Kuiper TR, Pravenec M, Kren W, Kurtz TW, Jacob HJ, Lankhorst Van Zutphen FM. Use of AFLP markers for gene mapping and QTL detection in the Rat. *Genomics* 1996; 37 (3): 289-294.
50. Buttlar JM. *Forensic DNA typing: Biology, technology, and genetics of STR markers* (2nd Edition). Elsevier Academic Press, New York; 2005.
51. Novroski, Nicole MM. Exploring new short tandem repeat markers for DNA mixture deconvolution. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science* 2021; 3 (1): 1390.
52. Machugh DE. *Molecular biogeography and genetic structure of domesticated cattle*. 1996; 25.
53. Hoda A, Marsan PA. Genetic characterisations of Albanian sheeps by microsatellites markers. *Analysis of Genetic Variation in Animals* 2012; 3-45.
54. Öner Y, Üstüner H, Orman A, Yılmaz O, Yılmaz A. Genetic diversity of Kıvrıkcık sheep breed reared in different regions and its relationship with other sheep breeds in Turkey. *Italian Journal of Animal Science* 2014; 13 (3): 3382.
55. Özşensoy Y, Kurar E. Genetic diversity of native Turkish cattle breeds: Mantel, AMOVA and bottleneck analysis. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 2014; (1): 86-93.
56. Yılmaz O, Cemal I, Karaca O, Ata N. Association of calpastatin (CAST) gene polymorphism with weaning weight and ultrasonic measurements of loin eye muscle in Kıvrıkcık lambs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2014; 20 (5): 675-680.
57. Yılmaz O, Sezenler T, Sevim S, Cemal I, Karaca O, Yaman Y, Karadağ O. Genetic relationships among four Turkish sheep breeds using microsatellites. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 2015; 39 (5): 576-82.
58. Tian F, Sun D, Zhang Y. Establishment of paternity testing system using microsatellite markers in Chinese Holstein. *Journal of Genetics and Genomics* 2008; 35 (5): 279-84.
59. Araújo AM, Guimarães SE, Pereira CS, Lopes PS, Rodrigues MT, Machado TM. Paternity in Brazilian goats through the use of DNA microsatellites. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2010; 39: 1011-4.
60. Yılmaz O, Karaca O. Karya koyunlarda mikrosatellit işletleyicilerle babalık testi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012; 18 (5): 807-813.
61. Whitehouse AM, Harley EH. Post-bottleneck genetic diversity of elephant populations in South Africa, revealed using microsatellite analysis. *Molecular Ecology* 2001; 10 (9): 2139-49.
62. Rohrer GA, Alexander LJ, Keele JW, Smith TP, Beattie CW. A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 1994; 136 (1): 231-245.
63. Groenen MA, Cheng HH, Bumstead N, Benkel BF, Briles WE, Burke T, Vignal A. A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Research* 2000; 10 (1): 137-147.
64. Wang DG, Fan JB, Siao JC, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Lander ES. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 1998; 280 (5366): 1077-1082.
65. Allemailem KS. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in prostate cancer: its implications in diagnostics and therapeutics. *Am J Transl Res* 2021; 13 (4): 3868-3889.
66. Ardıçlı S. Holstein erkek danalarda karkas özellikleri, et verimi ve kalitesini etkileyen genlerin belirlenmesi ve bu genlerin verimler ile ilişkisi. *Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*; 2015.

67. Zengin Sunay S. Paraoksonaz polimorfizminin ve paraoksonaz enzim aktivitesinin pestisitlere maruz kalan bireylerde araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi; 2010.
68. Yılmaz O. Seleksiyona Yardımcı Markerlar (Marker Assisted Selection) Erişim adresi: [<http://docplayer.biz.tr/3202926-Seleksiyona-yardimci-markerlar-marker-assisted-selection.html>] .Erişim tarihi:30.07.2023.
69. Beuzen ND, Stear MJ, Chang KC. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal* 2000; 160: 42–52.
70. Özşensoy Y, Kurar E. Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2012; 10 (2): 11-19.
71. Özdil F. Mitokondriyel DNA PCR-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) markerleri kullanılarak Türkiye'nin farklı yörelerine ait bal arılarının tanımlanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi), 2007.
72. Mergen H. DNA dizi analiz yöntemleri. Erişim Adresi: [[https://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d\\_dizi.pdf](https://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_dizi.pdf)] Erişim Tarihi: 29.07.2023.
73. Vila T, Ceradini F, Bozzoni I. Identification of a novel element required for processing of intron-encoded box C/D small nuclear RNAs in *Saccharomyces cerevisiae*. *Moll Cell Biol* 2000; 20: 1311-1320.
74. Angleby H, Savolainen P. Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences. *Forensic Science International* 2005; 154: 99-110.
75. Pang JF, Kluetsch C, Zou XC, Zhang A. mtDNA data indicate a single origin for dogs south of Yangtze river, less than 16,300 years ago, from numerous wolves. *Molecular Biology and Evolution* 2009; 26 (12): 2849-2864.
76. Dog Tests. Erişim: [<https://animalgenetics.com/dog-tests/>] Erişim tarihi: 30.07.2023
77. Marín-García PJ. Inheritance of monogenic hereditary skin disease and related canine breeds. *Veterinary Sciences* 2022; 9 (8): 433.
78. Hart BL, Miller MF. Behavioral Profiles of Dog Breeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1985; 186 (11): 1175-1180.
79. Proskura SV, Frost A, Gugala L, Dybus A, Grzesiak W, Wawrzyniak J, et. al. Genetic background of aggressive behaviour in dogs. *Acta vet. Brno* 2013; 82: 441-445.
80. Leefeldt ED, Danise AMY. Dog breeds banned by home insurance companies [<https://www.forbes.com/advisor/homeowners-insurance/banned-dog-breed-lists/>] Erişim Tarihi:27.10.2022
81. Nelson RJ, Chiavegatto S. Molecular basis of aggression. *Trends in Neurosciences*, 2001; 24 (12): 713-719.
82. Våge J, Ligas F. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in coding regions of canine dopamine and serotonin-related genes. *Bmc Genetics* 2008; 9 (10).
83. Savitz JBR, Rajkumar S. Genetic variants implicated in personality: a review of the more promising candidates. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 2008; 131 B (1): 20-32.
84. Berg L, Liinamo AE, Leegwater PA, Schilder BH, Arendonk J, Oost BA. Genetic variation in aggression-related traits in Golden Retriever dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 2007; 104 (1-2): 95-96.
85. Lit L, Belanger JM, Boehm D, Lybarger N, Oberbauer MA. Differences in behavior and activity associated with a poly (A) expansion in the dopamine transporter in Belgian Malinois. *Plos One* 2013; 8 (12).
86. Konno A, Murayama MI, Hasegawa T. Androgen receptor gene polymorphisms are associated with aggression in Japanese Akita. *Inu Biol Lett* 2011; 7: 658–660.
87. Takeuchi Y. Association analysis between canine behavioural traits and genetic polymorphisms in the Shiba Inu breed. *Animal Genetics* 2009; 40 (5): 616-622.
88. Yaprakçı MV, Tekerli M. A review on hereditary and environmental factors causing hip dysplasia in dogs. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2015;55(1):37-43.
89. Ünal N. Hayvan ıslahı ders notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, 2023.



## VETERİNER HEKİMLER DERNEĞİ DERGİSİ YAYIM KOŞULLARI

1. Dergi, Veteriner Hekimler Derneğinin yayın organı olup, yılda iki kez (Ocak ve Haziran) yayımlanır. Derginin kısaltılmış resmi adı “**Vet Hekim Der Derg**”dir.
  2. Derginin yayım dili Türkçe veya İngilizce’dir.
  3. Dergide, tamamı daha önce başka bir yerde yayımlanmamış güncel konulara ilişkin özgün bilimsel araştırmalar, derlemeler, olgu sunumları ve kısa bilimsel çalışmalar yayımlanır. Derleme niteliğindeki çalışmalar, ilgili bilim insanlarından davet usulü ile talep edilir.
  4. Dergide yayımlanmak üzere gönderilen makaleler Editörler Kurulunca değerlendirilerek konu ile ilgili hakemlere gönderilir. Hakemlerin görüşü alındıktan sonra önerilen değişiklik ve düzeltmelerin yapılması için makale yazarı/yazarlarına geri gönderilir; düzeltmeler yapıldıktan sonra yayımlanır. Hakemlerin önerileri dışında makalelerde sonradan ekleme ve çıkartma yapılamaz.
  5. **Dergide yayımlanması istenen yazılar uygun formata göre hazırlanmış "şablon"a göre düzenlenmelidir. İlgili makale formatına göre hazırlanan şablonlar “<https://dergipark.org.tr/pub/vetheder>” adresinden indirilebilir. Yazar; Dergide yayımlanması istenen yazıyı ilgili şablonu kullanarak uygun formata getirdikten sonra Dergipark sistemini kullanarak 1 Tam metin, 1 Ek makale dosyası ile 1 Etik Beyanname formu , 1 Yayın Hakkı Bilgilendirme ve Yazar Katkı Beyanı olmak üzere toplam 4 dosya yükleyecektir. Belirtilen makale dosyalarının sisteme ne şekilde yükleneceği ile ilgili bilgilere dergi web sitesi üzerinden erişilebilir (<https://dergipark.org.tr/pub/vetheder/writing-rules>).**
  6. Yazıların tamamı, şekil ve tablolar dâhil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde **15**, kısa bilimsel çalışmalarda **10**, olgu sunumlarında **8** sayfayı geçmemelidir.
  7. Makalenin başlığı kısa ve açık olmalı; ilk sözcüğün başlangıcı büyük, diğerleri küçük harflerle olacak şekilde, yazılmalıdır (“Köpek ve kedilerde uterus patolojileri” gibi). Varsa çalışmaya ilişkin açıklama dipnot işareti ile gösterilmelidir.
  8. Yazar/yazarların, ad ve soyadları makale başlığının altına yazılmalıdır; adresleri ve unvanları ilk sayfada dipnot şeklinde belirtilmelidir. Yazarların ORCID numaralarını belirtmeleri zorunludur.
  9. Özet, makalenin önemli noktalarını içerecek tarzda kısa ve açık olmalıdır. Türkçe Özet, en az 150, en fazla 250 sözcük olmalıdır. Anahtar sözcükler MeSH (Medical Subject Headings) terimlerine uygunluk açısından Türkiye Bilim Terimleri’nden seçilmeli ve en az 3, en fazla 5 adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır. Yabancı dilde Özet (Abstract), en az 200, en fazla 300 sözcük olmalıdır. Yabancı dilde anahtar sözcükler MeSH terimlerine uygun olmalı ve en az 3, en fazla 5 adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır. Anadili Türkçe olmayan yazarlardan Türkçe özet istenmez.
  10. Giriş bölümünde, çalışma ile doğrudan ilgili kısa literatür bilgisi ve çalışmanın orijinalliği ile ilgili bilgi verildikten sonra, son paragrafta çalışmanın amacı vurgulanmalıdır. Bu bölüm 2 sayfayı geçmemelidir.
  11. Gereç ve Yöntem, gereksiz ayrıntıya girilmeden, öz ve anlaşılır biçimde yazılmalıdır. Etik kurul izni gerekli ise mutlak suretle belirtilmelidir. (Kurum, Tarih, sayı numarası ile)
  12. Bulgular bölümünde, veriler kısa bir şekilde açıklanmalıdır. Tablolarda verilen bulguların metinde tekrarından kaçınılmalıdır. İstatistik analiz sonuçlarının gösteriminde P değerleri tam olarak raporlanmalıdır. P değeri için virgülden sonra 3 hane, tanımlayıcı istatistiklerin raporlanmasında ise virgülden sonra 2 hane yeterlidir. Anadili Türkçe olan makaleler için ondalık ayraç olarak virgül (,), İngilizce olanlar için ise nokta (.) kullanılmalıdır.
  13. Bölüm başlıkları sola yaslı biçimde, kalın yazı karakteri ile sözcüklerin ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. İkinci derecedeki alt başlıklar sola dayalı olarak kalın yazı karakteri ile sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır. Üçüncü derecedeki başlıklar ise paragraf başında yer almalı ve italik olarak sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır (Bkz. Şablon).
  14. Tablo ve şekil başlıkları, Türkçe ve yabancı dilde dergi formatı dikkate alınarak yazılmalıdır. Başlıkların tabloyu yeterli düzeyde açıklayıcı olmasına özen gösterilmelidir. Tablolarda dikey çizgi kullanımından kaçınılmalıdır. Yatay çizgiler ise gerektiğinde yalnızca tablonun ilk satırı ve son satırından sonra kullanılabilir.
  15. Yazarlar her bir bilimsel kısaltmanın açılımını metinde ilk geçtiği yerde açıklamalıdır. Latince cins ve tür isimleri italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Tüm ölçüler SI (Système Internationale)’ye göre verilmelidir.
  16. Tartışma ve Sonuç bölümünde, veriler literatür bilgilerinin ışığında tartışılmalı ve yorumlanmalıdır.
  17. Kaynakça gösteriminde Vancouver stili kullanılmalıdır. Kaynakça gösterimi ile ilgili detaylara aşağıda yer verilmiştir. (Dergi yazım kuralları ile uyumlu Endnote stili, dergi web sitesinden indirilebilir)
- Metninize atıfta bulunulan her eser, alıntı sırasına göre atanan benzersiz bir numaraya sahip olmalıdır. Metin içerisinde örnek kaynak gösterimi: Metninizde bir esere birden fazla atıf yapıyorsanız, aynı atıf numarası kullanılmalıdır. Numarayı parantez içinde yazabilirsiniz. Aynı cümle içinde birkaç eserden alıntı yapmak istiyorsanız, her eser için atıf numarasını eklemeniz gerekecektir. Kapsayıcı sayıları bağlamak için kısa çizgi ve sayıların ardışık olmadığı durumlarda virgül kullanılmalıdır.*
- Aşağıda 6, 7, 8, 9, 13 ve 15 numaralı eserlere metin içinde aynı yerde atıfta bulunulan bir örnek verilmiştir:*

"Daha önce yapılan çalışmalarda (6-9,13,15), kanatlılarda prebiyotiklerin büyüme performansına etkisine ilişkin bilgi verilmiştir."

Yazarın adını metninizde kullanabilirsiniz, ancak alıntı numarasını da girmelisiniz.

Ör. "Watkins ve ark. (2), yaptıkları çalışmada, FOS'un broilerlerde büyüme performansına anlamlı etkisi olduğunu göstermiştir."

Bazı kitaplar farklı yazarlar tarafından yazılmış bölümler içerebilir. Böyle bir kitaptan esere atıf yapılırken kitabın editörüne değil, bölümü yazan yazara atıfta bulunulmalıdır.

Kaynaklar kısmında gösterim: Çok yazarlı çalışmalarda yazar adlarının arasına sadece virgül konulmalıdır.

Kaynaklar atfın metin içerisindeki ilk yapıldığı dizin dikkate alınarak sıralanmalı ve numaralandırılmalıdır.

Kaynak yazımında yazar adları ve konu başlığı normal yazı tipi ile yazılmalıdır. Yazar Soyisimlerinin ilk harfi büyük sonraki harfleri küçük, isimlerin ise yalnızca başharfleri arada nokta olmaksızın büyük harfle yazılmalıdır. Dergi adlarının kısaltılması kullanılmalı ve dergilerin kısaltılmış adlarında "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation"ın son baskısı esas alınmalıdır. Dergi kısaltması içinde nokta kullanılmamalıdır. Kaynakta belirtilen yazar isimlerinin tamamı verilmeli, yalnızca 6'dan fazla yazar varsa sonraki yazarlar için et al. veya ve ark. şeklinde kısaltma kullanılmalıdır.

### Çeşitli kaynak gösterimlerine örnekler

*Eğer kaynak, bilimsel bir dergide yayınlanmış bir çalışma ise:*

Kasperowicz A, Michalowski T. Assessment of the fructanolytic activities in the rumen bacterium *Treponema saccharophilum* strain S. J Appl Microbiol 2002;92:140–146.

Christy RC, Thirunavukkarasu M. Emerging importance of animal health economics: A note. Turk J Vet Anim Sci 2006;2(3):113–117.

Russell FD, Coppell AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. Biochem Pharmacol 1998;55:697-701.

*Kaynak, kitap ise:*

Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Darnell J. Molecular cell biology. 3rd ed. New York: Scientific American; 1995.

Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 14th ed. New York: McGraw Hill, Health Professions Division; 1998.

*Kaynak kitaptan bir bölüm ise:*

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical pharmacology. 6th ed. Norwalk (CN): Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

*Kaynak bir bildiri ise:*

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

*Kaynak internette yer alıyor ise erişim tarihi ile yazılmalıdır:*

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1999 Jan-Mar [cited 1999 Dec 25]; 1(1):[24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidoc/EID/eid.htm>

Garfinkel PE, Lin E, Goering P. Should amenorrhoea be necessary for the diagnosis of anorexia nervosa? Br J Psych [serial online] 1996 [cited 1999 Aug 17]; 168(4):500-6. Available from: URL:<http://biomed.niss.ac.uk>

National Organization for Rare Diseases [Online]. 1999 Aug 16 [cited 1999 Aug 21]; Available from: URL:<http://www.rarediseases.org/>

**18.** Yazışma adresi, çalışmada şablon içerisinde verilen kısımda yer almalıdır. Çok yazarlı çalışmalarda yazarlardan sadece birinin adı, yazışma adresi olarak belirtilmelidir.

**19.** Veteriner Hekimler Derneği Dergisinde yayımlanacak olan, hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda "Etik Kurul Onayı Alınmıştır" ifadesi aranır.

**20.** Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

**21.** Dergide yayınlanan her türlü makalede yer alan ifade veya görüşlerin sorumluluğu yazarlarına aittir. Editörler, Editör Kurulu ve yayıncı bu tür materyaller için herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir.

**22.** Gönderilen makaleler geliş tarihine göre hakeme gönderilir ve yayım kurulunun aldığı kararla yayımlanır.

**23.** Makale Veteriner Hekimler Derneği Dergisi tarafından yayımlanmak üzere kabul edilirse, yazar(lar), makalenin Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Uluslararası Lisansı (CC-BY-NC) kapsamında lisanslanacağını kabul eder.

\*Yazarlar dergi etik ilke ve yayım politikasına ilişkin bilgilere aşağıdaki bağlantıdan erişebilirler:

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/vetheder/policy>

\*Yazarlar Dergi ücret politikasına ilişkin bilgilere aşağıdaki bağlantıdan erişebilirler:

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/vetheder/price-policy>



## AUTHOR GUIDELINES / INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi (Journal of the Turkish Veterinary Medical Society) is published biannually (January, June) and its abbreviation is "Vet Hekim Der Derg".
  2. The language of the journal is Turkish or English.
  3. The journal publishes original scientific research, reviews, case studies, and short communication studies on current issues not previously published anywhere else. Review studies are requested by invitation.
  4. The Editorial Board decides whether to publish the paper, considering peer reviews, scientific significance, and manuscript quality. Except for the referees' comments, the articles cannot be changed or deleted after acceptance.
  5. **Manuscripts should be prepared using the template given in the web page of the journal (<https://dergipark.org.tr/en/pub/vetheder/writing-rules>) After preparing the manuscript according to the template; the author(s) are expected to upload 4 documents via the Dergipark submission system (1 Full text, 1 Additional manuscript file, 1 Ethical statement file, 1 Copyright Agreement and Authors' Contribution file).**
  6. Manuscripts including figures and tables should not exceed 15 pages for original research articles and review articles, 10 pages for short communications, and 8 pages for case reports.
  7. Manuscript title should be short and clear; the first letter should be in capital letters and the rest in small letters (e.g. "Uterine pathologies in cats and dogs"). If needed, the explanation regarding the study should be indicated as footnotes.
  8. Name and surnames of the authors should be written under the article title; their addresses, ORCID, and titles must be placed on the first page as a footnote.
  9. Abstract should be short, and plain and include the most important parts of the manuscript. The English abstract must be at least 200, at most 300 words. At least 3, at most 5 English keywords should be selected in accordance with MeSH and written alphabetically. Researchers whose native language is not Turkish do not have to write an abstract in Turkish.
  10. The introduction should include the literature reviews related to the study and the aim/s should be indicated in the last paragraph. The introduction should not exceed 2 pages.
  11. Material and methods should be written in a clear and understandable manner without any unnecessary details. If ethical committee permission is required, it should be stated absolutely (with Institution, Date, issue number).
  12. In the results, the data should be shortly explained. Repetition of data given in tables should be avoided. P values should be reported exactly in the display of statistical analysis results. 3 digits after the decimal point are sufficient for the P value, and 2 digits after the decimal point are sufficient for reporting descriptive statistics. For articles whose native language is Turkish, a comma (,) should be used as a decimal separator, and a dot (.) should be used for English-language articles.
  13. Titles must be centered and written boldly with the first letter of each word capitalized. Second-degree subtitles must be left justified with only the first letter capitalized. Third-degree subtitles must be at the beginning of the paragraph and written *Italic* with only the first letter capitalized.
  14. Table and figure titles must be written both in Turkish and in English. Vertical lines should not be used in the tables. If horizontal is needed, they may only be used under the first and last lines of the table.
  15. Authors must place the extension of abbreviations in the first use of the text. Genus and species names in Latin must be written in *Italic*. All measurements must be indicated according to Systeme Internationale (SI) units.
  16. In the discussion and conclusion, the data should be interpreted with other study results indicated in the reference list.
  17. Journal uses the Vancouver citation style. Details about how to cite a study are given at <https://dergipark.org.tr/en/pub/vetheder/writing-rules> . You may also download the Endnote style appropriate for this journal using the link above.
- Example of Reference used in the text:** Each piece of work that is cited in your text should have a unique number, assigned in the order of citation. If, in your text, you cite a piece of work more than once, the same citation number should be used. You can write the number in brackets. If you want to cite several pieces of work in the same sentence, you will need to include the citation number for each piece of work. A hyphen should be used to link numbers that are inclusive, and a comma used where numbers are not consecutive.
- The following is an example where works 6, 7, 8, 9, 13, and 15 have been cited in the same place in the text.
- "In previous studies (6-9,13,15) discussed the effect of prebiotics on growth performance in poultry."
- You can use the author's name in your text, but you must insert the citation number as well.
- "Watkins et al. (2) showed in their study that FOS had a significant effect on growth performance in broilers."
- If a work has more than one author and you want to cite author names in your text, use 'et al.' after the first author.

Some books may contain chapters written by different authors. When citing work from such a book, the author who wrote the chapter should be cited, not the editor of the book.

Representation in the references section: Only commas should be placed between the names of the authors in studies with multiple authors. References should be listed and numbered, taking into account the index in which the reference is first made in the text.

In reference writing, the names of the authors and the title of the subject should be written in normal font. The first letter of the Author Surnames should be capitalized, the following letters should be written in lowercase, and only the initials of the names should be written in capital letters without a dot in between. Abbreviations of journal names should be used and the abbreviated names of journals should be based on the latest edition of "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation". The period should not be used in the abbreviation of the journal. All the names of the authors mentioned in the source should be given, only if there are more than 6 authors, et al. or et al. abbreviation should be used.

Example of various references

*If the reference is a Journal article:*

Kasperowicz A, Michalowski T. Assessment of the fructanolytic activities in the rumen bacterium *Treponema saccharophilum* strain S. *J Appl Microbiol* 2002;92:140–146.

Christy RC, Thirunavukkarasu M. Emerging importance of animal health economics: A note. *Turk J Vet Anim Sci* 2006;2(3):113–117.

Russell FD, Coppel AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998;55:697-701.

*If the reference is a book:*

Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Darnell J. *Molecular cell biology*. 3rd ed. New York: Scientific American; 1995.

Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 14th ed. New York: McGraw Hill, Health Professions Division; 1998.

*If the reference is a book chapter:*

Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology*. 6th ed. Norwalk (CN): Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.

*If the reference is a conference paper:*

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

*If the reference is electronic, it must be written together with the access date;*

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1999 Dec 25]; 1(1):[24 screens]. Available from: URL: <http://www/cdc.gov/ncidoc/EID/eid.htm>

Garfinkel PE, Lin E, Goering P. Should amenorrhoea be necessary for the diagnosis of anorexia nervosa? *Br J Psych* [serial online] 1996 [cited 1999 Aug 17]; 168(4):500-6. Available from: URL:<http://biomed.niss.ac.uk>

National Organization for Rare Diseases [Online]. 1999 Aug 16 [cited 1999 Aug 21]; Available from: URL:<http://www.rarediseases.org/>

**18.** Address of correspondence should be given at the end of the research. In research with more than one author, only the corresponding author's name should be given as correspondence address.

**19.** In researches based on animal experiences that are to be published in the Journal of Turkish Veterinary Medical Society should include an approval statement from the Ethical Committee. A copy of Ethical Committee's approval statement might be requested for accepted manuscripts at review stage.

**20.** The tradenames of products which are subjects of study should not be used.

**21.** Authors are fully responsible for the article published in the journal.

**22.** The articles received are subjected to review according to their arrival dates and are published consistent with the decision of the Editorial Board. After the article is published, the rights of publication belong to the journal.

**23.** If the article is accepted for publication by the Journal of the Veterinary Medical Association, the author(s) agrees that the article will be licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC-BY-NC).

\*Authors can access to the ethical principles and publication policy of the journal using the link below: <https://dergipark.org.tr/en/pub/vetheder/policy>

\*Authors can access to price policy of the Journal using the link below: <https://dergipark.org.tr/en/pub/vetheder/price-policy>



## YAYIN HAKKI BİLGİLENDİRME VE YAZAR KATKI BEYANI

### Makale Başlığı

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Aşağıda imzası bulunan yazarlar, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi'nin ve yayıncının yukarıda adı geçen yazının içeriğinden sorumlu olmadığını kabul ederler.

### Telif Hakkı

Aşağıda imzası bulunan yazarlar;

- o Gönderilen yazının (metin, tablolar, şekiller, görseller ve ilgili diğer içerik dahil) orijinal olduğu ve kısmen veya tamamen daha önce yayınlanmamış olduğunu,
- o Makalenin tamamı veya bir kısmı yayımlanmış ise, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi'nde yayınlanması için tüm izinlerin alınmış olduğunu, orijinal telif hakkı formu ve gerekli diğer belgelerin de Veteriner Hekimler Derneği ve tüm ilgililere iletileceğini kabul eder.
- o Yazarlar, makalenin başkalarının kişisel veya mülkiyet haklarını ihlal etmediğini garanti eder ve bu yazının içeriğinin sorumluluğunu ve ayrıca yazı ile ilgili diğer tüm yasal sorumlulukları kabul eder.

o Bu formu imzalayan yazarlar, makalenin Veteriner Hekimler Derneği Dergisi tarafından yayınlanmak üzere kabul edilmesi halinde, üçüncü şahısların paylaşmasına ve uyarlamasına izin veren Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı (CC-BY-NC) kapsamında lisanslanacağını kabul ederler. Bu lisans ile orijinal çalışmaya uygun atfı vermek şartıyla, çalışma materyali, yalnızca ticari olmayan amaçlar için kullanılabilir.

Lisansla ilgili daha fazla ayrıntı için aşağıdaki erişim bağlantısını kullanabilirsiniz:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>

o Yazarlar, telif hakkı da dahil olmak üzere makalenin tüm patent ve diğer mülkiyet haklarını elinde tutar.

### Yazarlık Katkısı

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, ICMJE'nin aşağıdaki 4 kriteri içeren yazarlığa ilişkin tavsiyelerine bağlı kalmaktadır:

- i. Çalışma konseptine veya tasarımına önemli katkılarda bulunmak; veya çalışma için verilerin elde edilmesi, analizi veya yorumlanmasında görev almak;
- ii. Çalışmayı hazırlamak veya önemli entelektüel içerik için eleştirel olarak gözden geçirmek;
- iii. Çalışmanın yayınlanacak versiyonunun nihai olarak onaylanması;
- iv. Çalışmanın herhangi bir bölümünün doğruluğu veya bütünlüğü ile ilgili soruların uygun şekilde soruşturulmasını ve çözülmesini sağlamak için çalışmanın tüm yönlerinden sorumlu olma hususunda hem fikir olunması

Tüm yazarlar yukarıda belirtilen ilk 3 kriterde belirtilen koşulları yerine getirmelidir. Belirtilen koşulları yerine getirmeyenler, makalenin "Teşekkür" bölümünde belirtilecektir.

Aşağıda imzası bulunan yazarlar, yukarıda belirtilen hüküm ve koşullara göre yazarlık için uygun olduklarını onaylarlar.

### Yazarlık Katkı Türleri

Lütfen aşağıdaki tablonun "Katkı Türü" bölümünü doldururken ilgili numarayı kullanınız.

1. Fikir / Kavram;
2. Deney Tasarımı;
3. Denetleme/ Danışmanlık;
4. Veri toplama ve/veya İşleme;
5. Veri analizi ve/veya yorum;
6. Kaynak taraması;
7. Makalenin yazılması;
8. Eleştirel inceleme

**Bu form tüm yazarlar tarafından imzalanmalı ve ilk gönderim sırasında diğer makale dosyalarıyla birlikte sisteme yüklenmelidir.**

Yazar	Yazarlık Katkısı	İmza	İmza Tarihi
1. ....	.....	.....	.....
2. ....	.....	.....	.....
3. ....	.....	.....	.....
4. ....	.....	.....	.....
5. ....	.....	.....	.....
6. ....	.....	.....	.....
7. ....	.....	.....	.....



## COPYRIGHT AGREEMENT AND ACKNOWLEDGEMENT OF AUTHORSHIP FORM

### Title of the manuscript:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

The undersigned authors hereby agree that Veteriner Hekimler Derneği Dergisi (*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*) and the publisher have no responsibility over the content of the manuscript titled above.

### Copyright

The undersigned authors warrant that;

- The submitted manuscript (including the text, tables, figures, images and any other related content) is original and has not been published before in whole or in part,
- If the manuscript has been published in whole or in part, all permissions were granted for publication in Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, and original copyright form, and other required documents will be forwarded to Veteriner Hekimler Derneği and all relevant persons,
- The authors guarantee that the article does not infringe any personal or property right of others and accept the responsibility for the content of this manuscript and all other legal responsibilities related to the manuscript
- By signing this form, authors agree that the article, if accepted for publication by Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, will be licensed under a Creative Commons Attribution- NonCommercial 4.0 International License (CC-BY-NC) which allows third parties to share and adapt the material for only non-commercial purposes by giving the appropriate credit to the original work.

For further details of the license, please see:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>

- Authors retain all patent and other proprietary rights to the article, including copyright.

### Authorship

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi adheres to the ICMJE recommendations on authorship that contain the following 4 criterias:

- i.Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
- ii.Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
- iii.Final approval of the version to be published;
- iv.Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved

All authors must fulfill the conditions specified in the above-mentioned first 3 criteria. Those who do not fulfill the specified number of contributions and conditions are to be mentioned in the "Acknowledgement" section of the article.

The undersigned authors certify that they qualify for the authorship according to the above-mentioned terms and conditions.

### Types of Contribution

Please use the related number when filling the "Contribution Type" section of the table below.

1. Motivation / Concept ; 2.Design ; 3. Control/Supervision;
4. Data collection and or Processing; 5. Analysis and/or Interpretation; 6. Literature review; 7. Writing the article;
8. Critical Review

**This form should be signed by all authors and submitted during the initial submission with the rest of the manuscript files.**

Author	Contribution Type	Signature	Date of Signature
1. ....	.....	.....	.....
2. ....	.....	.....	.....
3. ....	.....	.....	.....
4. ....	.....	.....	.....
5. ....	.....	.....	.....
6. ....	.....	.....	.....
7. ....	.....	.....	.....





# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

## Journal of The Turkish Veterinary Medical Society

### ETİK BEYAN FORMU / ETHICAL STATEMENT FORM

#### Ethic Declaration (EN)

In this thesis / research article / case case presentation / invited review article, which was prepared for Veteriner Hekimler Derneği Dergisi (*Journal of Turkish Veterinary Medical Sciences*);

- I/We have obtained the data, information and documents in the framework of academic and ethical rules,
- I/We provide all the information, documents, evaluations and results in accordance with scientific ethics and moral codes,
- I/We referred to all of the articles I used in this study with appropriate references,
- I/We have not made any changes to the data used and the results,
- The information and findings specified in this study are original.

I/We declare above mentioned issues and accept all rights losses that may arise against me.

Name of The Author(s) (Title)	Date	Signature

**Etik Kurul Raporu & Beyanı:** Araştırmada hayvan kullanılmış ise araştırma etik kurul tarafından onaylanmalı ilgili belge çevrimiçi makale değerlendirme sistemine yüklenmelidir. Hayvan kullanılmayan veri toplanarak gerçekleştirilmiş çalışmalar için verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğine ilişkin ilgili kurum&kuruluşlardan alınmış izin belgesi veya etik beyan formunun doldurulması ve sisteme yüklenmesi gerekmektedir.

**Ethics Committee Report & Statement:** If animals were used in the study, the research should be approved by the ethics committee and the relevant document should be uploaded to the online manuscript evaluation system. For studies carried out by collecting data without animals, it is necessary to fill in the permission document or ethical declaration form obtained from the relevant institutions and organizations that they have obtained the data, information and documents within the framework of academic and ethical rules.



# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

## Journal of The Turkish Veterinary Medical Society

### ETİK BEYAN FORMU / ETHICAL STATEMENT FORM

#### ETİK BEYANI (TR)

Veteriner Hekimler Derneği Dergisi'nde yayınlanmak üzere hazırladığım bu tez/araştırma makalesi/olgu vaka sunumu/davetli derleme çalışmasında;

- Sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi/ettiğimizi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu/sunduğumuzu,
- Çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi/gösterdiğimizi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı/yapmadığımızı,
- Bu çalışmada belirtilen bilgilerin ve bulguların özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim/ederiz.

Yazarların Adı Soyadı (Ünvanı)	Tarih	İmza

**Etik Kurul Raporu & Beyanı:** Araştırmada hayvan kullanılmış ise araştırma etik kurul tarafından onaylanmalı ilgili belge çevrimiçi makale değerlendirme sistemine yüklenmelidir. Hayvan kullanılmayan veri toplanarak gerçekleştirilmiş çalışmalar için verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğine ilişkin ilgili kurum&kuruluşlardan alınmış izin belgesi veya etik beyan formunun doldurulması ve sisteme yüklenmesi gerekmektedir.

**Ethics Committee Report & Statement:** If animals were used in the study, the research should be approved by the ethics committee and the relevant document should be uploaded to the online manuscript evaluation system. For studies carried out by collecting data without animals, it is necessary to fill in the permission document or ethical declaration form obtained from the relevant institutions and organizations that they have obtained the data, information and documents within the framework of academic and ethical rules.

# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

Cilt / Volume : 95 - Sayı / Issue : 1 - Yıl / Year : 2024

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### Araştırma Makaleleri / Research Articles

- Evaluation of the variations in spermatological parameters of Arabian stallions according to different periods of breeding season  
*Arap aygırlarında spermatolojik parametrelerin sezonun farklı dönemlerine göre değişimlerinin değerlendirilmesi*  
Kemal Tuna OLĞAÇ, Mehmet Borga TIRPAN 1-9
- Primary bone tumors in dogs and cats: 98 cases  
*Köpek ve kedilerde primer kemik tümörleri: 98 vaka*  
Arda Selin TUNC, Kürşat FILIKCI, Mehmet SAGLAM, Osman KUTSAL 10-20
- Şanlıurfa ve çevresinde yetiştirilen süt sığırlarında süt kalite parametrelerinin karşılaştırılması  
*Comparison of milk quality parameters in dairy cattle raised in and around Şanlıurfa*  
Mücahit KAHRAMAN, Aydın DAŞ, Gülşah GÜNGÖREN, Yakup KESKİNBİÇAK, Hamza YALÇIN 21-28
- Anticancer activity of bee venom components against lung cancer  
*Arı zehiri bileşenlerinin akciğer kanserine karşı antikanser etkisi*  
Özge ÖZGENÇ ÇINAR 29-36
- Molecular survey of endosymbiotic bacteria in the honeybee ectoparasite *Varroa destructor* in Türkiye  
*Türkiye’de bal arısı ektoparaziti Varroa destructor’un endosimbiyotik bakterilerinin moleküler araştırması*  
Nafiye KOÇ İNAK 37-45
- Van gölünde inci kefali (*Alburnus tarichi Guldenstaedtii*, 1814) avcılığı yapan balıkçı işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı ve mevcut sorunları  
*Socio-economic structure and current problems of fishing enterprises made hunting pearl mullet (Alburnus tarichi Guldenstaedtii, 1814) in lake Van*  
Ömer GEZGİNÇ, Yavuz CEVGER 46-59

### Olgu Sunumu / Case Report

- A rare case of perivulvar hemangiosarcoma in a bitch  
*Dışı bir köpekte nadir bir perivulvar hemanjiosarkom olgusu*  
Zeynep GÜNAY UÇMAK, Gülay YÜZBAŞIOĞLU ÖZTÜRK, İsmail KIRŞAN, Aslıhan BAYKAL, Ahmet GÜLÇUBUK, Egemen MAHZUNLAR 60-65
- Extrauterine pregnancy in a chihuahua bitch  
*Chihuahua ırkı bir köpekte ekstrauterin gebelik*  
Ahmet GOZER, Onur BAHAN, Gökhan UYANIK, Büşra KÜÇÜKKARA, Ebru ARSLANHAN, Gökhan DOĞRUER 66-72

### Derlemeler / Reviews

- Süt sığırlarında silaj fermantasyon son ürünlerinin yem tüketimi ve süt verimi üzerine etkisi  
*The effect of silage fermentation end products on feed consumption and milk yield in dairy cow*  
Oğuzhan KAHRAMAN, Zekeriya Safa İNANÇ, Deniz ŞİŞMAN, Emel DEMİRCİ 73-82
- Nükleik asit temelli moleküler yöntemler: Köpeklerde genetik markerlar  
*Nucleic acid-based molecular methods: Genetic markers in dogs*  
Hasan Zafer ŞAFAK, Murat SAĞLAM, Banu YÜCEER ÖZKUL 83-95

Yayın Koşulları / Instructions to Authors

Yayın Hakkı Bilgilendirme ve Yazarlık Formu / Copyright agreement and acknowledgement of authorship form

Etik Beyan Formu / Ethical Statement Form