

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Sayfa / Page

- 1- Evaluation of the Anesthetic Properties of Dexmedetomidine and Dexmedetomidine-Ketamine Combination and the Properties of Atipamezole as a Reversal Agent in Domestic Pigeons.....01
Evcil Güvercinlerde Deksmedetomidin ve Deksmedetomidin-Ketamin Kombinasyonunun Anestezik Özellikleri ile Reversal Bir Ajan Olarak Atipamezolün Değerlendirilmesi
A.U. AĞIŞ, Ü. YAVUZ
- 2- Türkiye'nin İstanbul ve Kocaeli İllerinde Manda Yetiştiriciliği İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Yapıları.....13
Socio-Economic Structures of Buffalo Breeding Enterprises in İstanbul and Kocaeli Provinces, Türkiye
C. BOYRAZ, F. KAYGISIZ
- 3- Efektif Mikroorganizma ve Karahindiba Ekstraktının Buzağılarda Performans Üzerine Etkisi.....20
The Effect of Effective Microorganisms and Dandelion Extract on Performance of Calves
V. OZBEK, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ, S. BÜYÜKKILIÇ BEYZİ KIYICI, M. KÜÇÜKOFLAZ
- 4- Dev Kralotu (*Pennisetum hybridum*) Silajlarında in Vitro Rumen Fermantasyonu ve Metan Üretiminin Belirlenmesi.....30
Determination of in Vitro Rumen Fermentation and Methane Production in Giant Kinggrass (*Pennisetum hybridum*) Silages
M. EREN, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ
- 5- Serological Investigation of Bovine Enterovirus in Calves in Konya Province.....43
Konya Bölgesindeki Buzağılarda Bovine Enterovirus'un Serolojik Araştırılması
H.S. PALANCI, O. AVCI, I. DİK, H.P. ASLIM, R. GÜLBAHÇE, O. BULUT
- 6- Calculation of Intracranial Volume in Van Cats by Stereological Method.....50
Van Kedilerinde Intracranial Hacmin Stereolojik Yöntemle Hesaplanması
A. KOÇYİĞİT, I. DEMİRCİOĞLU, O. YILMAZ
- 7- Mezbaha Atık Sularından İzole Edilen Enterococcus Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu.....55
Molecular Characterization of Enterococcus Species Isolated from Slaughterhouse Wastewater
N. GUNGOR, D.A. GUNDOĞ, C. GUNGOR, N. ERTAS ONMAZ
- 8- Histological and Immunohistochemical Examination in Testicular Tissue of Diabetic Rats Treated with Dandelion (*Taraxacum officinale*) Extract.....65
Karahindiba (*Taraxacum officinale*) Ekstraktı Uygulanan Diyabetik Ratların Testis Dokusunda Histolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler
Ş. YEDİEL ARAS



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

21(1): 01- 71, 2024

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

ISSN-1304-7280

Yıl/Year: 2024
Cilt/Volume: 21
Sayı/Number: 1

Yılda 3 sayı yayımlanır / Published 3 issues per year
<http://ercivet.erciyes.edu.tr>
E-posta: ercvet@gmail.com



ISSN-1304-7280

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,
Erciyes University

Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Bu dergi Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economicsand Rural Sociology Abstract, Global Health, Tübitak-Ulakbim TR Dizin ve Türkiye Atıf Dizini tarafından dizinlenmektedir.

This journal is reviewed by Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economicsand Rural Sociology Abstract, Global Health, Tubitak-Ulakbim TR Dizin and Turkey Citation Index.

Yıl / Year : 2024
Cilt / Volume : 21
Sayı / Number : 1

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>
E-posta: ercvet@gmail.com

Baskı Tarihi: Nisan 2024

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Sahibi / Owner

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına
Prof. Dr. Abdullah İNCİ (Dekan)

Baş Editör / Editor-in Chief

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Editör Yardımcıları / Assistant Editors

Prof. Dr. Öznur ASLAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Seçil ABAY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Emel ALAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Kanber KARA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Doç. Dr. Fatih Doğan KOCA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Öğr. Üyesi İmdat ORHAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dergi Sekreterleri / Journal Secretary

Arş. Gör. Dr. Gamze YETİŞMİŞ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Arş. Gör. Dr. Mukaddes BAREL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yayın Kurulu / Editorial Consultants

Prof. Dr. Güner KÜÇÜK BAYRAM (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İstatistik Danışmanı / Statistical Editor

Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK GÜRBULAK (İstatistik) (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İngilizce Dil Danışmanı / Language Editor

Okt. Mustafa AKGÜL (Erciyes Üniv. Yabancı Diller YO.)

Danışma Kurulu / Advisory Board

Prof. Dr. Ali AYDIN (İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Vet. Fak.)

Prof. Dr. Ayşe Arzu YİĞİT (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Aytekin GÜNLÜ (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Assoc. Prof. Dr. Corneliu BRASLASU (Univ. Agricultural Sci. Vet. Med. Bucharest)

Prof. Dr. Ender YARŞAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Funda KIRAL (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Gediminas VALKIUNAS (Nature Research Centre Vilnius)

Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

Ass. Prof. Dr. Klaus RIEDELBERGER (Univ. Veterinary Med. Vienna)

Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mustafa GARİP (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Münir AKTAŞ (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Nuh KILIÇ (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oğuz KUL (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oktay GENÇ (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Özcan ÖZGEL (Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Raşan ÖZEN (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Sinan AKTAŞ (Atatürk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Staffan BENSCH (University of Lund Vilnius)

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI (Balıkesir Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Taylan AKSU (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Thomas RÜLİCKE (Univ. Veterinary Med. Vienna)

Prof. Dr. Thomas WITTEK (Univ. Veterinary Med. Vienna)

Yazışma Adresi / Correspondence

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü
38039-Kayseri / TÜRKİYE

http://ercivet.erciyes.edu.tr

E-posta : ercivet@gmail.com

Tel : 0 352 339 94 84

Fax : 0 352 337 27 40

Yayın Türü / Publication Type: Yaygın süreli ve hakemli/ Common term and peer reviewed

Mizanpaj / Designer: Erhan GÜMÜŞ

Basım / Print: Erciyes Üniversitesi Matbaası, Melikgazi/KAYSERİ

ISSN-1304-728

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

Sayfa / Page

- 1- Evaluation of the Anesthetic Properties of Dexmedetomidine and Dexmedetomidine-Ketamine Combination and the Properties of Atipamezole as a Reversal Agent in Domestic Pigeons.....01**
Evcil Güvercinlerde Deksmetomidin ve Deksmetomidin-Ketamin Kombinasyonunun Anestezik Özellikleri ile Reversal Bir Ajan Olarak Atipamezolün Değerlendirilmesi
A.U. AĞIŞ, Ü. YAVUZ
- 2- Türkiye'nin İstanbul ve Kocaeli İllerinde Manda Yetiştiriciliği İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Yapıları.....13**
Socio-Economic Structures of Buffalo Breeding Enterprises in İstanbul and Kocaeli Provinces, Türkiye
C. BOYRAZ, F. KAYGISIZ
- 3- Efektif Mikroorganizma ve Karahindiba Ekstraktının Buzağılarda Performans Üzerine Etkisi.....20**
The Effect of Effective Microorganisms and Dandelion Extract on Performance of Calves
V. OZBEK, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ, S. BÜYÜKKILIÇ BEYZİ KIYICI, M. KÜÇÜKOFLAZ
- 4- Dev Kralotu (*Pennisetum hybridum*) Silajlarında in Vitro Rumen Fermantasyonu ve Metan Üretiminin Belirlenmesi.....30**
Determination of in Vitro Rumen Fermentation and Methane Production in Giant Kinggrass (*Pennisetum hybridum*) Silages
M. EREN, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ
- 5- Serological Investigation of Bovine Enterovirus in Calves in Konya Province.....43**
Konya Bölgesindeki Buzağılarda Bovine Enterovirus'un Serolojik Araştırılması
H.S. PALANCI, O. AVCI, I. DİK, H.P. ASLIM, R. GÜLBAHÇE, O. BULUT
- 6- Calculation of Intracranial Volume in Van Cats by Stereological Method.....50**
Van Kedilerinde Intracranial Hacmin Stereolojik Yöntemle Hesaplanması
A. KOÇYİĞİT, I. DEMİRCİOĞLU, O. YILMAZ
- 7- Mezbahe Atık Sularından İzole Edilen Enterococcus Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu.....55**
Molecular Characterization of Enterococcus Species Isolated from Slaughterhouse Wastewater
N. GUNGOR, D.A. GUNDOĞ, C. GUNGOR, N. ERTAS ONMAZ
- 8- Histological and Immunohistochemical Examination in Testicular Tissue of Diabetic Rats Treated with Dandelion (*Taraxacum officinale*) Extract.....65**
Karahindiba (*Taraxacum officinale*) Ekstraktı Uygulanan Diyabetik Ratların Testis Dokusunda Histolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler
Ş. YEDİEL ARAS



Evaluation of the Anesthetic Properties of Dexmedetomidine and Dexmedetomidine-Ketamine Combination and the Properties of Atipamezole as a Reversal Agent in Domestic Pigeons*

Ahmet Uğur AĞIŞ^{1,a}, Ünal YAVUZ^{2,b}

¹Petvia Veterinary Clinic, Şanlıurfa-TÜRKİYE

²Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Şanlıurfa-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-9346-9590; ^b0000-0002-4981-2355

Corresponding author: Ünal YAVUZ; E-mail: unalyavuz@harran.edu.tr

How to cite: Ağış AU, Yavuz Ü. Evaluation of the anesthetic properties of dexmedetomidine and dexmedetomidine-ketamine combination and the properties of atipamezole as a reversal agent in domestic pigeons. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):01-12

Abstract: The aim of this study was to determine the anesthetic efficacy of dexmedetomidine and ketamine alone and dexmedetomidine-ketamine combination and the effects of α_2 adrenergic reversal atipamezole in domestic pigeons (*Columba livia*). In DX group, dexmedetomidine (80 $\mu\text{g}/\text{kg}$), in K group, ketamine (100 mg/kg) alone, in DXK group, dexmedetomidine (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and ketamine (50 mg/kg) consecutively were administered intramuscularly (IM). Anesthetic depth and cardiopulmonary symptoms were monitored starting from the pre-injection moment (T0) till the 60th minute (T60). At T60, atipamezole at a dosage 4 times that of dexmedetomidine was injected intramuscularly to the DX group (320 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and the DXK group (160 $\mu\text{g}/\text{kg}$). In the DX group, only minimal sedation, bradycardia, and a sudden drop in respiratory rate were seen ($P<0.05$). The cardiopulmonary parameter values in the DXK group were affected to a lesser extent compared to the DK group. In the DXK group, 22.47 \pm 0.64 minutes after atipamezole injection, all pigeons were on their feet. As a result, it was concluded that dexmedetomidine (80 $\mu\text{g}/\text{kg}$) alone should not be used in pigeons, and if it is needed to be used, cardiopulmonary parameters should be carefully monitored peri-anesthetically. Dexmedetomidine (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and ketamine (50 mg/kg) can be used in clinical practices that require a moderate level of anesthesia. Atipamezole can safely be used at 4 times the dosage of dexmedetomidine in pigeons.

Keywords: Atipamezole, dexmedetomidine, ketamine, pigeon

Evcil Güvercinlerde Deksmetomidin ve Deksmetomidin-Ketamin Kombinasyonunun Anestezik Özellikleri ile Reversal Bir Ajan Olarak Atipamezolün Değerlendirilmesi

Öz: Bu çalışmanın amacı evcil güvercinlerde (*Columba livia*) deksmedetomidin ve ketaminin tek başına ve deksmedetomidin-ketamin kombinasyonunun anestezik etkinliğini ve α_2 adrenerjik antagonisti atipamezolün etkilerini belirlemektir. DX grubuna deksmedetomidin (80 $\mu\text{g}/\text{kg}$), K grubuna ketamin (100 mg/kg) tek başına, DXK grubuna ise deksmedetomidin (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ve ketamin (50 mg/kg) art arda kasiçi (IM) yolla uygulandı. Anestezi derinliği ile kardiyopulmoner bulgular enjeksiyon öncesinden (T0) 60. dakikaya (T60) kadar izlendi. T60'da IM yolla atipamezol, deksmedetomidinin 4 katı dozda DX (320 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ve DXK gruplarına (160 $\mu\text{g}/\text{kg}$) enjekte edildi. DX grubundaki güvercinlerde yalnızca minimal seviyede sedasyon ile bradikardi ve solunum sayısında ani düşme görüldü ($P<0.05$). DXK grubunda kardiyopulmoner değerler DX grubuna göre daha az etkilendi. DXK grubunda atipamezol enjeksiyonundan 22.47 \pm 0.64 dk sonra tüm güvercinler ayakta idi. Sonuç olarak deksmedetomidin (80 $\mu\text{g}/\text{kg}$) güvercinlerde tek başına kullanılmamalı, kullanım mecburiyetinde kardiyopulmoner parametreler perianestezik olarak dikkatle takip edilmelidir. Deksmetomidin (40 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ve ketamin (50 mg/kg) orta seviyede anestezi gerektiren klinik uygulamalarda kullanılabilir. Atipamezol güvercinlerde deksmedetomidinin dört katı dozda güvenle kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Atipamezol, deksmedetomidin, güvercin, ketamin

Introduction

Pigeon breeding is a hobby and a cultural tradition (Jerolmack, 2007). Pigeons are still used in laboratory studies by veterinary students, in investigations of neurobiological and neuroendocrine mechanisms,

and especially in stereotaxic surgery (Baek et al., 2020; Martel et al., 2021). According to data on the use of animals for scientific purposes in EU countries, among the 9,388,162 animals used in scientific research in 2017, avian species constituted 6% (EC, 2019). Surgical interventions in both clinics and scientific studies increase the importance of anesthesia in pigeons.

Until recently, routine clinical anesthesia in avian species used to be based on inhalant anesthesia consisting solely of isoflurane or sevoflurane without

Geliş Tarihi/Submission Date : 03.08.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 03.10.2023

*This publication was produced from Ahmet Uğur AĞIŞ's Master's Thesis of Harran University Health Sciences Institute, Department of Veterinary Surgery.

This research did not receive any specific grants from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

any additional drugs to ensure fast recovery and avoid potential negative effects of additional drugs. However, although isoflurane and sevoflurane cause loss of consciousness, their effect on the perception of pain stemming from the neural processing of pain stimulants is very little to none. In recent years, injectable anesthetics obtained by adding low doses of dissociative anesthetics to analgesics, tranquilizers, or sedative agents have been used as part of a balanced anesthesia protocol (Hawkins and Paul-Murphy, 2011; Heard, 2016; Lichtenberger and Lennox, 2016; Sandmeier, 2000). Sedative agents constitute a useful alternative to reduce physiological stress in avian species in which painless clinical procedures are applied, and with the use of safe and effective sedative agents, they provide significant benefits to veterinarians and staff (Doss and Mans, 2021; Lennox, 2001; Mans, 2017).

Injectable anesthetics have prominent advantages, such as ease of use, low cost, fast induction, no requirement of expensive equipment, usability under field conditions, and the availability of specific reversal agents to shorten the recovery period (Ludders, 2015). Among injectable anesthetics, ketamine, which is a dissociative anesthetic, and ketamine combinations are frequently used as inductive agents (Hawkins and Pascoe, 2007). Regarding anesthetic depth, although ketamine is used in high doses, it has been reported that it cannot produce a deep level of anesthesia (Gunkel and Lafortune, 2005). Combinations of ketamine alpha 2 (α_2) with adrenergic agonists (xylazine, detomidine, medetomidine) have long been used in clinical practice to induce muscle relaxation, reduce the dose of the inductive agent, and ensure immobility for a longer duration. In addition to providing analgesia, α_2 adrenergic agonists also reduce the need for inhalant anesthetics. On the other hand, they have certain negative effects such as potential cardiopulmonary depression. Dexmedetomidine, which has strong sedative and analgesic properties, is the dextro-isomer of medetomidine, and it binds with α_2 adrenergic receptors more potently and selectively than xylazine or detomidine. Dexmedetomidine, which is approximately 1.6 times as strong as medetomidine, is widely used for premedication as a part of balanced anesthesia in veterinary clinic applications for treatments of small animals (Atalan et al., 2002; Gunkel and Lafortune, 2005; Heard, 2016; Pan, 2021). In the sedation of small animals, atipamezole, which is a specific α_2 reversal agent for dexmedetomidine, is recommended to be used at doses three times as high as those of dexmedetomidine, and it has been reported that its use may cause vomiting, hypersalivation, diarrhea, and tremors (Antisedan, 2022). Research on the dosage of atipamezole as a reversal agent for dexmedetomidine in pigeons is continuing (Hornak et al., 2014).

There have been few studies on the sedative/

analgesic effects of dexmedetomidine, which is a relatively new α_2 adrenergic agonist producing strong analgesia in pigeons, the effect duration of atipamezole, which is a specific reversal agent for α_2 adrenergic agonists, and its effect on recovery. Hence, in this study, it was aimed to determine the clinical, reflex-related, and cardiopulmonary effects of dexmedetomidine alone and in combination with ketamine in pigeons and evaluate the effects of atipamezole used at doses 4 times as high as the dose of dexmedetomidine, dexmedetomidine alone, and dexmedetomidine-ketamine combined on the anesthesia and recovery processes.

Materials and Methods

This study was conducted with the ethical approval of the Harran University Animal Experiments Local Ethics Committee dated 11.02.2020 and numbered 2020/001/03 at Harran University Animal Experiments Application and Research Center.

The study included 30 healthy adult pigeons aged between 12 and 24 months with a mean weight of 413 ± 73.77 g. Fifteen days before starting the study, the pigeons were procured from a local business and placed in three separate stainless-steel cages at dimensions of 480x240x180 cm in groups of 10 in the avian species unit of the Animal Experiments Research Center in a quiet and stress-free setting. Clinical examinations of all pigeons were performed, and their respiratory and heart rates, body temperatures, and various physical reflexes were checked. They were kept at a standard room temperature (25°C) and fed ad libitum with water and feed. To prevent any potential adversities that could be caused by the behaviors of different people, the daily needs of the pigeons were met by the same person. The pigeons were observed in terms of eating, drinking, and unusual behaviors in the process before the implementation of the study.

Prior to anesthesia, all pigeons were weighed, and their general health examinations were performed. One hour before injecting drugs, their water and feed consumption was stopped.

To minimize potential stress, the pigeons were left in the experimental environment for about 10 minutes after they were moved from their cages to the aforementioned environment. The data recorded 15 minutes before the first injections were accepted as initial values (T₀). Clinical symptoms, reflex scores, and cardiopulmonary findings observed before and during anesthesia were recorded in the anesthesia data form that was previously prepared. Only three pigeons per day (one at a time) were exposed to anesthesia. In the study, each pigeon was used only once.

Anesthesia protocol

All pigeons were randomly assigned to three groups. The pigeons in the DX group were administered dexmedetomidine at a dosage of 80 µg/kg (Sedadomid® 200 mcg/2 ml, Kocak Farma, Tekirdag, Turkey), the pigeons in the K group were injected ketamine at a dosage of 100 mg/kg (Ketasol % 10® 10 ml, Richter Pharma, Wels, Austria), and the pigeons in the DXK group were administered dexmedetomidine at a dosage of 40 µg/kg and ketamine at a dosage of 50 mg/kg consecutively. The dexmedetomidine in the DX group and the ketamine in the K group were slowly injected to the M. pectoralis unilaterally, while the dexmedetomidine and ketamine in DXK group were consecutively and bilaterally injected to the M. pectoralis by using an insulin syringe (30 gauge). Atipamezole, which is an α_2 adrenergic reversal agent, (Antisedan® 10 ml, 5 mg/ml, Orion Pharma, Espoo, Finland) was slowly administered to the DX (320 µg/kg) and DXK (160 µg/kg) groups at the 60th minute (T60) through the same muscle group at a dosage 4 times as high as the dosage of dexmedetomidine. Although dexmedetomidine is a pre-anesthetic with sedative effects, it was used under the category of anesthetics in this study.

Reflexes

To evaluate anesthetic depth, reflexes were scored according to the reflex evaluation scoring system reported by Korbel (AVA, 2004; Korbel, 1998). In the evaluation of findings related to reflexes, eyelid opening, palpebral reflex, pupillary dilatation, pupillary reflex, corneal reflex, head position, neck tone, leg tone, pectoral reflex, wing withdrawal reflex, interphalangeal reflex, and cloacal reflex values were used. (Table 1). All reflexes were observed by the same person who did not know about the drug group that was injected.

Total scores (TS) of 27-29 were classified as a full consciousness state, a score of 24 was categorized as the initiation of sedation, scores of 18-24 were categorized as minimal anesthesia, scores of 14-18 were categorized as mild anesthesia, scores of 5-13 were categorized as moderate anesthesia, and scores of 2-4 were categorized as deep anesthesia (AVA, 2004; Hornak et al., 2014; Korbel, 1998; Sandmeier, 2000).

Reflexes were checked in all groups 15 minutes before anesthetic injection (T0) and at the 5th (T5), 10th (T10), 15th (T15), 20th (T20), 25th (T25), 30th (T30), 40th (T40), 50th (T50), and 60th (T60) minutes of injection. Atipamezole was injected in the DX and DXK groups immediately after reflex scoring was completed at T60. At the 5th (AT5), 10th (AT10), and 20th (AT20) minutes after atipamezole injection, reflex scoring was continued, and the scores were recorded. No injection was administered to the pigeons in the K group at T60.

Table 1. Reflex scoring table used to determine anesthesia levels (AVA, 2004; Korbel, 1998)

Parameter	Reflex Score (Point)	Stimulation and Evaluation of Reflexes
Eyelid opening	0: Eyelid closed; 1: Eyelid partially closed; 2: Eyelid open	It was assumed that as the anesthetic depth increased, the opening of the eyelids was closed
Palpebral reflex	0: No reflex; 1: Reflex without head movements; 2: Reflex with head movements	Evaluated by touching the eyelid border in medial cantus with a dry cotton swab
Pupillary dilatation	0: Mydriasis; 1: Pupillary openness 50-75%; 2: Miosis	Relative widening of the pupil. It was assumed that as anesthesia deepened, pupils would gradually widen
Pupillary reflex	0: No reflex; 1: Delayed reflex; 2: Physiological	Holding a source of light from 0.5 cm into the eye, the rate and degree of pupillary reflex were evaluated
Corneal reflex	0: No reflex; 1: Delayed reflex; full closure of nictitating membrane; 2: Delayed reflex; partial closure of nictitating membrane; 3: Physiological reflex	Holding the eyelid open, reaction of nictitating membrane at the peripheral contact of cornea was observed by using a dry, sterile swab
Head position	1: Loose sagging; 2: Light elevation; 3: Head raising	Sensitivity was evaluated according to the loose position of head without the effect of a specific stimulant
Neck tone	0: None; 1: Present	Sensitivity was evaluated by slightly moving the head
Leg tone	0: None; 1: Low tone; 2: Contraction; 3: Contraction and defensive movement	Depth sensitivity was evaluated based on reactions following muscle tone and passive stretching of legs
Pectoral reflex	0: No reflex; 1: Slight wing movement; 2: Movements of various parts of the body (Leg/wing movements, head movement, eyelid opening); 3: Big reactions	Skin between ossa pubis was squeezed one degree with a set of mosquito forceps and evaluated with repeated constant pressure
Wing withdrawal reflex	0: No reflex; 1: Slight wing movement; 2: Movements of various parts of the body (Leg/wing movements, head movement, eyelid opening); 3: Big defensive reactions	Evaluated by squeezing the front part of radius-ulna on the wing with fingertips
Interphalangeal reflex	0: No reflex; 1: Slight leg pulling; 2: Noticeable leg movement, head movements, eye opening; 3: Substantial defensive reactions	Evaluated by pinching the skin between the phalanges
Cloacal reflex	0: No reflex; 1: Sphincter contraction, slow leg movement; 2: Muscle retraction, head movements, eye opening; 3: Substantial defensive reactions	Evaluated by squeezing the pericloacal skin with fingertips

Cardiopulmonary parameters

As cardiopulmonary signs, heart rate (HR), indirect mean blood pressure (IBP), respiratory rate (RR), oxygen saturation (SpO₂), end-tidal carbon dioxide (EtCO₂), and cloacal temperature (CT) data were monitored using a multiparametric monitor (Mindray UMEC12VET, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co, Shenzhen, People's Republic of China). Accordingly, cardiopulmonary parameters were recorded in all groups at T0, T5, T10, T15, T20, T25, T30, T40, T50, and T60. To prevent the cardiopulmonary parameters from being affected at the follow-up time spots, reflexes were checked after cardiopulmonary parameter values were recorded. In the initial period of anesthesia, cardiopulmonary parameter values were recorded at 5-minute intervals until T30. In the DX and DXK groups, these values were recorded at AT5, AT10, and AT20. As no injection was administered to the pigeons in the K group, data were recorded only until T60.

In the monitoring of cardiopulmonary parameter values, an assistant was employed. The assistant held the pigeons in the supine position, opened the wings to the sides and pulled the legs slightly backwards, a yellow electrode was fixed on the skin at the base of the left wing, a red electrode was fixed on the skin at the base of the right wing, and a green electrode was fixed on the skin fold close to the proximal of the M. gastrocnemius on the left leg. I, II, and II derivations, unipolar extremity derivations including aVR, aVL, and aVF, and standard bipolar derivation systems were used (Mindray 562a, People's Republic of China). All recordings were calibrated to 1 mV/10 mm. IBP measurements were performed indirectly. For this purpose, a medium-sized avian IBP cuff was placed on the dorsal metatarsal artery on the right leg (Mindray Cm 1500D, People's Republic of China). Cuff width was adjusted to 40% of the leg circumference. For SpO₂ monitoring, a pulse oximeter probe was fixed on the muscle mass on right radius (Mindray 562a, People's Republic of China). In the EtCO₂ measurements, an EtCO₂ tube was placed on the nose, covering the whole beak, and the values were observed on the monitor (Mindray Cm 1500 Series, People's Republic of China). Throughout the anesthesia period, no additional O₂ was provided to the pigeons in any group. CT was monitored using a thermometer placed in the cloaca (Mindray MR402B, People's Republic of China).

Statistical analyses

In all analyses, the JMP 14 software was employed. The data were statistically analyzed with Levene's test for variance homogeneity assumptions and the Shapiro-Wilk test for normal distribution assumptions (P>0.05). Hence, repeated-measures analysis of variance (ANOVA) and Tukey's HSD multiple com-

parison test were used to determine whether there were any significant differences between the groups. The data are presented as median in Table 2 and Mean±St Deviation in Table 3. The level of statistical significance was set at P<0.05 in all tests.

Results

Clinical findings

For the pigeons in the DX group, first sedation symptoms were observed at the 8th minute with signs of decrease in eyelid opening and inability to hold the head, and induction was achieved at a mean time of 12.56±0.70 minutes. In two of the pigeons, (pigeons 4 and 7), along with convulsion that started at the 3rd and 12th minutes and lasted approximately 2 minutes, second-degree atrioventricular block, arrhythmia, and respiration irregularity signs were observed. At the 2nd minute of atipamezole injection, 3 pigeons (pigeons 2, 5, and 9) rose to their feet, and at a mean time of 5.06±0.87 minutes, all pigeons were on their feet. An increase in P wave duration and amplitude in ECG and prolongations in P-R intervals were noted. Starting from AT5, P, Q, and R values returned to their initial levels.

In the pigeons in the K group, along with symptoms of pupillary dilatation, inability to hold the head, and incoordination, anesthesia symptoms started to be seen, and anesthesia was induced at a mean time of 5.23±0.38 minutes. The pigeons were observed to be unexcited during their entry into anesthesia or in recovery. No significant change was observed in their P, Q, R, and S values in ECG. Arrhythmia developed in two pigeons (pigeons 6 and 9), but these arrhythmias disappeared by T50 spontaneously.

In the pigeons in the DXK group, along with symptoms of a decrease in eyelid opening and inability to hold the head, anesthesia symptoms started to be seen at the 5th minute, and anesthesia was induced at a mean time of 10.16±0.37 minutes. Second-degree atrioventricular block, arrhythmia, and irregularities in respiration frequency were seen in two pigeons (pigeons 2 and 8) between minutes 9 and 15 and one pigeon (pigeon 5) between minutes 15 and 33 (Figure 1).

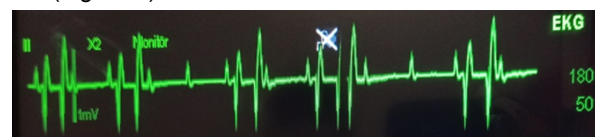


Figure 1. ECG trace and atrioventricular block of Pigeon 5 in DXK.

Defensive movements were observed in four pigeons (pigeons 1, 5, 6, and 8), while their reflexes were being checked between minutes 10 and 30. At the 3rd minute of atipamezole injection, temporary tremors

Table 2. Reflex scores for anesthesia levels in 10 pigeons which were administered IM DX, K, and DXK and atipamezole at minute 60 and time-dependent median results of the total score (TS)

VB	TM	T0	T5	T10	T20	T30	T40	T50	T60	AT5	AT10	AT20
Eyelid gap	DX	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
	K	2	2	1	1	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	2	1	0	0	0	0	0	0	2	2	2
Palpebral reflex	DX	2	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2
	K	2	1	1	1	1	1	1	2	-	-	-
	DXK	2	2	0	0	0	0	0	1	2	2	2
Pupillary dilatation	DX	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2
	K	2	1	1	1	1	1	2	2	-	-	-
	DXK	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
Pupillary reflex	DX	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	K	2	2	1	1	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
Corneal reflex	DX	3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	3
	K	3	2	2	2	2	2	3	3	-	-	-
	DXK	3	3	2	2	2	2	2	2	3	3	3
Head position	DX	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	2
	K	2	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-
	DXK	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
Neck tone	DX	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	K	1	0	0	0	0	0	1	1	-	-	-
	DXK	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Leg tone	DX	2	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2
	K	3	1	1	1	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	2	1	0	1	1	2	2	2	2	2	2
Pectoral reflex	DX	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3
	K	3	1	2	2	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	3	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1
Wing withdrawal reflex	DX	2	3	3	2	2	2	2	3	2	2	3
	K	3	2	2	2	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	3	1	2	2	1	0	2	1	1	0	0
Interphalangeal reflex	DX	2	3	3	2	2	2	2	3	3	2	3
	K	3	1	1	2	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	2	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1
Cloacal reflex	DX	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2	2
	K	3	1	1	1	2	2	2	2	-	-	-
	DXK	3	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1
Total score	DX	27.00 ^a	25.50 ^{abc}	23.00 ^{bcd}	20.50 ^{ef}	19.50 ^f	20.50 ^{def}	21.00 ^{cde}	21.50 ^{bcd}	25.50 ^{bcd}	24.00 ^{abc}	26.00 ^{ab}
	K	28 ^a	13 ^e	12 ^e	14 ^e	16 ^d	18 ^d	20 ^c	22 ^b	-	-	-
	DXK	27 ^a	15.50 ^{bcd}	11.50 ^{cde}	10.00 ^{de}	10.75 ^e	11.75 ^{de}	12.25 ^{cde}	14.50 ^{bcd}	15.250 ^{bcd}	18.50 ^{ab}	18.50 ^{bc}

VB: Variable; TM: Treatment; DX: Dexmedetomidine 80 µg/kg; K: Ketamine 100 mg/kg; DXK: Dexmedetomidine 40 µg/kg and ketamine 50 mg/kg; Atipamezole: 320 µg/kg for DX, 160 µg/kg for DXK.

T0: Baseline, 15 min before anesthetic injection; T5, 10, 20, 30, 40, 50, 60: minutes after T0; AT5, AT10, AT20: Minutes after atipamezole injection at T60.

^{abcdef} Statistically significant in intragroup evaluations with respect to T0 value (P<0.05). Reflex scores and TS data are presented as median values.

that lasted about 1 minute were seen in four pigeons (pigeons 2, 3, 6, and 10). All other recoveries were observed to be calm and smooth, and all pigeons were on their feet at a mean time of 22.47±0.64 minutes, but they were lightly drowsy. An increase in P wave duration and amplitude in ECG and promi-

nent prolongations in P-R and R-R intervals were observed. While the arrhythmias that developed in three pigeons (pigeons 2, 5, and 8) disappeared before atipamezole injection, P, Q, and R values returned to their initial levels following of AT5.

Reflex findings

In the examinations in terms of TS, the pigeons in the DX group showed sedation symptoms at the minimal level only in the middle of sedation (19.50 at T30). Along with atipamezole injection, TS (25.50 at AT5) suddenly returned to the initial values ($P<0.05$). It was noted that there were symptoms of convulsions and respiratory irregularities in the DX group. In the pigeons in the K group, a moderate depth of anesthesia was induced in a short time (13.00 at T5), but this level lasted only 15 minutes. In the DXK group, anesthesia started at T10 (11.50 at T10), and a moderate depth of anesthesia was induced (14.50 at T60). In five minutes following atipamezole injection, a mild level of anesthesia was seen (15.25 at AT5) ($P<0.05$). The moderate TS (from T10 to T60) achieved in the DXK group was lower compared to that in the K group. The reflex scores and TS data of the DX, K, and DXK groups are presented in Table 2.

Cardiopulmonary findings

High initial HR values were prominent in all groups. In the DX and DXK groups, following dexmedetomidine injection, dramatic decreases in HR were observed ($P<0.05$), but these dramatic decreases disappeared in 5 minutes as a result of atipamezole injection ($P<0.05$). In the K group, ketamine injection did not significantly affect HR ($P>0.05$). In both the intragroup and intergroup evaluations, dexmedetomidine, ketamine, and dexmedetomidine-ketamine injections did not significantly affect IBP ($P>0.05$).

In the DX and DXK groups, dexmedetomidine led to dramatic decreases in RR immediately after injection ($P<0.05$), but these dramatic decreases disappeared in 5 minutes after atipamezole injection. In the K group, ketamine injection did not significantly affect RR ($P>0.05$). The dexmedetomidine in the DX group and the ketamine in the K group did not significantly affect SpO_2 ($P>0.05$). It was also determined that the dexmedetomidine-ketamine injections in the DXK group could create statistically significant differences, albeit clinically insignificant ($P<0.05$). Dexmedetomidine, ketamine, and dexmedetomidine-ketamine injections did not significantly affect $EtCO_2$ values ($P>0.05$).

Dexmedetomidine, ketamine, and dexmedetomidine-ketamine injections significantly reduced CT in the pigeons ($P<0.05$). Atipamezole led to an increase in CT in both groups only after 10 minutes (at AT10, 40.37°C in DX, 39.08°C in DXK) ($P<0.05$). The cardiopulmonary parameter data of the DX, K, and DXK groups are presented in Table 3.

Table 3. Time-dependent mean±standard deviation results of cardiopulmonary variables in 10 pigeons which were administered IM DX, K, and DXK and atipamezole at minute 60

Variable	Treat-ment	T0	T5	T10	T15	T20	T25	T30	T40	T50	T60	AT5	AT10	AT20
HR (beats/minute)	DX	254.9 ±100.74 ^A	136.4±5.2 ^{Bc}	134.7±1.26 ^{Bc}	120.2±8.4 ^{Bc}	119.6±1.09 ^{Bc}	112.5±9.7 ^{Bc}	110.7±8.5 ^{Bc}	107.6±8.8 ^{Bc}	106.1±8.6 ^{Bc}	103.0±7.3 ^{Bc}	253.6±9.5 ^A	271.8±1.06 ^A	272.8±1.37 ^A
	K	236.8 ±31.5 ^A	258.8±5.3 ^A	231.0±5.3 ^A	234.4±5.0 ^A	237.5±5.2 ^A	225.6±4.0 ^A	225.3±3.9 ^A	225.3±3.9 ^A	225.3±3.9 ^A	239.7±5.0 ^A	221.3±5.1 ^A	-	-
IBP (mm/Hg)	DXK	266.8 ±14.9 ^A	137.2±9.5 ^B	115.3±6.5 ^C	109.4±5.8 ^C	100.8±7.3 ^C	99.7±6.0 ^C	112.9±1.0 ^C	98.0±6.2 ^C	102.2±8.2 ^C	96.3±7.4 ^C	271.2±1.5 ^A	246.8±1.1 ^A	222.5±1.0 ^B
	DX	91.6±131.4 ^A	90.0±85.3 ^A	93.7±11.1 ^A	85.6±80.8 ^A	90.1±81.9 ^A	98.5±78.1 ^A	93.2±12.8 ^A	111.1±1.1 ^A	108.8±9.9 ^A	108.8±9.9 ^A	90.8±10.8 ^A	113.7±1.1 ^A	113.3±1.1 ^A
RR (breaths/minute)	K	90.5±11.1 ^A	101.6±9.5 ^A	87.2±5.9 ^A	89.1±7.6 ^A	87.0±7.6 ^A	93.0±11.4 ^A	95.8±9.0 ^A	87.0±9.0 ^A	98.4±11.4 ^A	78.4±10.6 ^A	-	-	-
	DXK	102.4 ±11.6 ^A	104.0±8.7 ^A	109.3±6.9 ^A	105.6±1.4 ^A	105.8±8.8 ^A	91.8±7.7 ^A	100.9±8.9 ^A	94.0±9.9 ^A	90.4±8.4 ^A	94.0±8.0 ^A	114.5±1.6 ^A	112.1±1.1 ^A	113.7±8.6 ^A
SpO ₂ (%)	DX	59.3±34.2 ^A	40.4±36.9 ^B	37.4±43.3 ^C	31.5±44.6 ^C	35.2±91.1 ^C	33.6±67.2 ^C	33.4±60.7 ^C	31.2±48.7 ^C	29.5±49.5 ^C	26.1±38.3 ^C	54.1±51.9 ^A	52.1±30.2 ^A	49.7±31.2 ^A
	K	49.9±3.2 ^A	48.2±4.9 ^A	49.9±3.0 ^A	51.7±3.7 ^A	51.5±4.4 ^A	44.0±4.4 ^A	55.5±4.5 ^A	47.6±4.0 ^A	48.5±4.2 ^A	53.8±8.0 ^A	-	-	-
EtCO ₂ (mm/Hg)	DXK	64.6±4.7 ^A	43.7±2.8 ^B	49.8±3.1 ^B	50.5±5.3 ^B	49.0±5.5 ^B	46.6±4.8 ^B	45.4±5.2 ^B	41.9±3.8 ^B	40.4±4.3 ^B	35.2±2.3 ^B	64.9±5.1 ^A	65.8±5.3 ^A	60.2±4.6 ^A
	DX	89.7±15.4 ^A	93.6±6.0 ^A	89.9±16.4 ^A	91.8±11.4 ^A	89.1±23.5 ^A	88.5±41.8 ^A	89.9±24.4 ^A	90.6±24.7 ^A	89.6±34.0 ^A	93.8±11.9 ^A	87.4±23.9 ^A	87.6±23.8 ^A	90.0±13.7 ^A
CT (°C)	K	88.2±1.5 ^A	74.9±4.2 ^A	80.8±3.2 ^A	84.2±2.3 ^A	82.5±1.8 ^A	83.4±2.8 ^A	82.7±3.2 ^A	83.1±3.1 ^A	84.1±3.5 ^A	83.5±3.5 ^A	-	-	-
	DXK	88.7±1.8 ^A	89.3±0.9 ^A	87.9±1.8 ^A	87.9±1.6 ^A	88.8±1.8 ^A	89.1±1.3 ^A	83.9±3.3 ^A	87.4±2.0 ^A	90.4±1.9 ^A	90.4±1.5 ^A	82.9±3.5 ^A	79.1±3.2 ^A	82.6±2.4 ^A
CT (°C)	DX	41.8±20.7 ^A	37.5±25.5 ^A	42.8±33.3 ^A	42.3±33.3 ^A	40.4±32.1 ^A	42.5±32.2 ^A	42.4±38.8 ^A	41.2±33.8 ^A	41.0±34.3 ^A	39.6±33.3 ^A	43.1±22.8 ^A	43.1±26.4 ^A	43.5±18.4 ^A
	K	33.1±3.4 ^A	32.6±2.5 ^A	34.9±2.5 ^A	34.5±2.8 ^A	39.1±2.0 ^A	35.5±2.2 ^A	38.8±2.6 ^A	36.4±2.1 ^A	37.4±2.9 ^A	34.7±2.2 ^A	-	-	-
CT (°C)	DXK	40.9±1.5 ^A	36.8±6.5 ^A	33.0±1.8 ^A	32.7±1.5 ^A	37.3±2.5 ^A	36.7±1.3 ^A	37.3±2.1 ^A	34.7±2.2 ^A	36.9±2.2 ^A	35.4±1.7 ^A	39.8±2.0 ^A	38.6±2.5 ^A	40.5±2.6 ^A
	DX	42.3±0.7 ^A	42.1±1.0 ^A	41.9±1.0 ^A	41.8±1.2 ^A	41.5±1.3 ^A	41.2±1.4 ^A	40.9±1.2 ^A	40.4±1.5 ^A	40.0±1.9 ^A	39.7±2.2 ^A	39.5±2.6 ^A	40.4±2.8 ^A	40.8±2.9 ^A
CT (°C)	K	41.9±0.2 ^A	41.4±0.3 ^A	41.2±0.3 ^A	41.1±0.3 ^A	40.9±0.3 ^A	40.7±0.4 ^A	40.7±0.5 ^A	40.4±0.6 ^A	40.1±0.5 ^A	40.2±0.7 ^A	-	-	-
	DXK	42.4±0.1 ^A	42.4±0.1 ^A	41.9±0.2 ^A	41.6±0.2 ^A	41.2±0.2 ^A	40.8±0.1 ^A	40.2±0.2 ^A	39.6±0.1 ^A	38.8±0.2 ^A	38.5±0.2 ^A	38.2±0.2 ^A	39.1±0.3 ^A	40.3±0.4 ^A

DX: Dexmedetomidine 80 µg/kg; K: Ketamine 100 mg/kg; DXK: Dexmedetomidine 40 µg/kg and ketamine 50 mg/kg; Atipamezole: 320 µg/kg for DX, 160 µg/kg for DXK.
 HR: Heart rate; IBP: Indirect mean blood pressure; RR: Respiratory rate; SpO₂: Oxy-hemoglobin saturation; EtCO₂: End-tidal CO₂; CT: Cloacal temperature. T0: Baseline, 15 min before anesthetic injection; T5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60: minutes after T0; AT5, AT10, AT20: Minutes after atipamezole injection at T60.
^a ABCD: Statistically significant in intragroup evaluations with respect to T0 value (P<0.05).
^b Difference between DXK and DX groups at specified time point is significant (P<0.05).
^c Difference between DX and K groups at specified time point is significant (P<0.05).

Discussion and Conclusion

Dexmedetomidine is a relatively new α_2 adrenergic agonist, and it is an agent that supports anesthesia with its sedative, analgesic, and hypnotic properties. As dexmedetomidine is recommended at half the dosage of medetomidine, studies on medetomidine were also considered in determining the dosages of dexmedetomidine (Heard, 2016; Posner, 2018). The dosages used in this study were determined according to studies conducted on dexmedetomidine, medetomidine (Hornak et al., 2014; Pollock, 2001), ketamine (Azizpour and Hassani, 2012; Gunkel and Lafortune, 2005; Kamiloglu et al., 2008), their different combinations (Lumeij and Deenik, 2003; Memon et al., 2021), and atipamezole (Hornak et al., 2014; Lumeij and Deenik, 2003) injected to pigeons through the IM route. In previous studies, ketamine was used alone through the IM route in the dosage range of 20-50 mg/kg (Azizpour and Hassani, 2012; Gunkel and Lafortune, 2005; Kamiloglu et al., 2008). The ketamine dose used in the present study (100 mg/kg) was accepted as a high dosage for pigeons based on the information in the literature. As it is recommended to use atipamezole at a dosage three times that of dexmedetomidine following dexmedetomidine sedation in dogs, the atipamezole injected in the present study was administered at a dosage 4 times that of dexmedetomidine in the pigeons (320 μ g/kg in DX, 160 μ g/kg in DXK) (Antisedan, 2022).

The results of studies on pigeons in which α_2 agonists were used on their own have some similarities in terms of cardiopulmonary parameter values, cloacal temperatures, and sedative effects. It has been argued that these agents lead to bradycardia and respiratory depression and provide inadequate sedation, and therefore, they should be used only for holding and procedures involving little pain. The same researchers have also emphasized that α_2 agonists used alone lead to time-dependent hypothermia (Duranni et al., 2008; Duranni et al., 2009; Pollock et al., 2001; Sandmeier, 2000). The findings obtained in this study were consistent with the results of the researchers who have stated that pigeons are relatively resistant to α_2 adrenergic agonists (Duranni et al., 2008; Duranni et al., 2009; Pollock et al., 2001; Sandmeier, 2000). Additionally, studies conducted on medetomidine showed that the dosage used in this study was low, and medetomidine could be researched at higher dosages (Pollock et al., 2001; Sandmeier, 2000). It was determined to be necessary in this study to carefully monitor cardiopulmonary variables and keep atipamezole available starting from the moment of injection when dexmedetomidine is used alone, even at dosages that are not very high (80 μ g/kg, IM).

It was reported that a low dosage of ketamine (30 mg/kg) used alone led to excitement in pigeons dur-

ing their entry into anesthesia, it did not provide a sufficient loss in the pedal reflex, adequate muscle relaxation was not observed in anesthesia, and a decrease was seen in body temperature (Azizpour and Hassani, 2012). In a study in which ketamine was injected through the intraosseous (IO) and IM paths, it was emphasized that induction was achieved at a mean time of 7.5 ± 0.8 minutes through IM, recovery was achieved at a mean time of 90 ± 12 minutes, and ketamine provided a satisfactory level of anesthesia in pigeons at a dosage of 50 mg/kg (Kamiloglu et al., 2008). In this study, although no adverse behaviors were observed in most of the pigeons during their entry into anesthesia and recovery in the K and DXK groups which were administered ketamine, the moderate level of anesthesia that was achieved was quite far from the 2-4-point interval in the anesthesia scoring system, which shows a depth of anesthesia on the surgical level. While similarities to the findings of other researchers were observed in terms of induction durations and cardiopulmonary values (Azizpour and Hassani, 2012; Kamiloglu et al., 2008), ketamine that was used at two times (100 mg/kg) the dosage used in the study conducted by Kamiloglu et al. (2008) showed a shorter effect in terms of recovery duration. It was thought that at both low and high dosages, ketamine induced anesthesia for similar durations.

It was reported that medetomidine-ketamine anesthesia provided smooth and unexciting anesthesia induction, the duration of anesthesia was 55.79 ± 4.51 minutes, and HR, RR, and CT considerably decreased during anesthesia (Memon et al., 2021). In the experimental and clinical study conducted by Lumeij and Deenik (2003), results in medetomidine-ketamine anesthesia showed differences (Lumeij and Deenik, 2003). In their experimental research, the researchers observed deep anesthesia, a fast and smooth recovery, as well as significant differences in terms of reflex scores and HR. In their clinical research, on the other hand, it was determined that the medetomidine-ketamine combination led to unsafe anesthesia as a result of severe wing movement behaviors, and it was therefore emphasized that more controlled studies should be conducted in the clinical environment before making practical recommendations regarding the use of this combination (Lumeij and Deenik, 2003). It was reported that when inhalant anesthetics (isoflurane and sevoflurane) were used in avian species at higher concentrations than required, especially as the sole agent, they lead to apnea and hypotension, and they could not provide antinociception despite creating a loss of consciousness. The use of low-dosage sedative agents and dissociative anesthetics is recommended in the peri-anesthetic period before using inhalant anesthetics as a part of balanced anesthesia due to analgesia, need for comfort, and the long-term effects of subacute and chron-

ic nociception. The characteristics of dexmedetomidine (40 µg/kg) and ketamine (50 mg/kg) anesthesia at the dosages that were used in this study showed similarities to the findings of other studies in terms of HR, RR, and CT, and these dosages provided shorter anesthesia durations (Lumeij and Deenik, 2003; Memon et al., 2021). In this study, it was observed that dexmedetomidine led to a greater degree of decrease in CT compared to ketamine. While all reflexes and cardiopulmonary parameter values except for CT in the groups in which atipamezole was used (DX and DXK) returned to the T0 values within five minutes following atipamezole injection, it was seen that CT started to increase in both groups only at the 10th minute. Although the moderate level of anesthesia obtained using the dexmedetomidine-ketamine combination had a lower score compared to ketamine anesthesia alone, it was seen that it did not fall to the 2-4-point interval, which is required for performing surgery. It was considered that this anesthesia could be used in clinical applications that require a moderate level of anesthesia depth or before inhalant anesthesia as a part of balanced anesthesia due to the analgesic property of dexmedetomidine (Heard, 2016; Lichtenberger and Lennox, 2016). Considering its anesthetic effects, it was concluded that as reported by Lumeij and Deenik (2003), before making any practical recommendations on the use of a dexmedetomidine-ketamine combination, more controlled studies in clinical environments should be conducted. It was suggested that anesthesia with ketamine could not be achieved at the desired level and duration without combining it with dexmedetomidine, and this combination could be used in short-lasting procedures such as sample collection, radiography, ultrasonography, and bandage application.

In all studies conducted with different dosages of atipamezole in pigeons, the researchers reported that it provided rapid and smooth recovery from anesthesia by reversing the effects of α₂ adrenergic agonists (Hornak et al., 2014; Sandmeier, 2000). Hornak et al. (2014), stated that atipamezole reversed most sedation and cardiorespiratory side effects in 10 minutes after the induction made with a midazolam-dexmedetomidine combination, and it was only late in terms of increasing CT. Memon et al. (2021), emphasized that in medetomidine-ketamine anesthesia, atipamezole administered at half the dosage of medetomidine shortened anesthesia duration in pigeons by 18 minutes. It has been reported that flumazenil, which is a reversal agent of benzodiazepine, can be used in avian species to partially or fully reverse the effects of diazepam or midazolam, but due to its short half-life, dosage repletion might be needed (Doss and Mans, 2021; Heard, 2016; Mans, 2017; Martel et al., 2021). In this study, consistently with other results in the relevant literature, atipamezole administered at a dosage 4 times the dosage of dexmedetomidine was

quickly absorbed following IM injection, and it provided smooth recovery in the DX group at minute 5.06±0.87 and in the DXK group at minute 22.47±0.64 (Hornak et al., 2014; Memon et al., 2021; Sandmeier, 2000). Unlike flumazenil, no dosage repletion was needed (Doss and Mans, 2021; Heard, 2016; Mans, 2017). No vomiting was observed in the DX and DXK groups following the atipamezole injection, but temporary tremors which lasted about one minute in two pigeons in the DX group and four pigeons in the DXK group were considered negative effects of atipamezole. In light of the findings obtained in this study, it was thought that atipamezole administered 4 times the dosage of dexmedetomidine can be safely used in pigeons.

In conclusion, dexmedetomidine should not be used alone in pigeons, even at low dosages (80 µg/kg), and if it has to be used, cardiopulmonary status should be carefully monitored peri-anesthetically. The most significant advantage of dexmedetomidine is that it provides rapid and smooth recovery within 5 minutes with atipamezole injection. Ketamine administered at a high dosage (100 mg/kg) does not affect cardiopulmonary parameter values significantly, but it does not provide deep and long anesthesia for surgery either. As the combination of dexmedetomidine (40 µg/kg) and ketamine (50 mg/kg) in this study did not provide anesthesia deep enough for surgery, it can be used in short-lasting clinical procedures that require only a moderate level of anesthesia or before inhalant anesthesia as a part of balanced anesthesia. Atipamezole can reverse the effects of dexmedetomidine alone or its combination with ketamine when applied at a dosage 4 times that of dexmedetomidine, and it provides a safe, calm, and smooth recovery in pigeons.

References

- Antisedan [package insert]. Orion Pharma, Espoo, Finland, https://www2.zoetisus.com/content/_assets/docs/Petcare/antisedan-pi.pdf 2022; Accessed Date: 19.03.2022.
- Association of Veterinary Anaesthetists (AVA) Autumn Meeting 2004. Wild animal immobilisation. Vienna. <https://www.ava.eu.com/wp-content/uploads/2015/09/AVATrainingDayProc-Vienna2004.pdf>. Accessed Date: 03.04 2022.
- Atalan G, Uzun M, Demirkan I, Yildiz S, Cenesiz M. Effect of medetomidine-butorphanol-ketamine anaesthesia and atipamezole on heart and respiratory rate and cloacal temperature of domestic pigeons. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49(6): 281-5.
- Azizpour A, Hassani Y. Clinical evaluation of general anaesthesia in pigeons using a combination of ketamine and diazepam. *J S Afr Vet Assoc* 2012;

- 83(1): 1-4.
- Baek C, Kim S, Jang JW, Jung Y, Choi GJ, Shim S, Yun S, Seo K, Song YK, Kim SJ, Seo JM. Investigation of stereotactic surgery for avian brain stimulation by a fully implanted wireless system. *Neurosurg Focus* 2020; 49(1): 1-8.
- Doss G, Mans C. Avian sedation. *J Avian Med Surg* 2021; 35(3): 253-68.
- Duranni UF, Khan MA, Ahmed SS. Comparative efficacy (sedative and anaesthetic) of detomidine, ketamine and detomidine-ketamine cocktail in pigeons (*Columba livia*). *Pak Vet J* 2008; 28(3): 115-8.
- Duranni UF, Ashraf M, Khan MA. A comparison of the clinical effects associated with xylazine, ketamine, and a xylazine-ketamine cocktail in pigeons (*Columba livia*). *Turk J Vet Anim Sci* 2009; 33(5): 413-7.
- Gunkel C, Lafortune M. Current techniques in avian anesthesia. In *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* (Vol. 14, No. 4). WB Saunders USA 2005; pp. 263-76.
- Hawkins MG, Pascoe PJ. Cagebirds. West G, Heard D, Caulkett N, eds. *Zoo animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. First Edition. UK: Blackwell Publishing, 2007; pp. 269-97.
- Hawkins MG, Paul-Murphy J. Avian analgesia. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2011; 14(1): 61-80.
- Heard D. Anesthesia. Speer BL. ed. In: *Current Therapy in Avian Medicine and Surgery*. First Edition. USA: Elsevier, Inc 2016; pp. 601-15.
- Hornak S, Liptak T, Ledecy V, Hromada R, Bilek J, Mazensky D, Petrovic V. A preliminary trial of the sedation induced by intranasal administration of midazolam alone or in combination with dexmedetomidine and reversal by atipamezole for a short-term immobilization in pigeons. *Vet Anaesth Analg* 2014; 42(2): 192-6.
- Jerolmack C. Animal practices, ethnicity, and community: The Turkish pigeon handlers of Berlin. *Am Sociol Rev* 2007; 72(6): 874-94.
- Kamiloglu A, Atalan G, Kamiloglu NN. Comparison of intraosseous and intramuscular drug administration for induction of anaesthesia in domestic pigeons. *Res Vet Sci* 2008; 85(1): 171-5.
- Korbel R. Comparative investigations on inhalation anaesthesia with isoflurane (Forence) and sevoflurane (Sevorane) in racing pigeons (*Columba livia* Gmel, 1789, Var. *Domestica*) and presentation of a reference anaesthesia protocol for birds. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 1998; 26(3): 211-23.
- Lennox AM. Sedation as an alternative to general anesthesia in pet birds. In *Proceedings of the Association of Avian Veterinarians*, Seattle; USA 2001; pp. 289-92.
- Lichtenberger M, Lennox A. Critical care. Speer BL. ed. In *Current Therapy in Avian Medicine and Surgery*. First Edition. USA: Elsevier, Inc 2016; pp. 582-8.
- Ludders JW. Comparative anesthesia and analgesia of birds. Grimm KA, Lamont LA, Tranquilli WJ, Greene SA, Robertson SA. eds. In: *Veterinary Anesthesia and Analgesia The Fifth Edition*. USA: John Wiley & Sons, Inc. 2015; pp. 800-16.
- Lumeij JT, Deenik JW. Medetomidine-ketamine and diazepam-ketamine anesthesia in racing pigeons (*Columba Livia Domestica*) A comparative study. *J Avian Med Surg* 2003; 17(4): 191-6.
- Mans C. Sedation and analgesia in birds 2017, https://www.isvma.org/wpcontent/uploads/2017/10/AVIAN_SEDATION_ANALGESIA_Birds-1.pdf; Accessed Date: 15.05. 2022.
- Martel A, Doss GA, Mans C. Evaluation of the effects of intramuscular injection volume on midazolambutorphanol induced sedation in domestic pigeons (*Columba livia*). *J Exot Pet Med* 2021; 37: 3-7.
- Memon AM, Kaka U, Umer M, , Kamboh AA, Behan AA, Janyaro H, Goh YM, Kalhor AB, Abu J, Bhutto KR, Maqbool A. Benefits of incorporating atipamezole in medetomidine-ketamine anaesthesia in pigeons. *Pak J Zool* 2021; 53(6): 1-8.
- Pan SY, Liu G, Lin JH, Jin YP. Efficacy and safety of dexmedetomidine premedication in balanced anesthesia: A systematic review and meta-analysis in dogs. *Animals* 2021; 11(11): 3254-70.
- Pollock CG, Schumacher J, Orosz SE, Ramsay EC. Sedative effects of medetomidine in pigeons (*Columba livia*). *J Avian Med Surg* 2001; 15(2): 95-100.
- Posner LP. Sedatives and tranquilizers. Riviere JE, Papich MG. eds. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* USA: John Wiley Sons, Inc 2018; pp. 324-68.
- Report from the Commission to the European Parliament and the Council (EC): 2019 Report on the Statistics on the Use of Animals for Scientific Purposes in the Member States of the European

Union in 2015-2017. www.op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/04a890d4-47ff-11eab81b-01aa75ed71a1; Accessed Date: 02.05.2022.

Sandmeier P. Evaluation of medetomidine for short-term immobilization of domestic pigeons (*Columba livia*) and Amazon parrots (Amazona Species), J Avian Med Surg 2000; 14: 8-14.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
21(1), 13-19, 2024
DOI: 10.32707/ercivet.1452929

Türkiye'nin İstanbul ve Kocaeli İllerinde Manda Yetiştiriciliği İşletmelerinin Sosyo-Ekonomik Yapıları*

Cansu BOYRAZ^{1,a,*} Ferhan KAYGISIZ^{1,b}

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0002-0428-0711; ^b0000-0003-4939-7849

Sorumlu yazar: Cansu BOYRAZ; E-posta: cansuerdgan@gmail.com

Atıf yapmak için: Boyraz C, Kaygısız F. İstanbul ve Kocaeli illerinde manda yetiştiriciliği işletmelerinin sosyo-ekonomik yapıları. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):13-19

Öz: Bu çalışma, Türkiye'nin İstanbul ve Kocaeli illerindeki manda yetiştiriciliği işletmelerinin sosyo-ekonomik yapılarını incelemek amacıyla yapılmıştır. Araştırma verileri toplam 126 işletmeden yüz yüze anket yoluyla elde edilmiştir. Örneklem büyüklüğü, Basit Rasgele Örneklem Seçimi Metod'una göre belirlenmiştir. İşletmeler sahip oldukları hayvan varlığına göre 5-20 baş (küçük), 21-50 baş (orta) ve ≥51 baş (büyük) işletmeler şeklinde gruplandırılmıştır. İşletmelerin 2021 yılına ait verileri tanımlayıcı istatistikler şeklinde sunulmuştur. Elde edilen bulgularda, işletme sahiplerinin büyük oranda (%90.5) erkek olduğu ve %61.9'unun ilkökul düzeyinde eğitim aldığı belirlenmiştir. Üreticilerin yarıdan fazlasının (%51.6) manda yetiştiriciliğine ek olarak başka faaliyetlerden de gelir elde ettiği ve %42.9'unun aylık gelirinin ≤10000 TL (≤1124.85 USD) olduğu saptanmıştır. Üreticilerin kredi kullanma oranı %43.7 olarak belirlenmiştir. Üreticilerin çok düşük oranının (%14.3) manda yetiştiriciliğiyle ilgili mesleki eğitim aldığı görülmüştür. Üreticilerin ortalama yaşının ve deneyim süresinin sırasıyla 52.48±12.63 ve 32.88±16.37 yıl olduğu saptanmıştır. Manda yetiştiriciliğinden sağlanan gelirin yıllık gelir içerisindeki payının %72.58 ve işletme büyüklüğünün ortalama 55.47±100.11 dekar olduğu tespit edilmiştir. İşletmelerde ortalama olarak sağılan manda sayısı 25.93±33.37 baş, süt üretimi 4.91±0.67 lt/gün, laktasyon süresi 230.16±29.09 gün ve süt verimi 1159.97±155.16 lt/laktasyon olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, üreticilerin mandacılık gelirlerinin, kooperatife üyelik oranlarının düşük ve eğitim durumlarının yetersiz olduğu belirlenmiştir. Üreticileri daha fazla eğitim almaları ve örgütlenme oranlarını artırmaları üretimin sürdürülebilirliği açısından büyük katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Demografik özellikler, manda işletmeleri, manda yetiştiriciliği, sosyo-ekonomik yapı

Socio-Economic Structures of Buffalo Breeding Enterprises in İstanbul and Kocaeli Provinces, Türkiye

Abstract: This study was carried out to examine the socio-economic structures of buffalo breeding in the provinces of İstanbul and Kocaeli, Türkiye. Research data were obtained from 126 farmers through surveys. Sample estimates were made according to the Simple Random Sample Selection Method. The enterprises were grouped as 5-20 head (small), 21-50 head (medium) and ≥51 head (large) enterprises according to the buffalo assets they owned. The data of the enterprises for 2021 were presented in the form of descriptive statistics. The majority of the farmers (90.5%) were male and 61.9% of them had primary school education. It was determined that more than half of the farmers (51.6%) earn from additional activities, and 42.9% of them have a monthly income of ≤10.000 TL (≤1.124.85 USD). The credit utilization rate of the breeders was determined as 43.7%. It was observed that a very low percentage of the farmers (14.3%) received training on buffalo breeding. The average age and experience period of the farmers were 52.48±12.63 and 32.88±16.37 years, respectively. It was reported that the share of income from buffalo breeding in annual income is 72.58% and the average farm size is 55.47±100.11 decares. The average number of dairy buffaloes in the farms was 25.93±33.37 heads, milk production was 4.91±0.67 lt/day, lactation period was 230.16±29.09 days, and milk yield was 1159.97 lt/lactation. As a result, farmers' mandate incomes, cooperative membership rates were low and educational status were inadequate. The farmers getting more training and increasing their organization rate will make a great contribution to the sustainability of production.

Keywords: Buffalo breeding, buffalo enterprises, demographic features, socio-economic structure

Giriş

Türkiye'de manda yetiştiriciliği süt ve et üretimi amacıyla yapılmaktadır. Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen

len ırk Anadolu Mandası'dır. Geleneksel yöntemlerle yapılan bu faaliyet kolsal kesimde yetiştiricilere gelir olanağı yaratarak yoksulluğu azaltmaya yardımcı olmaktadır (Soysal ve ark., 2005).

Manda yetiştiriciliği çoğunlukla küçük aile işletmeciliği şeklinde yapılmaktadır. Buna bağlı olarak üretilen manda sütü, işletmelerdeki hayvan sayısının azlığı ve verim düşüklüğü nedeniyle az miktarlarda olmaktadır ve büyük bölümü hane içinde tüketilen sütün pazarla-

Geliş Tarihi/Submission Date : 31.07.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 10.10.2023

* Bu çalışma, birinci yazarın "İstanbul ve Kocaeli İllerinde Manda Sütü ve Süt Ürünlerinin Pazarlama Durumu ve Manda Yetiştiricilerinin Pazarlama Kanalı Seçimini Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi" başlıklı doktora tezinden elde edilen verilerin bir kısmından hazırlanmıştır.

ma olanağı oldukça sınırlı kalmaktadır.

Mandadan elde edilen sütün diğer sültere oranla daha yağlı olmasına karşın kolesterol oranı düşüktür (Zicarelli, 2004). Bileşimindeki toplam katı madde düzeyi, beyazlık ve viskozite açısından süt teknolojisinde ürün kalitesini ve verimini arttırmakta bu sebeple ciddi talep görmektedir. İnek sütüne kıyasla randımanı daha yüksek olduğundan yüksek katma değere sahip yoğurt, kaymak, tereyağı, peynir ve dondurma gibi ürünlerin üretiminde oldukça tercih edilen bir ham madde durumundadır (Ermetin, 2017).

Araştırma bölgemiz olan İstanbul ve Kocaeli illerindeki, 2021 yılı itibarıyla, toplam manda varlığı sırasıyla 15598 ve 3661 baştır. İstanbul ili %8.4'lük pay ile Türkiye manda varlığı içinde Samsun ve Diyarbakır illerinden sonra en fazla payı bulunan üçüncü ildir. Manda yetiştiriciliği işletmelerinin sürdürülebilirliğinde yetiştiricilerin demografik özellikleri ve işletmelerin üretim yapısı önemlidir. Bu çalışmada İstanbul ve Kocaeli illerindeki manda yetiştiriciliği yapan işletmelerin sosyo-ekonomik yapıları incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu araştırmanın gerecini İstanbul ve Kocaeli illerinde faaliyet gösteren manda işletmelerinden derlenen veriler oluşturmaktadır. Çalışmada işletmelerin 2021 yılına ait sosyo-ekonomik yapısı ile üretim özelliklerine ait veriler derlenmiştir. Veriler, yüz yüze anket yöntemi ile işletme sahipleri ile yapılan görüşmeler sonucunda elde edilmiştir. Yapılan anketler aracılığıyla, manda işletmelerinin sosyo-ekonomik özelliklerini tespit etmeye yönelik olarak, işletme sahibinin yaşı, cinsiyeti, eğitim düzeyi, yetiştiricilik tecrübesi, yıllık geliri, hayvancılık dışındaki geliri, manda ürünleri dışında elde edilen hayvancılık geliri, manda yetiştiriciliğinden elde ettiği gelir durumuna ilişkin veriler ile üretim özelliklerini belirlemeye yönelik olarak, sağmal hayvan sayısı, süt verimleri, laktasyon süresi, laktasyon süt verimi, kooperatif ve birliklere üyelik durumu, krediden yararlanma ve eğitim alma durumlarıyla ilgili veriler elde edilmiştir. Örnekleme düzeyini belirlemek için İstanbul ve Kocaeli Damızlık Manda Yetiştiricileri Birliklerinin öneri ve kayıtlarından yararlanılmıştır. Anket yapılacak işletme sayısı belirlenirken, işletmede en az beş baş anaç manda bulunması ve yetiştiriciden güvenilir veri sağlanabilmesi durumu göz önüne alınmıştır. Çalışma için uygun özellikleri taşıyan, Kocaeli ilinde 93, İstanbul ilinde 240 olmak üzere, toplam 333 manda işletmesi olduğu belirlenmiştir. Örneklem büyüklüğünün belirlenmesinde basit rasgele örnekleme metodu kullanılmıştır. Ana kitleyi temsil edecek örneklem büyüklüğü, %95 güven aralığı ve %5 hata payı ile 96 işletme olarak hesaplanmıştır. Hesaplama aşağıdaki formül kullanılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2005).

$$n = \frac{N \cdot Q^2 \cdot Z^2}{(N-1)d^2} = \frac{333 \cdot 25^2 \cdot (1.96)^2}{(333-1) \cdot 5^2} = 96$$

Bazı anketlerin geçersiz sayılma olasılığı ve analizlerin gücünü artırabilmek amacıyla örnek büyüklüklerinin %10 fazlası çalışmaya dahil edilmiştir. Örnek büyüklüğü 106 işletme olarak belirlenmiş olmasına rağmen 129 işletme ziyaret edilerek yetiştiricilerle anket yapılmıştır. İşletmeler sahip oldukları hayvan yoğunluğuna göre 5-20 baş (küçük), 21-50 baş (orta) ve 51 baş ve üzeri (büyük) işletmeler şeklinde gruplandırılarak elde edilen veriler değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizlerde IBM SPSS 26.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere N (%), ortalama±st sapmadan oluşan tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır.

Bulgular

Araştırma kapsamına alınan 126 adet manda işletmesinin 76'sı (%60.32) İstanbul, 50'si (%39.69) Kocaeli ilinde bulunmaktadır. Çalışma konusu işletmelerin %41.26'sının küçük, %32.53'ünün orta, %26.19'unun büyük ölçekli olduğu belirlenmiştir. Manda işletmelerinin bazı sosyo-ekonomik özelliklerine ilişkin bulgular Tablo 1'de sunulmuştur.

İşletmelerin büyük çoğunluğunda erkek üreticilerin (%90.5), sadece %9.5'inde kadın üreticilerin faaliyet gösterdiği belirlenmiştir.

İşletme sahiplerinin eğitim düzeyine bakıldığında, üreticilerin çoğunlukla (%61.9) ilkökul mezunu oldukları görülmektedir. Üreticilerin %7.9'unun ortaokul, %22.2'sinin lise ve %1.6'sının üniversite eğitimi aldığı ayrıca işletme sahiplerinin %5.6'sının okuryazar olduğu, %0.8'inin ise okuryazar olmadığı tespit edilmiştir.

Manda yetiştiriciliği dışında başka gelir getirici faaliyetle uğraşma oranı küçük ölçekli işletmelerde %65.4, orta ölçekli işletmelerde %46.3 ve büyük ölçekli işletmelerde %36 olarak belirlenmiştir. İşletmeler geneli için ise %51.6 olarak bulunmuştur. İşletme ölçeği büyüdükçe mandacılık dışında faaliyet gösterme oranının azaldığı tespit edilmiştir.

İşletmelerin aylık gelir durumları incelendiğinde, işletmelerin %42.9'unun aylık gelirinin 10000 TL ve daha düşük, %23.8'inin 10001-20000 TL arası, %8.7'sinin 20001-30000 TL arası, %7.9'unun 30001-40000 TL arası, %3.2'sinin 40001-50000 TL arası ve %13.5'inin 50000 TL üzeri gelir elde ettiği saptanmıştır. Büyük ölçekli işletmelerin %45.5'inin 50000 TL üzeri, %21.2'sinin 30001-40000 TL arası; orta ölçekli işletmelerin %41.5'inin 10000 TL ve daha düşük, %31.7'sinin 10001-20000 TL arası; küçük ölçekli işletmelerin %71.2'sinin 10000 TL ve daha düşük, %26.9'unun 10001-20000 TL arası aylık gelir elde ettiği belirlenmiştir.

Tablo 1. Manda üreticilerinin sosyo-ekonomik özellikleri

		İşletme Ölçeği							
		Küçük		Orta		Büyük		Genel	
		N	%	N	%	N	%	N	%
İl	İstanbul	22	42.3	24	58.5	30	90.9	76	60.3
	Kocaeli	30	57.7	17	41.5	3	9.1	50	39.7
Cinsiyet	Erkek	45	86.5	38	92.7	31	93.9	114	90.5
	Kadın	7	13.5	3	7.3	2	6.1	12	9.5
	Okuryazar	6	11.5	1	2.4	0	0.0	7	5.6
Eğitim Durumu	İlkokul	30	57.7	30	73.2	18	54.5	78	61.9
	Ortaokul	6	11.5	1	2.4	3	9.1	10	7.9
	Lise	10	19.2	8	19.5	10	30.3	28	22.2
	Üniversite	0	0.0	0	0.0	2	6.1	2	1.6
Mandacılık Dışı Gelir Elde Etme Durumu	Okuryazar değil	0	0.0	1	2.4	0	0.0	1	0.8
	Hayır	18	34.6	22	53.7	21	63.6	61	48.4
	Evet	34	65.4	19	46.3	12	36.4	65	51.6
	<= 10000	37	71.2	17	41.5	0	0.0	54	42.9
	10001-20000	14	26.9	13	31.7	3	9.1	30	23.8
Manda Yetiştiriciliğinden Elde Edilen Gelir (TL)	20001-30000	1	1.9	6	14.6	4	12.1	11	8.7
	30001-40000	0	0.0	3	7.3	7	21.2	10	7.9
	40001-50000	0	0.0	0	0.0	4	12.1	4	3.2
	> 50000	0	0.0	2	4.9	15	45.5	17	13.5
	Hayır	50	96.2	36	87.8	24	72.7	110	87.3
Kooperatif Üyeliği Durumu	Evet	2	3.8	5	12.2	9	27.3	16	12.7
	Hayır	15	28.8	7	17.1	2	6.1	24	19.0
Birlik Üyeliği Durumu	Evet	37	71.2	34	82.9	31	93.9	102	81.0
	Hayır	31	59.6	28	68.3	12	36.4	71	56.3
Kredi Kullanma Durumu	Evet	21	40.4	13	31.7	21	63.6	55	43.7
	Hayır	49	94.2	35	85.4	24	72.7	108	85.7
Mandacılık Faaliyeti ile İlgili Eğitim Alma Durumu	Evet	3	5.8	6	14.6	9	27.3	18	14.3

İşletmelerin Kooperatif ve Damızlık Manda Yetiştiricileri Birliği'ne kayıtlı olma durumu incelendiğinde; büyük ölçekli işletmelerin %27.3'ünün, orta ölçekli işletmelerin %12.2'sinin ve küçük ölçekli işletmelerin %3.8'inin kooperatif üyesi olduğu belirlenmiştir. İşletmeler genelinde ise kooperatife üye işletme oranının %12.7 olduğu görülmüştür. Büyük ölçekli işletmelerin %93.9'unun, orta ölçekli işletmelerin %82.9'unun ve küçük ölçekli işletmelerin %71'inin birlik üyesi olduğu belirlenmiştir. İşletmeler genelinde ise birliğe üye işletme oranının %81 olduğu tespit edilmiştir.

İşletmeler genelinde üreticilerin %43.7'sinin mandacılık faaliyeti için kredi kullandığı, %56.3'ünün ise kredi kullanmadığı belirlenmiştir. Büyük ölçekli işletmelerin %63.6'sının, orta ölçekli işletmelerin %31.7'sinin ve küçük ölçekli işletmelerin %40.4'ünün kredi kullandığı belirlenmiştir. En yüksek kredi kullanma oranının büyük ölçekli işletmelerde olduğu görülmektedir.

Büyük ölçekli işletme sahiplerinin %27.3'ünün, orta ölçekli işletme sahiplerinin %14.6'sının ve küçük ölçekli işletmelerin %5.8'inin manda yetiştiriciliği ile ilgili eğitim aldıkları belirlenmiştir. İşletmeler genelinde ise manda yetiştiriciliği ile ilgili eğitim alma oranının %14.3 olduğu görülmüştür. Eğitim alanların %72.2'si Damızlık Manda Yetiştiricileri Birliği'nin; %27.7'si İlçe Tarım ve Orman Müdürlüklerinin vermiş olduğu "Hayvan Besleme, Genetik İslah Metodları, Sağım Hijyeni, Süt Ürünleri Teknolojisi" konularında eğitim aldıkları tespit edilmiştir. Manda üreticilerine ait bazı özelliklerin ortalama değer ve standart sapmaları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Manda üreticilerine ait bazı özelliklerin ortalama ve standart sapmaları

Değişken	İşletme Ölçeği	Ortalama± St.Sapma
Yaş (yıl)	Küçük	52.29±12.17
	Orta	55.37±13.14
	Büyük	49.21±12.24
	Genel	52.48±12.63
Deneyim (yıl)	Küçük	33.00±16.46
	Orta	35.54±16.36
	Büyük	29.39±16.09
	Genel	32.88±16.37
Yıllık Gelir İçinde Mandacılığın Payı (%)	Küçük	64.13±30.04
	Orta	77.68±27.16
	Büyük	79.55±30.96
	Genel	72.58±30.01
İşletme Arazisi (dekar)	Küçük	29.98±36.93
	Orta	49.51±88.32
	Büyük	103.06±154.23
	Genel	55.47±100.11

Tablo 3. Manda işletmelerinin bazı üretim değerlerinin ortalama ve standart sapmaları

Değişken	İşletme Ölçeği	Ortalama± St.Sapma
Sağılan Manda Sayısı (baş)	Küçük	8.54±3.24
	Orta	16.66±8.96
	Büyük	64.85±45.47
	Genel	25.93±33.37
Günlük Süt Üretimi (lt)	Küçük	4.74±0.72
	Orta	4.93±0.68
	Büyük	5.15±0.51
	Genel	4.91±0.67
Laktasyon Süresi (gün)	Küçük	239.62±33.52
	Orta	224.27±23.12
	Büyük	222.58±24.43
	Genel	230.16±29.09
Laktasyon Süt Verimi (kg)	Küçük	1161.50±150.55
	Orta	1150.57±179.34
	Büyük	1169.24±132.32
	Genel	1159.97±155.16

Bu çalışmada manda üreticilerinin ortalama yaşı, işletmeler genelinde 52.48±12.63, küçük ölçekli işletmelerde 52.29±12.17, orta ölçekli işletmelerde 55.37±13.14 ve büyük ölçekli işletmelerde 49.21±12.24 olarak saptanmıştır.

Manda üreticilerinin deneyiminin ortalama olarak işletmeler genelinde 32.88±16.37 yıl olduğu belirlenmiştir. Küçük ölçekli işletmelerin deneyiminin 33±16.46 yıl, orta ölçekli işletmelerin 35.54±16.36 yıl, büyük ölçekli işletmelerin ise 29.39±16.09 yıl olduğu ortaya konulmuştur.

Elde edilen yıllık toplam gelir içinde manda yetiştiriciliğinden sağlanan gelirin payının, işletmeler genelinde %72.58 olduğu; büyük ölçekli işletmelerde %79.55, orta ölçekli işletmelerde 77.68 ve küçük ölçekli işletmelerde ise %64.13 olduğu saptanmıştır.

İşletmelerin mandacılık faaliyetlerini yürüttükleri arazilerin ortalama büyüklüğünün işletmeler genelinde, 55.47±100.11 dönüm, büyük ölçekli işletmelerde 103.06±154.23 dönüm, orta ölçekli işletmelerde 49.51±88.32 dönüm ve küçük ölçekli işletmelerde ise 29.98±36.93 dönüm olduğu belirlenmiştir.

Manda işletmelerinin bazı üretim değerlerine ilişkin bilgiler Tablo 3'de sunulmuştur.

Sağılan manda sayısı ortalama olarak işletmeler genelinde 25.93±33.37 baş, büyük ölçekli işletmelerde 64.85±45.47 baş, orta ölçekli işletmelerde 16.66±8.96 baş ve küçük ölçekli işletmelerde ise 8.54±3.24 baş olduğu saptanmıştır.

Hayvan başına günlük süt üretimi ortalama olarak işletmeler genelinde 4.91±0.67 lt, büyük ölçekli işletmelerde 5.15±0.51 lt, orta ölçekli işletmelerde

4.93±0.68 lt ve küçük ölçekli işletmelerde ise 4.74±0.72 lt olduğu belirlenmiştir. Manda başına günlük süt veriminin işletme ölçeği büyüdükçe giderek arttığı görülmüştür.

Ortalama laktasyon süresinin, işletmeler genelinde 230.16±29.09 gün, büyük ölçekli işletmelerde 222.58±24.43 gün, orta ölçekli işletmelerde 224.27±23.12 gün ve küçük ölçekli işletmelerde ise 239.62±33.52 gün olduğu tespit edilmiştir.

Laktasyon süt veriminin ortalaması işletmeler genelinde 1159.97±155.16 lt, büyük ölçekli işletmelerde 1169.24±132.32 lt, orta ölçekli işletmelerde 1150.57±179.34 lt ve küçük ölçekli işletmelerde ise 1161.50±150.55 lt olduğu saptanmıştır. En yüksek laktasyon süt veriminin büyük ölçekli işletmelerde olduğu görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç

Türkiye’de manda yetiştiriciliği faaliyeti yapan işletmelerin yapısal ve ekonomik analizinin yapıldığı bir çalışmada işletme sahiplerinin %96.87’sinin erkek % 3.13’ünün kadın olduğu bildirilmiştir (Altın, 2021). Başka bir çalışmada, Bitlis ilinde manda yetiştiriciliği yapan işletme sahiplerinin %98.53’ünün erkek % 1.47’sinin kadın olduğu belirlenmiştir (Çiftçi ve Yılmaz, 2020). İstanbul ve Kocaeli illerinde gerçekleştirilen bu araştırmada benzer şekilde işletme sahiplerinin çoğunluğunun erkek (%90.5) olduğu ve işletme ölçeği arttıkça kadın yönetici oranının küçük, orta ve büyük ölçekli işletmelerde sırasıyla %13.5, %7.3 ve %6.1 olarak azaldığı belirlenmiştir.

Bitlis, Muş, Iğdır, Samsun, İstanbul, Afyonkarahisar illerinde yapılan çalışmalarda üreticilerin çoğunlukla ilkökul düzeyinde eğitim aldıkları belirlenmiş ve oranları sırasıyla %55.9, %39.4, %35.8, %79.9, %81 ve %62.12 olarak bildirilmiştir (Günlü ve ark., 2010; Avcı, 2015; Işık, 2015; Özkan ve ark., 2017; Özger, 2018; Çiftçi ve Yılmaz, 2020). İstanbul ilinde yapılan başka bir çalışmada üreticilerin çoğunluğunun (%68.75) lise seviyesinin altında, %31.25’inin ise lise seviyesi ve üstünde eğitim aldığı (Kaygısız ve ark., 2018); Balıkesir ilinde yapılan bir çalışmada ise ortalama eğitim süresinin 6.58 yıl olduğu belirlenmiştir (Saner ve ark., 2022). Bu araştırmada işletme sahiplerinin çoğunluğunun ilkökul mezunu olması, diğer illerde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Üniversite mezunu yetiştiricilerin tamamının ise büyük ölçekli işletmelerde olduğu tespit edilmiştir.

Türkiye genelinde ve Bitlis ilinde yapılan çalışmalarda sadece manda yetiştiriciliğinden gelir elde eden üretici oranı sırasıyla %12.5 ve %82.35 olarak belirlenmiştir (Çiftçi ve Yılmaz, 2020; Altın, 2021). Balıkesir ilinde yapılan bir çalışmada ise üreticilerin tamamının manda yetiştiriciliği yanında başka gelir getirici faaliyetlerle de uğraştığı belirtilmiştir (Saner ve ark., 2022). Bangladeş’te yapılan bir çalışmada üreticilerin

hepsinin manda yetiştiriciliği dışında ikincil faaliyetle uğraştığı (İslam ve ark. 2017), Sumatra’da yapılan başka bir çalışmada manda yetiştiriciliğinin çoğunlukla yan faaliyet kolu olarak yapıldığı, üreticilerin yalnızca %17.1’inin ana faaliyet olarak bu hayvancılık kolu ile uğraştığı bildirilmiştir (Indrayani ve ark., 2023). Sivas ilinde yapılan bir çalışmada üreticilerin sadece mandacılık faaliyetinde bulunmayı tercih etmedikleri aynı zamanda büyük çoğunluğunun (%95) sığır yetiştiriciliği de yaptığı bildirilmiştir (Özdemir, 2021). Samsun ilinde yapılan bir çalışmada işletme ölçeği büyüdükçe toplam gelirlerin de büyüdüğü belirlenmiş ancak işletme ölçeği ile diğer faaliyetlerden elde edilen gelirler arasında bir ilişki tespit edilememiştir (Özkan ve ark., 2017). Muş ilinde yapılan bir çalışmada ise işletme geliri içerisinde en yüksek payın mandacılık faaliyetinden sağlandığı ve işletmedeki manda sayısı ile gelir ilişkisinin anlamlı bulunduğu belirlenmiştir (Işık, 2015). Bu araştırmada, yetiştiricilerin %48.4’ünün sadece mandacılıktan gelir elde ettiği, %51.6’sinin mandacılık dışında başka gelir getirici faaliyetlerinin de olduğu belirlenmiştir. İşletme ölçeği büyüdükçe yıllık gelir içerisindeki mandacılık geliri payının artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum, yetiştiricilerin ikincil faaliyetten gelir elde etme ihtiyacının olduğu ve manda yetiştiriciliğinden elde edilen gelirin yetersiz olduğunu göstermektedir.

Balıkesir ilinde yapılan bir çalışmada, manda üreticilerinin %70’inin tarımsal kooperatif faaliyetlerinde aktif olarak yer aldığı belirtilmiştir (Saner ve ark., 2022). Afyonkarahisar ve Samsun illerinde gerçekleştirilen çalışmalarda manda üreticilerinin sırasıyla %83 ve %67.4’ünün Damızlık Manda Yetiştiricileri Birliği’ne üye olduğu belirtilmiştir (Günlü ve ark., 2010; Özkan ve ark., 2017). Samsun ilinde işletme ölçeğinin büyümesiyle birliğe üyelik oranının artış gösterdiği tespit edilmiştir. İstanbul ilinde yapılan bir çalışmada üreticilerin %13’ünün birlik ve kooperatiflere üye oldukları %87’sinin ise herhangi bir üyeliğinin bulunmadığı belirlenmiştir (Kaygısız ve ark., 2018). Iğdır ilinde yapılan çalışmada tarımsal örgütlere üye olanların oranının %18.5 olduğu ortaya koyulmuştur (Topuz ve ark., 2021). İstanbul ili Danamandıra köyünde yapılan başka bir çalışmada üreticilerin %87’sinin herhangi bir birlik ya da kooperatif üyeliğinin olmadığı belirlenmiştir (Soysal ve ark., 2005). Bu araştırmada, Damızlık Manda Yetiştiricileri Birliği’ne üyelik oranının %81, kooperatif üyelik oranının da %12.7 olduğu ve işletme büyüklüğü arttıkça üyelik oranının artış gösterdiği belirlenmiştir. Yetiştiricilerin örgütlenme bilinçlerinin yetersiz olması nedeniyle kooperatif üyelik oranlarının düşük olduğu düşünülmektedir. Yetiştiricilerin büyük bir kısmı ise devlet destek ve teşviklerinden yararlanmak için üretici örgütlerine üye olmaktadır (Altın, 2021).

Iğdır ilinde yapılan bir çalışmada üreticilerin kredi/borç kullanım durumu incelendiğinde, işletmelerin %27.2’sinin yetiştiricilik döneminin başında borcunun

bulunduğu, dönem sonunda ise bu oranın %30.4'e ulaştığı hesaplanmıştır (Özger, 2018). Bangladeş'te yapılan çalışmada yetiştiricilerinin %68'inin bu faaliyet için kredi kullandığı belirlenmiştir (Siddiki ve ark., 2015). Bu çalışmada üreticilerin %56.3'ünün kredi kullanmadığı belirlenmiştir. Yetiştiricilerin kredi kullanmama sebebi ihtiyaç duymamaları ya da ihtiyaç duyular bile kredi faizini ödeyecek ekonomik güçlerinin olmamasıdır.

Iğdır ilinde yapılan çalışmada üreticilerin tamamının mandacılık faaliyeti ile ilgili eğitim almadığı; Bangladeş'te yapılan bir çalışmada ise üreticilerin yalnızca %3.5'inin bu alanda eğitim aldığı belirlenmiştir (Özger, 2018; Kabir ve ark., 2020). Sivas ilinde yapılan bir çalışmada üreticilerin %37.7'sinin mandacılıkla ilgili toplantı ya da eğitime katıldığı ve %34.7'sinin il/ilçe Tarım ve Orman Müdürlüklerinden eğitim aldığı %2.5'i ise veteriner hekim ya da ziraat mühendislerinden doğrudan bilgi edindiği belirlenmiştir (Özdemir, 2021). Bu çalışmada mandacılık faaliyeti ile ilgili eğitim alan üreticilerin oranı %14.3 olarak belirlenmiştir.

Balıkesir, Muş ve Afyonkarahisar illerinde yapılan çalışmalarda üreticilerin ortalama yaşı sırasıyla 45.89, 55.60, 46 olarak tespit edilmiştir (Günlü ve ark., 2010; Işık, 2015; Saner ve ark., 2022). Bursa ilinde yapılan bir çalışmada da üreticilerin büyük çoğunluğunun (%33) 31-40 yaş aralığında olduğu belirlenmiştir (Koyuncu, 2021). Iğdır ilinde yapılan bir çalışmada üreticilerin %63.1'inin 41 ile 59 yaş aralığında, %21.5'inin 20 ile 40 yaş aralığında, %15.4'ünün de 60 yaşın üzerinde olduğu bildirilmiştir. Bitlis ilinde yapılan bir çalışmada 31-40 yaş arası ve 51 yaş üstü üreticilerin sırasıyla %31.62 ve %32.25 oranlarında olduğu ortaya konulmuştur (Çiftçi ve Yılmaz, 2020). Bu çalışmada üreticilerin yaş ortalaması 52.48 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, diğer illerde bulunan sonuçlarla benzerlik göstermekte, manda üreticilerinin yaş ortalamasının orta yaş grubunda olduğunu ve gençlerin bu yetiştirme faaliyetini tercih etmediklerini ortaya koymaktadır.

Muş ve Iğdır illerinde gerçekleştirilen çalışmalarda üreticilerin deneyiminin sırasıyla ortalama 26.89 yıl ve 26 yıl olduğu; Bangladeş'te yapılan bir çalışmada üreticilerin %53'ünün 15 yıldan daha uzun süredir, %18'inin 6 ile 10 yıldır, %16'sının 11 ile 15 yıldır ve %13'ünün de 5 yıldan az süredir bu faaliyette bulunduğu ortaya konulmuştur (Işık, 2013; Islam ve ark., 2017; Özger 2018). Afyonkarahisar'da gerçekleştirilen bir çalışmada üreticilerin %78.79'unun 20 yıl ve daha fazla süredir bu faaliyette bulunduğu belirlenmiştir (Günlü ve ark., 2010). Bu çalışmada üreticilerin deneyimi ortalama 32.88 yıl olarak tespit edilmiştir.

Bangladeş'te yapılan bir çalışmada üreticilerin gelirinin büyük kısmının (%33) manda yetiştiriciliğinden elde edildiği belirlenmiştir (Kabir ve ark. 2020). Muş ilinde yapılan bir çalışmada manda, bitkisel üretim ve

diğer hayvansal üretim faaliyetlerinden elde edilen gelir oranlarının sırasıyla %45.71, %37.85 ve %16.44 olduğu ortaya konulmuştur (Işık, 2015). Samsun ilinde yapılan başka bir çalışmada tarımsal faaliyetler içerisinde hayvancılık gelirinin oranının %52 olduğu, hayvancılık faaliyeti içerisinde mandacılığın oranının da %46 olduğu bildirilmiştir (Özkan ve ark., 2017). Bu çalışmada, manda üreticilerinin toplam gelirleri içinde manda yetiştiriciliğinden elde ettikleri gelir oranı ortalama olarak %72.58 olarak hesaplanmıştır. Bu oran küçük, orta ve büyük ölçekli işletmeler için sırasıyla %64.13, %77.68, %79.55 olarak belirlenmiştir. Yetiştiricilerin çoğunluğunun temel faaliyet olarak manda yetiştiriciliği yaptığı ve işletme ölçeği büyüdükçe bu faaliyetten elde edilen gelir oranının artış gösterdiği anlaşılmaktadır.

Muş, Balıkesir, Afyonkarahisar ve Samsun'da yapılan çalışmalarda sırasıyla üreticilerin bu faaliyet için ortalama 70.53 dekar, 58.65 dekar, 122 dekar ve 100 dekar arazilerinin olduğu belirlenmiştir (Işık, 2015; Özkan ve ark., 2017; Saner ve ark., 2022). Bu çalışmada üreticilerin mandacılık faaliyetinde bulunduğu ortalama arazi büyüklüğü, 55.47 dekarıdır. Bu oran küçük, orta ve büyük ölçekli işletmeler için sırasıyla 29.98, 49.51, 103.06 dekar olarak belirlenmiştir. Kullanılan arazi büyüklüğünün Muş, Afyonkarahisar ve Samsun illerinde kullanılan arazi büyüklüklerinden daha düşük olması çalışma bölgesinde mandacılık faaliyetinin diğer bölgelere kıyasla kısıtlı bir alanda yapıldığını ortaya koymaktadır.

İstanbul ilinde yapılan bir çalışmada ortalama olarak sağılan hayvan sayısı 26 baş, laktasyon süt verimi 1428 kg, sağılan gün sayısı 226 gün olduğu saptanmıştır (Kaygısız ve ark., 2018). Muş ilinde yapılan bir çalışmada ortalama olarak sağılan hayvan sayısı 4.56 baş, hayvan başına günlük süt üretimi 4.51 kg, laktasyon süresi 211.60 gün ve laktasyon süt verimi 954.42 kg olarak bildirilmiştir (Işık, 2015). Afyonkarahisar ilinde yapılan bir çalışmada ortalama olarak sağılan hayvan sayısı 643.08 baş, laktasyon süt verimi 893.4 kg olarak belirlenmiştir (Yılmaz, 2013). Türkiye genelinde yapılan bir çalışmada ortalama olarak laktasyon süresi 224.59 gün olarak tespit edilmiştir (Altın, 2021). Bu çalışmada ise ortalama olarak sağılan hayvan sayısı 25.93 baş, hayvan başına günlük süt üretimi 4.91 lt, laktasyon süresi 230.16 gün ve laktasyon süt verimi 1159.97 kg olarak belirlenmiştir. Laktasyon süresi, Türkiye genelinde ve İstanbul'da yapılan çalışma sonuçlarıyla benzer bulunmuştur.

Sonuç olarak; işletmelerin karlılıklarının artması, sosyal ve ekonomik açıdan sürdürülebilirliklerinin sağlanmasında üreticilerin yetiştiricilik faaliyetlerini bilinçli bir şekilde yapmasının büyük katkısı bulunmaktadır. Manda üreticilerinin eğitim seviyesinin artırılması çok önemlidir. Temel eğitimin yanı sıra devlet aracılığıyla üreticilerin yetiştirme, pazarlama, örgütlenme ve işletme ekonomisi konularında bilgi edinmelerini sağlayaca-

cak olan mesleki ve teknik eğitilere katılımlarını arttıracak şartların geliştirilmesi ile işletmelerin maliyetlerinin düşürülmesi ve gelirlerinin artırılmasında önemli rol oynayan kooperatif ve birliklere katılımın artırılması için devlet teşvik ve desteklemelerine ihtiyaç bulunmaktadır.

Teşekkür

Anket sorularını yanıtlayan İstanbul ve Kocaeli illerindeki manda üreticilerine teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Altın O. Türkiye’de manda yetiştiriciliği işletmelerinin yapısal ve ekonomik analizi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2021; s. 40-107.
- Avcı H. İstanbul ili Avrupa yakasındaki manda işletmelerinin yapısal ve mekansal özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir çalışma, Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniv Fen Bil Ens, İstanbul 2015; s. 25.
- Çiftçi S, Yılmaz A. Bitlis ili Anadolu mandası yetiştiricilerinin manda besleme ve ürünlerinden faydalanma ve pazarlama olanaklarına yönelik görüşleri. KSÜ Tarım ve Dođa Derg 2020; 23(1): 271-80.
- Ermetin O. Husbandry and sustainability of water buffaloes in Turkey. TURJAF 2017; 5(12): 1673-82.
- Günlü A, Çiçek H, Tandođan M. Socio-economic analysis of dairy buffalo enterprises in Afyonkarahisar province in Turkey. JAEFS 2010; 8(3):689-91.
- Indrayani I, Rias MI, Fauziah S. Determinants of income in smallholder buffalo farms in Sijunjung, West Sumatra. IOP Conference Series: ESS 2023; 1182: 012025.
- Islam MS, Nahar TN, Begum J, Deb G, Khatun M, Afsana M. Economic evaluation of buffalo production in selected regions of Bangladesh. J Stock Forex Trad 2017; 6(1): 1000177.
- Işık M. Muş ilinde manda yetiştiriciliği faaliyetinin ekonomik analizi, Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniv Fen Bil Ens, Isparta 2015; s. 45-69.
- Kabir MD, Monir M, Islam M, Alam MD, Dadok F. Existing buffalo husbandry practices at household farming level in selected coastal regions of Bangladesh. Asian J Med Biol Res 2020; 6: 255-64.
- Kaygısız F, Evren A, Koçak Ö, Aksel M, Tan T. İstanbul’un Çatalca ilçesindeki mandacılık işletmelerinin etkinlik analizi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2018; 65 (3): 291-6.
- Koyuncu M, Çetin İ, Sargın HG, Çetin E. Bursa İli Mustafakemalpaşa ilçesi manda yetiştiriciliği “Karaođlan Mahallesi Örneği”. Hay Üret 2021; 62 (1): 25-34.
- Özdemir G. Sivas ili manda işletmelerinde karma üretim durumunun ve yetiştirici eğitim gereksinimlerinin belirlenmesi. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2021; 14(2): 107-12.
- Özger Ö. Iğdır ilinde manda yetiştiriciliği faaliyetinin ekonomik analizi, Yüksek lisans tezi, Iğdır Üniv Fen Bil Ens Iğdır 2018; s 34-70.
- Özkan Z, Arslan S, Uçum İ, Canik F, Uzun B. Samsun ilinde manda yetiştiriciliği faaliyetine yer veren işletmelerin mevcut durum analizi. TEPGE Proje Sonuç Raporu, 2017. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF>; Accessed Date: 25.07.2023
- Saner G, Engindeniz S, Adanaciođlu H, Güler D, Şengül Z. Manda yetiştiriciliğinin ekonomik yönü üzerine bir analiz: Balıkesir ili örneği. Hay Üret 2022; 63(1): 35-46.
- Siddiki MA, Amin MR, Kabir AKMA, Faruque MO, Khandaker ZH. Socio-economic status of buffalo farmers and the performances of buffaloes at Lalpur Upozila of Natore district in Bangladesh. Bangladesh. J Anim Sci 2015; 44(3): 157-65.
- Soysal YT, Tuna EK, Gürcan Mİ. İstanbul Silivri ilçesi Danamandıra köyünde manda yetiştiriciliği üzerine bir araştırma. JOTAF 2005; 2(1): 73-8.
- Sümbüloğlu V, Sümbüloğlu K. Klinik ve Saha Araştırmalarında Örnekleme Yöntemleri ve Örnekleme Büyüklüğü. Ankara: Hatibođlu Yayınevi, 2005; s: 122.
- Topuz B, Karabulut K, Külekçi M. Hayvancılık desteklerinin süt mandası yetiştiren işletmelere etkisi: Iğdır ili örneği. Seventh International Conference on Agriculture, Animal Science and Rural Development (ISPEC VII). September, 18-19, 2021; Muş-Türkiye.
- USK. Süt Raporu-2019. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/kategori/raporlar/sut-konseyi-raporlari>; Accessed Date: 03.05.2021.
- Yılmaz S. Afyonkarahisar yöresi manda yetiştiriciliği: Küçükçobanlı Köyü örneği. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniv Fen Bil Ens, Aydın 2013; 67-98.
- Zicarelli L. Buffalo milk: its properties, dairy yield and mozzarella production. Vet Res Commun 2004; 28: 127-35.



Efektif Mikroorganizma ve Karahindiba Ekstraktının Buzağılarda Performans Üzerine Etkisi*

Veli ÖZBEK^{1,a}, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ^{2,b}, Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ^{3,c}, Mehmet KÜÇÜKOFLAZ^{4,d}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Besleme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Besleme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

³Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

⁴Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0003-4525-9254; ^b0000-0003-0341-4594; ^c 0000-0002-4622-0645; ^d0000-0003-3256-4735

Sorumlu yazar: Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ; E-posta: berrinkg@hotmail.com

Atıf Yapmak için: Özbek V, Kocaoğlu Güçlü B, Büyükkılıç Beyzi S, Küçükoflaz M. Efektif mikroorganizma ve karahindiba ekstraktının yaşama payı üzerine etkisi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1): 20-29

Öz: Bu çalışmada, buzağılarda efektif mikroorganizma (EM) ve karahindiba ekstraktının (KH) performans [canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık artışı (CAA), yemden yararlanma oranı (YYO), vücut ölçüleri], rumen uçucu yağ asitleri (UYA) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 80 buzağı, ırkları (10 Holstein, 10 Simental), yaşları (7±3 günlük), canlı ağırlıkları (40±5 kg), ve cinsiyetleri (10 erkek, 10 dişi) benzer olacak şekilde bir kontrol ve üç deneme grubu (EM, KH ve EM + KH) olmak üzere her grupta 20 buzağı olacak şekilde toplam dört gruba ayrıldı. Çalışmada yer alan bütün buzağuların beslenme programları aynı olup, deneme grubunda bulunan buzağılara kontrol grubundan farklı olarak, EM grubunda buzağı başına günlük 10 ml EM ve KH grubunda 5 gr karahindiba ekstresi ve EM + KH grubunda ise 10 ml EM ile 5 gr KH süte katılarak oral yolla içirildi. Simental ırkı buzağılara KH, EM veya KH+EM verilmesinin performans parametreleri (CA, CAA, YT, YY), vücut ölçüleri ve rumen UYA (asetik asit, butirik asit, propiyonik asit) oranını önemli oranda etkilemediği belirlendi. Öte yandan Holstein ırkı buzağılara KH verilmesinin yem tüketimini önemli oranda artırdığı belirlendi. Holstein ırkı buzağılara sütten kesim öncesi dönemde KH verilmesinin yemden yararlanma oranını etkilemediği ancak EM veya KH+EM verilmesinin yemden yararlanma oranını olumsuz etkilediği belirlendi. Holstein ırkı buzağılara sütten kesim öncesi dönemde KH verilmesinin sağrı genişliği ve günlük sağrı genişliği artışını düşürdüğü ancak muamelelerin deneme sonu rumen UYA düzeyleri, cidago yüksekliği, sağrı yüksekliği, vücut uzunluğu, beden derinliği ve göğüs çevresi ile günlük cidago yüksekliği artışı, sağrı yüksekliği artışı, vücut uzunluğu artışı, beden derinliği artışı ve göğüs çevresi artışını etkilemediği kaydedildi. Sonuç olarak, ruminantlarda gerek bitki ekstraktları gerek probiyotiklerin ve prebiyotiklerin yem katkısı olarak kullanıldığı çalışma sayısı bu katkıların etkileri konusunda kesin kanaat oluşturmak için oldukça yetersiz olup ruminantlarda çok daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Buzağı, efektif mikroorganizma, karahindiba ekstraktı, performans

The Effect of Effective Microorganisms and Dandelion Extract on Performance of Calves

Abstract: In this study, it was aimed to determine the effects of effective microorganism (EM) and dandelion extract (KH) on performance [live weight (CA), live weight gain (CAA), feed conversion ratio (FLF), body dimensions] rumen volatile fatty acid in calves. In the study, a total of 80 calves were included in a control group and three experimental groups (with similar breeds (10 Holstein, 10 Simental), age (7±3 days), body weight (40±5 kg), and gender (10 males, 10 females)). EM, KH and EM + KH were divided into four groups with 20 calves in each group. The feeding programs of all the calves in the study were the same, and unlike the control group, the calves in the experimental group were given 10 ml of EM per calf per day, and 5 g of dandelion extract in the KH group, and 10 ml of EM and 5 g KH in the EM + KH group. way drunk. It was determined that the administration of KH, EM or KH+EM to Simental calves did not significantly affect the performance parameters (CA, CAA, YT, YY), body measurements and rumen VFA (acetic acid, butyric acid, propionic acid) ratio. On the other hand, it was determined that the administration of CH to Holstein calves significantly increased feed consumption. It was determined that the administration of CH to Holstein calves in the pre-weaning period did not affect the feed conversion ratio, but the administration of EM or CH+EM negatively affected the feed conversion ratio. HR administration to Holstein calves in the pre-weaning period decreased the rump width and daily rump width increase, but the treatments showed that rumen VFA levels, withers height, rump height, body tip, body depth and chest circumference, and daily withers height increase, rump height increase, body It was noted that it did not affect the increase in length, increase in body depth and increase in chest circumference. As a result, the number of studies in which both plant extracts and probiotics and prebiotics were used as feed additives in ruminants are quite insufficient to form a definitive opinion on the effects of these additives, and it is thought that much more studies should be done in ruminants.

Keywords: Calf, dandelion extract, effective microorganism, performance

Geliş Tarihi/Submission Date : 25.05.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 16.10.2023

Giriş

Bir hayvancılık işletmesinin temel hedefi; yüksek verimli, üstün vasıflı ve ekonomik verim sağlayan bir sürüye sahip olmaktır. Süt sığırcılığının karlı ve sürdürülebilir olmasında en önemli faktörlerden biri sağlıklı buzağuların yetiştirilmesidir. Doğum sonrası bakım ve besleme, buzağının ilerleyen yaşlarda performansını etkilemektedir. Damızlık süt sığırcılığı işletmelerinde doğan buzağuların ilerleyen yaşlarda sürüyü temsil edecek olmaları buzağı bakım ve beslenmesinin önemini göstermektedir. Buzağı hastalıklarının; uzun vadeli etkilerinin yanı sıra ölüm ve tedavi masrafları gibi doğrudan kayıplar karlılığı da etkilemektedir (Ünlü ve ark., 2013). Buzağılarda doğum sonrası bağışıklık sistemi yeterince gelişmediği için bu dönemde doğan buzağuların yakalanma riski ve ölüm oranı daha yüksektir. Bu dönemde buzağılarda karşılaşılan en önemli sorunlar gastro intestinal ve solunum yolu hastalıkları olup bu hastalıkların etiolojisinde mikrobiyolojik, immunolojik, beslenme, genetik, fiziksel ya da fizyolojik nedenler bulunmaktadır (Ünlü ve ark., 2013; Yavuzarslan, 2018). Buzağı rasyonlarında, ön midelerin gelişimi ve bağırsak florasının oluşumunu hızlandırmak, dengeli bir mikroflora oluşumunu teşvik etmek, hayvansal üretimde verimliliği arttırmak (yem tüketimi ve canlı ağırlık artışı), buzağı ölümlerini ve ekonomik kayıpları azaltmak amacıyla; probiyotikler, prebiyotikler, aromatik bitki ve ekstraktları, esansiyel yağ/yağ karışımları ve enzimler gibi yem katkı maddelerinin kullanılabilirliğinin belirlenmesi konusunda araştırmalar yaygınlaşmıştır (Ünlü ve ark., 2013). Preruminant olan buzağılarda doğum sonrası rumenin mikrobiyal ve anatomik gelişimi buzağı sağlığı ve performansını etkileyen en önemli hususlardandır. Rumenin anatomik gelişiminin en önemli göstergelerinden olan villusların uzunluğu ise rumende meydana gelen UYA sentezi ve oranından doğrudan etkilenir. Probiyotik mikroorganizmaların (*Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi) rumendeki O₂'i kullanarak, anaerobik rumen mikroorganizmalarının sayısını (selüloolitik, hemiselüloolitik, pektinolitik ve amilolitik) ve yemlerin sindirimini arttırmak sureti ile UYA konsantrasyonlarını yükseltip rumen flora ve faunasının gelişimine katkı sağladıkları ifade edilmektedir. Buzağılara laktik asit üreten (*Streptococcus bovis* ve *Lactobacillus*) veya laktat kullanan (*Probionibacterium acnes*'in ve *Aspergillus oryzae*) probiyotik bakterilerin birlikte verilmesinin rumende papilla gelişimi ve UYA üretimini arttırdığı bildirilmiştir (Sarıpınar ve Sulu, 2005; Kocaoğlu Güçlü ve Kara, 2009). Probiyotiklerin buzağılarda rumen gelişimi ve sürdürülebilir normal bir bağırsak mikroflorası oluşturulmasına sağladıkları olumlu etkiler nedeni ile morbidite olaylarını azaltmak, büyüme performansını, yemden yararlanmayı ve günlük canlı ağırlık artışını arttırmak amacıyla kullanılacakları ileri sürülmektedir (Jouani ve Morgavi, 2007). Preruminant olan buzağılarda, bağırsak sağlığını geliştirmek, erken katı yem

tüketimini teşvik etmek ve büyümeyi iyileştirmek için süt veya başlangıç yemlerine doğru ve yeterli miktarda probiyotik eklenebileceği bildirilmiştir (Ewaschuk ve ark., 2004). Bu çalışmaların bazılarında probiyotiklerin canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık artışı (CAA), yemden yararlanma oranı (YYO)'nu artırdığı, hastalık ve ölüm oranını azalttığı belirlenmiştir (Meyer ve ark., 2001; Işık ve ark., 2004; Timmerman ve ark., 2005; Frizzo ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2016). Öte yandan bazı çalışmalarda da probiyotiklerin buzağuların büyüme performansını ve sağlığını etkilemediği tespit edilmiştir (Jenny ve ark., 1991; Abu-Tarboush ve ark., 1996).

Taraxacum officinale veya karahindiba (Asteraceae veya Compositae ailesi), dünya çapına yayılmış yenilebilir bir bitkidir. Karahindiba, gıda ürünlerinde dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Besleyici olmasının yanında, geleneksel olarak çeşitli hastalıklarının önlenmesi, yönetimi ve tedavisi için bir diyet takviyesi ve bitkisel ilaç olarak da önerilmektedir. Günümüze kadar halk arasında tedavi edici olarak yaygın kullanılan *Taraxacum* türleri üzerinde çok sayıda kimyasal çalışmalar yapılmış; önemli biyoaktif maddeler izole edilmiştir. *Taraxacum* türlerinden; seskiterpen lakton, triterpen, norisoprenoid, sterol, lignan, flavonoid, kumarin, tanen, karbohidrat, organik asit, yağ asidi, amino asit ve karotenoid türevi maddeler elde edilmiş olup bu bitkinin anti-inflamatuar, anti-tümör, immünostimülatör, antimikrobiyal, anti-viral, antioksidan, anti-diyabetik, idrar söktürücü ve böbrek koruyucu dâhil olmak üzere sayısız biyolojik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Karaciğeri-koruyucu, nöro-koruyucu, anti-depresan, akciğer-koruyucu, pankreas-koruyucu gibi etkilerinin yanı sıra dislipidemi, hematolojik profil, mide motilitesi, yorgunluk ve bifidobakteriler üzerinde olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, bu özelliklerin tam etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır (Ho ve ark., 1998; Kim ve ark., 2000; Yun ve ark., 2002; Ertaş ve ark., 2005; Hu ve Kitts, 2005; Amin Mir ve ark., 2016; Qureshi ve ark., 2017; Jalili ve ark., 2020).

Bu çalışmada, yeni doğan buzağılara süttten kesilene kadar ki dönemde süte ilave edilen probiyotik (efektif mikroorganizma-EM®) (10ml/gün) ve karahindiba ekstraktının (5 gr/gün)'nin büyüme performansı, rumen uçucu yağ asitleri, sağlık ve karlılık üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya başlamadan önce Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan gerekli izin alındı (Tarih: 08.09.2021; Karar No: 21/198). Çalışmada toplam 40 Simental ve 40 Holstein olmak üzere 80 buzağı kullanıldı. Çalışmada 2. ve/veya 3. laktasyondaki ineklerin buzağuları kullanıldı. Buzağular canlı ağırlıkları (CA) (40±5 kg), yaşları (7±3 günlük),

ırkları (10 Holstayn, 10 Simental) ve cinsiyetleri (10 dişi, 10 erkek) benzer olacak şekilde bir kontrol ve üç deneme grubu (EM, KH ve EM + KH) olmak üzere her grupta 20 buzağı olacak şekilde toplam dört gruba ayrıldı. Çalışmada yer alan bütün buzağuların beslenme programları aynı olup, deneme grubunda bulunan buzağılara kontrol grubundan farklı olarak, EM grubunda buzağı başına günlük 10 ml EM ve KH grubunda 5 gr karahindiba ekstresi ve EM + KH grubunda ise 10 ml EM ile 5 gr karahindiba ekstresi süte katılarak oral yolla içirildi. Çalışmada kullanılan probiyotik katkı maddesi (EM Agriton®, Okinova, Japonya), *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus delbrueckii* laktik asit bakterileri ve *Saccharomyces cerevisiae* mayası içermektedir. Bu ticari katkı maddesi 1×10^7 cfu/g mikroorganizma içerir ve pH değeri 3-3.85'dir. Çalışmada kullanılan buzağı başlangıç yemi, yonca samanı ve sütün kimyasal bileşimleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Buzağı başlangıç yemi, yonca samanı ve sütün kimyasal bileşimleri,%

Besin Bileşenleri	Buzağı başlangıç yemi	Yonca samanı	Süt
KM	91.35	92.86	12.76
HP	20.45	16.47	3.39
KH	7.71	11.52	-
Ham lif	7.30	21.10	-
Yağsız KM	-	-	8.83

KM: Kuru madde, HP: Ham protein, HK: Ham kül

Buzağılara doğumdan itibaren süttten kesilene kadar yemlik ve suluk içeren bireysel buzağı kulübesinde bakıldı. Tüm buzağılara doğumdan sonraki ilk 30 dakika içinde canlı ağırlığının %8-10'u oranında biberonla kolostrum üç öğün verildi. Bireysel kulübelerinde barındırılan buzağılara 10 günlük yaştan itibaren çalışma boyunca buzağı başlangıç yemi (%90) ve yonca otu (%10) karıştırılarak verildi. Su ad-libitum verildi. Çalışma boyunca (70 gün) her buzağıya ortalama 6 l/gün tam yağlı süt (38°C) biberonla verildi. Buzağılara verilen tüm sıvı ve katı yemler günlük olarak tartıldı ve kaydedildi. Günlük kuru yem tüketimi, hayvanlara verilen başlangıç yemi ve yonca kuru ot karışımının kalan miktarları toplanıp tartılarak belirlendi. Toplam kuru madde tüketimi, süttten alınan kuru madde (KM) ve katı yemden alınan KM (başlangıç yemi+yonca kuru otu) toplamından hesaplandı. Yemden yararlanma oranı (YYO), tüketilen toplam kuru maddenin (KM) (süt KM + katı yem KM) buzağuların toplam canlı ağırlık artışına bölünmesiyle hesaplandı. Buzağular çalışma başında (0. gün) ve sonunda (70. gün) bireysel olarak 0.1 kg hassasiyette kantarda tartıldı ve CA'ları kaydedildi. Çalışma başı ve sonunda tüm buzağuların cidago yüksekliği (CY), sağrı yüksekliği (SY), beden derinliği (BD), göğüs çevresi (GÇ), vücut uzunluğu (VU) ve sağrı genişliği (SG) bireysel olarak mezür ve ölçü bastonu kullanılarak beslenme öncesinde ölçüldü. Çalışma boyunca buzağılarda görülen hastalık semptomları (ishal, pnö-

moni, septisemi vb.) gözlemlenerek hastalıklarda kullanılan tedavi prosedürleri ve ilaçları kayıt altına alındı.

Deneme başı ve deneme sonu vucüt ölçüleri arasındaki fark çalışma süresine bölünerek günlük cidago yüksekliği artışı (GCYA), günlük sağrı yüksekliği artışı (GSYA), günlük beden derinliği artışı (GBDA), günlük göğüs çevresi artışı (GGÇA), günlük vücut uzunluğu artışı (GVUA) ve günlük sağrı genişliği artışı (GSGA) belirlendi. Çalışmanın sonunda her gruptan beş buzağının rumen sıvıları (beslemeden yaklaşık 2 saat sonra) rumen sondası ile alındı. Tükürük kontaminasyonunu en aza indirmek için önce 10 mL rumen sıvısı atıldı ve ardından analiz için yaklaşık 20 mL rumen sıvısı (hem katı hem de sıvı fraksiyonları) toplandı. Rumen sıvısı hemen laboratuvara getirildi ve uçucu yağ asidi (UYA) kaybını önlemek için buz torbalı termos vidalı kapaklı bir falcon tüpe (50 mL hacimsel) konuldu. Rumen UYA'nın (asetik, bütirik, propiyonik,

izo-bütirik, valerik, heksanoik, izo-kaproik, n-heptanoik ve izovalerik asitler) konsantrasyonları (mmol/L) olarak tanımlandı. Xcalibur™ yazılımını (Thermo Scientific™) kullanan bir polietilen-glikol bazlı fazlı GC Sütünü (Thermo Scientific™, TRACE TR-WAX GC Sütünü, ABD) ile bir GC-FID cihazı (Thermo Trace 1300, Thermo Scientific, ABD) kullanıldı.

Ekonomik analiz

Ekonomik analiz değerlendirmesinde, işçilik, elektrik, su gibi masraf unsurları, bütün gruplarda eşit varsayıldığından toplam maliyet hesaplamasında dikkate alınmadı. Buzağı besleme, tedavi ve kontrol harcamaları maliyet hesabı dikkate alındı. Araştırmada kullanılan buzağı başlangıç yeminin fiyatı 7.5 TL/kg, yonca kuru ot fiyatı 5.6 TL/ kg, süt fiyatı 9/LT, karahindiba fiyatı 1 TL/kg, EM fiyatı 3 TL/ LT olarak alındı. Toplam gelir hesaplamasında buzağı fiyatı 200 TL/kg CA olarak kabul edildi. Karlılık, toplam gelirden toplam maliyetin çıkarılmasıyla hesaplandı. Buzağı beslemede KH ve EM kullanımının etkilerini belirlemek için kısmi bütçe analizi yapıldı. Kısmi bütçe analizi ile işletmedeki veya üretim sisteminde yapılan herhangi bir değişikliğin, yürütülen faaliyete olan olumlu veya olumsuz etkisinin belirlenmesi hedeflendi. Kısmi bütçe analizi sonucunda elde edilen net gelir artışı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı;

Net Gelir = (İlave gelir artışı + Azalan maliyetler) – (Azalan gelir + İlave maliyetler)

İstatistiksel analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Q-Q plot, histogram grafiği ve Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Grup, ırk ve cinsiyet, değişkenlerinin bağımlı değişkenler üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla 2-yönlü varyans analizi uygulandı. İki'den fazla bağımsız grubun ortalamaları arasındaki farkın önem kontrolleri parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA); parametrik test varsayımlarını sağlamayan değişkenler için Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Verilerin gösteriminde Aritmetik Ortalama ± Standart Hata ve Ortanca (1. Çeyreklik- 3. Çeyreklik) kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizleri R 4.2.1 (<https://cran.r-project.org>) yazılımı ile yapıldı. Anlamlılık seviyesi P < 0.05 olarak belirlendi.

Bulgular

İrklara ve deneme gruplarına göre deneme başı ve deneme sonu performans parametreleri Tablo 2'de verilmiştir.

Deneme başlangıcı ve deneme sonu CA ırk ve gruplar açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (P>0.05). Holstein ırkı buzağılarda kontrol ve deneme grupları arasında günlük GCAA istatistiksel olarak önemli oranda etkilenmesine karşın, Simental ırkında önemli bir değişiklik belirlenmemiştir. Çalışmada, 5 g/gün/hayvan KH ile beslenen Holstein

buzağuların GCAA'ı EM ve KH+EM grubuna göre önemli oranda, kontrol grubuna göre ise rakamsal olarak daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan KH+EM grubunda GCAA'ının kontrol grubuna göre önemli oranda düşük olduğu saptanmıştır. CAA değişkeni üzerinde grup değişkeninin etkisi ve grup*ırk etkileşimi anlamlı bulunmuştur (Sırasıyla P=0.043 ve P=0.017). Çalışmada, Simental ırkı buzağılarda kullanılan katkıların YT'ni etkilemediği, ancak KH verilen Holstein buzağuların YT'nin, kontrol ve KH+EM grubuna göre önemli oranda yüksek olduğu tespit edilmiştir (P=0.002). Holstein buzağılarda KH ilavesi YT'ni kontrol grubuna göre %19.6, Simental buzağılarda ise %14.1 oranında artırmıştır. Çalışmada Holstein ırkı buzağılarda tek başına KH kullanılan gruplarda YYO bakımından önemli bir değişiklik belirlenmezken, EM veya KH+ EM gruplarında YYO kontrol grubuna göre olumsuz etkilenmiştir. Simental ırklarda ise kullanılan katkıların YYO önemli bir etkisi belirlenmemiştir. Yemden yararlanma değişkeni üzerinde grup ve ırk değişkenlerinin etkisi anlamlı bulunmuştur (P=0.006 ve P=0.007) (Tablo 2).

İrklara ve deneme gruplarına göre deneme başı ve deneme sonu vücut ölçülerine ilişkin ölçümler Tablo 3a ve Tablo 3b'de verilmiştir.

Tablo 2. İrk ve gruplara göre performans parametreleri

Grup / İrk	Holstein	Simental		F	P
Deneme sonu canlı ağırlıkları (kg)					
KH	84.89±2.83	79.75±4.13	Grup	0.685	0.564
EM	78.36±2.65	80.37±1.95	İrk	0.738	0.393
KH+EM	72.64±2.98	84.66±3.31	Grup * İrk	2.668	0.054
Kontrol	82.60±2.47	81.34±2.40			
Günlük canlı ağırlığı artışı (kg)					
KH	0.76±0.02 ^a	0.71±0.04	Grup	2.861	0.043
EM	0.62±0.04 ^{bc}	0.68±0.03	İrk	2.915	0.092
KH+EM	0.55±0.04 ^c	0.73±0.04	Grup * İrk	3.644	0.017
Kontrol	0.70±0.03 ^{ab}	0.69±0.03			
Yem tüketimi (gr)					
KH	1494.37±59.89 ^a	1370.70±91.63	Grup	5.556	0.002
EM	1281.61±57.58 ^{ab}	1312.04±42.52	İrk	0.031	0.862
KH+EM	1119.33±54.18 ^b	1291.34±50.28	Grup * İrk	2.008	0.120
Kontrol	1248.99±36.80 ^b	1201.12±65.16			
Yemden yararlanma oranları					
KH	1.97±0.064 ^{abA}	1.91±0.056 ^A	Grup	4.534	0.006
EM	2.10±0.043 ^{aA}	1.95±0.087 ^A	İrk	7.653	0.007
KH+EM	2.08±0.072 ^{aA}	1.78±0.050 ^B	Grup * İrk	1.415	0.245
Kontrol	1.79±0.051 ^{bA}	1.75±0.095 ^A			

EM: Efektif Mikroorganizma KH:Karahindiba Ekstraktı

Tablo 3a. Irk ve gruplara göre vücut ölçüleri

Grup / Irk	Holstein	Simental		F	P
Deneme sonu cidago yüksekliği (cm)					
KH	90.08±1.17 ^A	85.88±1.47 ^B	Grup	0.328	0.805
EM	88.50±0.76 ^A	86.14±1.40 ^A	Irk	8.114	0.006
KH+EM	87.07±0.64 ^A	87.60±1.08 ^A	Grup * Irk	1.589	0.200
Kontrol	89.46±0.88 ^A	86.86±0.59 ^A			
Günlük cidago yüksekliği artışı (cm)					
KH	0.18±0.01	0.14±0.02	Grup	0.593	0.622
EM	0.16±0.02	0.18±0.02	Irk	0.658	0.420
KH+EM	0.14±0.02	0.17±0.01	Grup * Irk	1.952	0.129
Kontrol	0.17±0.01	0.13±0.02			
Deneme sonu sağrı yüksekliği (cm)					
KH	94.67±1.25 ^A	90.50±1.50 ^B	Grup	0.474	0.701
EM	93.83±0.89 ^A	91.43±1.59 ^A	Irk	7.150	0.009
KH+EM	92.07±0.71 ^A	93.00±1.05 ^A	Grup * Irk	1.677	0.180
Kontrol	95.23±0.95 ^A	92.14±0.51 ^B			
Günlük sağrı yüksekliği artışı (cm)					
KH	0.20±0.02	0.16±0.02	Grup	0.479	0.698
EM	0.19±0.01	0.21±0.02	Irk	0.620	0.434
KH+EM	0.16±0.02	0.20±0.01	Grup * Irk	3.339	0.024
Kontrol	0.20±0.01	0.15±0.02			
Deneme sonu sağrı genişliği (cm)					
KH	28.25±0.62 ^b	29.13±0.83	Grup	3.226	0.028
EM	28.75±0.35 ^{ab}	29.71±0.64	Irk	1.998	0.162
KH+EM	29.43±0.51 ^{ab}	30.40±0.81	Grup * Irk	0.217	0.885
Kontrol	30.69±0.65 ^a	30.71±1.13			
Günlük sağrı genişliği artışı (cm)					
KH	0.09±0.01 ^{bA}	0.11±0.01 ^B	Grup	3.506	0.020
EM	0.09±0.01 ^{bA}	0.11±0.01 ^A	Irk	4.173	0.045
KH+EM	0.11±0.01 ^{abA}	0.12±0.01 ^B	Grup * Irk	0.072	0.975
Kontrol	0.12±0.01 ^{aA}	0.13±0.02 ^A			
Vücut uzunluğu (cm)					
KH	89.42±1.50 ^A	85.13±1.81 ^B	Grup	0.133	0.940
EM	87.83±1.20 ^A	85.00±1.86 ^B	Irk	5.965	0.017
KH+EM	87.57±0.96 ^A	85.80±0.80 ^B	Grup * Irk	0.269	0.847
Kontrol	88.15±1.74 ^A	86.14±1.01 ^B			
Vücut uzunluğu artışı (cm)					
KH	0.32±0.02	0.25±0.03	Grup	0.197	0.898
EM	0.28±0.02	0.30±0.03	Irk	1.786	0.186
KH+EM	0.29±0.02	0.26±0.02	Grup * Irk	1.248	0.299
Kontrol	0.28±0.02	0.26±0.02			

EM: Efektif Mikroorganizma KH:Karahindiba Ekstraktı

Çalışmada, cidago yüksekliği artışı, sağrı yüksekliği, sağrı yüksekliği artışı, sağrı genişliği, vücut uzunluğu artışı, beden derinliği artışı, göğüs çevresi, göğüs çevresi artışı değişkenleri üzerine ırk faktörünün önemli bir etkisi bulunmazken, cidago yüksekliği, sağrı genişliği artışı, vücut uzunluğu, beden derinliği değişkenleri üzerine ırk faktörünün etkisi önemli bulunmuştur. Kullanılan katkıların her iki ırkta da deneme sonu cidago yüksekliği, sağrı yüksekliği, vücut

uzunluğu, beden derinliği ve göğüs çevresi ile günlük cidago yüksekliği artışı, sağrı yüksekliği artışı, vücut uzunluğu artışı, beden derinliği artışı ve göğüs çevresi artışı etkilemediği kaydedildi. Ancak Holstein ırkı buzağılara sütten kesim öncesi dönemde KH verilmesinin sağrı genişliği ve günlük sağrı genişliği artışıını düşürdüğü belirlendi (Tablo 3).

Tablo 3b. Irk ve gruplara göre vücut ölçüleri

Grup / Irk	Holstein	Simental		F	P
Deneme sonu beden derinliği (cm)					
KH	43.08±0.54 ^A	41.00±0.65 ^B	Grup	0.186	0.906
EM	42.25±0.59 ^A	41.57±0.37 ^A	Irk	4.184	0.045
KH+EM	41.57±0.68 ^A	42.00±0.71 ^A	Grup * Irk	1.239	0.302
Kontrol	43.15±0.60 ^A	41.43±0.90 ^A			
Günlük beden derinliği artışı (cm)					
KH	0.15±0.01	0.12±0.01	Grup	0.238	0.869
EM	0.13±0.01	0.15±0.01	Irk	0.156	0.694
KH+EM	0.13±0.01	0.15±0.02	Grup * Irk	2.295	0.085
Kontrol	0.15±0.01	0.13±0.02			
Deneme sonu göğüs çevresi (cm)					
KH	100.08±1.37	96.00±1.55	Grup	0.740	0.532
EM	98.67±1.18	96.29±1.27	Irk	1.606	0.209
KH+EM	94.93±0.96	98.60±1.40	Grup * Irk	2.774	0.048
Kontrol	99.85±1.19	97.71±1.41			
Günlük göğüs çevresi artışı (cm)					
KH	0.39±0.02	0.31±0.03	Grup	0.265	0.851
EM	0.36±0.02	0.34±0.02	Irk	0.447	0.506
KH+EM	0.31±0.02	0.41±0.02	Grup * Irk	5.575	0.002
Kontrol	0.39±0.02	0.34±0.03			

EM: Efektif Mikroorganizma KH:Karahindiba Ekstraktı

Deneme gruplarına göre uçucu yağ asitlerinin düzeyleri (asetik asit, propiyonik asit, iso-bütirik asit, bütirik asit, iso-valerik asit, valerik asit) Tablo 4'de verilmiştir.

istatistiksel farklılık tespit edilmiştir (P<0.05). Buzağılarda kullanılan KH ve EM sütten kesim dönemi sonucunda karlılık bakımından kontrol grubunun gerisinde kalmıştır (Tablo 5).

Tablo 4. Asetik asit, propiyonik asit, iso-bütirik asit, bütirik asit, iso-valerik asit, valerik asit değişkenleri üzerinde grup değişkeninin etkisi (mmol/l)

Değişkenler	Gruplar				P
	KH	EM	KH+ EM	Kontrol	
Asetik asit	60.20	59.56	64.57	61.54	0.356
Propiyonik asit	18.00±0.86	19.38±1.40	16.34±1.28	18.24±1.54	0.486
İso-bütirik asit	0.48±0.17	0.46±0.06	0.61±0.14	0.59±0.12	0.761
Bütirik asit	19.69±0.74	18.80±0.89	17.01±2.27	16.39±1.68	0.334
İso-valerik asit	0.63±0.09	0.52±0.05	0.57±0.08	0.75±0.06	0.138
Valerik asit	1.48±0.09	1.19±0.20	1.48±0.22	1.38±0.08	0.500

EM: Efektif Mikroorganizma KH:Karahindiba Ekstraktı

Çalışmada rumen uçucu yağ asitleri düzeyi bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (Tablo 4).

Çalışma bulgularına göre, toplam maliyet bakımından kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur (P<0.05). Kontrol grubu deneme gruplarına göre daha düşük maliyette sütten kesilme yaşına ulaşmıştır. Toplam gelir yönünden gruplar kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemişken net kar bakımından kontrol ile deneme grupları arasında

Tartışma ve Sonuç

AntimikrobİYallerin hayvansal üretimde kullanılmasının yasaklanması nedeniyle buzağılarda bağırsak enfeksiyonlarına ve ishale karşı duyarlılıklarını en aza indirmek ve bağırsak sağlığını iyileştirmek için yeni stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle süt emme dönemindeki buzağılara antibiyotiklerin yerine daha güvenli olan yem katkı maddelerinin verilmesi üzerine çalışmalar artmıştır. Buzağı sağlığını dolayısıyla büyüme ve gelişimini iyileştirmek amacıyla bağırsak mikrobiyomunun manipüle edilmesi için probiy-

Tablo 5. Buzağılarda KH ve EM kullanımının ekonomik yansıması

	KH	EM	KH+EM	Kontrol	P
Toplam Maliyet	5511.7±59.2 ^{bc}	5371.1±68.7 ^b	5582.2±69.2 ^c	5107.1±41.9 ^a	<0.001
Toplam Gelir	16567.0±474.3	15898.9±407.4	15162.1±553.6	16541.0±371.1	0.107
Kar	11055.3±441.5 ^b	10527.8±380.1 ^{bc}	9579.9±521.3 ^b	11433.9±344.5 ^a	0.018

EM: Efektif Mikroorganizma KH:Karahindiba Ekstraktı

tik ve prebiyotiklerin kullanılması iyi bir seçenek haline gelmiştir (Cangiano ve ark., 2020; Fernández-Ciganda ve ark., 2022). Ayrıca son yıllarda büyümenin desteklenmesi amacıyla, hayvan yetiştiriciliğinde alternatif yem katkı maddesi olarak bitki ekstratları ve aromatik bitkiler de prebiyotik, prebiyotik, organik asitler gibi doğal ve güvenli yem katkı maddeleri olarak değerlendirilmektedir (Hernandez ve ark., 2004). Fitobiyotikler veya aromatik bitkiler olarak da adlandırılan fitojenik yem katkı maddeleri (PFA'lar), bitkilerden elde edilen ve verimliliği artırmak için hayvan yemlerine dahil edilen doğal biyoaktif bileşiklerdir. Çalışmada kullanılan *Taraxacum officinale* (karahindiba) bitkisi gıda amaçlı olarak kullanılabilirliği gibi gerek besin madde içeriği gerekse içerdiği fitokimyasallar nedeni ile farmasötik amaçlı olarak da kullanılmaktadır. Karahindiba bitkisinin içerdiği flavonoid ve fenolik bileşikler dolayısı ile antioksidan, anti-fertilite, hepatoprotektif, antiinflamatuar, antitümör, koleretik, diüretik ve antiromatizmal etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Öte yandan karahindiba köklerinin bol miktarda fruktooligosakkarit (FOS) olan inulin içermesi bitkiye prebiyotik özellik de kazandırmaktadır (Kaya, 2022). Çalışmada, gerek inulin içeriği dolayısı ile prebiyotik etkili olduğu öne sürülen karahindiba ekstraktının gerekse prebiyotik (EM) ilavesinin deneme sonu buzağı canlı ağırlığı bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir. Mevcut çalışma bulgularına benzer olarak Zhao ve ark. (2019) 1000 mg/kg karahindiba kökü ekstraktı, Samolińska ve ark. (2020) da 50 g/kg karahindiba kökünü ilave edilen yemle beslenen domuzlarda karahindibanın canlı ağırlık üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Küçükoflaz ve ark. (2022) da buzağılarda farklı dozlarda kullanılan EM'nin (10-15 mg) deneme sonu canlı ağırlığına etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Yine Wu ve ark. (2021) farklı dozlarda uygulanan prebiyotik preparatlarının buzağılarda çalışma sonu canlı ağırlığını önemli oranda etkilemediğini kaydetmişlerdir. Öte yandan çalışma bulgularının aksine, buzağılarda prebiyotik uygulamasının deneme sonu canlı ağırlıklarını önemli ölçüde artırdığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Timmerman ve ark., 2005; Bayatkouhsar ve ark., 2013). Ayrıca Yan ve ark. (2011) da kontrol ve karahindiba (1g/kg) grubu arasındaki farklılığı anlamlı olduğunu ve yemine karahindiba takviyesi yapılan grubun daha yüksek canlı ağırlığa ulaştığını bildirmişlerdir.

Çalışmada, Simental ırkı buzağılarda GCAA bakımın-

dan gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte KH+EM verilen grupta GCAA'ı kontrol ve KH grubuna göre rakamsal oranda yüksek bulunmuştur. Holstein buzağılarda ise günlük 5 g KH verilen grupta günlük GCAA'ı EM ve KH+EM verilen buzağılara göre önemli oranda, kontrol grubuna göre ise rakamsal olarak daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan 5 gr KH+10 ml EM kombinasyonunun verildiği Holstein buzağılarda GCAA'ı kontrol ve KH grubuna göre önemli oranda düşük bulunmuştur. Tek başına prebiyotik (EM) verilen buzağılarda GCAA bakımından kontrol grubuna kıyasla önemli bir fark belirlenmemesi Küçükoflaz ve ark. (2022) tarafından sütten kesim öncesi dönemde buzağılara EM (10-15 mg) verilmesinin günlük canlı ağırlık artışını etkilemediğini bildirdiği çalışma sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca Bayatkouhsar ve ark. (2013) da yeni doğan buzağuların sütlerine 2 g/gün olacak şekilde laboratuvarında veya ticari olarak üretilen prebiyotik verilmesinin; buzağuların canlı ağırlık artışını etkilemediği saptamışlardır. Öte yandan elde edilen sonuçlar prebiyotiklerin buzağılarda canlı ağırlık artışını olumlu etkilediğini bildiren çalışma sonuçları ile farklılık göstermektedir (Wu ve ark., 2021). Simental ırkı buzağılar için en yüksek GCAA'nın karahindiba ekstresi (KH grubu) içeren grupta bulunması, Yan ve ark. (2011) tarafından yemlerine karahindiba takviye edilen domuzlarda, 0-5 hafta, 5-10 hafta ve 0-10 hafta arası günlük canlı ağırlık artışı ölçümlerinde karahindiba (1 g/kg) grubunun daha yüksek canlı ağırlık artışı sağladığını bildirildiği çalışma bulgularını desteklemektedir. KH ile birlikte EM verilen gruplarda GCAA'nın kontrole göre önemli oranda düşmesini destekleyen veya açıklayan bir literatür bulunmamakla birlikte KH'nin prebiyotik bakteriler üzerine olumsuz bir etkisinin olabileceği düşünülmüştür.

Karahindiba gibi aromatik bitkilerin hayvan yemlerine eklenmesi ile yemin lezzetinde meydana gelen değişimin toplam yem alımında ve büyüme performansında artışa neden olabileceği belirtilmiştir (Wenk, 2003; Wang ve ark., 2007). Çalışmada da, KH verilen Holstein buzağılarda yem tüketimi kontrol ve KH+EM grubuna göre önemli oranda yüksek bulunmuştur. Simental buzağılarda ise KH grubunda YT'nin kontrol grubuna göre sadece rakamsal düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir. Holstein buzağılarda KH ilavesi YT'ni kontrol grubuna göre %19.6, Simental buzağılarda ise %14.1 oranında artırmıştır. Çalışmada, KH'nin buzağılarda YT' üzerine etkisi, Yan ve ark. (2011)'nin domuzlarda 1g/kg karahindiba takviyesinin

YT'ni artırdığını bildirdiği çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Grela (2000) da çalışma bulgularına benzer olarak karahindibanın YT'ni artırdığını bildirmiştir. Çalışmada her iki ırkta da EM (probiyotik) veya EM+KH katılan gruplarla kontrol grubu arasında YT bakımından önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Küçükoflaz ve ark. (2022) da buzağılarda farklı dozlardaki EM (10-15mg) verilmesinin YT'ne etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Bitki ekstratlarının yemlerin aromalarını artırarak YT'ni artırma ve rumen gelişimini olumlu yönde etkileyerek YYO iyileştirme potansiyeline sahip oldukları ileri sürülmektedir (Pradeep ve Geervani, 1994). Çalışmada YYO incelendiğinde grup ve ırk değişkenlerinin önemli oranda etkili olduğu belirlenmiştir. Simental ırkı buzağılarda verilen katkıların YYO etkilemediği ancak Holstein grubunda önemli oranda etkilediği belirlenmiştir. Holstein ırkında en iyi yemden yararlanma kontrol grubunda bulunurken, KH grubunda kontrol grubuna benzer fakat EM ve EM+KH grubunda kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Çalışma bulgularına benzer olarak Samolińska ve ark. (2020) domuz diyetine 50 gr/kg karahindiba kök unu eklenmesinin kontrol ve karahindiba grubu arasında YYO yönünden bir farklılık oluşturmadığını bildirmiştir. Probiyotiklerin buzağılarda YYO'nu artırdığını bildiren çalışmaların (Windschitl, 1991; Işık ve ark., 2004; Frizzo ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2016) yanında etkilemediğini bildiren çalışmalarda (Wu ve ark., 2021) bulunmaktadır. Çalışmalarda kullanılan probiyotik ve bitki ekstratı gibi katkı maddelerinin CA, CAA, YT ve YY gibi büyüme parametrelerine etkisinin kullanılan probiyotiklerin suşu, dozu, kullanım süresi, buzağılarda yaşı, ırkı ve yetiştirme sistemi gibi faktörlere bağlı olarak değiştiğini ileri süren görüşlere benzer olarak yapılan çalışmada da süten kesim öncesi dönemde süte gerek KH gerek EM ilavesinin GCAA, YT ve YYO üzerine etkisi ırka bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Buzağılara verilen katkı maddelerinin bazı büyüme parametrelerine etkisinin Holstein ırkında istatistikî anlamlı olduğu halde, Simental ırkında anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan EM ve KH'nin buzağılarda sağrı genişliği ve günlük sağrı genişliği artışı (cm) hariç ölçülen vücut ölçülerini (cidago yüksekliği ve cidago yüksekliği artışı; sağrı yüksekliği ve sağrı yüksekliği artışı; vücut ucunluğu ve vücut uzunlu artışı; beden derinliği ve beden derinliği artışı; göğüs çevresi ve göğüs çevresi artışı) önemli düzeyde etkilemediği tespit edilmiştir. Denemeye alınan buzağılarda sağrı genişliği ise EM veya EM+KH verilen gruplarda kontrol grubuna benzer ancak KH grubunda kontrol grubundan önemli oranda düşük bulunmuştur. Elde edilen sonuçların aksine bazı çalışmalarda probiyotiklerin buzağılarda göğüs çevresi (Windschitl, 1991; Nehru Arun ve ark., 2017), cidago yüksekliği (Diler ve Aydın, 2009; Bayatkouhsar ve ark., 2013; Noori ve ark., 2016; Nehru Arun ve ark., 2017) ve vücut uzun-

luğunu (Noori ve ark., 2016; Nehru Arun ve ark., 2017) gelişimlerini olumlu etkilediği bildirilmiştir. Küçükoflaz ve ark. (2022) ise EM verilen buzağılarda deneme grupları ile kontrol grubu arasında vücut ölçüleri bakımından farklılık tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Ruminantlarda yem katkı maddesi olarak kullanılan probiyotiklerin rumendeki oksijeni kullanarak selüloolitik, hemiselüloolitik, pektinolitik ve amilolitik özellikte anaerobik rumen mikroorganizmalarının sayısını ve yemlerin sindirilebilirliğini olumlu etkilediği, böylece total uçucu yağ asitlerinin, asetik asitin ve propiyonik asitin konsantrasyonlarını artırarak rumen flora ve faunasının gelişimine katkı sağladığı ileri sürülmektedir (Wallace ve ark., 1995; Beherka ve ark., 1998). Ancak yapılan çalışmada gerek probiyotik (EM) veya karahindiba ekstraktı (KH) gerekse karışımlarının süten kesim öncesi rumen UYA oranlarını önemli oranda değiştirmediği belirlenmiştir. Buzağı, sığır ve koyun rasyonlarına probiyotik ilavesinin uçucu yağ asidi konsantrasyonunu artırdığı veya azalttığını (Harrison ve ark., 1988; Windschitl, 1991; Hučko ve ark., 2009) bildiren çalışmaların yanı sıra, probiyotiklerin ruminantlarda uçucu yağ asitlerini etkilemediğini bildiren çalışmalarda mevcuttur (Küçükoflaz ve ark., 2022).

Çalışmada kullanılan KH ve EM'nin karlılığı olumlu etkilemediği tespit edilmiştir. Küçükoflaz ve ark. (2022) yaptıkları çalışmada ise buzağılarda probiyotik kullanımının işletme karlılığını etkilemediği bildirilmiştir.

Sonuç olarak; yem katkı maddelerinden beklenen etkilerin alınması; bu katkıların içerikleri, formülasyonları, bileşimlerdeki çeşitlilik, uygulama miktarları, elde edilme yöntemleri, uygulamanın yapıldığı hayvanların türü, ırkı, cinsiyeti, yaşı ve besleme şartları ile uygulamanın yapıldığı iklim, coğrafya, bakım ve işletme koşulları gibi birçok faktöre göre değişmektedir. Ruminantlarda gerek bitki ekstraktları gerek probiyotiklerin ve prebiyotiklerin yem katkısı olarak kullanıldığı çalışma sayısı bu katkıların etkileri konusunda kesin kanaat oluşturmak için oldukça yetersiz olup ruminantlarda çok daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Abu-Tarboush HM, Al-Saiady MY, Keir El-Din AH. Evaluation of diet containing Lactobacilli on performance, fecal coliform, and Lactobacilli of young milk calves. *Anim Feed Sci Technol* 1996; 57: 39-49.
- Amin Mir M, Sawhney S, Manmohan SJ. Antimicrobial activity of various extracts of taraxacum officinale. *J Microb Biochem Technol* 2016; 8(3): 210-5.
- Bayatkouhsar J, Tahmasebi AM, Naserian AA, Mo-

- karram RR, Valizadeh R. Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Anim Feed Sci Technol* 2013; 186 (1-2): 1-11.
- Beherka AA, Nagaraja TG. Effect of *Aspergillus oryzae* extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. *J Dairy Sci* 1998; 81: 1591-8.
- Cangiano LR, Yohe TT, Steele MA, Renaud DL. Invited review: Strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairy calf rearing. *Appl Anim Sci* 2020; 36: 630-51.
- Diler A, Aydın R. Rasyona probiyotik-enzim kombinasyonu ilavesinin İsviçre Esmeri ırkı buzağılarda büyüme performansı ve yemden yararlanma ve sağlık üzerine etkileri. *Hay Üret* 2009; 50 (2): 22-8.
- Ertaş ÖS, Aktaş HF, Haznedaroğlu MZ. Analysis of sodium and potassium levels in *taraxacum officinale* by flame emission photometry. *Acta Pharm Sci* 2005; 47(2): 127-30.
- Ewaschuk JB, Naylor JM, Chirino-Trejo M, Zello GA. *Lactobacillus rhamnosus* strain GG is a potential probiotic for calves. *Can J Vet Res* 2004; 68(4): 249.
- Fernández-Ciganda S, Fraga M, Zunino P. Probiotic lactobacilli administration induces changes in the fecal microbiota of preweaned dairy calves. *Probiotics Antimicrob* 2022; 14(5): 804-15.
- Frizzo LS, Zbrun MV, Soto LP, Signorini ML. Effects of probiotics on growth performance in young calves: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Anim Feed Sci Technol* 2010; 169(3-4): 147-56.
- Grela ER. Influence of herb supplements in pig feeding on carcass traits and some organoleptic and chemical parameters of meat. *Rocz Nauk Zootech* 2000; 6: 167-71.
- Harrison GA, Hemken RW, Dawson KA, Harmon RJ, Barker KB. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J Dairy Sci* 1988; 71: 2967-75.
- Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult Sci* 2004; 83(2): 169-74.
- Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY. Desacetylmatricarin, a anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Planta Med* 1998; 64(6): 577-8.
- Hu C, Kitts DD. Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine* 2005; 12(8): 588-97.
- Hučko B, Bampidis VA, Kodeš A, Christodoulou V, Mudřik Z, Poláková K, Plachý V. Rumen fermentation characteristics in pre-weaning calves receiving yeast culture supplements. *Czech J Anim Sci* 2009; 54: 435-42.
- Işık M, Ekimler F, Özen N, Fırat MZ. Effects of using probiotics on the growth performance and health of dairy calves. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28 (1): 63-9.
- Jalili C, Taghadosi M, Pazhouhi M, Bahrehmand F, Miraghaee SS, Pourmand D, Rashidi I. An overview of therapeutic potentials of *Taraxacum officinale* (dandelion): A traditionally valuable herb with a reach historical background. *WCRJ World Cancer Res J* 2020; 7: 1679.
- Jenny BF, Vandijk HJ, Collins JA. Performance and fecal flora of calves fed a *bacillus subtilis* concentrate. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1968-73.
- Jouany JP, Morgavi DP. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, 2007; 1(10): 1443-66.
- Kaya SB. Yumurta tavuğu karma yemlerine ilave edilen karahindiba ekstresinin performans ve yumurta kalitesine etkisi. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniv Sağ Bil Ens, Kayseri 2022.
- Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, Chae HJ, Lim KS. *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor- α production from rat astrocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2000; 22(3): 519-30.
- Kocaoğlu Güçlü B, Kara K. Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı: I. Probiyotik, prebiyotik ve enzim. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2009; 6(1): 65-75.
- Küçükoflaz M, Özbek V, Sarıözkan S, Kocaoğlu Güçlü B, Kara K. Growth performance, ruminal volatile fatty acids, health status and profitability in calves fed with milk supplemented with probiotics. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2022; 28(3): 421-30.
- Meyer PM, Pires AV, Bagaldo AR, Simas JMCD, Susin I. Adição de probiótico ao leite integral ou sucedâneo e desempenho de bezerras da raça holandesa. *Sci Agric* 2001; 58: 215-21.
- Nehru Arun P, Sunandhadevi S, Rama T, Muniyappan N. Effect of probiotic supplementation on

- growth performance of crossbred calves in an organized cattle farm. *J Anim Health Prod* 2017; 5 (3): 89-91.
- Noori M, Alikhani M, Jahanian R. Effect of partial substitution of milk with probiotic yogurt of different ph on performance, body conformation and blood biochemical parameters of Holstein calves. *J Appl Anim Res* 2016; 44(1): 221-9.
- Pradeep KU, Geervani P. Influence of spices on protein utilisation of winged bean (*Prophocarpus tetragonolobus*) and horsegram (*Dolichos biflorus*). *Plant Foods Hum Nut* 1994; 46: 187-93.
- Qureshi S, Adil S, Abd El-Hack ME, Alagawany M, Farag MR. Beneficial uses of dandelion herb (*Taraxacum officinale*) in poultry nutrition. *Worlds Poult Sci J* 2017; 73(3): 591-602.
- Sarıpınar Aksu D, Sulu N. Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2005; 11(1): 93-8.
- Samolińska W, Grela ER, Kowalczyk-Vasilev E, Kiczorowska B, Klebaniuk R, Hanczakowska E. Evaluation of garlic and dandelion supplementation on the growth performance, carcass traits, and fatty acid composition of growing-finishing pigs. *Anim Feed Sci Technol* 2020; 259: 114316.
- Timmerman HM, Mulder L, Everts H, Van Espen DC, Van Der Wal E, Klaassen G, Rouwers SMG, Hartemink R, Rombouts FM, Beynen AC. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J Dairy Sci* 2005; 88(6): 2154-65.
- Ünlü H, Erkek R, Özdoğan M, Mert S. Buzağı beslemede doğal yem katkı maddelerinin kullanımı. *Hay Üret* 2013; 54(2): 36-42.
- Wallace RJ, Newbold CJ. Microbial feed additives for ruminants. Wallace RJ, Chesson A. eds. In: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. UK: Wiley VCH, 1995: p. 101-25.
- Wang Y, Chen YJ, Cho J, H Yoo, J S, Wang Q, Huang Y, Kim IH. The effects of dietary herbs and coral mineral complex on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *J Anim Feed Sci* 2007; 16(3): 397-407.
- Wenk C. Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian-australas J Anim Sci* 2003; 16(2): 282-9.
- Windschitl PM. Effect of probiotic supplementation on growth rate, rumen metabolism, and nutrient digestibility in Holstein heifer calves. *Asian-Australas J Anim Sci* 1991; 4(4): 341-51.
- Wu Y, Wang L, Luo R, Chen H, Nie C, Niu J, Chen C, Xu Y, Li X, Zhang W. Effect of a multispecies probiotic mixture on the growth and incidence of diarrhea, immune function, and fecal microbiota of pre-weaning dairy calves. *Front Microbiol* 2021; 12: 681014.
- Yan L, Meng QW, Kim IH. The effects of dietary *Houttuynia cordata* and *Taraxacum officinale* extract powder on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livest Sci* 2011; 141(2-3): 188-93.
- Yavuzarslan E. Değişen miktarlarda süte katılan prebiyotiklerin süt emen Simental buzağılarda büyüme performansı ve sağlığı üzerine etkileri. Yüksek lisans tezi. Kırıkkale Üniv Sağ Bil Ens, Kırıkkale 2018.
- Yun SI, Cho HR, Choi HS. Anticoagulant from *Taraxacum platycarpum*. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66(9): 1859-64.
- Zhang R, Zhou M, Tu Y, Zhang NF, Deng KD, Ma T, Diao QY. Effect of oral administration of probiotics on growth performance, apparent nutrient digestibility and stress-related indicators in Holstein calves. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2016; 100(1): 33-8.
- Zhao J, Zhang G, Zhou X, Dong W, Wang Q, Xiao C, Zhang S. Effect of dandelion root extract on growth performance, immune function and bacterial community in weaned pigs. *Food Agric Immunol* 2019; 30(1): 95-111.



Dev Kralotu (*Pennisetum hybridum*) Silajlarında *in Vitro* Rumen Fermantasyonu ve Metan Üretimini Belirlenmesi*

Murat EREN^{1,a}, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ^{2,b}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-8544-7340; ^b0000-0003-0341-4594

Sorumlu yazar: Murat EREN; E-posta: murateren46@yahoo.com

Atf yapmak için: Eren M, Kocaoğlu Güçlü B. Dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) silajlarında *in vitro* rumen fermantasyonu ve metan üretiminin belirlenmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):30-42

Öz: Bu çalışma, dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisinden farklı katkı maddeleri ile hazırlanan silajların besin madde içerikleri ve *in vitro* sindirim parametrelerinin tespit edilerek, ruminantlar için alternatif bir kaba yem kaynağı olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Ayrıca hazırlanan silajların besi sığırı tam rasyonunda (TMR) mısır silajı yerine %25, %50, %75 ve %100 oranlarında kullanılmasının *in vitro* parametrelerde oluşan değişimler ile *in vitro* rumen sıvısı amonyak azotu ve rumen uçucu yağ asitleri düzeylerine olan etkileri de araştırılmıştır. Bu amaçla 120 günlük dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisinden katkısız, inokulant+enzim, fumarik asit ve arpa unu katkıları ile 10'ar paralel halinde dört farklı silaj grubu oluşturulmuştur. Silaj örnekleri ile yapılan analizlerde; dev kralotu silajları arasında en yüksek kuru madde (KM), ham protein (HP), nispi yem değeri (NYD) ve lif içermeyen karbonhidrat (NFC) oranları arpa unu katkılı dev kralotu silajında belirlenmiştir (P<0.001, P<0.05). NFC, ham selüloz (HS), nötral deterjan lif (aNDFom) ve NYD düzeyi bakımından katkısız, inokulant+enzim ve fumarik asit katkılı silajlar birbirine benzer bulunurken, arpa unu katkılı grubun HS ve aNDFom içeriği bu gruplardan önemli oranda düşük bulunmuştur (P<0.001, P<0.05). Silaj gruplarının pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir (P<0.001). Katkı maddeleri kullanımı, tüm silaj gruplarında *in vitro* kümülatif gaz ve metan üretimini katkısız gruba göre artırmıştır (P<0.001). Dev kralotu silajlarının tam rasyon (TMR) içerisinde mısır silajı yerine farklı oranlarda ilave edilmesi (katkısız grubun TMR'a %25 oranında ilavesi dışında), *in vitro* kümülatif gaz üretimini, metabolik enerji (ME), organik madde sindirimi (OMS) ve toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) düzeylerini olumsuz etkilemiştir (P<0.001). Sonuç olarak; dev kralotunun farklı katkı maddeleri ile silolanmasının silaj fermantasyonunu ve sindirilebilirliğini olumlu yönde etkilediği, besi sığırı TMR'ında ise mısır silajı yerine sadece %25 oranında katkısız dev kralotu silajı kullanımının olumsuz bir durum oluşturmadığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Dev kralotu silajı, fermantasyon, *in vitro* sindirim

Determination of *in Vitro* Rumen Fermentation and Methane Production in Giant Kinggrass (*Pennisetum hybridum*) Silages

Abstract: This study was conducted to detect the nutrient content and *in vitro* digestion parameters of silages prepared with different additives from giant kinggrass (*Pennisetum hybridum*) to determine its availability as an alternative roughage source for ruminants. In addition, the effects of using 25, 50, 75 or 100% of prepared silages instead of corn silage in beef cattle total mixed ration (TMR) on the changes in *in vitro* parameters and on *in vitro* rumen fluid ammonia nitrogen and levels of rumen volatile fatty acids were also investigated. For this purpose, four different silage groups were created in 10 parallels with the additives of inokulant+enzyme, fumaric acid and barley flour from the giant kinggrass (*Pennisetum hybridum*) plant, which has reached 120 days. In the analyzes made with silage samples; among giant kinggrass silages, the highest dry matter (DM), crude protein (CP), relative feed value (RFV) and non-fibrous carbohydrate (NFC) ratios were determined in barley flour-added giant kinggrass silage (P<0.001, P<0.05). In terms of NFC, CF, aNDFom and RFV levels, silages with no additives, inokulant+enzyme and fumaric acid were found to be similar to each other, while the CF and aNDFom contents of the barley flour added group were found to be significantly lower than these groups (P<0.001, P<0.05). It was determined that there was a significant difference between the pH values of the silage groups (P<0.001). The use of additives increased *in vitro* cumulative gas and methane production in all silage groups compared to the pure group (P<0.001). The addition of giant kinggrass silages to corn silage in TMR at different rates (except for the addition of 25% of the additive-free group to the TMR) adversely affected *in vitro* cumulative gas production, OMD and VFA levels (P<0.001). As a result, it was observed that silage of giant kinggrass with different additives had a positive effect on silage fermentation and digestibility, whereas the use of only 25% pure giant kinggrass silage instead of corn silage in beef cattle TMR did not create a negative situation.

Keywords: Giant kinggrass silage, fermentation, *in vitro* digestion

Geliş Tarihi/Submission Date : 22.08.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 19.10.2023

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TDK-2017-7817 kodlu doktora projesinden özetlenmiştir.

Giriş

Hayvancılık, milli ekonomi ve nesillerin sağlığı açısından stratejik bir öneme sahiptir. Hayvancılıkta verim kayıplarının temel nedenlerinden olan kaliteli kaba yem yetersizliğinin giderilebilmesi ve hayvancılık işletmelerinin kaliteli kaba yem ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla, çayır-mera olanakları bulunmayan ya da yetersiz olan bölgelerde ucuz ve alternatif kaba yem kaynaklarının hayvansal üretime kazandırılması gerekmektedir. Farklı toprak, iklim ve tarımsal ürün desenine sahip olan ülkemizde, bilinen ve dünyada yaygın olarak üretimi yapılan pek çok yem bitkisinin tarla koşullarında başarıyla yetiştirilmesi mümkündür (Avcıoğlu ve ark., 2000). Hayvancılıkta, işletme masraflarının yaklaşık %70'ini oluşturan yem maliyetlerinin azaltılarak, işletmenin kârlılığını arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda, yem üretimindeki maliyetlerin de azaltılması gerekmektedir. Bunun için; tohumluk fiyatı ucuz veya her yıl tohum ekimine ihtiyaç duymayan, mısır üretiminde kullanılan makinelerle uyum sağlayabilecek, toprak hazırlığı masrafları az olan, üretimi daha ekonomik, çok yıllık ve yüksek verimli alternatif yeni yem bitkilerine ihtiyaç duyulmaktadır (Geren ve ark., 2014). Dünya genelinde yapılan araştırmalar ile bu nitelikte yeni yem bitkilerinin varlığı ortaya çıkarılmış olup, belirtilen özellikleri karşılayabilecek kapasitede olan bitkilerden bir tanesinin de dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisi olduğu ifade edilmiştir (Geren ve Durul, 2014).

Dev kralotu; Afrika kıtası kökenli, yüksek verimli ve çok yıllık buğdaygiller (*Gramineae*) familyasının üyelerinden olan tropik bir bitkidir. Bitkinin boyu genellikle 3-4 metre yüksekliğinde olup, tropik iklim koşullarında 7 metreye kadar ulaşabilmektedir (Geren ve ark., 2014). Tropik bölgelerde özellikle ruminant besleme başta olmak üzere, öğütülüp peletlenerek kümes hayvanları ve balık beslenmesinde de kullanılan dev

(Geren ve ark., 2020). Ülkemizde Akdeniz iklim koşullarının hüküm sürdüğü bölgelerde üretimi yapılabilecek olan dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisi, mısır ve sorgum gibi her yıl tohum, toprak hazırlığı, ekim, işçilik gibi masraflar yapılmadan yetiştirilebilmektedir (Geren ve Durul, 2014). Bu bitkinin üreticiler tarafından tanınması ve yetiştirilmesi ile; Akdeniz ikliminin hakim olduğu yörelerimizde düşük maliyetli alternatif bir yem bitkisinin kaliteli kaba yem açığının kapatılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Geren ve ark., 2020).

Bu araştırmada; Türkiye'de henüz tam olarak tanınmayan, tropik kökenli, çok yıllık bir bitki olan dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisinin, yeşil yem bitkisi olarak veya çeşitli katkı maddeleriyle kombine edilerek yapılan silajının ülkemizde ruminant beslemede alternatif bir kaba yem kaynağı olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Silaj materyali

Araştırmada kullanılan silaj materyali, İzmir-Bornova ilçesi ekolojik koşulları içerisinde yetiştirilen, 120 günlük vejetasyon süresine ulaşmış dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisinden oluşmaktadır. Deneme tarlalarında yetiştirilen sekiz yaşındaki dev kralotu bitkisi el orağı yardımı ile gövdenin dip kısmından biçilerek uygun büyüklükte parçalara ayrılmıştır. Beş ayrı dikim hattında bulunan bitkilerden örnekleme yapılarak Temmuz ayı ortasında biçim gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen silaj materyali çalışmanın yapılacağı Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Laboratuvarına soğuk zincirde strafor kutularda ulaştırılmıştır. Araştırmada kullanılan silaj örnekleri Tablo 1'de belirtildiği gibi 10'ar paralel olarak gruplandırılmıştır.

Tablo 1. Deneme dizaynı

Grup adı	Grup içeriği	Tekrar sayısı
Grup 1	Katkısız DKOS	10
Grup 2	İnokulant+enzim katkılı DKOS	10
Grup 3	Fumarik asit katkılı DKOS	10
Grup 4	Arpa unu katkılı DKOS	10

DKOS: Dev kralotu silajı

kralotu, aynı zamanda çit, rüzgar kıran ve enerji bitkisi (biyoyakıt, elektrik üretimi, vb.) olarak da değerlendirilmektedir (Geren ve ark., 2017). Hayvan yemi olarak kullanımda birkaç yaklaşım vardır. Bitki biçilerek, taze olarak veya yeşil aksam doğranıp daha küçük parçalar haline getirilerek hayvanlara servis edilebildiği gibi kurutulup saman olarak ve silajı yapılarak ruminant beslemede kullanılabilir. Taze dev kralotu ruminantlar tarafından sevilerek tüketilir. Bitki hasat edildikten 3 gün sonra bozulmaya başladığından hayvanlara verilirken bu duruma çok dikkat edilmelidir

Katkısız dev kralotu silajı (KDKOS); tazeliğini koruması için soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan dev kralotu bitkisi doğranarak hazır hale getirilmiş, 3000 g tartılıp üzerine 100 ml distile su püskürtülerek karıştırılmıştır. Bu gruba herhangi bir katkı maddesi ilave edilmemiştir. Örnekler laboratuvar tipi silaj parçalama makinesiyle yaklaşık 2-3 cm uzunluğunda doğranarak silajı yapılmıştır.

İnokulant-enzim katkılı dev kralotu silajı (İDKOS); bakteriyel inokulant+enzim katkılı grupta silaj katkı maddesi olarak ticari bir ürün olan Sill-All 4X4+250 g

(Lallemand Animal Nutrition UK Ltd.) kullanılmıştır. 100 ml distile su içerisinde 0.015 g Sill-All 4X4+(5g/ton) çözdürülerek 3000 g yaş örnek üzerine püskürtülüp, karıştırılmış ve homojen dağılım sağlanmıştır.

Fumarik asit katkı dev kralotu silajı (FDKOS); organik asit içeren silaj grubunda ticari bir ürün (Thirumalai Chemicals Ltd. India. Regulation (EC) No 1907/2006) olan fumarik asit (FUM-1107) kullanılmıştır. Bu katkı maddesi ($C_4H_4O_4$ kimyasal formülü, molekül ağırlığı 116.07 g/mol) beyaz renkte, toz formunda ve suda çözünen bir üründür. 100 ml distile su içerisinde 30 g (10g/kg) fumarik asit çözdürülerek yaş örnekler üzerine püskürtülüp, karıştırılmış ve homojen hale getirilmiştir.

Arpa unu katkı dev kralotu silajı (ADKOS); silaj katkı maddesi olarak kullanılan arpa, Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilip, yaklaşık 1.0 mm elek çapındaki IKA-A10 laboratuvar tipi değirmende (IKA-Werke Almanya) öğütülerek un haline getirilmiştir. 100 ml distile su 3000 g örnek üzerine püskürtülüp karıştırılmış daha sonra 150 gr arpa unu tartılarak grup için hazırlanan yaş örnek üzerine serpilerek homojen karışım sağlanmıştır.

Her bir grup kendi içerisinde homojen bir karışım elde edilerek silolamaya hazır hale getirilmiştir. Homojen karışımlar polietilen vakum poşetlerine (Caso 01201 plastik vakum poşeti 16X23cm) doldurulup, vakum makinesinde (Caso VC 100, Germany) havaları alınarak vakumlanmıştır. Her bir grup için 10 tekrar oluşturulmuştur. Hazırlanan silajlar 60 gün süreyle karanlık ortamda fermentasyona bırakılmıştır. 60 gün sonunda hazır hale gelen silaj materyalleri açılarak alınan numuneler besin madde analizleri ve *in vitro* analizler için kullanılmıştır.

Kimyasal analizler

Çalışmada kullanılan dev kralotu yeşili ve farklı katkı maddeleri ile hazırlanan dev kralotu silajları 65°C'de 24 saat daha sonra da 105°C'de 24 saat etüvde bekletilerek kuru madde (KM) düzeyleri tayin edilmiştir. Kurumuş materyaller; kimyasal analizleri ile *in vitro* gaz ve metan üretiminin belirlenmesinde kullanılmak üzere yaklaşık 1.0 mm elek çapındaki IKA-A10 laboratuvar tipi değirmende (IKA-Werke Almanya) öğütülmüştür.

Dev kralotu ve silajlarının ham kül (HK) seviyeleri 550 °C'de 8 saat kül fırınında bekletilerek belirlenmiştir. Azot (N) içeriğinin saptanmasında Kjeldahl metodundan yararlanılmış ve ham protein (HP) ise $N \times 6.25$ formülü ile hesaplanmıştır (AOAC 1995). Ham selüloz (HS) ve ham yağ (HY) analizi de AOAC (1995)'da bildirilen yöntemle yapılmıştır. Nötral deterjan fiber çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (NDF) ve asit deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (ADF) içerikleri Van Soest ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntemler ile saptanmıştır. NDF analizi

yapılırken 0.5 g sodyum sülfid (Merck) ve 200 µL ısıya dayanıklı alfa-amilaz (Megazyme, İrlanda) kullanılmıştır (aNDF). Belirlenen ADF ve aNDF % değerlerinde kül kalıntısı bulunmamaktadır (aNDFom, ADFom).

Araştırmada kullanılan dev kralotu ve silajlarının lif içermeyen karbonhidrat (NFC), toplam sindirilebilir besin madde (TDN) ve nispi yem değeri (NYD) aşağıda belirtilen formüllere göre belirlenmiştir (Jeranyama ve Garcia, 2004; Güney ve ark., 2016).

NFC: Non-fibrous Carbonhydrate (lif içermeyen karbonhidrat) = (% KM);

$100 - (NDF_n + HP + HY + HK)$

HP: Ham Protein (% KM),

HY: Ham Yağ (% KM),

NDF_n: Azotsuz NDF = $NDF \times 0.93$

TDN: Toplam Sindirilebilir Besin Maddeleri =

$(NFC \times 0.98) + (HP \times 0.93) + (HY \times 0.97 \times 2.25) + (NDF_n \times (NDF \text{ sindirilebilirliği} / 100) - 7)$

NDF: Nötral Deterjanda Çözünmeyen Lif (% KM)

NDF Sindirilebilirliği: NDF'nin %'si

NYD: Nispi Yem Değeri = $SKM \times KMT / 1.29$

SKM: Sindirilebilir Kuru Madde = $88.9 - (0.779 \times \% ADF)$

KMT: Kuru Madde Tüketimi = $120 / \% NDF$

In vitro gaz üretim tekniği ile sindirim parametrelerinin belirlenmesi

Silajların, *in vitro* koşullarda sindirilebilirlik (Menke ve ark., 1979) ve gaz üretim değerlerinin belirlenmesinde Menke ve Steingass (1988) tarafından tanımlanan "Gaz Üretim Tekniği" kullanılmıştır. *In vitro* gaz üretim tekniği için gerekli olan rumen sıvısı, yaklaşık %80 konsantrasyon (%55 arpa, %15 ayçiçeği küspesi, %5 buğday kepeği, %4 mısır kepeği ve %1 vitamin+mineral karışımı) + %20 kaba yem (%10 mısır silajı, %5 yonca kuru otu, %5 buğday samanı) ile beslenen ortalama 500 kg canlı ağırlığında, 14 aylık yaşta üç adet Simental ırkı besi sığırından rumen sondası yardımı ile alınmıştır.

Rumen sıvısı yaklaşık 39°C'de sıcaklığı muhafaza edilen ağız vidalı kapaklı cam şişe (Isolab, Almanya) içine alınarak, içerisinde yaklaşık 39°C su bulunan kapaklı termos konteynır ile hızlı bir şekilde laboratuvara taşınmıştır. Rumen sıvısı CO₂ gazı altında anaerobik koşullar sağlanarak altı kat tülbentten süzülükten sonra *in vitro* gaz üretiminde kullanılmıştır.

In vitro gaz üretiminin belirlenmesinde, Menke ve

Steingass (1988) yöntemi doğrultusunda 100 ml'lik özel hacimli cam enjektörler (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya) kullanılmıştır. Bu enjektörler içerisinde 200±10 mg kuru yem örnekleri, tampon + makromineral + iz element + indirgenme + resazurin çözeltileri karışımı (20 ml) ve rumen sıvısı (10 ml) inkübe edilmiştir. İnkübasyon için toplamda iki litre çözeltili karışımı hazırlanmıştır.

Çözeltiler + rumen sıvısı karışımı önceden 39°C'de ön ısıtmaya tabi tutulmuş her bir enjektör içine otomatik dispensör (Isolab, Almanya) ile enjekte edilmiştir. Enjektörler tek yönlü polietilen klipsler kullanılarak kapatılmış ve pistonun pozisyonu okunarak kayıt edilmiştir. Bütün enjektörlerin doldurma işlemi kısa sürede tamamlanarak, 39°C'ye ayarlı termostatlı su banyosundaki enjektör desteklerine yerleştirilmiş ve 24 saatlik inkübasyon başlatılmıştır. Kullanılan cam malzemeler bir termostatik kabinde (Lovibond, Avusturya), çözeltiler ise kontak termometreli dijital manyetik karıştırıcıda (Wise Stir MSH-D, Witeg, Almanya) ön ısıtmaya tabi tutulduktan sonra *in vitro* gaz üretiminde kullanılmıştır. Araştırmada *in vitro* deneme her grup için üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Üç adet enjektör de toplam gaz üretimini hesaplamak için kör (dev kralotu içermeyen, sadece tampon ve çözeltiler ile rumen sıvısı içeren) olarak hesaplamalarda kullanılmıştır.

***In vitro* gaz üretiminde kullanılan besi sığırı tam rasyonu ve rasyona katılan silaj oranları**

Araştırmada kullanılan besi sığırı tam rasyonu (TMR) 14 aylık yaşta, 500 kg canlı ağırlığa sahip Simental ırkı besi sığırının ihtiyacını karşılayacak düzeyde [Mısır silajı 2.5 kg/gün KM, buğday samanı 1.5 kg/gün KM, yonca kuru otu 1 kg/gün KM, arpa 1 kg/gün KM, sığır besi yemi (%14 HP, 2800 kcal/kg ME) 6.5 kg/gün KM, toplam TMR 12.5 kg/gün KM] hazırlanmıştır. Dev kralotu silajlarının besi sığırı tam rasyonunda mısır silajı yerine %0, %25, %50, %75 ve %100 oranlarında kullanımının gaz üretim değerleri belirlenmiştir.

***In vitro* toplam gaz ve metan üretiminin belirlenmesi**

Enjektörlerin inkübasyona bırakılmasından 24 saat sonra her bir enjektör içerisinde üretilmiş toplam gaz miktarı (ml) enjektörler üzerinden okunarak belirlenmiştir. Toplam gaz üretimi okuma işleminden sonra enjektörlerde biriken toplam gaz plastik bir enjektör içine alınarak üç yönlü musluk yardımıyla infrared metan ölçüm cihazına (Sensor, Europe GmbH, Erkrath, Almanya) aktarılmıştır. Cihazda ölçümü yapılan metan miktarı bilgisayar ekranından okunarak % değer olarak belirlenmiştir.

Rumen sıvısında pH düzeyinin belirlenmesi

Gaz üretim tekniği sonucu inkübasyonun 24. saatinde

elde edilen rumen sıvılarından alınan örnekler plastik tüplere (Isolab, Almanya) alınarak pH düzeyleri dijital pH metre yardımıyla belirlenmiştir.

Rumen sıvısı pH düzeyleri belirlendikten sonra, araştırmanın diğer aşamalarında kullanılmak üzere *in vitro* rumen sıvıları -20 °C'de dondurulmuştur.

Organik madde sindirim derecesinin (OMS %) belirlenmesi

In vitro organik madde sindirilebilirliği (OMS); 24 saatlik gaz üretim (GÜ) miktarı (ml/200mg), ham protein (HP, %KM) ve ham kül (HK, %) değerleri kullanılarak aşağıdaki formül vasıtasıyla hesaplanmıştır (Menke ve ark, 1979).

$$OMS \% = 14.88 + 0.889 \times GÜ + 0.45 \times HP + 0.0651 \times HK$$

$$GÜ = 24 \text{ saatlik net gaz üretimi (ml/200 mg)}$$

$$HP = \text{Ham Protein (g/kg KM)}$$

$$HK = \text{Ham Kül (g/kg KM)}$$

Metabolik Enerji (ME) ve Net Enerji Laktasyon (NE_L) derecelerinin belirlenmesi

Araştırmada kullanılan örneklerin metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE_L) içerikleri; 24 saatlik gaz üretim (GÜ) miktarı (ml/200mg), ham protein (HP, %KM) ve ham kül (HK, %) değerleri kullanılarak aşağıdaki formüller vasıtasıyla hesaplanmıştır (Blümmel ve Ørskov, 1993).

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.136 \times GÜ + 0.0057 \times HP + 0.00029 \times HY$$

$$NE_L \text{ (MJ/kg KM)} = 0.1149 \times GÜ + 0.0054 \times HP + 0.0139 \times HY - 0.0054 \times HK - 0.36$$

$$GÜ = 24 \text{ saatlik net gaz üretimi (ml/200 mg)}$$

$$HP = \text{Ham Protein (g/kg KM)}$$

$$HY = \text{Ham Yağ (g/kg KM)}$$

$$HK = \text{Ham Kül (g/kg KM)}$$

Rumen sıvısı amonyak azotu (NH₃-N, mg/dL) konsantrasyonunun belirlenmesi

Analizler için -20°C'de derin dondurucuda saklanmış olan rumen sıvıları, analiz zamanında 4°C'de çözdürülerek santrifüj edildikten sonra (1000 g, 15 dk) TMR içinde mısır silajı yerine çeşitli oranlarda (%0, %25, %50, %75, %100) katılan DKOS'larının rumen sıvısında NH₃-N konsantrasyonu kjeldahl distilasyon ünitesinde (Velp Distilasyon Ünitesi, İtalya) Makkar ve Becker (1996), tarafından bildirilen yöntemle belirlenmiştir. Amonyak azotu konsantrasyonu (NH₃-N, mg/dL) analizi, asit sindirimi yapılmadan potasyum hidroksit

(KOH 2N) ve borik asit (H_3BO_3 %4) ile distilasyon, sonrasında hidroklorik asit ile titrasyon (HCl 0.1N) metodu kullanılarak yapılmıştır (Souza ve ark., 2010).

Rumen sıvısı uçucu yağ asitleri analizi

Uçucu yağ asitleri analizi için gaz üretim tekniğinde oluşan fermentasyon ortamından 24. saatte alınarak -20°C'de dondurulmuş olan rumen sıvıları analiz zamanında 4°C'de çözündürülüp Erwin ve ark. (1961) tarafından bildirilen yöntemlerle gaz kromatografi analizine hazırlanmıştır. TMR içinde mısır silajı yerine çeşitli oranlarda (%0,%25, %50, %75, %100) katılan DKOS'larının rumen sıvısında asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit konsantrasyonu (mmol/L sindirim sıvısı) Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan gaz kromatografi (GC) cihazında (Thermo Trace 1300, USA; Alev İyonizasyon Dedektörü-Flame Ionisation Dedektor; GC/FID) , TG-5MS (30m x 0.25mm x 0.25µm-26098-1420) kolon ile analiz edilmiştir.

İstatistiksel analizler

Elde edilen tüm değişkenler önemlilik testlerine geçilmeden önce normallik yönünden Shapiro Wilk ile, varyansların homojenliği yönünden ise Levene testi ile incelendi. Silaj grupları arası farklılığın istatistiksel açıdan karşılaştırılmalarında nicel değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılığın anlamlı bulunduğu değişkenler için Duncan testinden yararlanıldı. TMR içinde organik asit, NH_3-N , *in vitro* gaz ve metan üretimi analizlerinde grup, doz ve grup*doz etkileşimlerinin etkisi iki yönlü Varyans Analizi ile belirlendi. Anlamlı bulunan parametreler için Bonferroni düzeltmeli basit etki analizi uygulandı. Anlamlılık düzeyi $P<0.05$ olarak alındı. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS 23.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Araştırmada kullanılan dev kralotunun %22.13 KM içerdiği; KM'de de %14.29 HK, %2.17 HY, %8.57 HP,

Tablo 2. Dev kralotu ham besin madde içeriği (n=10)

	İçerik düzeyi (%)
KM	22.13 (yeşil)
HK	14.29 (KM'de)
HY	2.17 (KM'de)
HP	8.57 (KM'de)
HS	37.65 (KM'de)
ADFom	41.93 (KM'de)
aNDFom	66.03 (KM'de)
NFC	13.54 (KM'de)
TDN	57.36 (KM'de)
NYD	79.23 (KM'de)

KM: Kuru Madde, HK: Ham kül, HY: Ham yağ, HP: Ham protein, HS: Ham selüloz, ADFom: Külsüz asit deterjan lif, aNDFom: Alfa amilaz ile saptanan külsüz nötr deterjan lif, NFC: Non-fibrous carbonhidrat (Lif içermeyen karbonhidrat), TDN: Total digestible nutrients (Toplam sindirilebilir besin maddeleri), NYD: Nispi yem değeri.

%66.03 aNDFom, %41.93 ADFom, %13.54 NFC, %57.36 TDN ve %79.23 NYD içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Katkısız dev kralotu silajı (KDKOS) ile bakteriyel inokulant+enzim (İDKOS), fumarik asit (FDKOS) ve arpa unu katkılı (ADKOS) dev kralotu silajlarının ham besin madde içerikleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Dev kralotu silajları (DKOS) arasında en yüksek KM (%22.45) ADKOS grubunda belirlenmiştir ($P<0.001$). Silajlar içinde en yüksek HK (%14.46, %KM'de) içeriği KDKOS grubunda, en düşük HK (%13.03, %KM'de) içeriği ise ADKOS grubunda belirlenmiş olup; gruplar arası fark önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Ham yağ düzeyleri KDKOS ve ADKOS gruplarında İDKOS ve FDKOS gruplarına göre önemli oranda yüksek bulunmuştur ($P<0.001$). ADKOS'un HP (%8.98, %KM'de) içeriği diğer silajlardan önemli oranda yüksek iken; HS içeriği (%33.36, %KM'de) önemli oranda düşüktür ($P<0.05$). NFC, HS, aNDFom ve NYD düzeyi bakımından KDKOS, İDKOS ve FDKOS grupları arasında önemli bir fark yoktur. ADKOS'un HS ve aNDFom (%61.50, %KM'de) içeriği önemli oranda düşük, NFC ve NYD içeriği ise yüksek bulunmuştur ($P<0.001$, $P<0.05$). Silaj grupları arasında ADFom (%46.51, %KM'de) yönünden en yüksek içeriğe sahip grup İDKOS grubu iken en düşük ADFom (%36.09, %KM'de) içeren grup ADKOS grubudur ($P<0.001$). Tüm silaj gruplarının pH değerleri birbirinden istatistiksel olarak önemli oranda farklı olup; en yüksek pH değeri KDKOS grubunda (pH 4.85), en düşük pH değeri ise FDKOS grubunda (pH 3.52) tespit edilmiştir ($P<0.001$). Farklı katkı maddeleri ile yapılan DKOS'lar arasında TDN oranları yönünden önemli bir farklılık saptanmamıştır ($P>0.05$).

Araştırmada kullanılan dev kralotu ve farklı katkı maddeleriyle hazırlanan silajların 24. saatteki inkubasyon sonrasında *in vitro* kümülatif gaz üretimi (TGÜ) yeşil dev kralotu ve arpa unu katkılı silajlarda katkısız, inokulant ve fumarik asit katkılı silajlara göre önemli oranda yüksek bulunmuştur ($P<0.001$; Tablo 4). En düşük gaz üretimi ise KDKOS grubunda bulun-

Tablo 3. Dev kralotu silajlarının ham besin madde içerikleri (% KM'de) (n=10)

	Deneme Grupları				P
	KDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	İDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	FDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	ADKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	
KM,%	20.25±0.18 ^b	19.55±0.18 ^c	19.21±0.19 ^c	22.45±0.21 ^a	<0.001
HK,%	14.46±0.15 ^a	13.74±0.12 ^b	13.82±0.06 ^b	13.03±0.13 ^c	<0.001
HY,%	2.48±0.05 ^a	2.26±0.09 ^b	2.10±0.05 ^c	2.37±0.05 ^{ab}	0.001
HP,%	8.18±0.22 ^b	8.57±0.20 ^{ab}	8.43±0.09 ^b	8.98±0.14 ^a	0.022
NFC,%	13.21±0.43 ^b	13.97±1.29 ^b	13.76±0.88 ^b	18.43±0.42 ^a	0.008
HS,%	38.23±0.33 ^a	38.09±0.68 ^a	39.85±0.70 ^a	33.36±0.64 ^b	<0.001
aNDFom,%	66.30±0.46 ^a	66.08±1.38 ^a	66.55±0.94 ^a	61.50±0.46 ^b	0.011
ADFom,%	43.21±0.47 ^b	46.51±0.47 ^a	44.30±0.52 ^b	36.09±0.28 ^c	<0.001
TDN,%	57.67±0.15	58.06±0.43	57.93±0.32	57.57±0.11	0.612
NYD,%	77.51±0.97 ^b	74.21±1.78 ^b	76.06±1.39 ^b	91.95±1.01 ^a	<0.001
pH	4.85±0.10 ^a	3.88±0.01 ^c	3.52±0.03 ^d	4.43±0.09 ^b	<0.001

KDKOS: Katkısız dev kralotu silajı, İDKOS: İnokulant-enzim katkılı dev kralotu silajı, FDKOS: Fumarik asit katkılı dev kralotu silajı, ADKOS: Arpa unu katkılı dev kralotu silajı, KM: Kuru madde, HK: Ham kül, HY: Ham yağ, HP: Ham protein, NFC: Non-fibrous carbohydrate (Lif içermeyen karbonhidrat), HS: Ham selüloz, aNDFom: Alfa amilaz ile saptanan külsüz nötr deterjan Lif, ADFom: Külsüz asit deterjan lif, TDN: Total digestible nutrients (Toplam sindirilebilir besin maddeleri), NYD: Nispi yem değeri. Aynı satırda yer alan farklı harfler gruplar arası farklılığı, aynı harfler gruplar arası benzerliği ifade etmektedir ($P < 0.001$, $P < 0.05$).

muştur. *In vitro* sindirim sıvısı pH düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). ME (MJ/kg KM), OMS (%) ve NE_L (MJ/kg KM) değerleri, yeşil dev kralotu ve arpa unu katkılı silajlarda, katkısız, bakteriyel inokulant+enzim ve fumarik asit katkılı silajlara göre önemli oranda yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). En yüksek metan üretimi (ml/0.2 g KM) dev kralotu yeşilinin fermentasyonu ile elde edilmiştir. Öte yandan katkı maddesi içeren tüm gruplarda metan üretiminin (ml/0.2 g KM) KDKOS'a göre önemli oranda arttığı saptanmıştır ($P < 0.001$).

DKO'nun katkısız veya değişik katkı maddeleri ile hazırlanan silajlarının rasyona mısır silajı yerine farklı oranlarda (%25, %50, %75, %100) katılması *in vitro* TGÜ (ml/0.2 g KM)'ni önemli oranda azaltmış; metan oranını (%) ise artırmıştır (Tablo 5.). En düşük gaz üretimi, ADKOS'un mısır silajı yerine %100 oranında katıldığı grupta belirlenmiştir (44.51). En yüksek metan oranı KDKOS'un %75 katıldığı grupta bulunmuştur (%22.37). Toplam gaz üretimi içerisinde % metan düzeyi ve KM bazlı metan üretimi (ml/0.2 g KM) açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken ($P = 0.031$, $P = 0.004$); grup*doz etkileşimleri arasında anlamlı bir değişkenlik olmadığı tes-

Tablo 4. Dev kralotu (yeşil) ve silajlarına ait *in vitro* değişkenler (n=5)

İn vitro değişkenler	Deneme Grupları					P
	KDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	İDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	FDKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	ADKOS ($\bar{X} \pm SEM$)	DKO Yeşil ($\bar{X} \pm SEM$)	
TGÜ (ml/0.2 g KM)	25.66±0.51 ^c	32.23±0.54 ^b	32.81±0.25 ^b	38.90±1.62 ^a	39.11±1.12 ^a	<0.001
Metan (%)	20.60±0.06 ^{ab}	19.63±0.28 ^{bc}	18.97±0.20 ^c	21.43±0.46 ^a	21.93±0.33 ^a	<0.001
Metan Üretimi (ml/0.2 g KM)	5.29±0.11 ^c	6.33±0.19 ^b	6.22±0.03 ^b	8.32±0.18 ^a	8.58±0.31 ^a	<0.001
pH	6.93±0.01	6.91±0.05	6.99±0.03	7.06±0.02	6.98±0.03	0.056
ME (MJ/kg KM)	6.16±0.07 ^c	7.07±0.07 ^b	7.14±0.03 ^b	8.01±0.22 ^a	8.01±0.15 ^a	<0.001
OMS (%)	42.32±0.46 ^c	48.28±0.49 ^b	48.74±0.22 ^b	54.38±1.44 ^a	54.43±1.00 ^a	<0.001
NE _L (MJ/kg KM)	2.59±0.06 ^c	3.35±0.06 ^b	3.41±0.03 ^b	4.12±0.19 ^a	4.13±0.13 ^a	<0.001

DKO: Dev kralotu, KDKOS: Katkısız dev kralotu silajı, İDKOS: İnokulant-enzim katkılı dev kralotu silajı, FDKOS: Fumarik asit katkılı dev kralotu silajı, ADKOS: Arpa unu katkılı dev kralotu silajı, TGÜ (ml/0.2 g KM): İnkübasyonun 24.saatindeki toplam gaz üretimi, Metan (%): Toplam üretilen gazdaki % düzeyi, Metan üretimi (ml/0.2 g KM): Toplam üretilen gazdaki ml düzeyi, pH: İnkübasyonun 24.saatindeki sindirim sıvısının pH değeri, ME: Metabolik enerji (MJ/kg KM), OMS (%): Organik madde sindirimi, NE_L: Net enerji Laktasyon (MJ/kg KM). Aynı satırda yer alan farklı harfler gruplar arası farklılığı, aynı harfler gruplar arası benzerliği ifade etmektedir ($P < 0.001$).

pit edilmiştir ($P>0.05$). *In vitro* fermentasyon sıvısının pH değeri istatistiksel olarak, grup ve grup*doz etkileşimi önemsiz olarak tespit edilmiştir ($P>0.05$). Ancak İDKOS grubunun %25, %75 ve %100 dozları ile %0 (TMR %100 mısır silajı içeren) dozu arasında anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir ($P=0.003$). KDKOS grubunun %100'lük dozunda pH değeri en yüksek (7.08), İDKOS grubunun %25'lik dozunda ise en düşük (6.91) olarak tespit edilmiştir. Genel olarak farklı dozlarda silaj gruplarının rasyona mısır silajı yerine ilave edilmesi, pH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($P>0.05$).

Dev kralotu silajlarının rasyonda mısır silajı yerine farklı oranlarda kullanımının *in vitro* koşullarda ME ve OMS üzerine etkisi grup, doz ve grup*doz etkileşimleri açısından farklılıklar anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$). Silaj gruplarının farklı dozlarda rasyona ilavesi (KDKOS grubunun %25'lik dozları dışında) ME ve OMS değerlerinde düşüşe neden olmuştur. Her iki parametrede de en düşük değerler (8.90 MJ/kg KM, 60.15 MJ/kg KM) %100 dozunda ADKOS grubunda belirlenmiştir. İstatistiksel olarak silaj grupları arasında %0 ve %75'lik dozlar dışında ($P>0.05$), anlamlı farklılıklar bulunmaktadır ($P<0.001$).

Besi sığırı rasyonlarında mısır silajı yerine farklı oranlarda KDKOS kullanılması *in vitro* rumen sıvısı amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) konsantrasyonunu arttırmıştır (Tablo 6). Amonyak azotu konsantrasyonundaki artış KDKOS'un rasyona eklenme miktarının artmasına paralel olarak artış göstermiştir. Çalışmada en düşük $\text{NH}_3\text{-N}$ oranı (29.52 mg/dl) FDKOS'un %50 katıldığı grup ile ADKOS'un %100 katıldığı grupta belirlenmiştir. Gruplar arasında en yüksek $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu ise KDKOS'un %100 oranında mısır silajı yerine kullanıldığı grupta (37.37 mg/dl) saptanmıştır. Gruplar arasında ve grup*doz etkileşiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P<0.001$). Besi sığırı tam rasyonuna mısır silajı yerine %100 dozunda KDKOS ve İDKOS ilavesinin $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunu arttırdığı, %100 dozunda FDKOS ve ADKOS ilavesinin ise $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunu azalttığı gözlenmiştir.

In vitro bütirik asit üretimi bakımından grup, doz ve grup*doz etkileşimi anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$, $P=0.027$). Çalışmada katkılı ve katkısız tüm DKOS'larının mısır silajı yerine katılan tüm oranlarında bütirik asit üretiminin arttığı, propiyonik asit, asetik asit ve TUYA üretiminin ise azaldığı belirlenmiştir. En yüksek bütirik asit düzeyinin (13.76 mmol/L) İDKOS'un %25'lik oranında rasyona katıldığı grupta olduğu saptanmıştır. En düşük propiyonik ve asetik asit üretimi (31.54 mmol/L, 50.30 mmol/L) ise KDKOS'un %75 katıldığı grupta belirlenmiştir. Silaj gruplarının farklı dozlarda mısır silajı yerine rasyona eklenmesinin bütirik asit düzeyini arttırdığı tespit edilmiştir.

Toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) % asetik asit düze-

yinde grup, doz ve grup*doz etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$). En düşük % asetik asit düzeyi (%52.58) ADKOS grubunun %50 dozunda tespit edilmiş olsa da bu grubun diğer dozlarının (%25, %75 ve %100) düzeyleri %50 dozu ile benzerdir. En yüksek % asetik asit düzeyi (%55.07) ise %0 (%100 mısır silajı içeren tam rasyon) dozunda gözlenmiştir. %25, %50, %75 ve %100 dozlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu, silaj gruplarının farklı dozlarda mısır silajı yerine rasyona eklenmesinin TUYA % asetik asit düzeyini azalttığı tespit edilmiştir.

Tablo 5. Dev kralotu silajlarının TMR içerisinde mısır silajı yerine farklı dozlarda kullanımının *in vitro* değişkenlere etkisi (n=5)

İn Vitro Değişkenler	Silaj Grupları	Silajların Rasyona Katılma Oranları							P		
		%0 (X±SEM)	%25 (X±SEM)	%50 (X±SEM)	%75 (X±SEM)	%100 (X±SEM)	Grup	Doz	Grup* Doz		
TGÜ (ml/0.2 g KM)	KDKOS	54.74 ± 0.62	53.66 ± 0.22	51.04 ± 0.57	45.59 ± 0.33	46.62 ± 0.74	<0.001	<0.001	<0.001		
	İDKOS	54.74 ± 0.62	49.12 ± 0.74	48.20 ± 0.59	46.76 ± 0.85	46.14 ± 1.17					
	FDKOS	54.74 ± 0.62	46.40 ± 0.45	44.69 ± 0.57	46.10 ± 1.46	48.48 ± 0.58					
Metan (%)	ADKOS	54.74 ± 0.62	47.35 ± 0.61	46.40 ± 0.09	46.76 ± 0.85	44.51 ± 0.71	0.031	<0.001	0.572		
	KDKOS	17.63 ± 1.20 ^a	19.80 ± 1.50 ^{ab}	20.70 ± 0.36 ^{ab,AB}	22.37 ± 0.32 ^{b,A}	21.57 ± 0.41 ^{ab}					
	İDKOS	17.63 ± 1.20	18.83 ± 0.41	19.20 ± 0.62 ^B	20.00 ± 0.17 ^B	17.90 ± 1.48					
Metan Üretimi (ml/0.2 g KM)	FDKOS	17.63 ± 1.20	19.67 ± 1.28	21.43 ± 0.22 ^A	20.20 ± 0.75 ^B	19.17 ± 0.24	0.004	0.524	0.826		
	ADKOS	17.63 ± 1.20	19.13 ± 0.94	20.55 ± 0.45 ^{AB}	20.03 ± 0.19 ^B	20.67 ± 0.52					
	KDKOS	9.67 ± 0.78	10.62 ± 0.78	10.56 ± 0.10 ^A	10.20 ± 0.22	10.05 ± 0.10 ^A					
pH	İDKOS	9.67 ± 0.78	9.25 ± 0.18	9.25 ± 0.22 ^B	9.35 ± 0.09	8.23 ± 0.48 ^B	0.117	0.003	0.924		
	ADKOS	9.67 ± 0.78	9.14 ± 1.18	9.57 ± 0.09 ^B	9.30 ± 0.62	9.29 ± 0.17 ^{AB}					
	KDKOS	9.67 ± 0.78	9.05 ± 0.61	9.54 ± 0.25 ^B	9.29 ± 0.26	9.20 ± 0.53 ^{AB}					
ME (MJ/kg KM)	KDKOS	7.06 ± 0.23	6.99 ± 0.44	7.01 ± 0.30	7.00 ± 0.45	7.08 ± 0.42	<0.001	<0.001	<0.001		
	İDKOS	7.06 ± 0.23 ^a	6.91 ± 0.01 ^b	7.00 ± 0.01 ^{ab}	6.93 ± 0.15 ^b	6.96 ± 0.30 ^b					
	FDKOS	7.06 ± 0.23	6.96 ± 0.08	6.99 ± 0.08	7.02 ± 0.06	7.03 ± 0.01					
OMS (MJ/kg KM)	ADKOS	7.06 ± 0.23	6.93 ± 0.04	6.94 ± 0.01	6.98 ± 0.04	6.99 ± 0.03	<0.001	<0.001	<0.001		
	KDKOS	10.30 ± 0.85	10.15 ± 0.05	9.79 ± 0.14	9.05 ± 0.08	9.19 ± 0.18					
	İDKOS	10.30 ± 0.85	9.53 ± 0.10	9.41 ± 0.08	9.21 ± 0.12	9.13 ± 0.16					
	FDKOS	10.30 ± 0.85	9.16 ± 0.06	8.93 ± 0.08	9.12 ± 0.20	9.45 ± 0.08	<0.001	<0.001	<0.001		
	ADKOS	10.30 ± 0.85	9.29 ± 0.08	9.16 ± 0.01	9.16 ± 0.08	8.90 ± 0.10					
	KDKOS	69.17 ± 0.60	68.24 ± 0.20	65.92 ± 0.52	61.10 ± 0.30	62.05 ± 0.67					
	İDKOS	69.17 ± 0.60	64.20 ± 0.62	63.40 ± 0.53	62.16 ± 0.76	61.64 ± 1.04	<0.001	<0.001	<0.001		
	FDKOS	69.17 ± 0.60	61.78 ± 0.40	60.29 ± 0.51	61.56 ± 1.30	63.72 ± 0.51					
	ADKOS	69.17 ± 0.60	62.62 ± 0.54	61.79 ± 0.81	61.82 ± 0.54	60.15 ± 0.63					

KDKOS: Katkısız dev kralotu silajı, İDKOS: İnokulant-enzim katkılı dev kralotu silajı, FDKOS: Fumarik asit katkılı dev kralotu silajı, ADKOS: Arpa unu katkılı dev kralotu silajı, TGÜ (ml/0.2 g KM): İnkübasyonun 24. saatindeki toplam gaz üretimi, Metan (%): Toplam üretilen gazdaki % düzeyi, Metan üretimi (ml/0.2 g KM): Toplam üretilen gazdaki ml düzeyi, pH: İnkübasyonun 24. saatindeki sindirim sıvısının pH değeri, ME: Metabolik enerji (MJ/kg KM), OMS (%): Organik madde sindirimi.

Tablo 6. Dev kralotu silajlarının TMR içerisinde mısır silajı yerine farklı dozlarda kullanımının *in vitro* NH3-N ve TUYA üzerine etkisi (n=5)

Değişkenler	Silaj Grupları	Silajların Rasyona Katılma Oranları					%100 (X±SEM)	Grup	Doz	Grup*Doz
		%0 (X±SEM)	%25 (X±SEM)	%50 (X±SEM)	%75 (X±SEM)	%100 (X±SEM)				
NH3-N (mg/dL)	KDKOS	33.08 ± 0.65	33.42 ± 0.89	34.10 ± 0.76	36.25 ± 1.23	37.37 ± 0.95				
	İDKOS	33.08 ± 0.65	33.26 ± 0.40	33.64 ± 0.43	31.11 ± 0.74	35.88 ± 0.58				
	FDKOS	33.08 ± 0.65	34.10 ± 0.25	29.52 ± 0.95	34.48 ± 0.71	30.18 ± 0.34		<0.001	0.130	
Bütirik Asit (mmol/L)	ADKOS	33.08 ± 0.65	30.93 ± 0.57	32.14 ± 0.25	32.23 ± 0.43	29.52 ± 0.41				
	KDKOS	11.57 ± 0.37	12.59 ± 0.12	12.89 ± 0.07	12.56 ± 0.10	13.20 ± 0.03				
	İDKOS	11.57 ± 0.37	13.76 ± 0.11	13.56 ± 0.11	13.64 ± 0.17	13.22 ± 0.12				
Propiyonik Asit (mmol/L)	FDKOS	11.57 ± 0.37	13.43 ± 0.03	13.35 ± 0.07	13.35 ± 0.07	13.20 ± 0.06				
	ADKOS	11.57 ± 0.37	13.41 ± 0.02	13.59 ± 0.11	13.62 ± 0.02	12.97 ± 0.03				
	KDKOS	37.74 ± 1.33 ^a	31.59 ± 0.15 ^b	32.05 ± 0.10 ^b	31.54 ± 0.08 ^b	32.39 ± 0.03 ^b				
Asetik Asit (mmol/L)	İDKOS	37.74 ± 1.33 ^a	32.53 ± 0.08 ^b	32.59 ± 0.08 ^b	32.55 ± 0.07 ^b	32.59 ± 0.10 ^b				
	FDKOS	37.74 ± 1.33 ^a	32.82 ± 0.03 ^b	32.63 ± 0.22 ^b	32.73 ± 0.07 ^b	32.37 ± 0.03 ^b				
	ADKOS	37.74 ± 1.33 ^a	31.98 ± 0.02 ^b	32.46 ± 0.35 ^b	32.26 ± 0.06 ^b	31.62 ± 0.21 ^b		0.342	<0.001	
TUYA (mmol/L)	KDKOS	60.47 ± 2.25 ^a	50.41 ± 0.11 ^b	50.99 ± 0.25 ^b	50.30 ± 0.10 ^b	51.41 ± 0.03 ^b				
	İDKOS	60.47 ± 2.25 ^a	51.51 ± 0.14 ^b	51.65 ± 0.11 ^b	51.87 ± 0.14 ^b	51.83 ± 0.18 ^b				
	FDKOS	60.47 ± 2.25 ^a	52.07 ± 0.04 ^b	51.80 ± 0.36 ^b	51.81 ± 0.10 ^b	51.43 ± 0.07 ^b		0.405	<0.001	
TUYA % Bütirik Asit	ADKOS	60.47 ± 2.25 ^a	50.45 ± 0.07 ^b	51.06 ± 0.45 ^b	51.00 ± 0.13 ^b	50.44 ± 0.30 ^b				
	KDKOS	109.78 ± 3.97 ^a	94.59 ± 0.70 ^b	95.94 ± 0.42 ^b	94.40 ± 0.20 ^b	96.02 ± 0.33 ^b				
	İDKOS	109.78 ± 3.97 ^a	97.80 ± 0.33 ^b	97.81 ± 0.27 ^b	98.06 ± 0.23 ^b	97.64 ± 0.17 ^b				
TUYA % Propiyonik Asit	FDKOS	109.78 ± 3.97 ^a	98.32 ± 0.10 ^b	97.78 ± 0.64 ^b	97.89 ± 0.23 ^b	97.00 ± 0.04 ^b				
	ADKOS	109.78 ± 3.97 ^a	95.84 ± 0.08 ^b	97.12 ± 0.91 ^b	96.88 ± 0.21 ^b	95.02 ± 0.30 ^b				
	KDKOS	10.54 ± 0.43	13.31 ± 0.08	13.44 ± 0.01	13.30 ± 0.10	13.61 ± 0.03				
TUYA % Asetik Asit	İDKOS	10.54 ± 0.43	14.07 ± 0.06	13.87 ± 0.08	13.91 ± 0.01	13.54 ± 0.15				
	FDKOS	10.54 ± 0.43	13.66 ± 0.02	13.65 ± 0.04	13.64 ± 0.04	13.61 ± 0.07				
	ADKOS	10.54 ± 0.43	13.99 ± 0.01	14.00 ± 0.02	14.05 ± 0.02	13.65 ± 0.05				
TUYA % Asetik Asit	KDKOS	34.38 ± 0.30 ^a	33.40 ± 0.02 ^b	33.41 ± 0.04 ^b	33.41 ± 0.03 ^b	33.39 ± 0.02 ^b				
	İDKOS	34.38 ± 0.30 ^a	33.26 ± 0.03 ^{bc}	33.32 ± 0.03 ^{bc}	33.20 ± 0.01 ^b	33.38 ± 0.05 ^c				
	FDKOS	34.38 ± 0.30 ^a	33.38 ± 0.01 ^b	33.37 ± 0.02 ^b	33.43 ± 0.01 ^b	33.37 ± 0.01 ^b				
TUYA % Asetik Asit	ADKOS	34.38 ± 0.30 ^a	33.37 ± 0.01 ^b	33.43 ± 0.06 ^b	33.30 ± 0.02 ^b	33.27 ± 0.20 ^b				
	KDKOS	55.07 ± 0.69	53.29 ± 0.10	53.15 ± 0.03	53.29 ± 0.07	52.99 ± 0.05				
	İDKOS	55.07 ± 0.69	52.67 ± 0.04	52.81 ± 0.06	52.90 ± 0.02	53.08 ± 0.09				
TUYA % Asetik Asit	FDKOS	55.07 ± 0.69	52.96 ± 0.01	52.98 ± 0.02	52.93 ± 0.03	53.02 ± 0.05				
	ADKOS	55.07 ± 0.69	52.65 ± 0.04	52.58 ± 0.04	52.64 ± 0.04	53.08 ± 0.2				

KDKOS: Katkısız dev kralotu silajı, İDKOS: İnokulant-enzim katkılı dev kralotu silajı, FDKOS: Fumarik asit katkılı dev kralotu silajı, ADKOS: Arpa unu katkılı dev kralotu silajı, NH3-N: Amonyak azotu, TUYA: Toplam uçucu yağ asitleri.

Tartışma ve Sonuç

Dünya'da 20-25 yıldır kullanılmakla birlikte Türkiye'de henüz tam olarak tanınmayan, yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmayan, tropik kökenli ve çok yıllık bir bitki olan ve ülkemizde Akdeniz iklim koşullarının hüküm sürdüğü bölgelerde üretimi yapılabilecek olan dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisi de, yeşil yem bitkisi olarak veya çeşitli katkı maddeleriyle kombine edilerek yapılan slajı ile kaba yem kaynağı olarak ruminant beslemede kullanılabilecek potansiyele sahip alternatif bir kaba yem kaynağıdır (Geren, 2014).

Yapılan çalışmada dev kralotunun silolanmadan önce taze halde %8.57 HP içeriğine sahip olduğu belirlenmiş ve Li ve ark. (2014)'nın, 100 günlük vejetasyon süresine ulaşmış DKO için bildirdikleri HP içeriği (% 8.27) ile benzer olduğu görülmüştür. Geren ve ark. (2020), DKO'nun HP oranının biçim zamanına göre değiştiğini en yüksek HP oranının %12.7 ile 30 günde bir yapılan biçim uygulamasından elde edilirken, en düşük ortalama HP oranı da %5.7 ile 180 günde bir biçilen bitkilerden elde edildiğini bildirmişlerdir.

Dev kralotu tropik kökenli bir bitki olduğundan dolayı yüksek miktarda lifli bileşikler içermektedir. Çalışmada elde edilen aNDFom ve ADFom değerleri (%66.03 aNDFom, % 41.93 ADFom); Li ve ark. (2014), 100 günlük vejetasyon süresine ulaşmış DKO'nun silolanmadan önce KM'de % 65.39 NDF ve % 46.18 ADF içerdiğini bildirdikleri çalışma bulguları ile benzerlik olduğunu göstermiştir. Çalışma bulgularına göre DKO'nun aNDFom içeriği, NRC (2001)'e göre rasyonda bulunması gereken aNDFom düzeyinin (%25-33) üzerindedir. Bu durum yem tüketiminde ve verimde azalmalara neden olabileceği düşünülebilir. Ancak rasyonun lif içeriğinin düşük düzeyde olması durumunda ise rumen fermantasyonunun bundan etkilenerek asidozis olgularının oluşabileceği unutulmamalıdır.

Çalışmada kullanılan dev kralotu bitkisinin NFC düzeyi %13.56 olarak belirlenmiş olup, Silva ve ark. (2011)'nin *Pennisetum* cinsine ait beş farklı türün verim ve kaba yem değerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, bu beş türe ait NFC değerinin %7.9-13.8 arasında değiştiğini bildirdikleri sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur.

Toplam sindirilebilen besin maddeleri (TDN) düzeyi KM'de %57.36 olarak belirlenmiş, bu oran NRC (1996)'da 30 ve 60 günlük vejetasyon süresine ulaşmış taze *Pennisetum purpureum* (Napiergrass) için belirlenen KM'de %53-55 TDN düzeylerine benzer bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan dev kralotunun yeşil halde nispi yem değeri 79.23 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından ifade edilen puanlamaya göre dev kralotunun nispi yem değerinin "4.sınıf" kalitede olduğu tespit edilmiştir. Çalışma bulguları, Geren ve ark. (2021)

tarafından yapılan çalışmada elde ettikleri 120 günlük vejetasyon süresine ulaşmış dev kral otunun nispi yem değerleri (76.3-78.1) ile uyumlu bulunmuştur.

Çalışmada katkısız ve farklı katkı maddeleri ile yapılan DKOS'ların HP oranları %8.18 ve 8.98 arasında değişmektedir. Bu değerler Zi ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada bildirilen HP oranlarına (8.25-8.86) benzer bulunmuştur. Çalışma bulguları dev kralotu silajının HP oranının mısır silajı HP oranına yakın olduğunu göstermektedir. DKO silajlarında HP düzeyini etkileyen diğer bir husus ise bitkinin biçim dönemidir. Zira daha erken dönemlerde biçilip silajı yapılan DKO'unda HP oranı daha yüksek değerlere sahiptir (Geren ve ark. 2020). Bu çalışma sonuçları da DKO'nun biçim zamanının silajlarda HP düzeyi üzerine etkisini göstermektedir. Yapılan çalışmada da kullanılan DKO'nun bitkinin vejetasyon döneminin 120. gününde hasat edildikten sonra silajının yapıldığı düşünüldüğünde belirlenen HP düzeyinin literatür bulguları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmada arpa unu katkılı silajın HP içeriği diğer silajlardan önemli oranda yüksek bulunmuştur. Arpa unu katkılı DKO silajlarında HP oranının KDKOS'a göre önemli ölçüde artması; arpanın ortamda bulunan suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK) arttırmasıyla laktik asit bakterileri için iyi bir fermantasyon ortamının sağlanması ve mikroorganizmaların hızlı bir şekilde üreyip ortam pH'sını düşürerek protein yıkımını en alt düzeye indirmesine bağlanabilir (Kung ve ark., 1984).

NFC, HS, aNDFom ve NYD düzeyi bakımından katkısız, inokulant-enzim ve fumarik asit katkılı silajlar arasında önemli bir fark bulunmazken; arpa unu katkılı silajın HS, ADFom ve aNDFom içeriği önemli oranda düşük, NFC ve NYD içeriği ise yüksek bulunmuştur. Katkısız DKO silajı ile kıyaslandığında arpa unu katkılı silajlarda NFC içeriğinin yüksek olması; arpanın azotsuz öz madde içeriğinin yüksek olması nedeni ile arpanın ortamda laktik asit bakterileri için SÇK düzeyini arttırarak NFC içeriğinin daha az fermente olmasına yol açmasına bağlanabilir. Öte yandan arpa unu ilave edilen silajlarda NFC içeriği artarken, yem tüketimi ve sindirilebilirliğini önemli oranda etkileyen göstergelerden HS, ADF ve NDF düzeyi de önemli oranda azalmıştır. Bu durum da silaja ilave edilen karbonhidrat kaynaklarının ortamdaki LAB faaliyetlerini hızlandırarak hücre duvarı bileşenlerinin parçalanmasına neden olması ile açıklanabilir. Çalışmada DKOS'lara arpa ilavesinin sindirilebilirlik üzerine etkili olan ADF ve NDF gibi hücre duvarı unsurlarını azalttığı buna bağlı olarak silaj NYD'sini artırdığı saptanmıştır.

Çalışmada en yüksek pH KDKOS'ında belirlenirken, katkı maddesi içeren tüm DKOS'larında pH önemli oranda düşmüştür. Bu sonuç DKO'ya yapılan ilavelerin (bakteriyel inokulant+enzim, fumarik asit, arpa

unu silaj fermentasyonunu olumlu etkilediğini ve pH değerlerinin önerilen değerler arasına ulaşmasını veya yaklaşmasını sağladığını göstermiştir.

Araştırmada kullanılan dev kralotu yeşili ve farklı katkı maddeleriyle hazırlanan DKO silajlarının 24. saatteki inkubasyon sonrasında *in vitro* kümülatif gaz üretimleri (TGÜ) incelendiğinde en yüksek gaz üretimi (39.11 ml/0.2g KM) dev kralotu yeşilinde belirlenirken, en düşük gaz üretimi (25.66 ml/0.2g KM) ile KDKOS'ında belirlenmiştir. Katkı DKO silajlarının toplam gaz üretiminin katkısız dev kralotu silajından daha fazla olması silaj katkı maddelerinin oluşturduğu uygun fermentasyon ortamına bağlı olarak silajların besin madde bileşimindeki değişime bağlanabilir. Ayrıca çalışmada, en yüksek TGÜ'nin gruplar arasında en düşük oranda (%61.50) NDF içeren ADKOS grubunda elde edilmesi; yemlerin hücre duvarı içerikleri (ADF, NDF) ile gaz üretimi arasında mikrobiyal aktivitenin azalması nedeniyle negatif bir ilişki olduğu görüşünü desteklemektedir (Kılıç ve Sarıççek, 2006). Dev kralotu silajına katılan farklı katkıların besin madde kaybını engelleyerek uygun fermentasyon sonucu gaz üretimini arttırdığı öngörülmüştür. Çalışmada *in vitro* ME (MJ/kg KM), OMS (%) ve NE_L (MJ/kg KM) düzeyleri de TGÜ sonuçları ile paralellik göstermektedir. Tüm silaj katkıları OMS derecesini buna bağlı olarak da ME ve NE_L değerlerini önemli oranda arttırmıştır. Katkı maddesi içeren silajlar arasında en yüksek OMS ile ME ve NE_L değerlerinin arpa katkılı silajlarda elde edilmesi arpanın silaj ortamının SÇK oranını yükselterek ADF ve NDF oranını düşürmesine bağlanabilir.

In vitro fermentasyon bulguları incelendiğinde; en yüksek metan düzeyinin (%21.93) dev kralotu yeşilinde olduğu görülmektedir. Fumarik asit (%18.97) ve inokulant-enzim katkılı silajlar için metan düzeyinin (%19.63) önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda da, çalışma bulguları ile uyumlu olarak fumarik ve malik asit gibi organik asitlerin mikrobiyal protein sentezini ve propiyonik asit oranını arttırdığı, rumende metan üretimini ve total UYA içindeki asetik/propiyonik asit oranını azalttığı belirlenmiştir (Khampa ve ark., 2007). Çalışmada DKO'nda fumarik asit kullanımı ile beklenildiği gibi metan üretiminin azaldığı görülmüştür. Bu durumun metan üreten bakteriler ile fumarat kullanan bakteriler arasında H⁺ iyonları için rekabet ortamı oluşmasından kaynaklandığı öngörülmüştür.

Hayvan beslemede, mısır silajına alternatif bir kaba yem kaynağı olarak dev kralotu silajının kullanılabilirliğinin araştırıldığı bu çalışmada, besi sığırları rasyonuna çeşitli oranlarda (%25, %50, %75 ve %100) DKO katılması ile elde edilen *in vitro* parametrelerde; TGÜ (ml/0.2g KM) yönünden silaj grupları, tam rasyona eklenme dozları ve bu iki parametre arasındaki etkileşimlerde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. DKO'nun katkısız veya değişik katkı maddeleri ile

hazırlanan silajlarının rasyona mısır silajı yerine farklı oranlarda katılması *in vitro* TGÜ (ml/0.2g KM)'ni önemli oranda azaltmıştır. Gaz üretiminin en fazla DKO içermeyen TMR (%100 mısır silajı) grubunda gerçekleşmesi, rasyonun diğer tüm rasyon gruplarından aNDFom ve ADFom içeriğinin (KM'de %37.32-19.94) daha düşük düzeyde olması yanında, rumen mikroorganizmaları için yararlanılabilir protein değerinin diğer rasyon gruplarına göre daha yüksek oranda sağlanmasına bağlanabilir. DKO silajı ve farklı katkı maddeleriyle hazırlanan silajlarının rasyona mısır silajı yerine çeşitli dozlarda ilavesi KDKOS'un %25'lik dozu dışında ki dozlarda, *in vitro* kümülatif gaz üretiminde olumsuz etki yapmıştır. Özellikle silaj gruplarının rasyonda mısır silajı yerine %100 oranında kullanımında olumsuz etki daha fazla görülmüştür. Çalışmada *in vitro* ME (MJ/kg KM) ve OMS (%) düzeyleri TGÜ sonuçlarına paralel olarak, en yüksek OMS, ME değeri %100 mısır silajı, en düşük değerler %100 ADKOS içeren rasyonda belirlenmiştir. KDKOS'un %25'lik dozunun rasyonda mısır silajı yerine kullanımı ME ve OMS düzeylerini etkilememiştir. Bu durumda, mevcut çalışma bulgularına göre rasyonda mısır silajı yerine sadece %25 oranında KDKOS kullanılabileceği belirlenmiştir.

Çalışmada, besi sığırları rasyonlarında mısır silajı yerine farklı oranlarda (%25, %50, %75 ve %100) KDKOS kullanılması *in vitro* rumen sıvısı amonyak azotu (NH₃-N) konsantrasyonunu arttırmıştır. Amonyak azotu konsantrasyonu, KDKOS'un rasyona katılış düzeyine paralel artış gösterdiği belirlenmiştir. Dziuk (1984), ruminantlarda rumen NH₃-N konsantrasyonunun rasyona ve yemleme sonrası süreye bağlı olarak 20-1000 mg/L arasında değiştiğini bildirirken, Satter ve Roffler (1981) ise rumen sıvısı amonyak azotu konsantrasyonunun 8-561 mg/L arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Çalışma bulguları, araştırmacıların rumen sıvısı amonyak azot konsantrasyonu için bildirdiği değerler arasında bulunmaktadır. Mevcut çalışma bulgularında belirlenen; rasyona mısır silajı yerine %100 dozunda FDKOS ve ADKOS ilavesinin TMR (%100 mısır silajı)'a göre daha düşük NH₃-N konsantrasyonuna sahip olmasının nedeni olarak; bu grupların eklendiği rumen sıvısında mikroorganizmaların etkinliğinin daha düşük düzeylerde kalmasından dolayı aminoasit deaminasyonunun daha az olduğu (Mcintosh ve ark., 2003) öngörülmüştür. Ayrıca *in vitro* protein sindiriminin daha az gerçekleştiği ancak bypass protein düzeyinin daha yüksek oranda olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, DKO içermeyen %100 mısır silajı gruplarında, toplam yağ asidi içerisinde asetik asit oranı genelde %55, propiyonik asit %35 ve butirik asit oranı ise %10 aralığında belirlenmiştir. UYA'nın konsantrasyonu diyetler arasında oldukça farklı olsa da, rumen sıvısında genellikle 60 ila 120 mmol/L arasında değişmektedir (Jakkola ve ark., 2006).

Çalışmada katkılı ve katkısız bütün DKOS'ların mısır silajı yerine katılan tüm oranlarında bütirik asit üretiminin arttığı, propiyonik asit, asetik asit ve TUYA üretiminin ise azaldığı tespit edilmiştir. TUYA konsantrasyonunun azalması gaz üretiminin de azalmasına neden olmaktadır. Bu durum TGÜ üretiminin de benzer oranda azalması ile uyumludur. Aynı zamanda asetik asit ve propiyonik asit konsantrasyonunun diğer gruplardan fazla olması, bütirik asit konsantrasyonunun ise daha az olması; TMR (%100 mısır silajı içeriği)'nin NFC içeriğinin diğer rasyon gruplarından fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) bitkisinin ruminant besleme yönünden alternatif kaba yem kaynağı olarak kullanılabilmesi, çeşitli katkı maddeleri kullanılarak silajının yapılmasının, katkısız olarak yapılan silajından daha iyi sonuçlar verdiği, aynı zamanda dev kralotu bitkisinin ruminantlar tarafından taze halde tüketiminin, katkısız olarak hazırlanan silajının tüketiminden daha avantajlı olabileceği, besi sığırları tam rasyonunda mısır silajı yerine kullanımının *in vitro* parametreleri olumsuz etkilediği ve mısır silajı yerine sadece %25 oranında katkısız dev kralotu silajı kullanımının olumsuz bir durum oluşturmadığı belirlenmiştir.

Kaynaklar

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. International Official Methods of Analysis. Fifteenth Edition, AOAC, Arlington, VA USA; 1995.
- Avcıoğlu R, Soya H, Açıkgöz E, Tan A. Yem bitkileri üretimi. Beşinci Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi. Ocak, 17-21, 2000; Ankara-Türkiye.
- Blümmel M, Ørskov ER. Comparison of *in vitro* gaz production and nylon bagdegradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Anim Feed Sci Technol 1993; 40(2-3): 109-19.
- Dziuk HE. Digestion in the ruminant stomach. In: Dukes' Physiology of Domestic Animals. Cornell Univ Press London 1984; pp. 320-50.
- Erwin ES, Marco GJ, Emery E. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. J Dairy Sci 1961; 44: 1768-76.
- Geren H, Avcıoğlu R, Kavut YT, Tan K, Sargin S. Akdeniz iklimi koşullarında yetiştirilen bazı çok yıllık sıcak mevsim buğdaygil cinslerinin yıllık sıcak mevsim buğdaygilleri ile silolanabilir verim, yem kalitesi ve biyoetanol verimi yönünden karşılaştırılması üzerine bir araştırma. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2014; 51(3): 243-51.
- Geren H, Durul G. Farklı tuz (NaCl) konsantrasyonlarının dev kralotu (*Pennisetum hybridum*)'nda biyokütle verimi ve bazı verim özelliklerine etkileri üzerine bir ön araştırma. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2014; 51(1): 85-91.
- Geren H, Kavut YT, Ünlü HB. Effect of different cutting intervals on the forage yield and some silage quality characteristics of giant king grass (*Pennisetum hybridum*) under Mediterranean climatic conditions. Turk J Field Crops 2020; 25(1): 1-8.
- Geren H, Kavut YT, Ünlü HB. Farklı biçim sıklıklarının dev kralotu (*Pennisetum hybridum*)'nda ot verimi ve bazı kalite özelliklerine etkisi. TÜBİTAK 115O083 numaralı proje. Ankara 2017; s. 1-6.
- Geren H, Kavut YT, Ünlü HB. Sürdürülebilir dev kralotu (*Pennisetum hybridum*) tarımında biçim aralıklarının kuru madde verimi ve bazı yem kalite özelliklerine etkisi. İğdir Üni Fen Bil Enst Derg 2021; 11(3): 2412-22.
- Geren H. Farklı oranlarda baklagil yem bitkileri ile silolan dev kralotu (*Pennisetum hybridum*)'nun bazı kalite özellikleri üzerine bir araştırma. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2014; 51(2): 209-17.
- Güney M, Bingöl NT, Aksu T. Kaba yem kalitesinin sınıflandırılmasında kullanılan göreceli yem değeri (GYD) ve göreceli kaba yem kalite indeksi (GKKI). Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg 2016; 11(2): 254-8.
- Jaakkola S, Kaunisto V, Huhtanen P. Volatile fatty acid proportions and microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage ensiled with different rates of formic acid. Grass Forage Sci, 2006; 61: 282-92.
- Jeranyama P, Garcia AD. Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ). College of Agriculture&Biological Sciences. South Dakota State University Extension Bulletin 2004; 8149: 1-3.
- Khampa S, Wanapat M. Manipulation of rumen fermentation with organic acids supplementation in ruminants raised in the tropics. Pak J Nutr 2007; 6(1): 20-7.
- Kılıç Ü, Sarıçiçek BZ. *In vitro* gaz üretim tekniğinde sonuçları etkileyen faktörler. Hayvansal Üretim 2006; 47(2): 54-61.
- Kung L, Grieve DB, Thomas JW, Huber JT. Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. J Dairy Sci 1984; 67(2): 299-306.
- Li M, Zi X, Zhou H, Hou G, Cai Y. Effects of sucrose, glucose, molasses and cellulase on fermentation quality and *in vitro* gas production of king grass

- silage. Anim Feed Sci Technol 2014; 197: 206-12.
- Makkar HPS, Becker K. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringaoleifera* leaves. Anim Feed Sci Technol 1996; 63(1-4): 211-28.
- McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beaver DA, Newbold CJ. Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. Appl Environ Microbiol 2003; 69(8): 5011-4.
- Menke HH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *invitro* gas production using rumen fluid. Anim Res Dev 1988; 28: 7-55.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed-stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. J Agric Sci 1979; 93 (1): 217-22.
- NRC 1996: National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Seventh Revised Edition. National Academy Press, Washington DC.
- NRC 2001: National Research Council: Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh Revised Edition. National Academy Press, Washington DC.
- Satter LD, Roffler RE. Influence of nitrogen and carbohydrate inputs on rumen fermentation. Haresign W, Cole DJA. eds. In: Recent Developments in Ruminant Nutrition. London: Butterworths Press, 1981; pp.115-39.
- Silva MA, Lira MA, Santos MVF, Dubeux J, de Freitas EV, Araújo GGL. Forage yield and nutritive value in *Pennisetum* clones harvested in the forest zone. Archivos de Zootecnia 2011; 60(229): 63-74.
- Souza MA, Detmann E, Paulino MF, Sampaio CB, Lazzarini Í, Valadares Filho SC. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. Trop Anim Health Prod 2010; 42(6): 1299-310.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci 1991;74(10): 3583-97.
- Zi X, Li M, Chen Y, Lv R, Zhou H, Tang J. Effects of citric acid and *Lactobacillus plantarum* on silage quality and bacterial diversity of king grass silage. Front Microbiol 2021; 12: 631096.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Research Article / Araştırma Makalesi
21(1), 43-49, 2024
DOI: 10.32707/ercivet.1455296

Serological Investigation of *Bovine Enterovirus* in Calves in Konya Province^{*,**}

H.Sercan PALANCI^{1,a}, Oğuzhan AVCI^{1,b}, İrmak DİK^{1,c}, H.Pelin ASLIM^{1,d}, Rüveyde GÜLBAHÇE^{1,e},
Oya BULUT^{1,f}

¹Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Konya-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0001-5408-9176; ^b0000-0001-9299-4695; ^c0000-0003-2516-9489; ^d0000-0001-9160-1255;
^e0000-0002-3665-4642; ^f0000-0002-2407-7390

Corresponding author: Rüveyde GÜLBAHÇE; E-mail: gulbahceruveyde@gmail.com

How to cite: Palancı HS, Avcı O, Dik I, Aslım HP, Gülbahçe R, Bulut O. Serological investigation of *bovine enterovirus* in calves in Konya province. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):43-49

Abstract: *Bovine enterovirus (BEV)* infection is a common viral disease in cattle. Although the infection is often sub-clinical, it is among the possible causes of gastroenteritis. *BEV* infections have also been associated with respiratory and reproductive system disorders and signs of diarrhea. *BEV* is divided into two serotypes, *enterovirus serotype E (EV-E)* and *enterovirus serotype F (EV-F)*. This study aims to determine the seroprevalence of *EV-E* in calves in Konya province. For this purpose, 504 *BEV* unvaccinated calf blood serum samples from the Selçuk University Veterinary Faculty Virology Department laboratory were used. A serum neutralization test (SNT) was used to determine *EV-E* seroprevalence. 342 (67.85%) samples were found to be seropositive, and 162 (32.14%) were seronegative. In addition, as the serum neutralization 50 (SN₅₀) antibody titers of seropositive animals were examined, the titers determined as 1/10, 1/15 and 1/20. Among the results we obtained, the highest antibody titers were defined as 1/80 and 1/120; the total number of animals with these values was In conclusion, *bovine enteroviruses* are an infection of importance for cattle breeding. Therefore, necessary precautions must be taken to protection infection. It is thought that the results of the present study will provide important data for future studies.

Keywords: Antibody, bovine enterovirus, serum neutralization test

Konya Bölgesi'ndeki Buzağılarda *Bovine Enterovirus*'un Serolojik Araştırılması

Öz: *Bovine enterovirus (BEV)* sığır popülasyonunda yaygın olarak gözlenen viral bir enfeksiyondur. Enfeksiyon daha sıklıkla subklinik olmasına rağmen, gastroenterit hastalığının olası nedenleri arasında yer almaktadır. *BEV* enfeksiyonları aynı zamanda solunum ve üreme sistemi bozuklukları ve ishal bulguları ile de ilişkilendirilmektedir. *BEV*, *enterovirus serotip E (EV-E)* ve *enterovirus serotip F (EV-F)* olmak üzere iki serotipe ayrılır. Bu çalışma Konya bölgesinde buzağılarda *EV-E* seroprevalansını tespit etmek amacı ile yapıldı. Bu amaçla Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan 504 adet *BEV* yönünden aşısız buzağı kan serum numuneleri kullanıldı. Kan serum örneklerine *EV-E* seroprevalansının belirlenmesi için serum nötralizasyon testi (SNT) uygulandı. 342 (% 67.85) örnek seropozitif 162 (%32.14) örnek ise seronegatif tespit edildi. Ayrıca seropozitif hayvanların Serum Nötralizasyon 50 (SN₅₀) titreleri incelendiğinde nötralizasyon edici antikor titreleri 1/10, 1/15 ve 1/20 olarak tespit edildi. Sonuçlar arasında en yüksek antikor titreleri 1/80 ve 1/120 olarak tanımlandı ve bu değerlere sahip total hayvan sayısı ise 18 olarak tespit edildi. Sonuç olarak, sığır enterovirusları sığır yetiştiriciliği için önem arz eden bir enfeksiyondur. Bu nedenle enfeksiyondan korunmak için gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların gelecekte yapılması planlanan çalışmalar için önemli veriler sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Antikor, serum nötralizasyon testi, sığır enterovirus

Introduction

Bovine enterovirus (BEV) is an *Enterovirus* in the *Picornaviridae* family. *Picornaviruses* are small, non-membrane, positive-stranded RNA viruses (Candido

et al., 2019). The *Picornaviridae* family consists of 63 genera and 147 species. Members of this family include *Aphthovirus (foot-and-mouth disease virus)*, *equine rhinitis A virus*, *Cardiovirus (cardiovirus A and B)*, *Hepatovirus (hepatovirus A)*, *Enterovirus (A, B, C, D, E, F; Rhinovirus A, B, C)*, *Parechovirus (A and B)*, *Kobuvirus (aichivirus A)* and *Senacavirus (senacavirus A)* (Zell et al., 2017). Members of *Enterovirus* species A to D and *Rhinovirus* species A to C cause infections primarily in humans, E and F in cattle, G in pigs, and H and L in monkeys (Rao, 2021).

Geliş Tarihi/Submission Date : 11.08.2023
Kabul Tarihi/Accepted Date : 17.11.2023

*This study was summarized from the project coded 21401139, supported by the Scientific Research Projects Unit of Selçuk University.

** A part of the study was presented as an oral presentation at the 13th International Conference on Biotechnology and Bioengineering (ICBB 2023), Virtual Online, Sep. 28- Oct. 1, 2023, Pozzuoli, Italy.

BEV is usually isolated from healthy animals. Despite *BEV* infects mammals orally, this pathogen is unaffected by the gastrointestinal tract, travels from the digestive tract to the lymph nodes, and elicits an antibody response. Neutralizing antibodies specific to *BEV* have been detected in many species, including humans, cattle, sheep, goats, dogs, horses, and monkeys (Luo et al., 2023). Although the disease usually presents as a subclinical infection with mild symptoms, fatal cases with low morbidity have rarely been reported (Blas-Machado et al., 2007). Furthermore, the pathogenesis and virulence of the infection are still not fully understood and are currently under investigation (Gür et al., 2008).

Serotyping of *BEV* has been performed by classification studies based on tests such as hemagglutination, virus neutralization, and complement fixation. The *Enterovirus* genus consists of subfamilies with more than 80 serotypes that can infect cattle and other animal species. *BEV* is divided into two serotypes, *Bovine enterovirus serotype 1 (BEV-1)* and *Bovine enterovirus serotype 2 (BEV-2)*. According to the 9th International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) report, *bovine enteroviruses 1* and *2* have recently been named *Enterovirus E (EV-E)* and *Enterovirus F (EV-F)* types. In *BEV* seroprevalence studies conducted in Turkey, *EV-E* serotype was mostly detected (Gür et al., 2006; 2008; 2019; Erol et al., 2020). The host of *EV-F* was determined as domestic cattle, unlike *EV-E* (Gür et al., 2019).

EV-E has been reported from domestic cattle (*Bos taurus*), buffalo (*Bubalus bubalis*) (Urakawa and Shingu, 1987), sheep (*Ovis aries*) (Jain and Batra, 1985), goats (*Capra hircus*) (Jain and Batra, 1985), sika deer (*Cervus nippon*) (Urakawa and Shingu, 1987), wild African buffalo (*Syncerus caffer*), and impala (*Aepyceros melampus*) (Hamblin et al., 1985). In the last two decades, the *EV-E* serotype has been isolated from a pregnant 2-year-old heifer in Oklahoma (Blas-Machado et al., 2007). Antibodies to *EV serotype E* can also be detected in species such as buffalo (*Bubalus bubalis*) (Gür et al., 2006), dolphins (Nollens et al., 2009), alpacas (Mc Clenahan et al., 2013), and rats (Zheng, 2007). The susceptibility of young calves to *BEV* infection is important for understanding the pathology associated with infection and for the epidemiology and characterization of *EV-E* infection in herds (Blas-Machado et al., 2007). *BEV* isolates were first named enteric cytopathogenic bovine viruses (Castells and Colina, 2021), and these isolates have been described in many countries worldwide (Beato et al., 2018; Ren et al., 2020; Mosena et al., 2022). *BEVs* found in cattle worldwide generally cause asymptomatic infections and are shed in the feces of infected animals (Park et al., 2009). Most enteroviruses are transmitted in animals and humans via the fecal-oral route and colonize the digestive tract (Rao, 2021).

Clinically diseased cattle may have extensive replication in many organs in addition to local lymph nodes, followed by reproductive, respiratory, and enteric symptoms (Solomon et al., 2010). The most common clinical signs in *BEV*-infected cattle are abortions, stillbirths, infertility, and neonatal death (Christianson, 1992; Beato et al., 2018). Persistent diarrhea, respiratory disease, and enteritis are common pathological signs in cattle infected with *BEV*. Moreover, they do not have characteristic pathological lesions distinguishing *BEV* infection from other pathogens that cause similar clinical signs (Candido et al., 2019). It is highly resistant to environmental conditions (Birdane and Gür, 2019). No vaccine prevents or controls *BEV* infection (Wang et al., 2012).

Infected cattle can easily spread *BEV* through their feces. Wild ruminants are thought to play a role in transmitting *BEV* to domestic cattle (Gras et al., 2017). In general, there are few studies on *BEV* in Türkiye. This study was conducted to determine the seroprevalence of *EV-E* infection cases in the field by detecting the presence of *EV-E* antibodies in calf populations in the Konya province and measuring antibody levels of positive samples.

Materials and Methods

Collection of samples

In this study, 504 calf blood serum samples taken from Konya province, available in the laboratory of Selcuk University Faculty of Veterinary Medicine Department of Virology, were used. All procedures were approved by the Selcuk University Veterinary Faculty Ethics Committee (Ethical approval number 2021/117 on 20/10/2021).

Confirmation of *EV-E* isolates by RT-PCR method

The presence of *BEV* in the virus suspension used for the study was checked and confirmed using primer sets designed for the viral polyprotein gene segment. These primer sets (*BEV-F*: 5'ACC TTT GTA CGC CTG TTT TCC-3'; *BEV-R*: 5'-GAT TAG CAG CAT TCA CGG C-3') were designed by Blas-Machado et al. (2011) to detect the presence of the *EV-E* Oklahoma isolate.

RNA extractions were performed using a commercial extraction kit (QIAamp Viral RNA Mini Kit Catno: 52904) from the viral suspension produced in the susceptible cell line. The application was performed according to the protocol indicated by the manufacturer. The obtained extraction products were subjected to a one-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction (one-step RT-PCR). The MegaFi™ One-Step RT-PCR (Cat. No.: G597) kit was used in this method. PCR cycles of the prepared reaction mixtures: after cDNA generation at 60°C for 15 min, denaturation at 98°C for 10 sec, annealing at 54°C

for 20 sec, extension at 72°C for 40 sec during one cycle of 30 sec at 98°C and 33 reactions. Finally, the last extension step was performed at 72°C for 2 min, and the RT-PCR process was terminated. At the end of the process, the PCR products were transferred to wells of a 2% agarose gel containing ethidium bromide. The products were subjected to electrophoresis. At the end of the procedure, the PCR product was visualized under UV light, and the sample was found to be positive for *EV-E* with a band in the range of 484 bp.

Cell line and virus strain

The cell lines and virus strains were obtained from the cell and virus collections of Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology. Before starting the study, the fetal bovine serum (FBS) and the cell line to be used in the test were screened for non-cytopathogenic (ncp) pestivirus by PCR test and it was confirmed that there was no ncp pestivirus contamination. The continuous Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) cell line was used as a sensitive cell line to generate *EV-E*. MDBK cells and virus replication processes were performed using Modified Eagle's Medium (DMEM, Gibco) in an incubator at 37°C and 5% CO₂. The medium was supplemented with 10% FBS, 1% antibiotic (penicillin-streptomycin (10,000 U/mL)), and 1% L-glutamine for the cell generation processes.

For the neutralization assay, the *EV-E* isolate was inoculated into MDBK cell lines that had been passaged 24 hours ago and had a monolayer greater than 80% using the adsorption virus cultivation method. At the end of virus cultivation, cells were maintained in an incubator with 5% CO₂ at 37°C for 1 hour. At the end of the incubation period, the virus suspension in the cells was removed, and the inoculated cell lines were returned to the incubator after a cell production medium containing 2% FBS was added to the medium. Cells that showed a cytopathic effect of 80% or more under the tissue culture microscope were placed in a -30°C freezer and frozen/thawed. The resulting virus suspensions were transferred to sterile 15 ml centrifuge tubes. The virus suspensions were centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes in a refrigerated centrifuge at +4°C. At the end of the procedure, the supernatant was transferred to cryovials as 1 ml. Portioned *EV-E* was stored in a freezer at -80°C for use in the study.

Virus titration test

To determine the infectious dose of *EV-E* used in the assay, a 50% tissue culture infectious dose analysis (DKID₅₀) was performed, and the titers of the virus were determined by this method. For this purpose, the virus suspension grown in stock was diluted tenfold with DMEM containing 2% FBS. (Sigma-Aldrich) Virus suspensions diluted in log 10 base were trans-

ferred to 96-well plates (TPP, Switzerland) in quadruplicate 100 µl volumes. Then, 50 µl of a cell suspension containing 5x10⁴ MDBK cells was added to each well. The plates were incubated in an incubator (Thermo, Scientific) with 5% CO₂ at 37°C for 72 hours. At the end of this period, the plates were examined under a tissue culture microscope (Olympus, Japan) for the formation of cytopathic effects (CPE) and the amount of DKID₅₀ per ml was calculated according to the Spearman-Kärber (Spearman, 1908; Kärber, 1931) method (Figure 1).



Figure 1. The cytopathic effect seen in titration test virus control. A) Virus control (CPE seen 24 h after seeding *EV-E* into MDBK cell line. B) Cell control (x60).

Serum neutralization test

For this study, pre-portioned serum samples were diluted and used as multiples of 3 and 5, considering the possibility of toxic effects that the sera might cause in cell culture. Each diluted serum was transferred to 96-well plates in 2 copies in 50 µl volume. The viral suspension, whose DKID₅₀ was known by the viral titration assay, was diluted to 100DKID₅₀ with DMEM medium containing 2% FBS. 50 µl volume of 100 DKID₅₀ µl of virus suspension was transferred to wells containing 50 µl serum sample in a 1:1 ratio. At the end of the process, the study plates were incubated in an incubator with 5% CO₂ at 37°C for 1 hour. At the end of this period, 50 µl of cell suspension containing 5x10⁴ MDBK cells was added to the wells of the plates. The plates were transferred to an incubator with 5% CO₂ at 37°C. At the end of the 72-hour assay period, results were evaluated based on CPE formation in the cell culture.

Serum neutralization 50 Test (SN₅₀)

The serum neutralization 50 (SN₅₀) assay was performed to determine antibody titers in positive samples in the serum neutralization assay. For this purpose, Ab (+) serum samples were diluted on a log₂ basis, starting with 1/4 and 1/5 dilutions. The samples diluted on a log₂ basis were transferred to 96 well plates as two copies in 50 µl volume, and the same volume of *EV-E* suspension was added at a ratio of 100DKID₅₀. After virus addition, plates were transferred to an incubator with 5% CO₂ at 37°C and incubated for 1 hour. At the end of the incubation, 50 µl of the cell suspension containing 5x10⁴ MDBK cells was added to the wells of the plates. The plates were transferred to an incubator with 5% CO₂ at 37°C and incubated for 72 hours. The results were evaluated

for the presence of CPE at the final dilution point, and the antibody titer was determined.

Results

The serum samples of 504 calves of animals not vaccinated against *EV-E* in the Konya province were analyzed for *EV-E* antibodies. The result of this study was that 342 animals showed Ab(+) against *EV-E*; Ab (-) was detected in 162 animals (Figure 2). The rate of *EV-E* seropositivity in these tested animals was 67.85%, as shown in Figure 2; the seronegative animal rate was 32.14%.

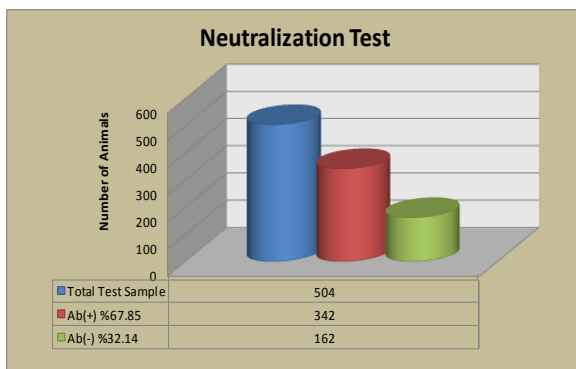


Figure 2. *EV-E* neutralization test results of samples.

When SN₅₀ antibody titers of the seropositive animals were examined, in the 342 Ab(+) sample, neutralizing antibody titers of 1/4 (2.63%) in 9 animals, 1/10 (21.05%) in 72 animals, 1/15 (18.42%) in 63 animals, 1/20 (18.42%) in 63 animals, 1/24 (13.15%) in 45 animals, 1/30 (5.6%) in 18 animals, 1/48 (2.63%) in 9 animals, 1/60 (7.89%) in 27 animals, 1/64 (5.26%) in 18 animals, 1/80 (2.63%) in 9 animals, and 1/120 (2.63%) in 9 animals were observed (Figure 3). The analysis of the results shows that the most frequent neutralizing antibody titers in the calf population in the Konya province were 1/10, 1/15 and 1/20. Moreover, the highest antibody titers were defined between 1/80 and 1/120, and the total number of animals with the values reported in the study was 18 (Figure 3).

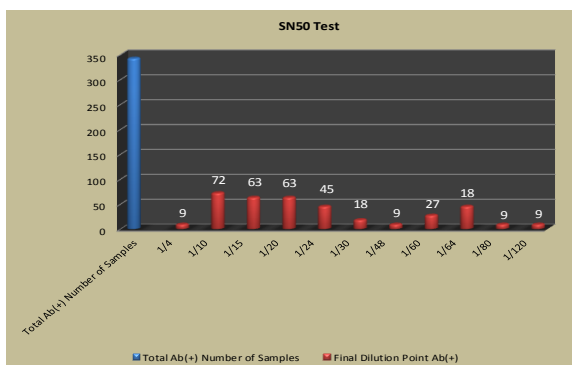


Figure 3. *EV-E* SN₅₀ test results of samples.

Discussion and Conclusion

Bovine enteroviruses (BEVs) were first isolated in the late 1950s from the feces of cattle with symptoms of pneumonia, respiratory disease, enteritis, dysentery, and infertility, from fetal fluids of aborted calves, from the feces of healthy-appearing animals, and treated sewage (Li et al., 2012).

The present study investigated the seroprevalence of *EV-E* infection in calves in Konya province. For this purpose, serum samples from calves in the Konya province that had not been vaccinated against *EV-E* were tested for *EV type E* specific antibodies by neutralization assay. 342 samples were found to be seropositive. The studied population's seropositivity rate was 67.85% (Figure 2). In addition, neutralizing antibody titers of seropositive animals were evaluated with the SN₅₀ test (Figure 3).

There are also studies in different countries on the seroprevalence of BEV. Gras et al. (2017) performed a neutralization test on 415 serum samples from cattle in Brazil and found that 411 samples (99.2%) had neutralizing antibodies to BEV. This study also found that 91 (22.1%) of the BEV seropositive samples had a high neutralizing antibody titer (1/320).

In another study investigating the prevalence of neutralizing antibodies to *BEV* in Korea, antibodies against *EV-E* and *EV-F* were evaluated in many living species, including cattle. As a result of the findings, the antibody against *EV-E* was 48.3%; it was shown that the antibody against *EV-F* was 68.1%. Neutralizing antibodies to these viruses were widespread in Korea, endemic in cattle, and the prevalence of antibodies to *EV-E* was lower than that to *EV-F* in cattle (Park et al., 2009). In a study conducted in China, the results of the serum neutralization test showed that two of nine bovine serum samples from naturally infected cattle had a neutralization capacity of 4^{2.66} and 4^{3.66}, while the other seven bovine serum samples did not (Zhang et al., 2014). In a serological study investigating *BEV* circulation in llama and cattle populations in Argentina, specific antibodies against *BEV* were detected in 18 (4.10%) of 390 llama serum samples and 134 (91.78%) of 146 cattle serum samples. The rate was quite high (Puntel et al., 1999). Enteroviruses can infect different animal species and may be closely related genetically. In an enterovirus seroprevalence study conducted on 795 serum samples taken from wild opossums in New Zealand, it was found that opossums living in pastures where cattle and sheep graze did not have a higher prevalence of antibodies compared to animals living in forests. In the same study, opossum-derived enteroviruses were found to be genetically related to bovine enteroviruses (Zheng et al., 2010).

In a study by Alkan et al. (1997), in which 480 blood

serum samples were tested for BEV antibodies by neutralization assay, they found *EV-E* in 257 sera (53.5%) and *EV-F* in 233 sera (50.5%). Thus, this study was the first to demonstrate the presence of *EV-E* and *EV-F* infections in Türkiye. In another seroprevalence study conducted in Türkiye, specific antibodies against *EV-E* were detected for the first time in horses, dogs, goats, sheep, and humans. The highest prevalence was found in cattle at 64.8% (Gür et al., 2008). In a study on the seropositive rates of *EV-E* in camels in Türkiye, 92 blood serum samples were examined by neutralization test. As a result of the test, it was found that 30 (32.61%) of 92 serum samples were positive for *EV-E* (Erol et al., 2020). BEV can easily co-infect with other viruses that cause pathogenic infections in cattle, resulting in significant economic losses in the cattle industry (Luo et al., 2023). Although studies on infections caused by enteroviruses have been conducted in various animal species worldwide and in Türkiye, they have mainly focused on cattle. Previous studies have shown that *EV-E* infection, in particular, is quite common. In a study conducted in the provinces of Afyonkarahisar (Olukpınar, Emirdağ, Anıtkaya, Peribacaları), Eskişehir and Nevşehir, 1380 clinically healthy goat serum samples collected at 6 points and showing respiratory and reproductive problems were serologically tested for *EV-E* infection. 1380 goat serum samples showed a positivity rate ranging from 17.6% to 80% on a herd basis. 304 (41.8%) of 727 samples from Afyonkarahisar, 38 (53.5%) of 71 samples from Nevşehir, and 394 (67.7%) of 582 samples from Eskişehir were determined to be seropositive for *EV-E* in goats. It was found that the number of *EV-E* specific antibodies was significantly higher in herds with respiratory (593/1040) (57%) and reproductive (496/834) (59.4%) disorders compared to healthy animals (3/17) (17.6%). The result of the statistical analysis shows that there is a significant difference between healthy and diseased herds (Acar and Gür, 2009). On the other hand, Birdane and Gür (2019) obtained blood sera from a closed system intensive care dairy farm in Afyonkarahisar province, Central Anatolia region, in their serological studies for BEV. The samples were collected simultaneously shortly after birth. In the study, they preferred the virus neutralization test due to its high sensitivity and specificity. Serum samples were collected simultaneously from 155 calves at birth and their pre-colostral calves over three months. The test results showed that 98.7% (153/155) of calving cattle were seropositive for *EV-E*. The mean antibody titer (Ab) was the highest at 1/20 dilution. Specific antibodies were detected in 8 (5.1%) of 155 pre-colostral calves, and the distribution of Ab titers in these calves ranged from 1/5 to 1/40. In addition, the highest antibody titer values in these sera were found in calves at 1/10 and 1/80.

Comparing the current study with other studies con-

ducted in Türkiye (Alkan et al., 1997; Gür et al., 2008; Acar and Gür, 2009), we find that the *EV-E* seroprevalence rate is similar. At the same time, these results show that the virus is widely distributed in the field. In the study of Gür et al. (2008), the highest seropositivity value among eight animal species (horse, sheep, goat, cattle, dog, human, gazelle, camel) was found in cattle (986/1520) (64.8%), sheep (84/281) (29.8%) and goats (132/477) (27.6%). These reported data indicate that enteroviruses are more prevalent in ruminants.

Since BEV is transmitted via the fecal-oral route and has a broad host range, hygiene and biosecurity programs for disease prevention should be carefully followed. In examining immunization trials around the world, there is currently no vaccine that prevents BEV infection. Nevertheless, a study conducted in China highlighted that it is a good candidate for a viral vaccine vector (Ren et al., 2020). Especially due to the limited number of immunization studies on BEV, it is important to increase and report research in this area.

Therefore, it is suggested that the differences in seropositivity rates determined in the sampled areas may be caused by many factors, such as the differences in the number of animals in the sampled population and farms, the differences in husbandry conditions, the type of rearing, the timing of infection, the age distribution of the animals, etc. This study indirectly detected the presence of *EV-E* infection in Konya province. Moreover, the high seroprevalence detected indicates that the importance of *EV-E* in the Konya province may gradually increase. It is important to investigate further the epidemiology of infections caused by bovine enteroviruses, especially to study the impact of clinical features of infection on livestock, identify the genotypes circulating in the country, and study their phylogenetic structures.

Acknowledgements

We thank Selcuk University Scientific Research Projects Unit for contributing to research project 21401139.

References

- Acar A, Gür S. Seroprevalence of bovine enterovirus type 1 (BEV1) in goats in Turkey. *J Anim Vet Adv* 2009; 8(6): 1075-8.
- Alkan F, Özkul A, Karaoğlu MT, Bilge S, Akça Y, Burgu I, Yeşilbaş K, Oğuzoğlu TÇ. Seroepidemiology of viral respiratory tract infections in cattle. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1997; 44(1): 1-8.
- Beato MS, Marcacci M, Schiavon E, Bertocchi L, Di Domenico M, Peserico A, Mion M, Zaccaria G, Cavicchio L, Mangone I, Soranzo E, Patavino C,

- Camma C, Lorusso A. Identification and genetic characterization of bovine enterovirus by combination of two next generation sequencing platforms. *J Virol Methods* 2018; 260: 21-5.
- Birdane FM, Gür S. Precolostral evaluation of Bovine Enterovirus Type 1 (BEV1) infection in a dairy herd. *Vet Arhiv* 2019; 89(1): 1-10.
- Blas-Machado U, Saliki JT, Boileau MJ, Goens SD, Caseltine SL, Duffy JC, Welsh RD. Fatal ulcerative and hemorrhagic typhlocolitis in a pregnant heifer associated with natural bovine enterovirus type-1 infection. *Vet Pathol* 2007; 44(1):110-5.
- Blas-Machado U, Saliki JT, Sánchez S, Brown C, Zhang J, Keys D, Woolums A, Harvey SB. Pathogenesis of a bovine enterovirus-1 isolate in experimentally infected calves. *Vet Pathol* 2011; 48(6): 1075-84.
- Candido M, Almeida-Queiroz SR, Buzinaro MG, Livonesi MC, Fernandes AM, Sousa RLM. Detection and molecular characterisation of bovine Enterovirus in Brazil: four decades since the first report. *Epidemiol Infect* 2019; 147(e126): 1-2.
- Castells M, Colina R. Viral Enteritis in Cattle: To Well Known Viruses and Beyond. *Microbiol Res* 2021; 12(3): 663-72.
- Christianson WT. Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death. *Vet Clin of North Am Food Anim Pract* 1992; 8 (3): 623-9.
- Erol N, Gür S, Koç BT, Yavru S. A serological investigation of Bovine enterovirus-1, Bovine herpesvirus-1, Bovine viral diarrhea virus, and Parainfluenza-3 infections in camels in Western Turkey. *Vet Ital* 2020; 56(4): 257-62.
- Gras CK, Demoliner M, Eisen AKA, Spilki FR, Henzel A. Seroprevalence of bovine adenovirus and enterovirus antibodies reveals different infection dynamics in cattle herds. *Acta Sci Vet* 2017; 45 (1): 1-6.
- Gür S, Akça Y, Burgu I. Serological investigation of bovine enterovirus type-1 in buffaloes in Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2006; 53(3): 191-4.
- Gür S, Yapkiç O, Yılmaz A. Serological survey of bovine enterovirus type 1 in different mammalian species in Turkey. *Zoonoses Public Health* 2008; 55(2): 106-11.
- Gür S, Gürçay M, Seyrek A. A study regarding bovine enterovirus type 1 infection in domestic animals and humans. *J Vet Med Sci* 2019; 81(12): 1824-8.
- Hamblin C, Knowles NJ, Hedger RS. Isolation and identification of bovid enteroviruses from free-living wild animals in Botswana. *Vet Rec* 1985; 116(9): 238-9.
- Jain NC, Batra SK. Isolation and characterization of ovine enteroviruses. *Indian J Virol* 1985; 1(1): 17-25.
- Kärber G. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1931; 162(4): 480-3.
- Li Y, Chang J, Wang Q, Yu L. Isolation of two Chinese bovine enteroviruses and sequence analysis of their complete genomes. *Arch Virol* 2012; 157 (12): 2369-5.
- Luo Y, Liu H, Zou Y, Qiao C, Su Y, Zhu X, Zhang G, Huang W, Qin Y, Pan Y, Huang W. Molecular epidemiology of bovine enteroviruses and genome characterization of two novel bovine enterovirus strains in Guangxi, China. *Microbiol Spectr* 2023; 11(2): e03785-22.
- Mc Clenahan SD, Scherba G, Borst L, Fredrickson RL, Krause PR, Uhlenhaut C. Discovery of a bovine enterovirus in alpaca. *PLoS One* 2013; 8(8): e68777.
- Mosena AC, da Silva MS, Gularte JS, Demoliner M, Girardi V, Flores EF, Weiblen R, Spilki FR. Genome sequence of a Brazilian bovine enterovirus. *Microbiol Resour Announc* 2022; 11(2): e01200-21.
- Nollens HH, Rivera R, Palacios G, Wellehan JFX, Saliki JT, Caseltine SL, Smith CR, Jensen ED, Hui J, Lipkin WI, Yochem PK, Wells RS, St Leger J, Venn-Watson S. New recognition of enterovirus infections in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Vet Microbiol* 2009; 139(1-2): 170-5.
- Park JH, Kim SM, Bang MW, Lee KN, Ko YJ, Lee HS, Shim HS, Cho IS. Existence of antibodies against bovine enterovirus in humans and various animals in Korea. *Korean J Vet Res* 2009; 49(3): 237-42.
- Puntel M, Fondevila NA, Viera JB, O'Donnell VK, Marcovecchio JF, Carrillo BJ, Schudel AA. Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. *Zentralbl Veterinarmed B* 1999; 46(3): 157-61.
- Rao CD. Enteroviruses in gastrointestinal diseases. *Rev Med Virol* 2021;31(1):1-12.
- Ren X, Zhang S, Gao X, Guo X, Xin T, Zhu H, Jia H, Hou S. Experimental immunization of mice with a recombinant bovine enterovirus vaccine expressing BVDV E0 protein elicits a long-lasting serologic response. *Virol J* 2020; 17(1): 1-10.

- Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, Cardoso MJ, McMinn P, Ooi MH. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis* 2010; 10(11): 778-80.
- Spearman C. The method of right and wrong cases (constant stimuli) without Gauss's formulae. *Br J of Psychol* 1908; 2(3): 227-32.
- Urakawa T, Shingu M. Studies on the classification of bovine enteroviruses. *Microbiol Immunol* 1987; 31(8):771-8.
- Wang X, Peng W, Ren J, Hu Z, Xu J, Lou Z, Li X, Yin W, Shen X, Porta C. A sensor-adaptor mechanism for enterovirus uncoating from structures of EV71. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(4): 424-9.
- Zell R, Delwart E, Gorbalenya AE, Hovi T, King AMQ, Knowles NJ, Lindberg AM, Pallansch MA, Palmenberg AC, Reuter G, Simmonds P, Skern T, Stanway G, Yamashita T. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J Gen Virol*; 2017; 98(10): 2421-2.
- Zhang H, Liu H, Bao J, Guo Y, Peng T, Zhou P, Zhang W, Ma B, Wang J, Gao M. Characterization of an Enterovirus species E isolated from naturally infected bovine in China. *Virus Res* 2014; 191: 101-7.
- Zheng T. Characterisation of two enteroviruses isolated from Australian brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand. *Arch Virol* 2007; 152(1): 191-8.
- Zheng T, Hamel KL, Buddle BM. A serological survey of the prevalence of antibodies against enteroviruses in brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand: Enteroviruses have a limited distribution in brushtail possums. *N Z Vet J* 2010; 58(1): 23-8.



Calculation of Intracranial Volume in Van Cats by Stereological Method

Ali KOÇYİĞİT^{1,a}, İsmail DEMİRCİOĞLU^{2,b}, Osman YILMAZ^{3,c}

¹Harran University Laboratory and Veterinary Health Vocational School, Birecik, Şanlıurfa-TÜRKİYE

²Harran University, Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Eyyubiye, Şanlıurfa-TÜRKİYE

³Van Yüzüncü Yıl University, Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Van-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-9354-7480; ^b0000-0002-0724-3019; ^c0000-0003-2013-9213

Corresponding author: Ali KOÇYİĞİT; E-mail: akocyigit@harran.edu.tr

How to cite: Koçyigit A, Demircioğlu İ, Yılmaz O. Calculation of intracranial volume in Van cats by stereological method. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):50-54

Abstract: Stereology is a powerful scientific method for estimating the real attributes of three-dimensional structures using calculations on two-dimensional photographs. The goal of this study was to determine the cerebral volume of cats using stereological cranial computed tomography (CT) and to uncover dimorphic differences. The study employed 16 adult Van cats (8 females and 8 males). A multislice CT equipment was utilized to scan the craniums of the cats involved in the study. Stereological computations were performed using 12 section images from cranial CT sections with intracranial borders calculated using a systematic random sampling procedure. Linear measurements of the intracranial region were also taken. When the findings were analysed, it was discovered that intracranial volume values differed across sexes ($P < 0.05$). It was determined that the measured linear parameters and calculated index values did not show dimorphism between the sexes ($P > 0.05$). As a result, it is thought that the determination of the intracranial volumes of Van cats using stereology method will contribute to clinical sciences in terms of diagnosis, detection and treatment of diseases and will allow the comparison of volume values calculated with different methods.

Keywords: Cavalieri's principle, intracranial volume, neurocranium, stereology

Van Kedilerinde İnteracranial Hacmin Stereolojik Yöntemle Hesaplanması

Öz: Stereoloji, üç boyutlu olan yapıların, iki boyutlu görüntüleri üzerinden hesaplamalar yaparak gerçek özelliklerinin tahmininin yapılabildiği etkili bilimsel bir yöntemdir. Bu çalışmada kedilerin kranial bilgisayarlı tomografi (BT) kullanılarak intrakranial hacminin stereolojik olarak belirlenmesi ve dimorfik farklılıklarının ortaya konulması amaçlandı. Çalışmada 16 adet (8 dişi, 8 erkek) erişkin Van Kedisi kullanıldı. Kullanılan kedilerin kranium'ları, çok kesitli BT cihazı ile tarandı. İnteracranial sınırları belirlenen BT kesitlerinden sistematik rastgele örneklem yöntemiyle 12 kesit görüntüsü alınarak stereolojik hesaplamalar yapıldı. Ayrıca intrakranial bölgenin lineer ölçümleri alındı. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde intrakranial hacim değerlerinin cinsiyetler arasında dimorfizm gösterdiği belirlendi ($P < 0.05$). Ölçülen lineer parametreler ve hesaplanan index değerlerinin ise cinsiyetler arası dimorfizm göstermediği belirlendi ($P > 0.05$). Sonuç olarak Van kedilerinin intrakranial hacimlerinin stereoloji yöntemi kullanarak belirlenmesi hem hastalıkların tanı, tespit ve tedavileri açısından klinik bilimlere katkı sağlayacağı hem de farklı metotlarla hesaplanan hacim değerlerinin karşılaştırılmasına imkan sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Cavalieri prensibi, intrakranial hacim, neurocranium, stereoloji

Introduction

The cranial cavity of the brain, liquor cerebrospinalis involves blood vessels and is surrounded by cavum cranii (Evans and De Lahunta, 2013; Rodrigues et al., 2010; König and Liebich, 2020). Intracranial volume is important for diagnosing neurodegenerative diseases and evaluating prognosis (Schofield et al, 1995). In addition, knowing the anatomical features of the intracranial region in animals without any pathology also helps to calculate the topographic positions of the organs to each other (Demircioğlu et al, 2021a). There are different methods to determine intracranial volume, among which the most widely used in recent

years are measurements made using imaging systems (Manjunath, 2002; Caruso et al., 2009; Yılmaz and Tugrul, 2019).

Stereology is a scientific method in which the real properties of three-dimensional structures can be estimated by making calculations on two-dimensional images (Mayhew and Gundersen, 1996). One of the frequently used methods in stereology is the Cavalieri Principle. Due to its high reliability, this method is used in many fields, as well as in the medical field, especially in experimental studies (Diab et al., 1998; Black, 1999; Sahin et al., 2003). Stereology is based on the principle of neutrality and effectiveness. It is known that the calculations do not statistically deviate from the true value by ensuring the validity of the principle of neutrality and effectiveness by using the

Cavalieri Principle on the sections obtained using cross-sectional medical imaging systems (Howard and Reed, 1998; Roberts et al., 2000).

In the study, it was aimed to calculate the intracranial volume of cats using cranial computed tomography (CT) images using stereological methods and to calculate the statistical difference between the sexes of the results obtained. In addition, it aimed to contribute to the limited literature in this field by comparing the intracranial volumes obtained in studies on different races and species.

Material and Method

The study 16 (8 female, 8 male) adult Van Cats in the study. Animal materials were obtained Van Yüzüncü Yıl University Van Cat Research and Application Centre. This study was approved by Van Yüzüncü Yıl University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision no: 2020/02). After the animals were sedated with Ketamine and Xylazine, the head region was scanned with a 16-slice computed tomography (CT) device (Somatom Sensetion 16; Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany). CT parameters; KV / Effective mAs / Rotation time (sec) values 120/120/0.75; gantry rotation period 420 ms; physical detector collimation, 16x0.6 mm; section thickness, 0.75 mm; final section collimation, 32x0.63 mm; feed/rotation, 6mm; increment 0.5mm; The resolution was determined to be 512x512 pixels. Prokop (2003) and Kalra et al, (2004) were taken as reference in the screening and dosing protocol (Table 1).

Stereological calculations of 12 cross-section images were made using the mean sampling method from cranial CT sections with limited intracranial borders. The cross-sectional image was counted at 81 mm² intervals using the "Grid" option on the imageJ program and calculated according to the Cavalieri's principle (Figure 1). The same process was repeated a total of 3 times to be calculated at different times. Acer et al, (2007), Roberts et al, (1993), Gundersen and Jensen (1987) were referenced for the estimation of total intracranial volume. Intracranial cavity volumes were estimated using the following equation:

$$V = \sum p \times t \times a(p)$$

The coefficient of error (CE) was estimated by taking Sahin et al, (2003), Roberts et al, (1993), and Roberts et al, (1994) as reference.

Measurements are taken from the cranial cavity (Figure 2): Measurement of the cranial cavity.

MWCC: Maximum width of the cranial cavity, [Euryon -Euryon (intracranial border)]

MHCC: Maximum height of the cranial cavity, (maximum distance between the floor of the intracranial compartment and the intracranial cavity roof)

MLCC: Maximum length of the cranial cavity (From akrokranion to the lamina cribrosa ossis etmoidale)

Index 1 (Cranial cavity index): maximum width of the cranial cavity x 100 / maximum length of cranial cavity

Index 2 (Length width index): maximum length of cranial cavity / maximum width of the cranial cavity (Künzel et al., 2003; Onar et al., 2002).

For statistical data, SPSS 20 program was used. In the study, normality was subjected to the Shapiro-Wilk test. Independent t-test was applied to the differences between the sexes.

For statistical data, SPSS 20 program was used. In the study, normality was subjected to the Shapiro-Wilk test. Independent t-test was applied to the differences between the sexes.



Figure 1: A point counting grid that superimposed on CT slice.

Table 1. Computed tomography scan parameters

Computed Tomography	Parameters	
Rotation time (sec)	0.75	0.75
Kv	120	120
mAs	120	120
Thickness slice	0.75 mm	0.75 mm
Resolution	512x512	512x512
increment	0.5 mm	0.5 mm
Position	Coronal	Sagittal

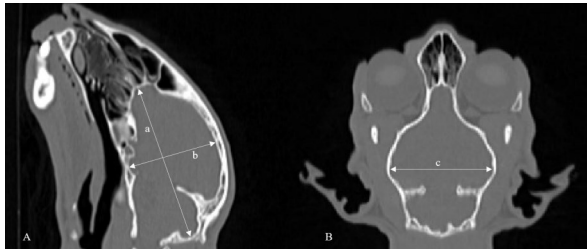


Figure 2: Intracranial linear measuring points (A) Sagittal plane, (B) Coronal plane. a: Maximum length of the cranial cavity, b: Maximum height of the cranial cavity, c: Maximum width of the cranial cavity.

Results

The mean and dimorphic values obtained as a result of the stereological calculations of the intracranial volumes of the cats in the study are given in Table 2. According to Table 2, it was observed that there was a statistically significant $P < 0.005$ difference between the sexes in intracranial volume values.

Table 2. Sexual dimorphic values of intracranial volume (cm³)

Gender	n	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation	CE	P
Male	8	26.97	30.46	28.17	1.19	0.03	0.024
Female	8	26.16	27.86	26.99	0.57		

Data are normally distributed, there is a significant difference between males and females ($P < 0.05$)

Linear measurements of the intracranial space by gender and the index values obtained from these measurements are given in Table 3. When Table 3 was examined, it was determined that intracranial parameters and calculated index values did not show statistical dimorphism between genders ($P > 0.05$).

Table 3. Parameter of the cranial cavity (mm)

	Gender	n	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation	P
MWCC	Male	8	37.18	40.58	38.59	1.09	0.355
	Female	8	37.84	39.97	39.06	0.83	
MHCC	Male	8	28.61	31.97	30.22	1.23	0.131
	Female	8	27.8	30.83	29.37	0.85	
MLCC	Male	8	50.05	56.82	54.17	2.98	0.972
	Female	8	52.62	56.97	54.21	1.38	
Index1	Male	8	66.44	77.67	71.47	5.00	0.758
	Female	8	69.19	75.23	72.08	2.26	
Index2	Male	8	1.29	1.51	1.405	0.01	0.674
	Female	8	1.33	1.45	1.39	0.04	

Data are normally distributed, no significant difference between males and females ($P > 0.05$); MWCC: Maximum width of the cranial cavity, MHCC: Maximum height of the cranial cavity, MLCC: Maximum length of the cranial cavity.

Discussion and Conclusion

By using the Cavalieri principle on the cross-sectional images obtained by CT method, the volume value is obtained in an unbiased and effective manner, and it also minimizes the margin of error by separating it from the surrounding structures more easily. In the

light of this information, the intracranial volume and linear measurements of Van cats were determined by stereological method.

When calculating the volume according to the Cavalieri principle, the use of a dotted area measurement ruler can be used safely in many disciplines (Altındal et al., 2018). In our study, using the dotted area measurement ruler in volume calculation, it will allow us to compare the method between the volume values calculated with the modelling programs today. Although there are studies on intracranial parameters of some animal species (Sahin et al., 2001; Onar et al., 2002; MacKillop, 2011; Demircioğlu et al., 2021a; Demircioğlu et al., 2021b), data in this area are quite limited. Sahin et al. (2001) reported that the brain volume was $59.24 \pm 13.09 \text{ cm}^3$ in female rats and $60.55 \pm 17.12 \text{ cm}^3$ in males. Demircioğlu et al. (2021b) reported that the intracranial volumes of gazelles were calculated stereological as $80.80 \pm 8.01 \text{ cm}^3$ in females and $78.77 \pm 7.50 \text{ cm}^3$ in males and that they did not show dimorphism between the sexes. In the

study of Mayhew et al. (1990), in which the brain volume of cats and dogs was calculated stereological, the brain volume of the cat was 15.9 cm^3 , reported dog's brain volume as 48.7 cm^3 . Yılmaz and Tuğrul (2019) found that the total brain volume of Van cats was calculated with the Prowess Panther Treatment

Planning System V5.01 software on CT images, and the total brain volume was $20.72 \pm 1.71 \text{ cm}^3$ in females and $23.26 \pm 1.80 \text{ cm}^3$ in males. reported that there was a statistically significant $P < 0.005$ difference between the sexes. In the study, it was determined that the mean value of the total intracranial volume of Van cats was $26.99 \pm 1.19 \text{ cm}^3$ in females and 28.17 ± 0.57

cm³ in males and statistically P<0.05 dimorphism was observed between the sexes. It is thought that these value differences observed between the study and the study of Yılmaz and Tuğrul (2019) may be caused by other structures and method differences in the intracranial cavity other than the brain.

Regodon et al. (1991) calculated cranial volumes in dogs of different breeds by computed tomography and stated that the sexes could be separated by cranial volume at a rate of 99.99%. The study confirms this information, and it has been determined statistically that intracranial volumes show dimorphism on genders.

Thanks to medical imaging methods, fast, safe and high-accuracy measurements can be taken on the brain and brain-related structures (Kurtoğlu, 2013; Demircioğlu et al., 2021c). In the study, MWCC, MHCC, MLCC values, which are intracranial linear measurement parameters of cats, were measured and two index values were calculated using this value. In the statistical analysis of our measured parameters, it was determined that there was no dimorphism between the sexes. Demircioğlu et al. (2021b), in their study on gazelle intracranial parameters and index values, reported that these findings did not show a statistical difference between genders. Our findings are compatible with this literature.

As a result, in the study, intracranial linear measurements and volume of Van cats were determined stereologically and the differences between the sexes were determined. We believe that our study data is important in terms of revealing the limited data in this area and evaluating various neuroanatomical structures and many neurodegenerative diseases.

References

- Acer N, Sahin B, Bas O, Ertekin T, Usanmaz M. Comparison of three methods for the estimation of total intracranial volume: stereologic, planimetric, and anthropometric approaches. *Ann Plas Surg* 2007; 58(1): 48-53.
- Altındal F, Onur Ş, Acar K. İnsan craniumlarında intrakranial hacim, basis cranii externa yüzey alanı ve foramen magnum kesitsel alanı arasındaki ilişki. *Pam Tıp Derg* 2018; 11(3): 237-49.
- Black KJ. On the efficiency of stereologic volumetry as commonly implemented for three-dimensional digital images. *Psychiatry Res* 1999; 90(1): 55-64.
- Caruso PA, Roberston R, Setty B, Grant E. Disorders of brain development. Atlas SA. ed. In: *Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine*. Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009; pp. 194-271.
- Demircioğlu I, Demiraslan Y, Gurbuz I, Dayan MO. Examination of the topography and morphometry of Hypophysis (*Glandula pituitaria*) in New Zealand rabbit by computed tomography. *Atatürk University J Vet Sci* 2021a; 16(2): 170-5.
- Demircioğlu İ, Koçyiğit A, Aydoğdu S, İnce NG, Yılmaz B. Calculation of the intracranial volume in Gazelles (*Gazella subgutturosa*) by stereology and computed tomography. *Harran Üniv Vet Fak Derg* 2021b; 10(2): 178-83.
- Demircioğlu İ, Koçyiğit A, Demiraslan Y, Yılmaz B, İnce NG, Aydoğdu S, Dayan MO. Digit bones (Acropodium) of gazella (*Gazella subgutturosa*); Three-dimensional modelling and morphometry. *Pak Vet J* 2021c; 41(4): 481-6.
- Diab KM, Ollmar S, Sevastik JA, Willers U, Svensson A. Volumetric determination of normal and scoliotic vertebral bodies. *Eur Spine J* 1998; 7(4): 282-8.
- Evans HE, De Lahunta A. *Miller's Anatomy of The Dog*. Fourth Edition. Missouri, USA: Elsevier Health Sciences 2013; pp. 70-156.
- Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987; 147(3): 229-63.
- Howard V, Reed M. *Unbiased Stereology: Three-Dimensional Measurement in Microscopy*. Oxford: Bios Scientific Publishers 1998; pp. 39-65.
- Kalra MK, Maher MM, Toth TL, Hamberg LM, Blake MA, Shepard JA, Saini S. Strategies for CT radiation dose optimization. *Radiology* 2004; 230(3): 619-28.
- König HE, Liebich HG. *Veterinary Anatomy of Domestic Animals: Textbook and Colour Atlas*. New York, USA: Georg Thieme Verlag 2020; pp. 39-162.
- Kurtoğlu E. Değişik yazılımlar kullanılarak beyin hacminin ve yüzey alanının MR görüntüleri ile hesaplanması, Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniv Sağ Bil Enst, Kayseri 2013; s. 13-67.
- Künzel W, Breit S, Opperl M. Morphometric investigations of breed-specific features in feline skulls and considerations on their functional implications. *Anat Histol Embryol* 2003; 32(4): 218-23.
- MacKillop E. Magnetic resonance imaging of intracranial malformations in dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound* 2011; 52(1): 542-51.
- Manjunath KY. Estimation of cranial volume in dissecting room cadavers. *J Anat Soc India* 2002; 51(2):168Y172.

- Mayhew TM, Gundersen HJ. If you assume, you can make an ass out of u and me': A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996; 188(Pt 1): 1-15.
- Mayhew TM, Mwamengele GLM, Dantzer V. Comparative morphometry of the mammalian brain: Estimates of cerebral volumes and cortical surface areas obtained from macroscopic slices. *J Anat* 1990; 172: 191-200.
- Onar V, Kahvecioglu KO, Çebi V. Computed tomographic analysis of the cranial cavity and neurocranium in the German shepherd dog (Alsatian) puppies. *Vet Arh* 2002; 72(2): 57-66.
- Prokop M. General principles of MDCT. *Eur J Radiol* 2003; 45: 4-10.
- Regodon S, Franco A, Garin JM, Robina A, Lignereux Y. Computerized tomographic determination of the cranial volume of the dog applied to racial and sexual differentiation. *Acta Anat (Basel)* 1991; 142(4): 347-50.
- Roberts N, Cruz-Orive LM, Reid NMK, Brodie DA, Bourne M, Edwards RHT. Unbiased estimation of human body composition by the Cavalieri method using magnetic resonance imaging. *J Microsc* 1993; 171(3): 239-53.
- Roberts N, Garden AS, Cruz-Orive LM, Whitehouse GH, Edwards RH. Estimation of fetal volume by magnetic resonance imaging and stereology. *Br J Radiol* 1994; 67(803):1067-77.
- Roberts N, Puddephat MJ, McNulty, V. The benefit of stereology for quantitative radiology. *Br J Radiol* 2000; 73(871): 679-97.
- Rodrigues RTS, Matos WCG, Walker FM, Costa FS, Wanderley CWS, Neto JP, Faria MD. Dimensions of the cranium and of the cranial cavity and intracranial volume in goats (*Capra hircus* LINNAEUS, 1758). *J Morphol Sci* 2010; 27(1): 6-10.
- Sahin B, Aslan H, Unal B, Canan S, Bilgic S, Kaplan S, Tumkaya L. Brain volumes of the lamb, rat and bird do not show hemispheric asymmetry: A stereological study. *Image Anal Stereol* 2001; 20(1): 9-13.
- Sahin B, Emirzeoglu M, Uzun A, Incesu L, Bek Y, Bilgic S, Kaplan S. Unbiased estimation of the liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Eur J Radiol* 2003; 47(2): 164-70.
- Schofield PW, Mosesson RE, Stern Y, Mayeux R. The age at onset of Alzheimer's disease and an intracranial area measurement: A relationship. *Arch Neurol* 1995; 52(1): 95-8.
- Yılmaz O, Tuğrul T. Van kedilerinde total beyin hacminin bilgisayarlı tomografi görüntüleri kullanılarak hesaplanması. *Eurasian J Bio Chem Sci* 2019; 2(2): 42-6.



Mezbaha Atık Sularından İzole Edilen *Enterococcus* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu*

Nuri GÜNGÖR^{1, a}, Dursun Alp GÜNDOĞ^{1, b}, Candan GÜNGÖR^{2, c}, Nurhan ERTAŞ ONMAZ^{2, d}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0009-0006-8049-0987; ^b0000-0002-1581-1813; ^c0000-0002-4321-2770; ^d0000-0002-4679-6548

Sorumlu yazar: Nurhan ERTAŞ ONMAZ; E-posta: nertas@erciyes.edu.tr

Atıf yapmak için: Güngör N, Gündoğ DA, Güngör C, Ertaş Onmaz N. Mezbaha atık sularından elde edilen *Enterococcus* türlerinin moleküler karakterizasyonu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):55-64

Öz: Bu çalışmada, sığır mezbahası atık suyunun (MAS) önemli bir halk sağlığı riski yaratan antibiyotik dirençli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türlerinin çevreye salınımında olası bir kaynak olarak rolünün araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, büyükbaş hayvan mezbahalarından temin edilen 106 adet MAS örneğinden konvansiyonel metot ile izole edilen *Enterococcus* spp. suşları kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Q-PCR) ile konfirme edildi ve konvansiyonel PCR ile karakterize edildi. İzolatların antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Çalışmada MAS örneklerinden elde edilen 95 (%89.6) enterokok izolatının 33'ü (%34.7) *E. faecalis* ve 10'u (%10.5) ise *E. faecium* olarak tanımlandı. *E. faecalis* izolatlarının Quinupristin-dalfopristine, rifampin, tetrasiklin ve eritromisine karşı direnç oranları sırasıyla %90, %88, %75 ve %63 olarak belirlenirken *E. faecium* izolatlarının ilgili antibiyotiklere direnç oranları ise sırasıyla %90, %100, %80 ve %80 olarak belirlendi. Fakat, linezolid (%90), vankomisin (\geq %70) ve penisilin (>%90) *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarına karşı yüksek etkinlik gösterdi. Ayrıca *E. faecalis* izolatlarının 26'sı (%79), *E. faecium* izolatlarının tamamı (%100) çoklu antibiyotik direnci (ÇAD) gösterdi ve bu izolatların sırası ile %84'ünün ve %100'ünün ÇAD indeksleri 0.2'den yüksek idi. Sonuç olarak, analiz edilen MAS'ların tıbbi açıdan önemli antimikrobiyallere karşı yüksek oranda çoklu direnç sergileyen *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları için bir rezervuar görevi görebileceği ve bu organizmaların çevreye ve insanlara kolonizasyonunda önemli rol alabileceği tespit edildi. Bu nedenle, zengin mikrobiyotaya sahip MAS'ların halk sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etkilerin en aza indirilmesi için uygun arıtma stratejileri uygulanmalıdır.

Anahtar kelimeler: *E. faecalis*, *E. faecium*, halk sağlığı, mezbaha atık suyu

Molecular Characterization of *Enterococcus* Species Isolated from Slaughterhouse Wastewater

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the role of cattle slaughterhouse wastewater (SWW) as a possible source of the antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains that pose a significant public health risk. For this purpose, *Enterococcus* spp. strains isolated by conventional method from 106 SWW samples obtained from cattle slaughterhouses were confirmed by quantitative real-time polymerase chain reaction (Q-PCR) and characterized by conventional PCR. Their antimicrobial susceptibilities were determined with disc diffusion method. Out of the 95 (89.6%) enterococci isolates, 33 (34.7%) were identified as *E. faecalis* and 10 (10.5%) as *E. faecium*. While *E. faecalis* isolates were resistant to Quinupristin-dalfopristin, rifampin, tetracycline and erythromycin at the rates of 90%, 88%, 75% and 63%, respectively; the resistance rates of *E. faecium* isolates to the relevant antibiotics were determined as 90%, 100%, 80% and 80%, respectively. However, linezolid (90%), vancomycin (\geq 70%), and penicillin (>90%) showed high efficacy against *E. faecalis* and *E. faecium* isolates. Additionally, 26 (79%) of the *E. faecalis* isolates and all (100%) *E. faecium* isolates exhibited multiple drug resistance (MDR) and their multiple antibiotic resistance (MAR) indexes were greater than 0.2 for 84% and 100% of these isolates, respectively. In conclusion, the analyzed SWWs can serve as a reservoir for *E. faecium* and *E. faecalis* isolates that exhibit high resistance to medically significant antimicrobials, and they can play a critical role in colonization on the environment and humans. Therefore, appropriate treatment strategies should be applied to minimize the negative effects of SWWs with rich microbiota on public health and environment.

Key words: *E. faecalis*, *E. faecium*, public health, slaughterhouse wastewater

Giriş

İnsan ve hayvanların barsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunan Enterokoklar farklı çevre koşullarına

karşı yüksek toleranslarından dolayı her yerde bulunabilen (ubiküter) mikroorganizmalardır (Solaiman ve ark., 2022; Kwit ve ark., 2023). Bazı suşları probiyotik etkilerinden dolayı, bağıışıklık sistemini destekleyici faktör olarak (diyet takviyesi veya terapötik uygulama) ve ayrıca gıda endüstrisinde starter kültür olarak da kullanılırlar (Krawczyk ve ark., 2021; Kwit ve ark., 2023). Ancak fırsatçı mikroorganizmalar olarak ko-

Geliş Tarihi/Submission Date : 18.10.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 19.12.2023

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TDK-2021-11343 kodlu projeden özetlenmiştir.

nakçının bağıışıklılığının azalması durumunda bakteriyemi, endokardit, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları gibi patolojik durumlara da yol açabilir (Kwit ve ark., 2023). *Enterococcus* cinsine ait 60'tan fazla tür bilinmektedir ve *E. faecalis* ile *E. faecium* en yaygın izole edilen türler olup (Dec ve ark., 2020;

aseptik olarak steril şişeler alınarak gerçekleştirildi. Her mezbaha ziyaretinde toplanan örnekler etiketlenerek soğuk zincir altında ertesi gün laboratuvara getirilerek analizleri yapıldı. Çalışma kapsamında toplanan MAS örneklerinin ziyaret dönemleri ve kesimhanelere göre dağılımı Tablo 1'de belirtilmiştir.

Tablo 1. Çalışma süresince alınan MAS örneklerinin işletme bazında dağılımı

Ziyaret Edilen Mezbahalar	Ziyaret Dönemlerinde Alınan MAS Örnek Sayısı (n)				
	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Toplam
Mezbaha 1	13	13	13	14	53
Mezbaha 2	13	13	13	14	53
Toplam	26	26	26	28	106

Kwit ve ark., 2023) insanlardaki çoklu ilaca dirençli enterokok enfeksiyonlarının çoğunluğundan sorumludur (Güngör ve ark., 2023). Enterokoklar, penisilin, ampisilin ve sefalosporin gibi çeşitli antimikrobiyalere karşı doğal dirençli olmaları ve direnç genlerini plazmid ve transpozonlar aracılığı ile diğer gram pozitif bakterilere aktarmaları nedeni ile özellikle 1980'lerden sonra önemli nozokomiyal patojenlerden biri haline gelmişlerdir (Montealegre ve ark., 2017; Krawczyk ve ark., 2021). Bu bakteriler, biyotik ve abiyotik yüzeylerin kolonizasyonunu kolaylaştıran ve teşvik eden enterokokal yüzey proteini (*Esp*), jelatinaz ve hemolizin gibi virülens faktörlere sahiptirler (Krawczyk ve ark., 2021; Güngör ve ark., 2023). Hastane ortamında ve hayvan çiftliklerinde antibiyotiklerin tedavi ve profilaktik amaçlı kontrolsüz kullanımının, ayrıca hayvan yemlerinde katkı maddesi olarak antibiyotiklerin kullanımının Enterokoklar arasında kademeli bir direnç oluşumuyla sonuçlandığı bildirilmiştir (Hao ve ark., 2019; Ni ve ark., 2023). Ubikuter özellikte olan antibiyotik dirençli etkenin çevreye yayılmasında en etkili faktörlerden birisi de mezbaha faaliyetleri veya mezbahalardan gelen atık suyun işlenmesi ve bertaraf edilmesidir (Foyle ve ark., 2023). Artan nüfusun et ihtiyacını karşılamak amacıyla mezbahalarda artan kesimler sırasında yüksek miktarlarda atık su üretilmekte ve çevreye salınmaktadır. Enterokoklar arıtılmamış veya yetersiz arıtılmış atık sular aracılığı ile bitki örtüsünü ya da yüzey sularını kontamine ederek doğrudan veya dolaylı olarak insanlara bulaşır ve halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturur (Adegoke ve ark., 2022). Bu nedenle, bu çalışmada, Adana ili sınırları içerisinde faaliyet gösteren iki mezbahadan farklı zamanlarda toplanan mezbaha atık suyu örneklerinde *Enterococcus* spp. prevalansı ve elde edilen izolatların antibiyotik direnç profilleri değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Adana ilinde faaliyette bulunan iki büyükbaş hayvan mezbahası Nisan-Temmuz 2022 tarihleri arasında iki haftalık periyodik aralıklarla ziyaret edilerek toplam 106 adet mezbaha atık suyu (MAS) toplandı. Örnekleme, kesimi takiben sanitasyon işleminden önce ana giderden 50 mL atık su örneği

Enterococcus spp. izolasyonu

Toplanan örnekler 0.45 µL çapındaki filtreden (Corning Incorporated, Almanya) süzülerek kalıntı ve kaba partiküllerden temizlendi. Filtre edilen MAS'ın 10 mL'si 90 mL Enterococcosel Broth (Becton Dickinson, ABD) ile homojenize edildi ve 35°C'de 24 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. İnkübasyon süresi sonunda, kültürden 100 µL alınarak Enterococcosel agara (Becton Dickinson, USA) yayma plak tekniği ile ekildi ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı (Yoon ve ark., 2020). İnkübasyon sonunda üreyen koloniler morfolojik olarak incelendi. Her bir MAS örneği için besiyerinde üreyen siyah haleli bej renkli üçer adet şüpheli koloni kanlı agara (Oxoid CM0271, İngiltere) pasajlanarak saflaştırıldı. Kanlı agarda üreyen koloniler Gram boyama, katalaz testi ve %6.5 NaCl besiyerinde üreme ve eskülin hidrolizi testleri ile doğrulandıktan sonra moleküler analizlere tabi tutuldu (Alipour ve ark., 2014).

DNA ekstraksiyonu

Enterokok şüpheli izolatların toplam genomik DNA (gDNA) izolasyonu, üretici firma tarafından önerilen protokole göre Instagene Genomic DNA Extraction Kit (Bio-Rad, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışma kapsamında elde edilen gDNA'lar da araştırılan genlerin belirlenmesinde kullanılan primerler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan primerler

	Hedef Gen	Primer Dizilimi (5'-3')	Baz Büyüklüğü (bp)	Referans
Enterococcus spp.	23SRNA	GAGAAATTCCTCAACGAACCTTGC CAGTGCTTCTACCTCCATCATT	93	EPA (2015)
E. faecalis	ddl _{E. faecalis}	CACCTGAAGAAACAGGC AT- GGCTACTTCAATTTTCACG	475	Tatsing Foka ve Ateba. (2019)
E. faecium	ddl _{E. faecium}	GCAAGGCTTCTTAGAGA ATCGTGTAAGCTAACTTC	550	Dutka-Malen ve ark. (1995)
Vankomisin Direnci	vanA	GGG AAA ACG ACA ATT GC GTA CAA TGC GGC CGTTA	732	Dutka-Malen ve ark. (1995)
	vanB	ATG GGA AGC CGA TAG TC GAT TTC GTT CCT CGA CC	635	Dutka-Malen ve ark. (1995)
	vanC	GGT ATC AAG GAA ACC TC CTT CCG CCA TCA TAG CT	822	Dutka-Malen ve ark. (1995)

İdentifikasyon

MAS'tan elde edilen ve fenotipik testlerle tanımlanan *Enterococcus* spp. izolatlarının doğrulanması EPA 1611 yönteminde (EPA, 2012) belirtilen kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (q-PCR) kullanılarak yapıldı. Pozitif kontrol olarak, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi kültür koleksiyonuna ait *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatları kullanıldı. Reaksiyon karışımı, total hacim 25 µL olacak şekilde 10 µL Green Super-Mix Low ROX (Quanta Biosciences, Inc., Gaithersburg, MD, ABD), her bir primerden 0.5µL (10 pmol), 5µL DNA ve 9µL steril distile sudan oluştu. PCR koşulları, Gerçek Zamanlı PCR Tespit Sistemi (BioRad, CA, ABD) kullanılarak 95°C'de 10 dakika boyunca başlangıç aktivasyon adımını takiben, 95°C'de 15sn, 60°C'de 1 dk ve 72°C'de 1 dk'lık 40 döngüyü içeriyordu. Spesifik amplifikasyonu yorumlamak için sürekli floresans ölçümleri altında tüm numuneler için son bir erime eğrisi analizi de yapıldı. Elde edilen izolatlarda *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri DreamTaq Thermo Scientific PCR master miks karışımı kullanılarak konvansiyonel PCR ile karakterize edildi. Özetle, toplam hacim 25 µL olacak şekilde, 12.5 µL 2x Dream Taq Green PCR Master Mix (Thermo, ABD), 6 µL nükleaz içermeyen su, her primerden (25 pmol) 1 µL (Tablo 2) ve 2 µL DNA olacak şekilde PCR reaksiyon karışımları hazırlandı. PCR Reaksiyonu, 94°C'de 3 dk'lık başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 1 dk, 54°C'de 1 dk ve 72°C'de 1 dk'lık 30 döngüyü takiben 72°C'de 7 dk'lık son uzama aşamalarında gerçekleştirildi.

İzolatlarda vankomisin direnç genlerinin araştırılması

Çalışmada elde edilen izolatlarda vankomisin direnç genleri ile ilgili olarak *vanA*, *vanB*, *vanC1* ve *vanC2* genlerinin varlığı Dutka-Malen ve ark. (1995)'nin kullandığı metoda göre PCR ile analiz edildi. Bu amaçla PCR reaksiyon karışımı izolatların identifikasyonunda olduğu gibi 2xDream Taq Green PCR Master Mix (Thermo, ABD) kullanılarak hazırlandı. PCR reaksiyonu, 94°C'de 2 dakika boyunca başlangıç denatüras-

yon basamağı, ardından 30 döngü 94°C'de 2dk, 54°C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk ve 72°C'de 10 dk son uzatma aşamasından oluştu.

Çalışma kapsamında PCR reaksiyonu sonucu elde edilen ürünleri %1.5'luk agaroz jel üzerinde yürütüldü ve jel görüntüleme cihazında (Biorad, Gel Doc XR, ABD) belirlenerek değerlendirildi.

İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

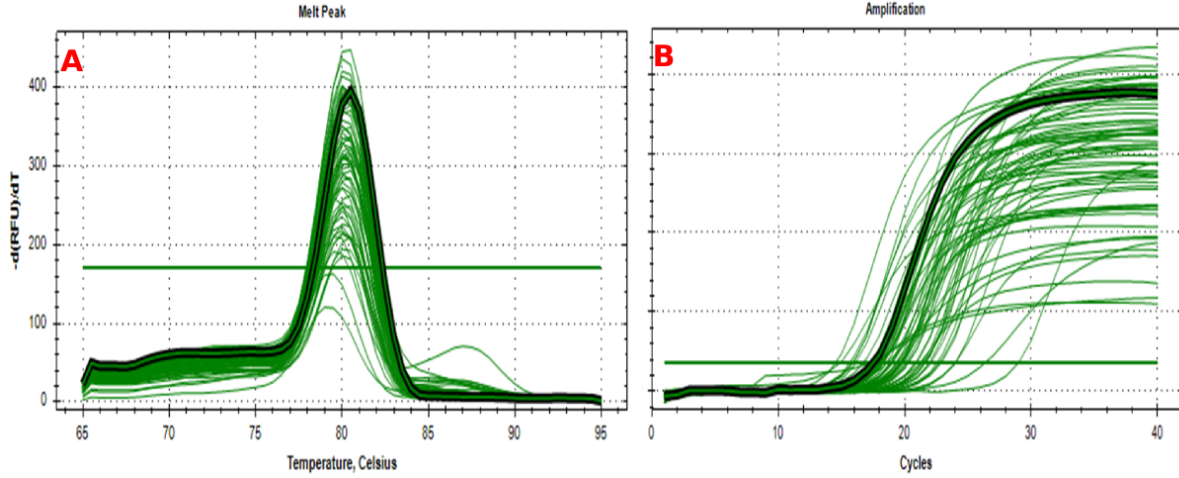
Çalışmada elde edilen enterokok izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları klasik antibiyotik diskleri kullanılarak (Oxoid, İngiltere) disk difüzyon metodu ile belirlendi. Bu amaçla, vankomisin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), linezolid (30 µg), tetrasiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), kloramfenikol (30µg), rifampin (5 µg), quinupristin-dalfopristin (15 µg) ve penisilin (10 IU) antibiyotik diskleri test edildi. Antibiyotik duyarlılık testlerine göre belirlenen zon çapları CLSI'e göre değerlendirildi (CLSI, 2023).

Çoklu antibiyotik direnci (ÇAD) indeksinin belirlenmesi

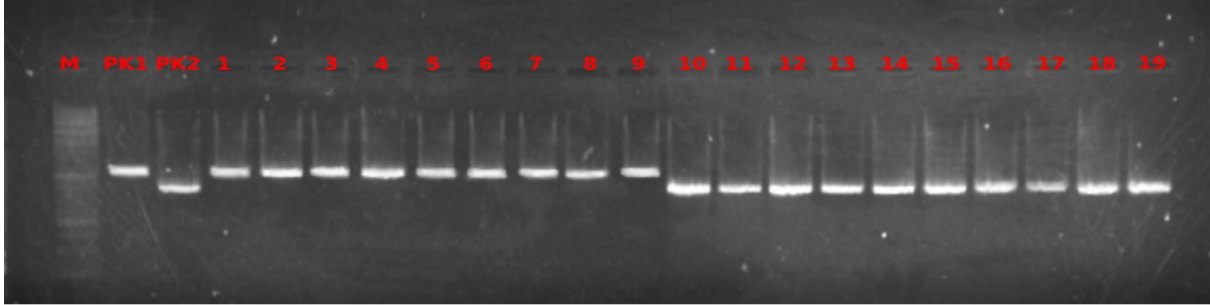
ÇAD indeksi, test izolatların her birinin dirençli olduğu antibiyotik sayısının çalışmada kullanılan toplam antibiyotik sayısına oranı olarak hesaplandı (Mir ve ark., 2022).

Bulgular

Çalışma kapsamında ziyaret edilen mezbahalardan temin edilen 106 MAS örneğinin 95'i (%89.6) yapılan konvansiyonel ve qPCR analizleri sonucunda *Enterococcus* spp. pozitif olarak belirlendi. Yapılan qPCR analizinde *Enterococcus* spp. pozitif izolatların DNA'ları kullanılan primerler ile 14.47-28.95'a kadar Cq değerleri ile başarılı bir şekilde amplifiye edildi (Resim 1A). PCR ürününü analiz edilen izolatların genomik DNA'larının erime sıcaklığı 79.5-80.5°C aralığında belirlendi (Resim 1B).



Şekil 1. SYBR Green qPCR tahlili ile tespit edilen amplifikasyon (A) ve erime eğrileri (B).



Şekil 2. Çalışma kapsamında analiz edilen örneklerden ele edilen izolatlarının PCR görüntüsü. **M:** Marker (50 bp), **PK1:** Pozitif kontrol (*Enterococcus faecium*: 550 bp), **PK2:** Pozitif kontrol (*Enterococcus faecalis*: 475 bp), **1-9:** *E. faecium* pozitif izolatlar, **10-19:** *E. faecalis* pozitif izolatlar.

Elde edilen izolatların 33'ü (%34.7) *E. faecalis*, 10'u (%10.5) ise *E. faecium* (Resim 2) olarak tanımlanırken kalan 52 (%54.7) izolat tür düzeyinde tanımlanamadı. İzole edilen enterokok türlerinin ziyaret edilen mezbahalara göre dağılımı Tablo 3'te belirtildi.

75 ve *E. faecium* için %80) ve eritromisine (*E. faecalis* için %63 ve *E. faecium* için %80) yüksek oranda direnç gösterdiği tespit edildi. Siprofloksasine direnç ise *E. faecium*'da yüksek iken (%70), *E. faecalis*'de nispeten daha düşüktü (%27). Çalışmada elde edilen

Tablo 3. Enterokok izolatlarının ziyaret edilen mezbahalara göre dağılımı

Ziyaret edilen mezbaha	İzole edilen <i>Enterococcus</i> spp. sayısı (%)	<i>E. faecalis</i> (%)	<i>E. faecium</i> (%)
Mezbaha 1 (n=53)	49 (92.4)	18 (36)	7 (14)
Mezbaha 2 (n=53)	46 (86.7)	15 (32)	3 (6)
Toplam (n=106)	95 (89.6)	33 (34.7)	10 (10.5)

E. faecalis izolatlarının 31'i (%94), *E. faecium* izolatlarının tamamı (%100) test edilen antibiyotiklerden en az birine direnç gösterdi (Tablo 4). *E. faecalis* izolatlarının 26'sının (%79), *E. faecium* izolatlarının tamamının (%100) çalışmada test edilen antibiyotiklerden üç ya da daha fazlasına karşı direnç sergileyerek çoklu antibiyotik (ÇAD) direnci gösterdiği belirlendi. İzolatların Quinupristin-dalfopristine (*E. faecalis* ve *E. faecium* için %90), rifampine (*E. faecalis* için %88 ve *E. faecium* için %100), tetrasikline (*E. faecalis* için %

E. faecalis *E. faecium* izolatlarının vankomisine fenotipik olarak sırasıyla %3 ve %20 oranlarında dirençli oldukları belirlendi (Tablo 4), fakat bu izolatlarda vankomisin direnci ile ilgili *vanA*, *vanB* ya da *VanC* genlerinden hiçbiri tespit edilemedi. Ayrıca, *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının ÇAD indeksi sırasıyla 0.2-0.6 ve 0.3-0.6 aralığında olduğu belirlendi (Tablo 5).

Tablo 4. Enterokok izolatlarının antibiyotik direnç profilleri

Antibiyotik	Disk Difüzyon Zon Çapları (mm) (CLSI 2023)										E. faecalis n=33(%)										E. faecium n=10(%)										Enterococcus spp. n=52(%)																																																																													
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R																																																																								
CIP	≥ 21	16-20	≤ 15	7(21)	17(51)	9(27)	0	3(30)	7(70)	27(52)	20(38)	5(9)	≥ 23	14-22	≤ 13	0	12(36)	21(63)	0	2(20)	8(80)	24(46)	21(40)	7(13)	≥ 19	15-18	≤ 14	8(24)	0	25(75)	2(20)	0	8(80)	39(75)	3(6)	10(19)	≥ 19	16-18	≤ 15	2(6)	1(3)	30(90)	1(10)	0	9(90)	18(35)	3(6)	31(59)	≥ 20	17-19	≤ 16	1(3)	3(9)	29(88)	0	0	10(100)	29(56)	1(2)	22(42)	≥ 15	-	≤ 14	31(94)	0	2(6)	10(100)	-	-	48(92)	-	4(7)	≥ 17	15-16	≤ 14	30(90)	2(6)	1(3)	7(70)	1(10)	2(20)	-	-	-	≥ 18	13-17	≤ 12	15(45)	2(6)	16(48)	5(50)	0	5(50)	47(90)	2(4)	3(5)	≥ 23	21-22	≤ 20	30(90)	3(9)	0	9(90)	1(10)	0	49(94)	3(6)	0

CIP: Siprofloksasin, **E:** Eritromisin, **TE:** Tetrasiklin, **QD:** Quinupristin-Dalfopristine, **RA:** Rifampin, **P:** Penisilin, **VA:** Vankomisin, **CHL:** Kloramfenikol, **LNZ:** Linezolid, **S:** Duyarlı, **I:** Orta derece dirençli, **R:** Dirençli

Tablo 5. Enterekok izolatlarının antibiyotik direnç profilleri ve ÇAD indeksleri

İzolat Kodu	İzole edilen Enterokok Türü	Antibiyotik Direnç Profili ^a	ÇAD İndeksi=a/b
1	<i>E. faecalis</i>	QD, RA	0.22
2	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, RA, CHL	0.55
3	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, CHL, P	0.55
4	<i>E. faecalis</i>	TE, QD, RA	0.33
5	<i>E. faecalis</i>	TE, QD, RA	0.33
6	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA	0.44
7	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA	0.55
8	<i>E. faecalis</i>	TE, QD, RA	0.33
9	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
10	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
11	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
12	<i>E. faecium</i>	E, QD, RA	0.33
13	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
14	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
15	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
16	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
17	<i>E. faecalis</i>	QD, RA	0.22
18	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA	0.55
19	<i>E. faecium</i>	E, CIP, RA, VA	0.44
20	<i>E. faecalis</i>	TE, QD, RA	0.33
21	<i>E. faecalis</i>	TE, CIP, QD, RA, VA	0.55
22	<i>E. faecalis</i>	QD, RA	0.22
23	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
24	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
25	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
26	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA	0.55
27	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66
28	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, CHL	0.44
29	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
30	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
31	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA	0.44
32	<i>E. faecalis</i>	QD, RA	0.22
33	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA	0.44
34	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, QD, RA, CHL	0.55
35	<i>E. faecium</i>	TE, QD, RA	0.33
36	<i>E. faecalis</i>	E, QD, RA, CHL	0.44
37	<i>E. faecalis</i>	CIP, E, TE, QD, RA, P	0.66
38	<i>E. faecalis</i>	QD, RA	0.22
39	<i>E. faecalis</i>	E, TE, QD, RA, CHL	0.55
40	<i>E. faecium</i>	TE, QD, RA, CHL, VA	0.55
41	<i>E. faecium</i>	CIP, E, TE, QD, RA, CHL	0.66

a: bir izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısı, **b:** test edilen toplam antibiyotik sayısı, **CIP:** Siprofloksasin, **E:** Eritromisin, **TE:** Tetrasiklin, **QD:** Quinupristin-Dalfopristine, **RA:** Rifampin, **P:** Penisilin, **VA:** Vankomisin, **CHL:** Kloramfenikol

Tartışma ve Sonuç

Mezbaha atık suları, hayvancılıkla ilişkili ve klinik önemi olan çoklu ilaca dirençli bakteriler için önemli

bir rezervuardır ve çevreye salınımlarıyla birlikte birçok patojen bakterinin kolonizasyonu (örn. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp. gibi genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobac-*

teriaceae, *Listeria* spp., metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve vankomisine dirençli Enterokoklar insan ve çiftlik hayvanları için risk oluşturabilir (Sib ve ark., 2020). İşlenmiş hayvan sayısının fazla olması nedeniyle, mezbahalardaki farklı üretim aşamalarından gelen sular, ESKAPE (*E. faecium*, *S.aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) bakterisinin kaynaklarını temsil etmektedir. Bu patojenlerden *E. faecium*, mezbaha ortamında ve mezbaha atık sularında bulunabilir (Güngör ve ark., 2023) ve arıtılmamış veya yetersiz arıtılmış atık sularla kirlenen sulama suları aracılığı ile önemli halk sağlığı sorunlarına neden olabilir (Igbinosa ve Raje, 2019; Hembach ve ark., 2022).

Bu çalışma kapsamında analiz edilen MAS örneklerinin %89.6 'sının *Enterococcus* spp. ile kontamine olduğu belirlendi. Elde edilen izolatların % 34.7'si *E. faecalis*, %10.5'i ise *E. faecium* olarak tanımlandı. Türler arasındaki oransal fark, *E. faecalis*'in diğer Enterokok türlerine oranla olumsuz çevre koşullarını (safra tuzları, dezenfektanlar, pH değişiklikleri ve yüksek ısı gibi) tolere etme yetenekleri daha fazla olması ile açıklanabilir (Hancock ve Gilmore 2000). Benzer şekilde daha önce yapılan çalışmalar MAS örneklerinde *E. faecalis* izolasyon oranının *E. faecium*'a göre daha fazla olduğunu göstermektedir (Güngör ve ark., 2023; Igbinosa ve ark., 2021; Olawale ve ark., 2020; Savin ve ark., 2021). Çalışma kapsamında ziyaret edilen işletmelerin kesim proseslerinde kullanılan sistemlerin yarı otomatik olduğu, abdomen organlarının manuel olarak görevli personel tarafından çıkarıldığı, özofagus ve rektum halkası kullanmadıkları, bu nedenler ile rumen ve barsak içeriğinin zaman zaman doğrudan mezbaha atık suyuna karıştığı gözlemlendi. Bu durum çalışmanın gerçekleştirildiği mezbahalarda, kesim prosesi süresince *Enterococcus* spp. haricinde bir çok patojen bakterinin atık suya geçme suretiyle toprağa, bitkiye, insan ve hayvanlara kolonize olma potansiyelini ortaya koymaktadır. Genel olarak, çalışmada elde edilen *E. faecium* izolatlarının *E. faecalis* izolatları ile kıyaslandığında test edilen antibiyotiklere daha fazla direnç gösterdiği belirlendi. *E. faecium* izolatlarının tamamı ve *E. faecalis* izolatlarının ise %79'u ÇAD idi. Benzer şekilde, daha önce yapılan çalışmalarda atık sularda yüksek oranlarda ÇAD Enterokoklar rapor edilmiştir (Gotkowska-Płachta, 2021; Jannati ve ark., 2023).

Ayrıca, mevcut çalışmada *E. faecium* izolatlarının tamamı (%100) ve *E. faecalis* izolatlarının 26'sı (% 84) 0.2'den yüksek bir ÇAD indeksi (0.3-0.6 aralığında) gösterirken, 5 (%16) *E. faecalis* izolatının ÇAD indeksi ise 0.2 olarak belirlendi. Antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı bir kaynaktan gelen mikroorganizmalarda ÇAD indeksinin 0.2'den büyük, antibiyotikler seyrek kullanıldığı ya da hiç kullanılmadığı kaynaklarda ise bu indeksin 0.2'ye eşit veya daha küçük olduğu

bildirilmiştir (Mir ve ark., 2022). Bu yüzden, çalışmamız MAS'tan elde edilen izolatların çoğunluğunun antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı kaynaklardan elde edildiğini ve dolayısıyla gıda güvenliği, çevre ve halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada analiz edilen izolatlar en yüksek oranda Quinupristin-dalfopristin (%90) ve rifampine (*E. faecalis* için %88 ve *E. faecium* için %100) karşı direnç sergiledi. Daha önce yapılan çalışmalarda çeşitli kaynaklardan izole edilen *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları arasında Quinupristin-dalfopristin direnci % 10-%52 (Carey ve ark., 2016; Xuan ve ark., 2021; Solaiman ve ark., 2022), rifampin direnci %60-%100 (Adeniji ve ark., 2021; Solaiman ve ark., 2022; Jannati ve ark., 2023) arasında rapor edilmiştir. Quinupristin-dalfopristin bir streptogramin kombinasyonudur ve insanlarda vankomisine dirençli *E. faecium* enfeksiyonları için önemli bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Streptogramin içeren preparatlar, hayvan yemlerinde uzun yıllardan beri bir büyüme destekleyicisi olarak yaygın kullanılmaktadır (Xuan ve ark., 2021); bu durum, çalışma kapsamında mezbaha atık sularından elde edilen izolatlarda Quinupristin-dalfopristin direncinin yüksek olmasının nedeni olabilir. Rifampisin, enterokokların neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için rutin olarak kullanılmasa da türlerin genellikle bu antimikrobioyale karşı kazanılmış direnç gösterdiği bildirilmiştir (Paschoalini ve ark., 2023).

Mevcut çalışmada, eritromisin ve tetrasikline karşı enterokok türlerinde belirlenen direnç profilinin (%63-%80) daha önce yapılan çalışma sonuçları uyumlu olduğu gözlemlendi (Zaheer ve ark., 2020; Xuan ve ark., 2021; Mwikuma ve ark., 2023). Fakat, Kim ve ark. (2021) elde ettikleri enterokok izolatlarında eritromisin direnci bu çalışma sonuçlarından farklı olarak oldukça düşüktü. Bu çalışmada elde edilen izolatlarda eritromisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine yüksek oranda direnç sergilemesi, muhtemelen bu antibiyotiklerin çalışmanın gerçekleştirildiği bölgede veteriner hekimliği alanında tedavi ve profilaktik amaçlı yaygın ve kontrolsüz kullanımı ya da yem katkı maddesi olarak bilinçsiz uygulamaların bir yansıması olabilir. Önceki çalışmalar penicillin ve ampisiline (Gagetti ve ark., 2019; Paschoalini ve ark., 2023) çoğunlukla *E. faecium*'un, *E. faecalis*'ten daha dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda *E. faecalis* izolatlarının penisiline %6 oranında direnç sergilerken *E. faecium* izolatlarının tamamı duyarlı olarak belirlendi. Türlerle bağlı olarak Enterokokların, beta-laktam antibiyotiklere zayıf bağlanan düşük afiniteli penisilin bağlayıcı proteinleri (PBP'ler) eksprese ederek penisilinlere karşı içsel direnç veya azalmış doğal duyarlılık sergiledikleri bildirilmiştir (Paschoalini ve ark., 2023).

Daha önce dünyanın birçok yerinde gerçekleştirilen

diğer geniş ölçekli araştırmaların sonuçlarına benzer şekilde, bu çalışmada *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının linezolid ve vankomisine karşı duyarlı olduğu belirlendi (Maleki ve ark., 2021; Xuan ve ark., 2021; Jannati ve ark., 2023; Paschoalini ve ark., 2023). Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde etkili antibiyotikler olarak önemini koruyan linezolid ve vankomisine karşı direnç gıda ve hayvan kökenli enterokoklarda nadir olarak rapor edildiği bildirilmiştir (Xuan ve ark., 2021).

Sonuç olarak, bu çalışma bulguları Adana ilindeki büyükbaş hayvan mezbahalarına ait atık sularında *E. faecium* ve *E. faecalis*'in prevalansı ve bu izolatların antimikrobiyal direncine genel bir bakış sağladı. Çalışmanın gerçekleştirildiği mezbaaha atık sularının *E. faecium* ve *E. faecalis* ile kontamine olduğu ve izolatların linezolid ve vankomisin dışında tıbbi açıdan önemli antimikrobiyallere karşı yüksek çoklu direnç sergilediği gözlemlendi. Bulgularımız, mezbaaha atık sularının antibiyotiğe dirençli enterokoklar için bir rezervuar görevi görebileceğini ve bu organizmaların çevre-tarım ve dolayısı ile insanlara kolonizasyonunda etkili olabileceğini göstermektedir. Enterokoklar arıtılmamış veya yetersiz arıtılmış atık suların tarımsal sulama suyuna ya da içme sularına karışması ile kolayca gıda zincirine yayılabilir ve gıda güvenliği sorunlarına neden olabilir. Ayrıca, kontamine içme suyunun ya da gıdaların tüketilmesinin ardından potansiyel olarak insan ve hayvan sağlığı açısından uzun vadeli bir tehdit oluşturabilir. Bu nedenle, zengin mikrobiyotaya sahip MAS'ların halk sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etkilerin en aza indirilmesi için etkin arıtma stratejileri uygulanmalarının gerektiği sonucuna varıldı. Mezbahalarda kesim sistemlerini tam otomatik hale getirecek ekipman yatırımı yapılması, personelin rumen içeriğinin ve dışkının dışarı ile temasını kesecek halka kullanımına teşvik edilmesi ve gerekli eğitimleri alması Enterokok ve diğer zoonotik patojenlerin kontaminasyon riskini azaltacaktır. Sığır mezbahaları atık sularının antibiyotik dirençli patojen enterokokların çevre yayılımındaki olası rolü hakkında bilgimiz dahilinde veri eksikliği bulunmaktadır. Dolayısıyla mezbaaha atık sularındaki ÇAD enterokok türlerinin temsil ettiği halk sağlığı tehdidinin büyüklüğünün değerlendirilmesi, besi hayvanlarında antibakteriyel ilaç kullanım sıklığının araştırılmasının yanısıra atık su izolatları ile gıda ve klinik izolatlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için ileri moleküler çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TDK-2021-11343 proje kodu ile desteklenmiştir. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Adegoke AA, Madu CE, Reddy P, Stenström TA, Okoh AI. Prevalence of vancomycin resistant *Enterococcus* in wastewater treatment plants and their recipients for reuse using PCR and MALDI-ToF MS. *Front Environ Sci* 2022; 9: 797992.
- Adeniji OO, Sibanda T, Okoh AI. Molecular detection of antibiotic resistance and virulence gene determinants of *Enterococcus* species isolated from coastal water in the Eastern Cape Province, South Africa. *Int J Environ Stud* 2021; 78(2): 208-27.
- Alipour M, Hajiesmaili R, Talebjannat M, Yahyapour Y. Identification and antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from the river and coastal waters in northern Iran. *Sci World J* 2014: 287458.
- Carey SA, Goldstein RER, Gibbs SG, Claye E, He X, Sapkota AR. Occurrence of vancomycin-resistant and-susceptible *Enterococcus* spp. in reclaimed water used for spray irrigation. *Environ Res* 2016; 147: 350-5.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100-performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Thirty Third Edition 2023.
- Dec M, Stępień-Pyśniak D, Gnat S, Fratini F.; Urban-Chmiel R, Cerri D, Winiarczyk S, Turchi B. Antibiotic susceptibility and virulence genes in *Enterococcus* isolates from wild mammals living in Tuscany, Italy. *Microb Drug Resist* 2020; 26: 505-19.
- Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptides resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(5): 24-7.
- Foyle L, Burnett M, Creaser A, Hens R, Keough J, Madin L, Price R, Smith H, Stone S, Kinobe RT. Prevalence and distribution of antimicrobial resistance in effluent wastewater from animal slaughter facilities: A systematic review. *Environ Pollut* 2023; 318: 120848.
- Gagetti P, Bonofiglio L, García Gabarrot G, Kaufman S, Mollerach M, Vigliarolo L, von Specht M, Toresani I, Lopardo HA. Resistencia a los β -lactámicos en enterococos. *Rev Argent Microbiol* 2019; 51(2): 179-83.
- Gotkowska-Płachta, A. The prevalence of virulent and multidrug-resistant enterococci in river water and in treated and untreated municipal and hospital wastewater. *Int J Environ Res Public Health* 2021; 18(2): 563.
- Güngör C, Gündoğ D.A., Onmaz NE. (2023). Mezbaaha ortamından izole edilen *Enterococcus faecalis*

- izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitesi ve biyofilm ile ilişkili virülans genlerin varlığı. *Bozok Vet Sci* 2023; 4(1): 12-7.
- Hancock LE, Gilmore MS. Pathogenicity of enterococci. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI, eds. In: *Gram-Positive Pathogens*. Washington DC: ASM Press, 2000; pp. 251-8.
- Hao W, Shan X, Li D, Schwarz S, Zhang SM, Li XS, Du XD. Analysis of a *poxtA*- and *optrA*-co-carrying conjugative multiresistance plasmid from *Enterococcus faecalis*. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74: 1771-5.
- Hembach N, Bierbaum G, Schreiber C, Schwartz T. Facultative pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes in swine livestock manure and clinical wastewater: A molecular biology comparison. *Environ Poll* 2022; 313: 120128.
- Igbinosa IH, Rajé OC. Characterization of *Enterococcus* species isolated from abattoir environment in Benin City, Nigeria. *Ife J Sci* 2019; 21(3): 81-95.
- Igbinosa EO, Beshiru A, Odjajare EEO. Diversity, antimicrobial characterization and biofilm formation of enterococci isolated from aquaculture and slaughterhouse sources in Benin City, Nigeria. *Ife J Sci* 2021; 22: 51-63.
- Jannati E, Khademi F, Manouchehrifar M, Maleki D, Amirmozaffari N, Sadat Nikbin V, Arzanlou M. Antibiotic resistance and virulence potentials of *E. faecalis* and *E. faecium* in hospital wastewater: A case study in Ardabil, Iran. *J Water and Health* 2023; 21(9): 1277-90.
- Kim MH, Moon DC, Kim SJ, Mechesso AF, Song HJ, Kang HY, Choi JH, Yoon SS, Lim SK. Nationwide surveillance on antimicrobial resistance profiles of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Isolated from healthy food animals in South Korea, 2010 to 2019. *Microorganisms* 2021; 9(5): 925.
- Krawczyk B, Wityk P, Gałęcka M, Michalik M. The many faces of *Enterococcus* spp. commensal, probiotic and opportunistic pathogen. *Microorganisms* 2021; 7(9): 1900.
- Kwit R, Zając M, Śmiałowska-Węglińska A, Skarżyńska M, Bomba A, Lalak A, Skrzypiec E, Wojdat D, Koza W, Mikos-Wojewoda E. Prevalence of *Enterococcus* spp. and the whole-genome characteristics of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from free-living birds in Poland. *Pathogens* 2023; 12(6): 836.
- Maleki D, Manouchehrifar M, Kheljan MN, Mossavi SH, Jannati E, Doghaheh HP, Teimourpour R, Khademi F, Arzanlou M. Vancomycin-resistant *Enterococcus* species: antimicrobial resistance and virulence genes profile. *Gene Rep* 2021; 25: 101338.
- Mir R, Salari S, Najimi M, Rashki A. Determination of frequency, multiple antibiotic resistance index and resistotype of *Salmonella* spp. in chicken meat collected from southeast of Iran. *Vet Med Sci* 2022; 8(1): 229-36.
- Montealegre MC, Roh JH, Rae M, Davlieva MG, Singh KV, Shamoo Y, Murray BE. Differential penicillin-binding protein 5 (PBP5) levels in the *Enterococcus faecium* clades with different levels of ampicillin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(1): e02034-16.
- Mwikuma G, Kainga H, Kallu SA, Nakajima C, Suzuki Y, Hang'ombe BM. Determination of the prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* associated with poultry in four districts in Zambia. *Antibiotics* 2023;12(4): 657.
- Ni J, Long X, Wang M, Ma J, Sun Y, Wang W, Yu M, Yang H, Pan D, Tang B. Transmission of linezolid-resistant *Enterococcus* isolates carrying *optrA* and *poxtA* genes in slaughterhouses. *Front Sustain Food Syst* 2023; 7: 1179078.
- Olawale SI, Busayo OOM, Olatunji OI, Mariam M, Olayinka OS. Plasmid profiles and antibiotic susceptibility patterns of bacteria isolated from abattoirs wastewater within Ilorin, Kwara, Nigeria. *Iranian J Microbiol* 2020; 12(6): 547.
- Paschoalini BR, Nuñez KVM, Maffei JT, Langoni H, Guimarães FF, Gebara C, Freitas NE, Santos VG, Fidelis CD, Kappes R, Gonçalves MC, Silva NCC. The emergence of antimicrobial resistance and virulence characteristics in *Enterococcus* species isolated from bovine milk. *Antibiotics* 2023; 12(8): 1243.
- Savin M, Bierbaum G, Kreyenschmidt J, Schmithausen RM, Sib E, Schmogger S, Kasbohrer A, Hammerl JA. Clinically relevant *Escherichia coli* isolates from process waters and wastewater of poultry and pig slaughterhouses in Germany. *Microorganisms* 2021; 9(4): 698.
- Sib E, Lenz-Plet F, Barabasch V, Klanke U, Savin M, Hembach N, Bierbaum G. Bacteria isolated from hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles. *Sci Total Environ* 2020; 746: 140894.
- Solaiman S, Patterson R, Davey K, Katz Y, Payne-Sturges D, Sapkota AR, Micallef SA. Effects of season and water type on the distribution and anti-

microbial resistance of *Enterococcus faecalis* and *Ent. faecium* from surface and reclaimed water. J Appl Microbiol 2022; 133(2): 477-87.

US Environmental Protection Agency. Method 1611.1: Enterococci in water by TaqMan quantitative polymerase chain reaction (qPCR). EPA-820-R-15-008. US, 2015.

Xuan H, Yao X, Pan R, Gao Y, Wei J, Shao D, Liu K, Li Z, Qiu Y, Ma Z, Li B, Xia L. Antimicrobial resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates of swine origin from eighteen provinces in China. J Vet Med Sci 2021; 83(12): 1952-8.

Yoon S, Kim YB, Seo KW, Ha JS, Noh EB, Lee YJ. Characteristics of linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* isolates from broiler breeder farms. Poult Sci 2020; 99: 6055-61.

Zaheer R, Cook SR, Barbieri R, Goji N, Cameron A, Petkau A, McAllister TA. Surveillance of Enterococcus spp. reveals distinct species and antimicrobial resistance diversity across a One-Health continuum. Sci Reports 2020; 10 (1): 3937.



Histological and Immunohistochemical Examination in Testicular Tissue of Diabetic Rats Treated with Dandelion (*Taraxacum officinale*) Extract

Şükran YEDİEL ARAS^{1,a}

¹Kafkas University, Faculty of Health Sciences Department of Midwifery, Kars-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0002-3267-5251

Corresponding author: Şükran YEDİEL ARAS; E-mail: s.yediel@hotmail.com

How to cite: Yediel Aras Ş. Histological and immunohistochemical examination in testicular tissue of diabetic rats treated with dandelion (*Taraxacum officinale*) extract. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2024; 21(1):65-71

Abstract: The aim of this study was to evaluate the changes induced in testicular tissue by administration of dandelion (*Taraxacum officinale*) extract and its effects on the release of enzymatic antioxidants SOD-2 by immunohistochemical methods in rats with experimental diabetes. Degenerative changes in the seminiferous tubule structure were observed in the testicular sections of the diabetes group. Separations between the basement membrane and the seminiferous epithelium, disruptions in the structure and localization of spermatogenic cells toward the lumen of the seminiferous tubules, thickening of the basement membrane and tunica albuginea, changes in the shape of Sertoli cells, and shrinkage of the nucleus of Leydig cells were observed. While no immunopositivity was observed in spermatogonium and primary spermatocytes in the diabetes group, weak SOD-2 immunoreactivity was observed in other cells of the spermatogenic series and moderate SOD-2 immunoreactivity was observed in the diabetes+dandelion group. In conclusion, it was found that histopathological changes occurred in the testicular tissue and SOD-2 immunoreactivity decreased in diabetes, a chronic metabolic disease. It was concluded that dandelion administration may have beneficial effects on decreased SOD-2 immunoreactivity.

Keywords: Dandelion, diabetes, SOD-2, testicular

Karahindiba (*Taraxacum officinale*) Ekstraktı Uygulanan Diyabetik Ratların Testis Dokusunda Histolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler

Öz: Bu çalışma deneysel diyabet oluşturulan ratlarda Karahindiba (*Taraxacum officinale*) ekstraktı uygulamasının testis dokusunda meydana getirdiği değişimleri ve enzimatik antioksidanlardan SOD-2 salınımı üzerindeki etkilerini immunohistokimyasal yöntemlerle ile değerlendirmek amacı ile yapıldı. Diyabet grubu testis kesitlerinde seminifer tübül yapısında yer yer dejeneratif değişiklikler izlendi. Bazal membran ile tübül epiteli arasında ayrışmalar, tübül lümenine doğru spermatogenik hücrelerin yapısında ve yerleşiminde bozulmalar, bazal membran ve tunika albugineada kalınlaşmalar, sertoli hücrelerinde şekil değişikliği ve leyding hücre çekirdeğinde küçülmeler olduğu belirlendi. Diyabet grubunda spermatogonyumlar ve primer spermatositlerde immun pozitiflik gözlenmezken, spermatogenik seriye ait diğer hücrelerde zayıf, diyabet+karahindiba grubunda orta derecede SOD-2 immunoreaktivitesi gözlemlendi. Sonuç olarak kronik metabolik bir hastalık olan diyabet hastalığında testis dokusunda histopatolojik değişimlerin meydana geldiği ve SOD-2 immunoreaktivitesinin azaldığı belirlendi. Karahindiba uygulamasının azalmış olan SOD-2 immunoreaktivitesi üzerinde olumlu etkileri olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Diyabet, karahindiba, SOD-2, testis

Introduction

The testis are a pair of exocrine organs with an average weight of 12-15 g, secreting holocrine type secretion. It is generally reported that the right testicle is larger and heavier than the left testicle (Krause, 2005). There are approximately 20-1000 seminiferous tubules in each testicle. There are two types of cells in the structure of seminiferous tubules. These are spermatogenic (germ) cells and Sertoli (supporting) cells. Another type of cell found in the interstitial space (interstitial connective tissue) between the seminiferous tubules are Leydig cells.

These cells are responsible for testosterone production and also support spermatogenesis. Leydig cells are round shaped cells with pale cytoplasm and euchromatic nuclei (Dongmei, 2011). Diabetes mellitus (DM), defined as a chronic disease, occurs when the pancreas is unable to produce insulin or the insulin produced cannot be used effectively. According to the 2019 data of the International Diabetes Federation (IDF), the number of adults with DM worldwide is reported to be 463 million. It is estimated that this number may increase and reach up to 700 million in the 2045s. Population growth, aging, change in lifestyle brought about by urbanization, increase in obesity and decrease in physical activity are among the main causes of diabetes (International Diabetes Federation, Diabetes atlas, 2019). Although it was

thought that diabetes did not have a significant effect on the male reproductive system, this view has changed as a result of studies. It has been reported that testosterone level, sperm count and motility, and testicular weight are decreased in men with DM, histological changes in testicular tissue cells occur and there are findings of abnormal spermatogenesis (Yigiturk et al., 2017; Ersoy and Kizilay, 2018; Oroojan et al., 2021). In addition, it has been reported that apoptosis increases in diabetic testicular tissues and therefore impaired spermatogenesis occurs (Ersoy and Kizilay, 2018; Oroojan et al., 2021). While it has been suggested that the subfertility rate in diabetic men is 51% (La Vignera et al., 2009), it was reported that the infertility rate was 35% in a study conducted on 857 male individuals with type 2 diabetes (Bener et al., 2009).

The dandelion plant belongs to the genus *Taraxacum* and is a member of the *Asteraceae* family. In addition to being used by Arab doctors for liver and spleen disorders (Sari et al., 2020), dandelion has also been used in Chinese medicine in the treatment of diseases such as upper respiratory tract infections, hepatitis, bronchitis and pneumonia by mixing with other herbs (Martinez et al., 2015). Molecules that prevent oxidation of other molecules in the tissue are called antioxidants (Sies, 1997). Antioxidants are divided into two as enzymatic and non-enzymatic (Sharma et al., 2012). Superoxide dismutase (SOD) is included in enzymatic antioxidants. SOD is an important enzyme for the antioxidant defense system and catalyzes the dismutation of superoxide radical and converts two superoxide anions into molecular oxygen and H₂O₂ (Fridovich, 1975). The aim of this study was to investigate the changes induced by dandelion (*Taraxacum Officinale*) administration in the testicular tissue of rats with experimental diabetes mellitus and its effects on the release of antioxidant enzymes SOD-2 by immunohistochemical methods.

Material and Methods

Material

Approval for the study was obtained from Kafkas University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision No: KAÜ HADYEK/2023-136). In the study, 28 3-month-old male *Sprague Dawley* rats were used. The rats were housed in standard cages at an ambient temperature of 22±2°C, 12 hours of light and 12 hours of darkness and fed ad-libitum.

Methods

In the study, 4 groups were formed from randomly selected rats with 7 rats in each group. Control Group: No application was made. Dandelion Group: Rats in this group were administered 2.4 g/kg dandelion extract by oral gavages for 14 days. Diabetes Group: Streptozotocin (STZ) (dissolved in 50 ml citric

acid + 40 ml disodium hydrogen phosphate buffer solution and pH: 4.5) was administered 50 mg/kg i.p. as a single dose. Diabetes+Dandelion Group: Streptozotocin (STZ) (dissolved in 50 ml citric acid + 40 ml disodium hydrogen phosphate buffer solution and pH: 4.5) 50 mg/kg i.p. and after diabetes was induced, 2.4 g/kg dandelion extract was administered by oral gavages for 14 days. Blood samples were taken from the tail vein of rats fasted for 8 hours before the start of the study to determine fasting blood glucose levels using a glucometer (Yasee, GLM-76, Taiwan). Blood glucose levels of rats fasted for 8 hours 72 hours after STZ administration were measured and those with glucose levels of 200 mg/dL were included in the study. At the end of the study, testicular tissues were removed and fixed in 10% formol solution for histological and immunohistochemical examinations. They were then subjected to routine histological tissue follow-up procedures and blocked in paraffin. Hematoxylin-eosin and PAS stains were applied to 5 µm sections taken from paraffin blocks to examine the general structure of the testicular tissue.

Immunohistochemical investigations

After routine deparaffinization and rehydration, the sections were rinsed in PBS (0.1 M, pH: 7.2) and incubated in 3% H₂O₂ prepared in 0.1 M PBS for 15 min. They were then boiled in citrate buffer solution (pH: 6.0) for 10 min in a microwave oven at 800 watts. Incubated with Large Volume Ultra V Block solution (Large Volume Anti-polyvalent, HRP (RTU)- Thermo Scientific) for 10 min. SOD-2 (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC. SOD-2 (B-1): sc-133254) primary antibody (1/500 dilution) was added to the sections and kept for 1 hour at room temperature in a humid environment. The sections were washed with PBS and incubated with Biotinylated Goat Anti B Polyvalent and Streptavidin Peroxidase solutions (Large Volume Anti-polyvalent, HRP (RTU)- Thermo Scientific) for 15 min each. DAB-H₂O₂ (Diaminobenzidine hydrogen peroxide) (Large Volume DAB Substrate System (RTU)- Thermo Scientific) Substrate Solution was added for chromogen application and modified Gill III hematoxylin solution was used for counterstaining. The preparations were examined under a research microscope and photographed. Immunohistochemical evaluation was performed by looking at the staining characteristics of the target cells and the staining intensity of the stained target cells. Evaluation was performed by two independent observers by assigning values from 0 to 3 according to the characteristics of no staining (0), weak staining (1), moderate staining (2), strong staining (3). SOD-2 immunoreactivity positive cells were counted and seminiferous tubule measurements were made using image-j software program. Cell counting was performed by randomly selecting 5 slides from each group, from 4 areas on each slide, i.e. 20 areas in total, and compared between the groups. Seminiferous tubule di-

iameter measurements were made from a total of 24 tubules by randomly selecting 5 slides from each group and compared between the groups.

Statistical investigations

SPSS Statistic 22 package program was used for statistical analyzes. One-way analysis of variance was used to compare seminiferous tubule diameter measurements between groups and Kruskal Wallis H test was used to compare the number of cells positive for SOD-2 immunoreactivity between groups. In order to determine the source of the difference as a result of Kruskal Wallis H test, correction was made on the p value and comparison was made between paired groups.

Results

Statistical results

Table 1 shows the comparison results of seminiferous tubule diameter measurements between the groups. According to the results of the analysis, there was no significant difference between the groups in tubule diameter measurements ($F=1.592$, $P>0.05$). Table 2 shows the results of the Kruskal Wallis H test performed to compare the number of cells positive for SOD-2 immunoreactivity between the groups. As a result of the analysis, it was determined that there was a statistically significant difference in the comparison of immunopositive cell numbers between the groups ($\chi^2=16.279$, $P<0.01$). To determine the source of the difference, P values were corrected and comparisons were made between paired groups. As a result, cell counts in the diabetes group were significantly lower than in the control and dandelion groups.

Table 1. Comparison of seminiferous tubule diameter measurements between groups

Groups	n	Mean	SS	F	P
Control	24	668.219	90.85		
Dandelion	24	669.531	167.60	1.592	0.197
Diabetes	24	607.405	95.42		
Diabetes+dandelion	24	661.687	88.80		

There was no significant difference between the groups in tubule diameter measurements ($P>0.05$).

Table 2. Comparison of the number of SOD-2 immunoreactivity positive cells between groups.

Groups	n	Rank Mean	Mean	SS	χ^2	P	pairwise comparison
Control (a)	20	16.30	182.800	20.58			
Dandelion (b)	20	14.70	181.400	26.55	16.279	0.001	c < a, b
Diabetes (c)	20	3.00	85.200	9.15			
Diabetes+dandelion (d)	20	8.00	124.200	9.28			

There is a statistically significant difference in the number of SOD-2 immunoreactivity positive cells between the groups ($P<0.01$).

Histopathologic results

When the sections belonging to the control and dandelion groups were examined, seminiferous tubules, cells belonging to the spermatogenic series (spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid and spermium), Sertoli cells and Leydig cells were observed in normal structure when the rat testicular tissues of the control group were examined (Figure 1).

In the testicular sections of the diabetes group, degenerative changes were observed in the seminiferous tubule structure. It was determined that there were separations between the basement membrane and tubule epithelium, disruptions in the structure and localization of spermatogenic cells towards the tubule lumen, thickening of the basement membrane and tunica albuginea, changes in the shape of Sertoli cells and shrinkage in the nucleus of leyding cells (Figure 1, Figure 2). It was noteworthy that the histologic structure in the diabetes+dandelion group was similar to the control group. The thickness of the basement membrane and tunica albuginea was close to the control group. The structure and localization of spermatogenic cells towards the tubule lumen were found to be at a low level (Figure 2).

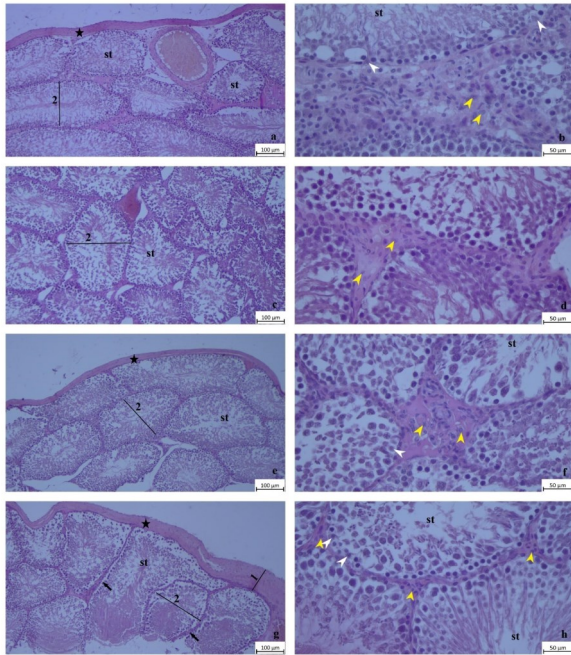


Figure 1. Rat testicular tissue. Control group (a, b), Dandelion group (c, d), Diabetes group (g, h), Diabetes+dandelion group (e, f). Seminiferous tubule (st), seminiferous tubule diameter (2), tunica albuginea (asterisk), tunica vaginalis thickening (1), basement membrane thickening (black arrow), Leydig cell (yellow arrow head), Sertoli cell (white arrow head), H-E staining. Bar (a,c,e,g): 100 µm. Bar (b,d,f,h): 50 µm.

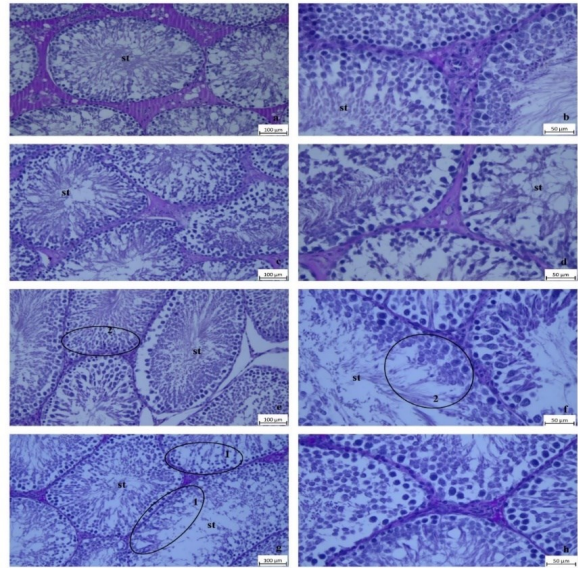


Figure 2. Rat testicular tissue. Control group (a, b), Dandelion group (c, d), Diabetes group (g, h), Diabetes+dandelion group (e, f). Seminiferous tubule (st), impaired structure and localization of spermatogenic cells in the diabetes group (1), near control appearance in the structure and localization of spermatogenic cells in the diabetes+dandelion group (2). PAS staining. Bar (a,c,e,g): 100 µm. Bar (b,d,f,h): 50 µm.

SOD-2 Immunoreactivity results

SOD-2 immunoreactivity was determined in seminiferous tubules and interstitial area in control and dandelion groups. Strong SOD-2 immunoreactivity was detected in all cells of the spermatogenic series from the basal lamina of the seminiferous tubules and moderate granular cytoplasmic SOD-2 immunoreactivity was detected in the interstitial area. While no immune positivity was observed in spermatogonia and primary spermatocytes in the diabetes group, weak SOD-2 immunoreactivity was detected in other cells of the spermatogenic series. While no immune positivity was observed in spermatogonia and primary spermatocytes in the diabetes+dandelion group, similar to the diabetes group, moderate SOD-2 immunoreactivity was observed in other cells of the spermatogenic series. It was noteworthy that there was no immunoreactivity in the interstitial area in diabetes and diabetes+dandelion groups (Figure 3).

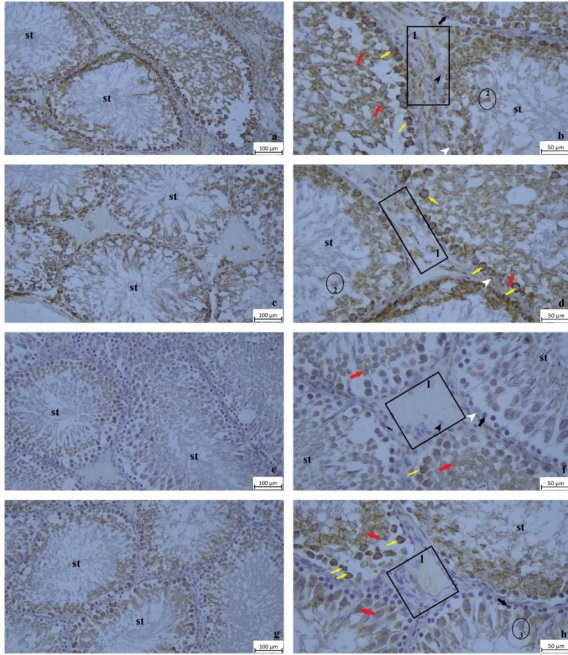


Figure 3. SOD-2 immunoreactivity in rat testicular tissue. Control group (a, b), Dandelion group (c, d), Diabetes group (e, f), Diabetes+dandelion group (g, h). Seminiferous tubule (st), interstitial space (1), leyding cell (black arrowhead), sertoli cell (white arrowhead), spermatogonium (black arrow), primary spermatocyte (yellow arrow), secondary spermatocyte (red arrow), spermatid (2), spermatozoon (3). Bar (a,c,e,g): 100 µm. Bar (b,d,f,h): 50 µm.

Discussion and Conclusion

It is suggested that diabetes is effective on male infertility due to its effects on molecular mechanisms. Since the drug treatments of diabetes and diabetes-related complications constitute a heavy burden for national economies, interest in the use of natural products with high antioxidant content that stabilize blood glucose in the treatment of diabetes has gradually increased (Lee et al., 2016). It is suggested that lipid peroxidation and free radical formation increase with blood glucose levels in diabetes, insufficiency occurs in the antioxidant defense system, and many complications may occur due to increased oxidative stress (Guneli et al., 2008; Sebai et al., 2015). In studies, it has been reported that due to the increase in oxidative stress, disorganization in spermatogenic series cells, cellular vacuolization, cells shedding into the seminiferous tubule lumen before completing their development, multinucleated giant cells in some seminiferous tubules and thickening of the basement membranes of tubules occur in diabetic testicular tissues (Öztürk et al., 2002; Sadik et al., 2011; Donmez et al., 2014). In addition, it has been reported that some of the spermatogenic cells in the testicular

tissue of rats with experimental diabetes caused degeneration, shrinkage in the nuclei and nucleus pyknosis in some cells, structural changes in Sertoli cells, dilatation and hemorrhage in the vessels between tubules (İrtegün and Deveci, 2016). In our study, testicular tissues in the control and dandelion groups had normal histological appearance, but in the testicular tissues of the diabetes group, degenerative changes in the seminiferous tubule structure, separation between the basement membrane and tubule epithelium, disruptions in the structure and localization of spermatogenic cells towards the tubule lumen, thickening of the basement membrane and tunica albuginea, shape changes in Sertoli cells and shrinkage of Leyding cell nuclei were observed. Our results suggest that diabetes may cause structural changes and functional disorders in the testicular tissue and therefore there may be an important relationship between infertility and diabetes.

Dandelion is a plant that can grow in many places such as meadows, lawns, roadsides, gardens, orchards and wasteland in difficult natural conditions (Moyer et al., 2009). It has been reported that dandelion has a diuretic effect, increases bile secretion, can be used as an appetizer and in the treatment of dyspepsia. In addition, this plant has been used in traditional medicine in the treatment of many skin diseases such as eczema. It is reported to have positive effects in the treatment of diabetes, eye infection, insomnia, sore throat, lung disorders, jaundice, gout, kidney stone complaints, digestive system diseases, rheumatism and urinary tract infections (Sarı et al., 2010; Kırpık et al., 2019). When the phytochemical properties of dandelion were examined, it was reported that it contains organic acids, flavonoids, coumarins, terpenoids, carotenoids, phytosterols, sesquiterpene lactones, lignans, phenolic acids, inulin, fructose, fatty acids, vitamins A, B, C, D, potassium and mucilage. Sesquiterpenes and bitter substances in its structure increase its therapeutic properties (Schütz et al., 2006). Possible hypolipidemic and antioxidative effects of dandelion root and leaf were investigated. Plasma antioxidant enzymes and lipid levels were evaluated after the treatment period. As a result, it was suggested that it showed a positive effect on plasma antioxidant enzyme activities and lipid levels and therefore may have potential hypolipidemic and antioxidant effects (Choi et al., 2010). Dandelion methanol extract has been reported to inhibit the production of nitric oxide (NO), pro-inflammatory cytokines and prostaglandin E2 (PGE2) induced by lipopolysaccharide (LPS) in a dose-dependent manner (Park et al., 2011). In hyperglycemia, the imbalance between oxidative and antioxidative mechanisms in cells and tissues increases, resulting in an increase in reactive carbonyls (RCS) and reactive oxygen species (ROS) (Tian and Zhen, 2019). Recent studies have shown that superoxide dismutase (SOD), cata-

lase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activity decreased, while malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) increased significantly in various tissue damages (Sharma et al., 2020). SOD levels were reported to be significantly decreased in streptozotocin-induced diabetic rats (Sua et al., 2022). It has been suggested that antioxidants can be used for the treatment of diabetes in male rats (Al-Salmi and Hamza, 2022). In our study, it was determined that the histological structure in the diabetes + dandelion group was close to the control group. It was determined that there was weak SOD-2 immunoreactivity in the testicular tissues of diabetic rats and moderate SOD-2 immunoreactivity in the testicular tissues of rats treated with dandelion extract. Our results suggested that dandelion may provide protection against diabetes-induced testicular damage by showing antioxidant effect.

In conclusion, diabetes is a metabolic disease with complications on testicular tissue. The use of natural treatment methods for the treatment of the disease and its complications has recently gained popularity. In our study, it was determined that histopathological changes in the testicular tissue of diabetic rats treated with dandelion extract were minimal and SOD-2 immunoreactivity increased compared to the diabetes group. Our results suggested that dandelion may have a protective effect against diabetes-induced testicular damage by positively affecting antioxidant defense mechanisms.

References

- Al-Salmi AF, Hamza RZ. Efficacy of vanadyl sulfate and selenium tetrachloride as anti-diabetic agents against hyperglycemia and oxidative stress induced by diabetes mellitus in male rats. *Curr Issues Mol Biol* 2022; 44 (1): 94-104.
- Bener A, Al-Ansari AA, Zirie M, Al-Hamaq AO. Is male fertility associated with type 2 diabetes mellitus? *Int Urol Nephrol* 2009; 41(4): 777-84.
- Choi UK, Lee OH, Yim JH, Cho CW, Rhee YK, Lim SI, Kim YC. Hypolipidemic and antioxidant effects of dandelion (*taraxacum officinale*) root and leaf on cholesterol-fed rabbits. *Int J Mol Sci* 2010; 11(1): 67-78.
- Dongmei C. Atlas of Histology with Functional and Clinical Correlations. First Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011; p.344-68.
- Donmez YB, Kizilay G, Topcu-Tarladacalisir Y. MAPK immunoreactivity in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Acta Cir Bras* 2014; 29(10): 644-50.
- Ersay O, Kizilay G. Effects of fucoidan on diabetic rat testicular tissue. *Biotech Histochem* 2018; 93(4): 277-85.
- Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1975; 44: 147-59.
- Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008; 40(4): 354-60.
- International Diabetes Federation, Diabetes atlas 9th edition. <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>. 2019. Access: 24.03.2020.
- İrteğün S, Deveci E. Diyabetik sıçanların testis dokusunda VEGF ve Bcl-2 ekspresyon düzeylerinin immünohistokimya ve western blot yöntemleri ile incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2016; 43(4) : 527-33.
- Kırpık MA, Altunoğlu MK, Yıldız Asker Y, Altunkalem S. Evelik Bitkisi (*Rumex patientia L.*) ve Karahindiba (*Taraxacum officinale L.*) kullanılarak doğal yolla baklagil yaprak biti (*Aphis fabae Scop.*)'nin hedef konukçusunun değiştirilmesi. *KAUFBED* 2019; 12 (1): 1-8.
- Krause William J. Krause's Essential Human Histology for Medical Students. Third Edition. Boca Raton: Universal Publishers, 2005; pp. 224-36.
- La Vignera S, Calogero AE, Condorelli R, Lanzafame F, Giannusso B, Vicari E. Andrological characterization of the patient with diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2009; 34(1): 1-9.
- Lee MW, Kwon JE, Lee YJ, Jeong YJ, Kim I, Cho YM, Kim YM, Kang SC. Prunus mume leaf extract lowers blood glucose level in diabetic mice. *Pharm Biol* 2016; 54(10): 2135-40.
- Martinez M, Poirrier P, Chamy R, Prüfer D, Schulze-Gronover C, Jorquera L, Ruiz G. *Taraxacum officinale* and related species-An ethnopharmacological review and its potential as a commercial medicinal plant. *J Ethnopharmacol* 2015; 169(1): 244-62.
- Moyer JR, Boswall AL, Kawchuk LM, Entz T, Tovell B, Lee B. Characterization of dandelion (*Taraxacum officinale* Weber in FH Wigg.) biotype morphology, chemical composition and response to glyphosate. *Can J Plant Sci* 2009; 89(2): 369-78.
- Oroojan AA, Ahangarpour A, Paknejad B, Zareian P, Hami Z, Abtahi SR. Effects of myricitrin and solid lipid nanoparticle containing myricitrin on reproductive system disorders induced by diabetes in male mouse. *World J Mens Health* 2021; 39(1): 147-57.
- Öztürk F, Gül M, Ağkadir M, Yağmurca M. Deneysel

- diyabetin sıçan testislerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler. Turk Klinikleri J Med Sci 2002; 22(2): 173-8.
- Park CM, Park JY, Noh KH, Shin JH, Song YS. Taraxacum officinale Weber extracts inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production via the NF-κB modulation in RAW 264.7 cells. J Ethnopharmacol 2011; 33(2): 834-42.
- Sadik NA, El-Seweidy MM, Shaker OG. The antiapoptotic effects of sulphurous mineral water and sodium hydrosulphide on diabetic rat testes. Cell Physiol Biochem 2011; 28(5): 887-98.
- Sarı A, Özsoy N, Karahüseyin S. *Taraxacum farinosum* Hausskn. & Bornm. bitkisinin antioksidan aktivite yönünden incelenmesi. SABIAD 2020; 3(1): 13-9.
- Sarı AO, Bilgin O, Bilgiç A, Nedret T, Güvensen A, Şenol SG. Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. Anadolu ETAE dergisi 2010; 20(2): 1-21.
- Schütz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum-a review on its phytochemical and pharmacological profile. J Ethnopharmacol 2006; 107(3): 313-23.
- Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Gharbi N, Sakly M. Protective effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. J Med Food 2015; 18(2): 241-9.
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J of Bot 2012; 217037.
- Sharma R, Satyanarayana P, Anand P, Kumari GA. Adiponectin level association with MDA in the patients with type 2 diabetes mellitus. Biomed Pharmacol J 2020; 13: 1-9
- Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol 1997; 82: 291-5.
- Sua H, Tianb CJ, Wangb Y, Shib J, Chenb X, Zhena Z, Baia Y, Denga L, Fenga C, Mab Z, Liua J. Ginsenoside Rb1 reduces oxidative/carbonyl stress damage and ameliorates inflammation in the lung of streptozotocin-induced diabetic rats. Pharm Biol 2022; 60(1): 2229-36.
- Tian CJ, Zhen Z. 2019. Reactive carbonyl species: diabetic complication in the heart and lungs. Trends Endocrinol Metab 2019; 30(8): 546-56.
- Yigitturk G, Acara AC, Erbas O, Oltulu F, Yavasoglu NUK, Uysal A, Yavasoglu A. The antioxidant role of agomelatine and gallic acid on oxidative stress in STZ induced type I diabetic rat testes. Biomed Pharmacother 2017; 87: 240-6.

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Dergide yayımlanacak yayınlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserler de yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
3. Yayınlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial, 10 punto ve iki yana yaslı olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler ve derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, ercvet@gmail.com adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale kapak sayfasında, sorumlu yazarın yazar adı, unvanı, ORCID numarası ve E-posta adresi yazılmalıdır.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu durum kapak sayfasında belirtilmek üzere kabul edilir.
6. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise kapak sayfasında dipnot olarak belirtilir.
7. Kapak sayfasında Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak) verilmelidir.
8. Türkçe ve İngilizce özetlerin bir sonraki sayfaya yazılması gerekir. Bu sayfa, paragrafsız olarak Türkçe ve İngilizce özetleri (en fazla 250 kelime) içermelidir. Anahtar kelimeler özetlerin altına alfabetik olarak (virgülle ayrılmış şekilde) yazılmalıdır. Yalnızca ilk anahtar kelime büyük harfle başlamalıdır. **Türkçe Bilmeyen yazarlar için Türkçe özet ve anahtar kelimeler yazma zorunluluğu bulunmamaktadır.**
9. Araştırma makalesi; Kapak Sayfası - Özet (Türkçe ve İngilizce) - Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller, Sorumlu yazar (Correspondence Author) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir.
10. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili **en az 3 adet** çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda yayınlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler kapak sayfası, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, konunun kendine ait alt başlıkları, Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir.
11. Olgu Sunumları, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Olgu(lar), Tartışma ve Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar bölümlerini içermelidir.
12. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda Etik Kurul onayı alınan kurumun adı ve onay numarası, çalışmanın Gereç ve Yöntem kısmında belirtilmelidir.
13. Tablo ve şekillerin metinde geçeceği yer, altı ve üstü çizgili olarak belirtilmelidir.
14. Ondalık ifadelerde nokta kullanılmalıdır.
15. Tür isimleri ve anatomik terimler gibi Latince ifadeler *italik* karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (*Système Internationale*)'e göre verilmelidir.
16. Tablolar kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalıdır. Tablo başlıkları tablonun üzerinde bulunmalı ve **Tablo 1.** şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılmamalıdır. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar tabloların altına yerleştirilmelidir.
17. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip **Şekil 1.** gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar şekil ismi ile birlikte şeklin altına yerleştirilmelidir. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır.
18. Kaynaklar metin içinde cümle sonunda belirtilmelidir. Yazar soy isimleri ve tarihi yazı içinde her kaynağa ait yayın yılı yazar isminden hemen sonra parantez içinde belirtilmelidir. Kaynak iki isimli ise isimler belirtilmeli (örn; Kaldhone ve Nayak, 2008). Kaynakta yazar sayısı ikiden fazla ise sorumlu yazar "ve ark." şeklinde belirtilmelidir (örn, Kaldhone ve ark., 2008). Eğer kaynak cümlenin başında kullanılıyorsa yazar isimlerinden sonra parantez içinde yayın yılı belirtilmelidir.
19. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, kaynaklar bölümünde 0.5 cm içeri doğru asılı halde yazılmalıdır. Noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmelidir. Dergi kısaltmaları *Index Medicus* ile uyum içerisinde olmalıdır. **Orijinal araştırma makaleleri, derlemeler ve olgu sunumları sırasıyla 30, 45 ve 15'ten fazla kaynak içermemelidir.**
Kaynaklar;
19.1. Kaynak süreli yayın ise;
Örnek: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.
19.2. Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise;
Örnek: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Krusbeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
19.3. Kaynak kitap ise;
Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
19.4. Kaynak editörlü kitap ise;
Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafli KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
19.5. Kaynak kongre bildirisi ise;
Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.
19.6. Kaynak tez ise;
Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2003; s. 1-2.
19.7. Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise;
Örnek: TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.
21. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve "Telif Hakkı Devir Formu" tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. **Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.**

Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original research articles, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
2. Formal language of manuscripts is Turkish. Manuscripts in English are also accepted. **The publication of English-language manuscripts is given priority.**
3. Publications should be in A4 format, double spacing and Arial 10 font size. With a margin of 2.5 cm from each edge, the page number should be placed at the bottom right of the pages. Original articles and reviews should not exceed 14 pages and case reports, research notes and short papers should not exceed 7 pages including illustrations, figures and references.
4. Manuscripts should be sent to ercvet@gmail.com. For correspondence, author's name, title, ORCID number, and E-mail address should be written on cover page of the manuscripts.
5. Studies were presented in a meeting and published as an abstract can be published with indication of this status at the bottom of the cover page.
6. Information should be included on any institutions financially contributed to the study as a footnote on the cover page.
7. The cover page should be supplied as a separate page and include: Turkish running title (bold and first letters capital), English title (first letters capital), short title (max 40 characters and first letters of first word is capital, others should be written as small), author(s) names (without titles), author(s) affiliations (Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information).
8. The summaries in Turkish and English should be written on the next page. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 250 words) with no paragraph and not more than five Key words in Turkish and English. Key words must be placed below summary with an alphabetical order (comma delimited). Only the first Key word must start with a capital letter. **For non-Turkish authors, there is no obligation to write summary and keywords in Turkish.**
9. Original research paper must be organized as follows: Cover page, Summary (Turkish and English), Key words (Turkish and English), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence. All titles in the text should be written in bold. There should be no paragraph indent in the text and continuous line number should be given.
10. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments and accepted for publication if the authors have **at least 3 papers** directly related to the subject. Reviews must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Sub-headings of the subject, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
11. Case reports must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Case(s), Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
12. In the studies requiring the ethics approval, the name and approval number of the institution of the Ethics Committee must be specified in the Materials and Methods section of manuscript.
13. The place where the tables and figures belong in the text should be indicated as underlined and upperlined.
14. Decimal expressions should be used in the dot.
15. Species names and anatomical terms in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Tables must be given in a separate page after the text. First letters of first word should be capital, others should be written as small in the headings of the tables. Title of tables and figures should be numbered in order as **Table 1**. Internal and lateral lines should not be used in the tables. Descriptive information and explanations should be placed below the tables.
17. Each picture, graphic and drawing; should be given as figure and should be written as **Figure 1**. Each one should be on a separate page. Descriptive information and explanations should be placed below the figures. Pictures should be the least 300dpi resolution.
18. References should be specified in the text at the end of the sentence. Author surnames and the date of publication should be specified in parentheses. If the reference has two names, the names should be given after the publication year (eg, Kaldhone and Nayak, 2008). If the reference has more than two names should be given as "et al.," (eg, Kaldhone et al., 2008). If the source is used at the beginning of the sentence, the year of publication should be specified in parentheses after the names of the authors.
19. References should be placed in alphabetical order and hanging 0.5 cm inwards in the references section. Punctuation should be taken into consideration as shown in the examples, Journal abbreviations must be in line with *Index Medicus*. **The reference list must not contain more than 30, 45, and 15 references for original research articles, reviews and case reports, respectively.** References;
 - 19.1. If the reference is a periodical, citation must be done as shown below;
Example: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaidd DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from turkey-associated sources. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(16): 5038-46.
 - 19.2. If the reference is from chapter of a book with an editor, citation must be done as shown below;
Example: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
 - 19.3. If the reference is a book, citation must be done as shown below;
Example: Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
 - 19.4. If the reference is whole book with an editor, citation must be as below;
Example: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
 - 19.5. If the reference is from meeting, citation must be done as shown below;
Example: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; Izmir-Türkiye.
 - 19.6. If the reference is from a thesis, citation must be done as shown below;
Example: Erakinci G. Investigation of Antibodies Against Parasites in Blood Donors. PhD Thesis. Ege Univ. Institute of Health Sciences. Parasitology Program, Izmir-Turkey, 1993.
 - 19.7. The reference is a website on the internet, citation must be done as shown below;
Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tujk.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Once the studies one published in the journal, all the responsibility belongs to the authors.
21. The final checklist should be followed when submitting manuscripts and the "Copyright Release Form" must be signed by all authors in order. **Manuscripts which are not prepared in accordance with the "Instructions for authors" will not be processed.**

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ / JOURNAL OF FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE, ERCIYES UNIVERSITY

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

(...) Araştırma / Research (...) Derleme / Review (...) Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication

(...) Olgu Sunumu / Case Report (...) Editöre Mektup / Letter to Editor

Makale Başlığı/Article

Entitled:.....
.....
.....

Sayın Editör,

- Yayınlanması dileğiyle Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;
- 1- Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orijinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
 - 2- Makalenin; daha önce yayımlanmadığını, derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
 - 3- Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
 - 4- Gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı günden itibaren Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here we affirm and warranty as the Author(s) of this manuscript submitted to Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University that;

- 1- The manuscript /We submitted to the Bulletin is original and responsibilities belong to us ethically and scientifically,
- 2- The manuscript has not been previously published, being considered for publication by any other journal and will not be submitted to any other journal for such review while under evaluation by this bulletin,
- 3- The manuscript contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights.
- 4- The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University reserves all rights with due corrections from the date it has been published onwards.

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

Not/Note: Formu aşağıdaki adrese,e-mail ya da posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz./ Please send this form to the address below by e-mail, post or deliver personally.

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi / Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğü, 38039, Melikgazi-KAYSERİ / TÜRKİYE
Tel/Phone: 0352 339 94 84 Faks/Fax: 0352 337 27 40 e-posta/e-mail: ercvet@gmail.com

SON KONTROL LİSTESİ

Makalenizi göndermeden önce lütfen bu bölümdeki maddelerle karşılaştırma yapınız ve eksiklikleri gideriniz.

- Eksiksiz doldurulmuş ve bütün yazarlarca imzalanmış **“Telif Hakkı Devri Formu”** (<http://ercvet.gmail.com> adresinden ulaşabilirsiniz) makale ile birlikte gönderildi.
- Metnin tamamı çift aralıklı (5 mm) yazıldı (özetler, tablolar, şekil alt yazıları, kaynaklar v.d. dahil).
- Her bir kenarda 2,5 cm boşluk bırakıldı.
- Yazılar 10 punto (Arial) ile yazıldı.
- Satır numaraları verildi.
- Kapak sayfasında, makalenin başlığı (sadece yazım dilindeki) koyu (bold) yazıldı, kısa başlık eklendi.
- Kapak sayfasında, yazar isimleri açık olarak yazıldı (kısaltma yok).
- Kapak sayfasına dipnot (varsa) eklendi.
- Türkçe başlık yazıldı.
- Türkçe özet yazıldı.
- Türkçe anahtar kelimeler (alfabetik sıralı ve ilk kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harfle yazıldı) verildi.
- İngilizce başlık yazıldı.
- İngilizce özet yazıldı.
- İngilizce anahtar kelimeler verildi.
- Şekillerin orijinal halleri eklendi.
- Metin içinde şekiller ardışık numaralandı.
- Şekil boyutları min.=8x20; max.=16x20 cm.
- Metin içinde tablolar ardışık numaralandı.
- Tablo boyutları min.=8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Şekil ve tabloların metin içinde gelmesi istenilen yer belirtildi.
- Şekiller listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her şekil ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Tablolar listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her tablo ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Kaynaklar yazım kurallarına uygun yazıldı.
- Yazışma adresi verildi.

FINAL CHECKLIST

Before you submit your work, please take the time to be certain that your paper (and other writings as applicable) is in the correct format and that you have included everything necessary by checking it against this checklist.

- Copyright Release Form has been enclosed, completed and signed by all authors (<http://ercvet.gmail.com>).
- Entire paper has been 5 mm double-spaced (abstract, tables, captions/legends, references).
- Margins have been 2,5 cm each side.
- Font size has been 10 pt (Arial).
- Lines have been numbered.
- Title of the manuscript has been written bold and short title added on the cover page.
- Author(s) names have been fully written (not abbreviated) on the cover page.
- Footnote has been given on the cover page (if necessary)
- English title has been given.
- English summary has been given.
- English keywords have been given alphabetically.
- Turkish title has been given.
- Turkish summary has been given.
- Turkish keywords have been given alphabetically.
- Original figures have been enclosed.
- Original figures have been prepared correctly according to instructions.
- Figures have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of figures have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Tables have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of tables have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Figures and tables have been stated requiring put on the manuscript.
- Names of figures have been given on a separate page as figure list.
- Each figure has been given on a separate page.
- Names of tables have been given in a separate page as table list.
- Each table has been given on a separate page.
- References has been typed according to instructions.
- Corresponding address has been given.